



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0105584
(43) 공개일자 2019년09월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/20 (2006.01) *A61K 38/17* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)
C07K 14/54 (2006.01) *C07K 14/715* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 38/2086 (2013.01)
A61K 38/1793 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7020516
- (22) 출원일자(국제) 2018년01월19일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2019년07월15일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2018/050348
- (87) 국제공개번호 WO 2018/134782
 국제공개일자 2018년07월26일
- (30) 우선권주장
 62/448,460 2017년01월20일 미국(US)

- (71) 출원인
 노파르티스 아게
 스위스 4002 바젤
- (72) 발명자
 루이스, 낸시
 미국 07936-1080 뉴저지주 이스트 하노버 원 헬쓰
 플라자 노바티스 파마슈티칼스 코포레이션
- (74) 대리인
 양영준, 이상영

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **암 치료를 위한 병용 요법**

(57) 요약

항-PD-1 항체 분자와 병용하여 IL-15/IL-15Ra를 포함하는 복합체를 환자에게 투여하기 위한 용량 요법이 개시된다. 암과 같은 장애를 예방, 치료 및/또는 관리하기 위해 상기 용량 요법이 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 39/39558 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

C07K 14/5443 (2013.01)

C07K 14/7155 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

대상체의 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체에게:

- (a) 적어도 하나의 초기 용량의 인터루킨-15(IL-15)/IL-15 수용체 알파(IL-15Ra) 복합체 이후에 반복하는 또는 확대하는 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체를;
- (b) 항-PD-1 항체 분자와 병용하여 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 IL-15/IL-15Ra의 초기 용량이 0.5 내지 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 인, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 IL-15/IL-15Ra의 초기 용량이 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 인, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15/IL-15Ra 복합체의 반복된 용량이 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 인, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15/IL-15Ra 복합체의 확대 용량이 이전 용량의 2배인, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15/IL-15Ra 복합체의 초기 용량은 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이고, 이어서 2, 4 및 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 IL-15/IL-15Ra 복합체의 확대 용량인, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15/IL-15Ra 복합체의 용량은 3주간 주 1회 피하 투여되는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제3항, 제5항 및 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15/IL-15Ra 복합체의 용량은 2주간 주 3회 피하 투여되는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 IL-15/IL-15Ra 복합체는 인간 IL-15 및 인간 가용성 IL-15Ra의 이중이량체 복합체인, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 인간 IL-15가 서열 번호 1의 아미노산 서열의 잔기 49 내지 162를 포함하고, 인간 가용성 IL-15Ra는 서열 번호 10의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 항-PD-1 항체 분자의 용량이 균일 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서,
상기 항-PD-1 항체 분자의 균일 용량이 300 mg 또는 400 mg인, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 항-PD-1 항체 분자의 용량이 매 4주마다 1회 정맥 내로 투여되는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 항-PD-1 항체 분자가 하기를 포함하는, 방법: 서열 번호 29의 VHCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 30의 VHCDR2 아미노산 서열; 및 서열 번호 31의 VHCDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열 번호 32의 VLCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 33의 VLCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 34의 VLCDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL).

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 항-PD-1 항체 분자는 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 45 또는 65의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 항-PD-1 항체가 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4로부터 선택되는 인간 중쇄 불변 영역 및 카파 또는 람다로부터 선택되는 경쇄 불변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 17

제16항에 있어서,
상기 항-PD-1 항체가 하기 중 하나 이상을 포함하는, 방법:

- (a) 서열 번호 98 또는 99의 위치 108에 세린에서 프롤린으로의 돌연변이를 갖는 인간 IgG4 중쇄 불변 영역 및 카파 경쇄 불변 영역;
- (b) 서열 번호 101의 위치 180에 아스파라긴에서 알라닌으로의 돌연변이를 갖는 인간 IgG1 중쇄 불변 영역 및 카파 경쇄 불변 영역;
- (c) 서열 번호 102의 위치 148에 아스파르트레이트에서 알라닌으로의 돌연변이, 및 위치 212에 프롤린에서 알라닌으로의 돌연변이를 갖는 인간 IgG1 중쇄 불변 영역 및 카파 경쇄 불변 영역; 또는
- (d) 서열 번호 103의 위치 117에 류신에서 알라닌으로의 돌연변이, 및 위치 118에 류신에서 알라닌으로의 돌연변이를 갖는 인간 IgG1 중쇄 불변 영역 및 카파 경쇄 불변 영역.

청구항 18

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항-PD-1 항체 분자가 서열 번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 47 또는 67의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 일 양태에서, IL-15 매개된 면역 기능을 개선시키기 위해 항 PD-1 항체와 같은 추가 제제와 병용하여 IL-15 수용체 알파("IL-15RA")에 공유 결합 또는 비공유 결합된 인터루킨-15("IL-15")를 포함하는 복합체를 환자에게 투여하기 위한 투여 요법이 본원에 기술되어 있다. 특정 양태에서, 상기 병용물의 투여 요법은 암과 같은 면역계의 활성화가 유익한 장애의 예방, 치료 및/또는 관리에 유용하다.

배경 기술

[0002] 사이토카인, 인터루킨-15(IL-15)는 인체의 많은 세포에서 생산되는 림포카인의 4가지 알파-나선 번들 패밀리의 구성원이다. IL-15는 선천성 면역 시스템과 순응성 면역 시스템의 활동, 예를 들어 침입하는 병원체에 대한 기억 T-세포 반응의 유지, 세포자멸사의 억제, 수지상 세포의 활성화 및 자연 살해자(NK) 세포 증식 및 세포독성 활성화의 유도를 조절하는데 중추적인 역할을 한다.

[0003] IL-15 수용체는 다중 사이토카인 수용체에 의해 공유되는 3가지 폴리펩티드, 유형-특이적 IL-15 수용체 알파("IL-15Ra"), IL-2/IL-15 수용체 베타(또는 CD122) ("β"), 및 공통 감마 사슬(또는 CD132)("γ")로 구성된다. IL-15Ra는 다양한 세포 유형에 의해 발현되는 것으로 생각되지만, 반드시 β 및 γ와 함께 발현되는 것은 아니다. IL-15 신호전달은 IL-15Ra, β, 및 γ의 이종이량체 복합체를 통해; β 및 γ의 이종이량체 복합체를 통해, 또는 비만세포에서 발견되는 서브유닛, IL-15RX를 통해 일어나는 것으로 나타났다.

[0004] IL-15는 주로 여러 종류의 부속 세포에 의해 발현되거나 획득되는 막-결합 형태로서 발생하기 때문에 가용성 단백질이지만, 내인성 IL-15는 혈청 또는 체액에서 쉽게 검출되지 않는다. 예를 들어, IL-15 mRNA는 조혈 계통 및 비-조혈 계통의 세포에서 검출되지만, T 세포는 IL-15를 생성하지 않는다. 그 대신, IL-15는 IL-15Ra에 결합하여 T 세포상의 세포-표면 복합체를 형성한다. IL-15는 수용체의 세포외 도메인의 엑손 2에서 "스시 도메인"을 통해 높은 친화도로 IL-15Ra에 특이적으로 결합한다. 트랜스-엔도솜 재순환 및 세포 표면으로의 재이동 후에, 이들 IL-15 복합체는 Jak/Stat 경로를 통해 IL-15-매개된 신호전달을 유도하는, IL-15R β γ 저-친화도 수용체 복합체를 발현하는 방관자 세포를 활성화시키는 특성을 획득한다. 수용체의 막투과 도메인의 바로 원위에 있는 세포외 도메인의 절단 부위에서 절단된, IL-15Ra("sIL-15Ra")의 야생형 가용성 형태가 발견되었다. 종양 괴사 인자-알파-전환 효소(TACE/ADAM17)는 이 과정에 관여하는 프로테아제로서 관련되어왔다.

[0005] 면역 시스템에서의 다각적인 역할에 기초하여, IL-15-매개된 기능을 조절하기 위해 고안된 다양한 치료법이 연구되었다. 최근 보고에 따르면 IL-15는 sIL-15Ra 또는 스시 도메인과 복합체를 형성할 때 면역 개선 기능을 유지한다. 재조합 IL-15 및 IL-15/IL-15Ra 복합체는 다양한 전임상 모델에서 기억 CD8 T 세포 및 NK 세포의 팽창을 상이한 정도로 증진시키고 종양 거부를 향상시키는 것으로 나타났다. 또한, 마우스 모델에서 IL-15 또는 IL-15/IL-15Ra 복합체 함유 작제물의 종양 표적화는 동종 종양 이식된 면역적격성 동물에서, 또는 인간 종양 세포 주가 주입된 T-세포 및 B 세포-결핍 SCID 마우스(NK 세포 유지)에서 항-종양 반응을 개선시켰다. 개선된 항-종양 활성화는 IL-15-함유 모이어티의 증가된 반감기뿐만 아니라 종양 세포 표면에서의 IL-15의 트랜스-프리젠테이션에 의존하여 종양내 NK 및/또는 CD8 세포독성 T 세포 확장을 개선시키는 것으로 고려된다. 이와 같이, IL-15를 발현하도록 조작된 종양 세포는 또한 T 세포 및 NK 세포 모집, 증식 및 기능을 개선시킴으로써 확립된 종양의 거부를 촉진하는 것으로 보고되었다(Zhang 등, (2009) PNAS USA. 106:7513-7518; Munger 등, (1995) Cell Immunol. 165(2):289-293; Evans 등, (1997) Cell Immunol. 179(1):66-73; Klebanoff 등, (2004) PNAS USA. 101(7):1969-74; Sneller 등, (2011) Blood.118(26):6845-6848; Zhang 등, (2012) J. Immunol. 188(12):6156-6164).

[0006] IL-15가 전임상 동물 모델에서 항-종양 활성화 및 증가된 생존율을 나타내지만, 데이터는 또한, CD8+ T 세포에서 PD-1을 상향조절시키고 IL-10을 증가시키는 경향이 있으며, 잠재적으로 치료 효과를 제한한다는 것을 보여주었다. 전임상 연구에서, PD-1/PD-L1 축을 표적으로 하는 재조합 IL-15와 관문 조절제를 이용한 병용 전략은 단일 요법에 비해 PD-1과 IL-10 모두를 감소시키고 전체 생존율을 증가시켰다(Yu 등, (2010) Clin. Cancer Res.

2010:6019-28).

- [0007] T 세포가 항원에 대한 면역 반응을 매개하는 능력은 2개의 별개의 신호전달 상호작용을 필요로 한다(문헌 [Viglietta, V. 등. (2007) *Neurotherapeutics* 4:666-675]; 문헌[Korman, A. J. 등. (2007) *Adv. Immunol.* 90, 297-339]). 첫 번째, 항원-제시 세포(APC)의 표면 상에 배열된 항원이 항원-특이적 미감작 CD4+ T 세포에 제시된다. 그러한 제시는 T 세포 수용체(TCR)를 통해 신호를 전달하고, 이는 T 세포가 제시된 항원에 특이적인 면역 반응을 개시하도록 유도한다. 두 번째, APC와 별개의 T 세포 표면 분자 사이의 상호작용을 통해 매개된 다양한 공동자극성 및 공동억제성 신호가 T 세포의 활성화 및 증식, 그리고 궁극적으로는 그들의 억제를 촉발한다.
- [0008] 면역 시스템은 공동자극성 및 공동억제성 리간드 및 수용체의 네트워크에 의해 엄격히 제어된다. 상기 분자는 T 세포 활성화에 대한 두 번째 신호를 제공하고, 스스로에 대한 면역성을 제한하면서 감염에 대한 면역 반응을 최대화하기 위해 양성 및 음성 신호의 균형을 제공하는 네트워크를 제공한다(Wang 등. (Epub Mar. 7, 2011) *J. Exp. Med.* 208(3):577-92; Lepenies 등. (2008) *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders--Drug Targets* 8:279-288). 공동자극성 신호의 예는 APC의 B7.1(CD80) 및 B7.2(CD86) 리간드와 CD4+ T-림프구의 CD28 및 CTLA-4 수용체 사이의 결합을 포함한다(Sharpe 등. (2002) *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126; Lindley 등. (2009) *Immunol. Rev.* 229:307-321). CD28 에 대한 B7.1 또는 B7.2의 결합은 T 세포 활성화를 자극하는 반면, CTLA-4에 대한 B7.1 또는 B7.2의 결합은 상기 활성화를 억제한다(Dong 등. (2003) *Immunol. Res.* 28(1):39-48; Greenwald 등. (2005) *Ann. Rev. Immunol.* 23:515-548). CD28은 T 세포의 표면에서 본질적으로 발현되는 반면 (Gross 등. (1992) *J. Immunol.* 149:380-388), CTLA-4 발현은 T-세포 활성화 후 급격히 상향-조절된다(Linsley 등, (1996) *Immunity* 4:535-543).
- [0009] CD28 수용체의 다른 리간드는 "B7 슈퍼패밀리"로도 공지되어 있는, 관련 B7 분자의 그룹을 포함한다(Coyle 등. (2001) *Nature Immunol.* 2(3):203-209; Sharpe 등. (2002) *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126; Collins 등. (2005) *Genome Biol.* 6:223.1-223.7; Korman 등. (2007) *supra*). B7.1(CD80), B7.2(CD86), 유도성 공동자극성 리간드(ICOS-L), 프로그래밍된 사멸-1 리간드(PD-L1; B7-H1), 프로그래밍된 사멸-2 리간드(PD-L2; B7-DC), B7-H3, B7-H4 및 B7-H6을 포함하는, B7 슈퍼패밀리의 여러 구성원들이 공지되어 있다(Collins 등. (2005) *supra*).
- [0010] 프로그래밍된 사멸 1(PD-1) 단백질은 T 세포 조절인자의 확대된 CD28/CTLA-4 패밀리의 억제성 구성원이다(문헌 [Okazaki 등. (2002) *Curr Opin Immunol* 14: 391779-82]; 문헌[Bennett 등. 2003 *Int. Immunol* 170:711-8]). CD28 패밀리의 다른 구성원은 CD28, CTLA-4, ICOS 및 BTLA를 포함한다. PD-1은 단량체로서 존재하는 것으로 제시되어 있는데, 다른 CD28 패밀리 구성원들에 특징적인 쌍을 이루지 않은 시스테인 잔기가 결여되어 있다. PD-1은 활성화된 B 세포, T 세포, 및 단핵구 상에서 발현된다.
- [0011] PD-1 유전자는 55 kDa I형 막투과 단백질을 코딩한다(Agata 등. 1996 *Int. Immunol* 8:765-72). 구조적으로 CTLA-4와 유사하지만, PD-1은 B7-1 및 B7-2 결합에 중요한 MYPPY 모티프(서열 번호 236)가 결여되어 있다. PD-1에 결합시 T 세포 활성화를 하향조절하는 것으로 밝혀진, PD-1에 대한 2개의 리간드, PD-L1(B7-H1) 및 PD-L2(B7-DC)가 확인되었다(Freeman 등. (2000) *J. Exp. Med.* 192:1027-34; Carter 등. (2002) *Eur. J. Immunol.* 32:634-43). PD-L1 및 PD-L2는 PD-1에 결합하지만 다른 CD28 패밀리 구성원에는 결합하지 않는 B7 동족체이다. PD-L1은 다양한 인간 암에서 풍부하다(문헌[Dong 등 (2002) *Nat. Med.* 8:787-9]).
- [0012] PD-1은 TCR 신호를 음성적으로 조절하는 면역억제 단백질로 알려져 있다(Ishida, Y. 등. (1992) *EMBO J.* 11:3887-3895; Blank, C. 등. (Epub 2006 Dec. 29) *Immunol. Immunother.* 56(5):739-745). PD-1과 PD-L1 사이의 상호작용은 예를 들어 중앙 침윤 림프구의 감소, T-세포 수용체 매개된 증식의 감소 및/또는 암세포에 의한 면역 회피로 이어질 수 있는 면역 관문으로서 작용할 수 있다(문헌[Dong 등. (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7; Blank 등. (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314]; 문헌[Konishi 등. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100]). 면역 억제는 PD-1과 PD-L1 또는 PD-L2의 국소 상호작용을 억제함으로써 역전될 수 있으며; 이 효과는 PD-1과 PD-L2의 상호작용이 또한 차단될 때 부가적이다(Iwai 등. (2002) *PNAS USA* 99:12293-7; Brown 등. 2003 *Int. J. Immunol* 170:1257-66).
- [0013] PD-1 및 PD-L1을 포함하는 면역 관문의 항체 억제제는 IL-2 및 IFN- α 와 같은 광범위한 면역 활성화제보다 독성이 적은 다양한 고형 종양 환자에서 유의한 항종양 활성을 입증했다. PD-1을 표적으로 하는 2개의 단클론 항체, 웹브롤리주맵 및 니볼루맵은 흑색종, 비-소세포 폐암(NSCLC), 삼중 음성 유방암(TNBC) 및 기타 고형 종양에서 중요한 단일 작용제 활성을 나타냈다(Topalian 등, (2012) *N. Engl. J. Med.* 366:2443-54; Hamid 등, (2013), *N. Engl. J. Med.* 369:134-44; Topalian 등, (2014) *J. Clin. Oncol.* 32:1020-31; Seiwert 등, (2014) *J. Clin.*

Oncol (Meeting Abstracts) 32(15s):6011; Powles 등, (2014) Nature 515:558-62; Garon 등, (2015) N. Engl. J. Med 372:2018-28; Moreno & Ribas (2015) Br. J. Cancer 112:1421-7; Robert 등, (2015) N. Engl. J. Med. 372:320-30). 이전에 치료되고 절제불가능한 흑색종을 가진 환자에서 펌브롤리주맵과 니볼루맵에 대한 반응률은 각각 34%와 31%였으며; 무 진행 생존율은 각각 50주 및 9.7개월이었다(Ribas 등, (2014) J. Clin. Oncol. (Meeting Abstracts) 32(15s):LBA9000; Topalian 등, (2014) supra). 진행된, 이전에 치료되지 않은 비-소세포 폐암 환자에서 펌브롤리주맵과 니볼루맵에 대한 반응률은 26%와 30%였다(Rizvi 등, (2014) J. Clin. Oncol. (Meeting Abstracts) 32(15s):8007; Gettinger 등, (2014) J. Clin. Oncol. (Meeting Abstracts) 32(15s):8024). 위에 설명된 반응률에서 볼 수 있듯이 일부 환자에서 유의미한 활성에도 불구하고, 단일 약제 항-PD-1 면역요법으로 치료받은 대다수의 환자는 치료의 혜택을 받지 못한다.

[0014] 항-종양 면역력을 강화시키는 치료 접근법은 면역 반응의 하나 이상의 단계, 예를 들어, 항-종양 면역 반응에서 다수의 성분을 표적으로 함으로써 면역 반응이 최적화될 때, 보다 효과적으로 작용할 수 있다고 믿어진다. 예를 들어, (예를 들어, 대식세포 분극화를 증가시킴으로써, Treg 고갈을 증가시킴으로써, 및/또는 골수성-유도성 억제 세포(MDSC)를 감소시킴으로써) 종양의 면역억제 신호전달을 차단하면서, (예를 들어, 식균세포 및/또는 종양 침윤 림프구(예를 들어, NK 세포 및 T 세포)를 자극, 예를 들어 탈억제함으로써) 세포성 및 체액성 면역 반응을 개선시키는 접근법은 보다 효과적인 및/또는 연장된 치료 반응을 초래할 수 있다. 따라서 암 면역요법에 대한 병용 요법이 바람직하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 따라서, 종양 미세환경에서 면역억제 효과를 제거하는 병용 요법이 본원에 개시되며, 본원에 개시된 병용물은 병용 치료제의 단일 요법 투여와 비교하여 예를 들어, 질병의 치료에 있어서 우수한 유리한 효과, 예컨대 항암 효과의 증진, 감소된 독성 및/또는 감소된 부작용을 제공할 수 있다. 예를 들어, 병용물 중의 하나 이상의 치료제는 단일요법 투여와 비교하여 동일한 치료 효과를 달성하는데 요구되는 용량보다 낮은 투여용량으로, 또는 짧은 투여 기간 동안 또는 덜 빈번하게 투여될 수 있다. 따라서, 병용 요법을 사용하여 암 및 기타 면역 질환을 치료하기 위한 조성물 및 방법이 개시되어 있다.

과제의 해결 수단

[0016] 일 양태에서, 병용 요법은 면역 시스템을 향상시키기 위해 sIL-15Ra와 복합체를 이루는 IL-15와 같은 면역 증강제와 함께 PD-1과 같은 면역억제 단백질의 활성을 조절하는 제제를 포함한다. 상기 병용 요법은 예를 들어, 만성 감염과 같은 다른 질환의 치료 및 암 면역요법에 사용될 수 있다.

[0017] 일 실시형태에서, 대상체에서 장애, 예를 들어 과증식 병태 또는 장애(예를 들어, 암)를 치료(예를 들어, 억제, 감소, 개선 또는 예방)하는 방법이 본원에 제공된다. 상기 방법은 대상체에게 IL-15 신호전달을 유도하고 항-PD-1 항체 분자, 예를 들어 본원에 기재된 항-PD-1 항체 분자와 병용하여 IL-15-매개된 면역 기능을 증강시키는 제제를 투여하는 단계를 포함하는, IL-15-매개된 면역 기능을 증강시키는 제제를 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 보다 구체적으로, 항-PD-1 항체 분자와 병용된 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에 투여함으로써 대상체의 질환, 예를 들어, 과증식 병태 또는 장애(예를 들어, 암)를 치료(예를 들어, 억제, 감소, 개선 또는 예방)하는 방법이 본원에 제공된다. 또한, 대상체의 질환, 예를 들어, 과증식 병태 또는 장애(예를 들어, 암)를 치료(예를 들어, 억제, 감소, 개선 또는 예방)하는데 사용하기 위한, 항-PD-1 항체 분자와 병용된 IL-15/IL-15Ra 복합체가 제공된다. 대상체의 질환, 예를 들어, 과증식 병태 또는 장애(예를 들어, 암)를 치료(예를 들어, 억제, 감소, 개선 또는 예방)하기 위한 약제를 제조하는데 사용하기 위한, 항-PD-1 항체 분자와 병용된 IL-15/IL-15Ra 복합체가 추가로 제공된다.

[0018] 일 실시형태에서, 대상체의 암을 치료하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은 대상체에게: (a) 적어도 하나의 초기 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체 이후에 증가하는 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체를; (b) 항-PD-1 항체 분자와 병용하여 투여하는 단계를 포함한다. 또한, 대상체의 암을 치료하는데 사용하기 위한 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자로서, (a) IL-15/IL-15Ra 복합체가 대상체에게 초기 용량으로 투여된 후, 증가하는 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체가; (b) 항-PD-1 항체 분자와 병용하여 투여되는 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자가 제공된다. 또한, 암을 치료하기 위한 약제를 제조하는데 사용하기 위한 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자로서, (a) IL-15/IL-15Ra 복합체가 대상체에게 초기 용량으로 투여된 후, 증가하는 용량의

IL-15/IL-15Ra 복합체가; (b) 항-PD-1 항체 분자와 병용하여 투여되는 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자가 추가로 제공된다.

- [0019] 일 실시형태에서, IL-15와 IL-15Ra의 가용성 형태와의 복합체를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 일 실시형태에서, 조성물의 IL-15는 인간 IL-15이다. 상기 복합체는 IL-15Ra의 가용성 형태에 공유 결합 또는 비공유 결합된 IL-15를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 인간 IL-15는 IL-15Ra의 가용성 형태에 비공유 결합된다. 특정 실시형태에서, 조성물의 인간 IL-15는 표 1의 서열 번호 1의 아미노산 서열 또는 표 1의 서열 번호 1의 아미노산 잔기 49 내지 162를 포함하고, 및 IL-15Ra의 가용성 형태는 서열 번호 10의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약제학적 조성물이다.
- [0020] 일 실시형태에서, 고친화성 및 특이성으로 프로그래밍된 사멸 1(PD-1)에 결합하는 항체 분자(예를 들어, 인간화 항체 분자)가 본 명세서에 제공된다. 항체 분자를 인코딩하는 핵산 분자, 약제학적 조성물 및 항체 분자를 포함하는 용량 제형이 또한 제공된다.
- [0021] 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에, 예를 들어, 치료 프로토콜의 일부로서 투여함으로써, 예를 들어 (a) 제1 치료 주기에서 IL-15/IL-15Ra 복합체의 초기 투여용량을 대상체에 투여함으로써; 및 추가 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에 각 연속적 치료 주기로 투여함으로써, 또는 (b) 초기 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체를 제1 치료 주기에서 대상체에 투여함으로써; 및 연속적으로 더 많은 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에 각 연속적 치료 주기로 투여함으로써, 과증식 병태 또는 장애, 예를 들어 암을 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 예를 들어, 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 제1 치료 주기에서 초기 투여용량으로 대상체에게 투여되고, 그런 다음 동일한 용량의 반복 투여가 제2 및 반복 치료 주기에서 이루어진다. 일부 실시형태에서, 제1 주기의 투여용량은 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 또는 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이며, 이어서 동일 투여용량의 연속 주기이다. 특정 실시형태에서, 제1 주기의 투여용량은 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이고, 제2 주기에서 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 및 제 3 주기에서 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 투여용량이 뒤따른다. 예를 들어, 대상체는 3주간 주1회 동일한 용량을 투여받고, 그후 각 치료 주기(28일)동안 1주 휴식을 취할 수 있다. 특정 실시형태에서, 투여용량은 피하(SC) 투여될 수 있다. 예를 들어, 대안적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체가 제1 치료 주기에서 초기 투여용량으로 대상체에게 투여되는 경우, 투여 요법의 제2 주기에서 대상체에게 투여된 투여용량은 제1주기 동안 투여된 투여용량에 비해 증가되며, 제 3주기 동안 대상체에게 투여된 투여용량이 제2주기 동안 투여된 투여용량에 비해 증가되고, 제4 주기 동안 대상체에게 투여된 투여용량은 제3 주기 동안 투여된 투여용량에 비해 증가되고, 제5 주기 동안 대상체에게 투여된 투여용량은 제 4주기 동안 투여된 투여용량에 비해 증가된다. 일부 실시형태에서, 제1 주기의 투여용량은 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이며, 각각 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 및 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 투여용량 수준에서의 연속 주기가 뒤따른다. 특정 실시형태에서, 제1 주기의 투여용량은 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이고, 제2 주기에서는 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 제3 주기에서는 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 및 제4 주기에서 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 투여용량이 뒤따른다. 예를 들어, 대상체는 2주 동안 동일한 용량을 주 3회 받을 수 있으며, 각 치료주기(28일) 동안 2주씩 휴식을 취할 수 있다. 특정 실시형태에서, 투여용량은 피하(SC) 투여될 수 있다.
- [0022] 일 실시형태에서, 예를 들어, 치료 프로토콜의 일부로서 3주에 1회 또는 4주에 1회 약 300 mg 내지 400 mg의 항-PD-1 항체 분자의 투여용량으로 항-PD-1 항체 분자를 대상체에게 투여함으로써, 과증식 병태 또는 장애, 예를 들어 암을 치료하는 방법이 본 명세서에서 제공된다. 일 실시형태에서, 용량은 매 3주마다 1회 약 300 mg의 항-PD-1 항체 분자이다. 또 다른 실시형태에서, 용량은 매 4주마다 1회 약 300 mg의 항-PD-1 항체 분자이다. 특정 실시형태에서, 용량은 매 4주마다 1회 약 400 mg의 항-PD-1 항체 분자이다. 특정 실시형태에서, 투여용량은 주입으로서 정맥내(IV) 투여될 수 있다.
- [0023] 또 다른 양태에서, 본 발명은 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IL-15/IL-15Ra 복합체 및/또는 항-PD-1 항체 분자)를 포함하는 조성물(예를 들어, 하나 이상의 조성물 또는 투여 형태)을 특징으로 한다. IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자를 포함하는 제형, 예를 들어 투여 제형, 및 키트, 예를 들어 치료적 키트가 또한 본 명세서에 기재된다. 특정 실시형태에서, 조성물 또는 제형은 400 mg의 항-PD-1 항체 분자(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-PD-1 항체 분자)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물 또는 제형은 매 3주마다 1회 투여 또는 사용된다. 특정 실시형태에서, 조성물 또는 제형은 매 4주마다 1회 투여 또는 사용된다.
- [0024] 일 양태에서, 용량 요법으로 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에게 피하 투여하는 단계를 포함하는, IL-15-매개된 면역 기능을 증진시키는 방법이 본원에 제공되며, 상기 요법에서의 투여 주기는 하기를 포함한다: (a) IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량을 제1 기간에 걸쳐 설정된 시간 간격으로 대상체에게 피하 투여하는 주기; 및

(b) 제2 기간 동안 IL-15/IL-15Ra 복합체를 투여하지 않는 주기. 특정 실시형태에서, 투여 주기가 2, 3, 4, 5, 6회 또는 그 이상 반복되며, 각 시간은 IL-15/IL-15Ra 복합체의 동일 투여용량 또는 증가 투여용량을 갖는다. 일부 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 매일, 격일, 3, 4, 5, 6 또는 7일마다 빈번하게 투여된다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra는 주 3회(예를 들어, 월요일, 수요일, 금요일) 투여된다. 다른 실시형태에서, 제1 및 제2 기간은 상이하다. 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여를 위한 제1 기간은 1주 내지 4주, 2 내지 4주, 2 내지 3주, 또는 1 내지 2주이다. 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여를 위한 제1 기간은 1주, 2주, 3주 또는 4주이다. 일부 실시형태에서, 제2 기간은 1주일 내지 2개월, 1 내지 8주, 2 내지 8주, 1 내지 6주, 2 내지 6주, 1 내지 5주, 2 내지 5주, 1 내지 4주, 2 내지 4주, 2 내지 3주, 1 내지 2주, 3주, 2주 또는 1주이다. 구체적인 실시형태에서, 제1 기간은 3주일이며, 제2 기간은 1주일이다. 일부 실시형태에서, 제1 주기의 제1 기간 동안 투여되는 투여용량은 동일하고 후속 주기 동안 변화되지 않은 채로 유지된다. 예를 들어, 제1 주기 및 각 후속 주기의 투여용량은 0.1 µg/kg 내지 0.5 µg/kg, 0.25 µg/kg 내지 1 µg/kg, 0.5 µg/kg 내지 2 µg/kg, 1 µg/kg 내지 4 µg/kg, 또는 2 µg/kg 내지 8 µg/kg, 더욱 구체적으로 0.25 µg/kg, 0.5 µg/kg, 1 µg/kg, 2 µg/kg, 4 µg/kg 또는 8 µg/kg이다. 구체적인 실시형태에서, 상기 투여용량은 제1 주기의 제1 기간동안 1 µg/kg이고, 각 후속 주기동안 1 µg/kg이다. 추가의 실시형태에서, 제1 주기의 투여용량은 용량 요법의 하나 이상의 후속 주기에 사용된 투여용량보다 적다. 일 실시형태에서, 후속 주기의 투여용량은 이전 주기의 투여용량의 2배이다. 일 실시형태에서, 제1 주기 및 각 후속 주기의 투여용량은 0.1 µg/kg 내지 0.5 µg/kg, 0.25 µg/kg 내지 1 µg/kg, 1 µg/kg 내지 5 µg/kg, 또는 5 µg/kg 내지 10 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 제1 주기 및 각 후속 주기의 제1 투여용량은 0.1 µg/kg 내지 0.5 µg/kg, 0.25 µg/kg 내지 1 µg/kg, 0.5 µg/kg 내지 2 µg/kg, 1 µg/kg 내지 4 µg/kg, 또는 2 µg/kg 내지 8 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 제1 주기의 투여용량은 0.25 µg/kg, 0.5 µg/kg, 1 µg/kg, 2 µg/kg, 4 µg/kg 또는 8 µg/kg이다. 특정 실시형태에서, 제1 주기 및 각 후속 주기의 투여용량은 각각 1 µg/kg, 및 2 µg/kg, 4 µg/kg, 8 µg/kg이다.

[0025] 일 실시형태에서, 예를 들어, 치료 프로토콜의 일부로서 약 300 mg 내지 400 mg의 항-PD-1 항체 분자의 투여용량으로 항-PD-1 항체 분자를 대상체에게 투여함으로써, 항-종양 면역력을 증강시키는 방법이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 3주마다 1회 또는 4주마다 1회 투여될 수 있다. 특정 실시형태에서, 용량은 약 400 mg의 항-PD-1 항체 분자이며, 매 4주마다 1회 투여된다. 특정 실시형태에서, 용량은 약 300 mg의 항-PD-1 항체 분자이며, 매 3주마다 1회 투여된다.

[0026] 일 양태에서, 예를 들어, 치료 프로토콜의 일부로서, (a) 대상체에게 IL-15/IL-15Ra 복합체를 초기 투여용량으로 SC 투여하고 IV 주입에 의해 항-PD-1 항체 분자를 투여함으로써; (b) 제1 기간에 걸쳐 설정된 시간 간격으로 대상체에게 IL-15/IL-15Ra 복합체를 투여하는 것을 반복함으로써; (c) 제2 기간 동안 IL-15/IL-15Ra 복합체를 투여하지 않음으로써; 및 (d) 단계 (a) 내지 (c)를 IL-15/IL-15Ra 복합체의 동일하거나 증가하는 투여용량으로 반복함으로써, 대상체에게 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물을 투여함으로써 과증식 병태 또는 장애를 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여를 위한 제1 기간은 1주, 2주, 3주 또는 4주이다. 일부 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여를 위한 제2 기간은 1주, 2주, 3주 또는 4주이다. 구체적인 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자의 투여를 위한 제1 기간은 1주, 2주, 3주, 4주, 5주 또는 6주이다. 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여를 위한 제1 기간은 3주이며, 제2 기간은 1주이며, 항-PD-1 항체 분자의 투여를 위한 기간은 4주이다. 특정 실시형태에서, 제1 주기의 투여용량은 용량 요법의 하나 이상의 후속 주기에 사용된 투여용량과 동일하다. 대안적인 실시형태에서, 제1 주기의 투여용량은 용량 요법의 하나 이상의 후속 주기에 사용된 투여용량보다 적다. 일 실시형태에서, 후속 주기의 투여용량은 이전 주기의 투여용량의 2배이다. 일 실시형태에서, 초기 투여용량 및 후속하는 또는 증가하는 투여용량 각각의 IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량은 0.25 µg/kg 내지 1 µg/kg, 1 µg/kg 내지 5 µg/kg, 또는 5 µg/kg 내지 10 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 초기 투여용량 및 후속하는 또는 증가하는 투여용량 각각의 IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량은 0.5 µg/kg 내지 2 µg/kg, 1 µg/kg 내지 4 µg/kg, 또는 2 µg/kg 내지 8 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 초기 투여용량 및 후속하는 또는 증가하는 투여용량 각각의 IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량은 1 µg/kg, 2 µg/kg, 4 µg/kg 또는 8 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체와 병용하여 투여된 항-PD-1 항체 분자의 투여용량은 약 300 mg 내지 400 mg이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 3주마다 1회 또는 4주마다 1회 투여될 수 있다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체와 병용하여 투여된 항-PD-1 항체 분자의 투여용량은 약 400 mg이며, 4주마다 1회 투여된다.

[0027] 일 양태에서, 예를 들어, 치료 프로토콜의 일부로서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물을 대상체에게 투여함으로써, 과증식 병태 또는 장애, 예를 들어 암을 치료하는 방법이 본 명세서에서 제공된다.

일 실시형태에서, 상기 치료 프로토콜은 하기를 포함한다: (a) 3 주간의 제1 기간에 매주 1 µg/kg의 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에게 피하 투여하고; 및 IL-15/IL-15Ra 복합체의 최초 투여와 동일한 날에 400 mg의 용량의 항-PD-1 항체 분자를 IV 주입에 의해 투여하는 단계; 및 (b) IL-15/IL-15Ra 복합체가 대상체에 투여되지 않은 1주간의 제2 기간 후, 3주간 동일한 용량의 상기 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에게 피하 투여하고; 및 후속 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체의 최초 투여와 동일한 날에 400 mg의 용량의 항-PD-1 항체 분자를 IV 주입에 의해 투여하는 단계. 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량은 2 µg/kg, 4 µg/kg 또는 8 µg/kg이다. 대안적인 실시형태에서, 상기 치료 프로토콜은 하기를 포함한다: (a) 2 주간의 제1 기간에 주당 3회 (예를 들어, 월요일, 수요일, 금요일) 1 µg/kg의 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에게 피하 투여하고; 및 IL-15/IL-15Ra 복합체의 최초 투여와 동일한 날에 400 mg의 용량의 항-PD-1 항체 분자를 IV 주입에 의해 투여하는 단계; 및 (b) IL-15/IL-15Ra 복합체가 대상체에 투여되지 않은 2주간의 제2 기간후, 2주간 주당 3회(예를 들어, 월요일, 수요일, 금요일) 더 많은 용량의 상기 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에게 피하 투여하고; 및 더 많은 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체의 최초 투여와 동일한 날에 400 mg의 용량의 항-PD-1 항체 분자를 IV 주입에 의해 투여하는 단계. 일부 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량은 각 처리 주기동안, 2 µg/kg, 4 µg/kg 또는 8 µg/kg으로 증가된다.

[0028] 투여 요법은 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회 또는 그 이상, 또는 2 내지 5회, 5 내지 10회, 10 내지 15회, 15 내지 20회, 20 내지 25회 또는 그 이상 진행될 수 있다. 특정 실시형태에서, 투여용량 확대 요법은 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 적어도 1년 또는 그 이상동안 반복된다. 특정 실시형태에서, 투여용량 확대 요법은 3 내지 6개월, 6 내지 9개월, 6 내지 12개월, 1 내지 1.5년, 1 내지 2년, 1.5 내지 2년 또는 그 이상 동안 반복된다.

[0029] 특정 실시형태에서, IL-15 및/또는 림프구 수의 혈장 수준이 모니터링된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 혈압 감소 및/또는 체온 증가 및/또는 혈장내 사이토카인 증가와 같은 부작용에 대해 모니터링된다. 특정 실시형태에서, 투여 요법의 제1 주기 동안 투여된 IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량은 대상체가 어떠한 부작용도 갖지 않는다면 순차적으로 증가된다. 일부 실시형태에서, 투여 요법의 제1 주기 동안 투여된 IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량은 대상체가 임의의 투여용량 제한 독성, 예를 들어, 3급 또는 4급 부작용, 예컨대 림프구 감소증, 3급 과립구 감소증, 3급 백혈구증(WBC > 100,000/mm³) 또는 기관 기능장애를 경험하지 않는 경우, 후속 주기동안 증가된다.

[0030] IL-15-매개된 면역 기능을 증진시키는 것이 유익한 질환의 비-제한적인 예는 암, 림프구감소증, 면역결핍증, 감염성 질환 및 상처를 포함한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15-매개된 면역 기능을 증진시키는 것이 유익한 질환은 전이성 암을 비롯한 암이다. 또 다른 구체적인 실시형태에서, IL-15-매개된 면역 기능을 증진시키는 것이 유익한 암은 고형 종양, 예컨대 육종, 암종 또는 림프종을 포함한다. 고형 종양의 보다 구체적인 예로는 유방암, 전립선 암, 폐암, 간암, 췌장암 및 흑색종이 포함된다. 또 다른 실시형태에서, 암, 예를 들어, 흑색종, 비-소세포 폐암 또는 방광암은 항-PD-1 항체 분자에 의한 치료에 조직적으로 민감하다. 대안적인 실시형태에서, 암은 항-PD-1 항체 분자에 의한 치료에 조직적으로 내성이다.

[0031] 본 명세서에 기재된 방법에 따라 대상체에게 투여된 IL-15/IL-15Ra 복합체는 야생형 IL-15Ra 또는 IL-15Ra 유도체에 공유 결합 또는 비공유 결합된 야생형 IL-15 또는 IL-15 유도체를 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 야생형 IL-15 및 야생형 IL-15Ra를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 IL-15 유도체 및 야생형 IL-15Ra를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 자연발생 이종이량체 형태이다. 또 다른 실시형태에서, IL-15 는 인간 IL-15이며, IL-15Ra는 인간 IL-15Ra이다. 구체적인 실시형태에서, 인간 IL-15는 표 1의 서열 번호 1의 아미노산 서열 또는 표 1의 서열 번호 1의 아미노산 잔기 49 내지 162를 포함하고, 및 인간 IL-15Ra는 표 1의 서열 번호 6의 아미노산 서열 또는 그의 단편을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, IL-15는 표 1의 서열 번호 1의 아미노산 서열 또는 표 1의 서열 번호 1의 아미노산 잔기 49 내지 162를 포함하고, 및 IL-15Ra는 표 1의 서열 번호 7 또는 10의 아미노산 서열을 포함한다. 구체적인 실시형태에서, 인간 IL-15는 표 1의 서열 번호 1의 아미노산 서열의 아미노산 잔기 49 내지 162를 포함하고, 및 인간 IL-15Ra는 표 1의 서열 번호 10의 아미노산 서열을 포함한다.

[0032] 다른 실시형태에서, IL-15Ra는 글리코실화가 IL-15Ra의 질량의 적어도 또는 20%, 30%, 40% 또는 50% 이상을 차지하도록 글리코실화된다. 또 다른 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 야생형 IL-15 및 IL-15Ra 유도체를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 IL-15 유도체 및 IL-15Ra 유도체를 포함한다. 일 실

시형태에서, IL-15Ra 유도체는 야생형 IL-15Ra의 가용성 형태이다. 또 다른 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 내인성 프로테아제에 의한 절단을 억제하는 돌연변이를 포함한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15Ra의 세포외 도메인 절단 부위는 이중 프로테아제에 의해 특이적으로 인식되는 절단 부위로 대체된다. 일 실시형태에서, IL-15Ra의 세포외 도메인 절단 부위는 이중 세포외 도메인 절단 부위(예를 들어, IL-15Ra를 절단하는 내인성 프로세싱 효소와 무관한 다른 효소에 의해 인식되고 절단되는 이중 막투과 도메인)로 대체된다.

[0033] 일 실시형태에서, PD-1 억제제는 "PD-1에 대한 항체 분자 및 그의 용도"라는 발명의 명칭의 미국 특허 출원 제 2015/0213769호에 기재된 바와 같은 항-PD-1 항체 분자이다. 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체로부터의 적어도 하나의 항원-결합 영역, 예를 들어 가변 영역 또는 이의 항원-결합 단편, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 진술한 서열 중 임의의 서열과 실질적으로 동일한(예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일함) 서열에 의해 코딩된 항체를 포함한다.

[0034] 본 명세서에 기재된 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 방법에서 사용하기에 바람직하지만, 다른 항-PD-1 항체가 본 명세서에 기재된 항 PD-1 항체 분자 대신에 또는 이 항체 분자와 병용하여 사용될 수 있다.

[0035] 병용 요법의 용도

[0036] 본 명세서에 개시된 병용물은 하기 중 하나 이상의 결과를 가져올 수 있다: 항원 제시의 증가, 이펙터 세포 기능의 증가(예를 들어, T 세포 증식, IFN- α 분비 또는 세포용해 기능 중 하나 이상), 조절성 T 세포 기능의 억제, 다수의 세포 유형, 예컨대 조절성 T 세포, 이펙터 T 세포 및 NK 세포의 활성화에 대한 효과, 종양 침윤 림프구의 증가, T-세포 수용체 매개 증식의 증가, 및 암성 세포에 의한 면역 회피의 감소. 일 실시형태에서, 병용물에서의 IL-15/IL-15Ra 복합체의 사용은 면역 반응을 자극한다. 일 실시형태에서, 본 병용물에서의 PD-1 억제제의 사용은 PD-1의 하나 이상의 활성을 억제, 감소 또는 중화시키며, 그 결과 면역 관문의 차단 또는 감소로 이어진다. 따라서, 그러한 병용물은 대상체에서 면역 반응의 증가가 요구되는 장애, 예를 들어 암을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다.

[0037] 따라서, 또 다른 양태에서는, 대상체에서 면역 반응을 조절하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본 명세서에 개시된 병용물(예를 들어, 치료적 유효량의 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자를 포함하는 병용물)을 단독으로 또는 하나 이상의 제제 또는 과정과 병용하여 대상체에게 투여하여, 대상체에서 면역 반응이 조절되도록 하는 단계를 포함한다. 대상체는 포유동물, 예를 들어 영장류, 바람직하게는 고등 영장류, 예를 들어 인간(예를 들어, 본 명세서에 기재된 장애를 갖거나, 가질 위험이 있는 환자)일 수 있다. 일 실시형태에서, 대상체는 면역 반응의 증가를 필요로 한다. 일 실시형태에서, 대상체는 본 명세서에 기재된 장애, 예를 들어 본 명세서에 기재된 암 또는 감염성 장애를 갖거나, 가질 위험이 있다. 특정 실시형태에서, 대상체는 면역손상되거나, 면역손상될 위험이 있다. 예를 들어, 대상체는 화학요법 치료 및/또는 방사선 요법을 받고 있거나 받았었다. 대안적으로, 또는 병용하여, 대상체는 감염의 결과로서 면역손상되거나, 면역손상될 위험이 있다.

[0038] 일 양태에서, 대상체의 암 또는 종양을 치료(예를 들어, 진행 감소, 억제 또는 지연 중 하나 이상)하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 본 명세서에 개시된 병용물(예를 들어, 치료적 유효량의 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자를 포함하는 병용물)을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0039] 특정 실시형태에서, 병용물로 치료된 암은 고형 종양, 혈액 암(예를 들어, 백혈병, 림프종, 골수종, 예컨대 다발성 골수종) 및 전이성 병변을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일 실시형태에서, 암은 고형 종양이다. 고형 종양의 예는 악성종양, 예를 들어 육종 및 암종, 예를 들어 다양한 장기 시스템의 선암종, 예컨대 폐, 유방, 난소, 림프구, 위장(예를 들어, 결장), 항문, 생식기 및 비뇨 생식 기관(예를 들어, 신장, 요로 감염, 방광 세포, 전립선 암), 인두, CNS(예를 들어 뇌, 신경 또는 신경 교세포), 두경부, 피부(예를 들어, 흑색종), 췌장에 영향을 미치는 것들 뿐만 아니라 악성종양, 예컨대 결장암, 직장 암, 신장 세포 암종, 간암, 비-소세포 폐암, 소장 암 및 식도암을 포함하는 선암종을 포함한다. 암은 초기, 중기, 후기 또는 전이성 암일 수 있다.

[0040] 일 실시형태에서, 암은 폐암(예를 들어, 비-소세포 폐암(NSCLC)(예를 들어 편평 및/또는 비-편평 조직학을 갖는 NSCLC 또는 NSCLC 선암종)), 흑색종(예를 들어, 진행성 흑색종), 신장 암(예컨대, 신장 세포 암종), 간암, 골수종(예를 들어, 다발성 골수종), 전립선 암, 방광암, 유방암(예를 들어, 에스트로젠 수용체, 프로게스테론 수용체 또는 Her2/neu 중 하나, 둘 또는 모두를 발현하지 않는 유방암, 예를 들어 삼중 음성 유방암), 결장 직장암, 췌장암, 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포암종(HNSCC), 항문암, 위-식도 암, 갑상선암, 자궁 경부암, 림프 증식성 질환(예를 들어, 이식 후 림프 증식성 질환) 또는 혈액 암, T-세포 림프종, B-세포 림프종, 비-호 지킨

림프종 또는 백혈병(예를 들어, 골수성 백혈병 또는 림프성 백혈병)으로부터 선택된다.

- [0041] 또 다른 실시형태에서, 암은 암종(예를 들어, 진행성 또는 전이성 암종), 흑색종 또는 폐암종, 예를 들어 비-소세포 폐암종으로부터 선택된다.
- [0042] 일 실시형태에서, 암은 폐암, 예를 들어 비-소세포 폐암 또는 소세포 폐암이다.
- [0043] 일 실시형태에서, 암은 흑색종, 예를 들어 진행성 흑색종이다. 일 실시형태에서, 암은 다른 치료법에 반응하지 않는 진행성 또는 절제 불가능한 흑색종이다. 다른 실시형태에서, 암은 BRAF 돌연변이(예를 들어, BRAF V600 돌연변이)를 갖는 흑색종이다. 또 다른 실시형태에서, 본원에 개시된 병용요법(예를 들어, 항-PD-1 항체 분자를 포함하는 병용물)은 BRAF 억제제(예를 들어, 베무라페닙 또는 다브라페닙)가 있거나 없는 항-CTLA4 항체(예를 들어, 이필리무맙)에 의한 치료후 투여된다.
- [0044] 또 다른 실시형태에서, 암은 간암종, 예를 들어 바이러스 감염이 있거나 없는 진행성 간암종, 예를 들어 만성 바이러스성 감염이다.
- [0045] 또 다른 실시형태에서, 암은 전립선 암, 예를 들어, 진행성 전립선 암이다.
- [0046] 또 다른 실시형태에서, 암은 골수종, 예컨대 다발성 골수종이다.
- [0047] 또 다른 실시형태에서, 암은 신장 암, 예를 들어 신장 세포 암종(RCC)(예를 들어, 전이성 RCC 또는 투명 세포 신장 세포 암종(CCRCC))이다.
- [0048] 일 실시형태에서, 암 미세환경은 PD-L1 발현 수준이 높다. 대안적으로, 또는 병용하여, 암 미세환경은 증가된 IFN α 및/또는 CD8 발현을 가질 수 있다.
- [0049] 특정 실시형태에서, 대상체는 항-PD-1 항체 분자에 의한 치료에 조직적으로 민감한 암을 갖는다. 예를 들어, NSCLC, 흑색종 또는 방광암. 대안적인 실시형태에서, 대상체는 항-PD-1 항체 분자에 의한 치료에 조직적으로 내성인 암을 갖는다.
- [0050] 일부 실시형태에서, 대상체는 하나 이상의 높은 PD-L1 수준 또는 발현을 갖는 종양, 또는 종양 침윤 림프구(TIL)+ (예를 들어, 증가된 수의 TIL을 갖는 종양), 또는 둘다를 보유하거나, 보유하는 것으로 확인된다. 특정 실시형태에서, 대상체는 높은 PD-L1 수준 또는 발현을 갖고, 및 TIL+인 종양을 보유하거나 또는 보유하는 것으로 확인된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 높은 PD-L1 수준 또는 발현을 갖거나, 및 TIL+인 종양을 갖거나, 또는 둘다인 종양을 갖는 것에 기초하여 대상체를 확인하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 높은 PD-L1 수준 또는 발현을 갖고, 및 TIL+인 종양을 갖는 것에 기초하여 대상체를 확인하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, TIL+인 종양은 CD8 및 IFN γ 에 대해 양성이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 PD-L1, CD8 및/또는 IFN γ 중 하나, 둘 또는 그 이상에 대해 양성인 세포의 비율이 높거나, 이를 갖는 것으로 확인된다. 특정 실시형태에서, 대상체는 PD-L1, CD8 및 IFN γ 모두에 대해 양성인 세포의 비율이 높거나, 이를 갖는 것으로 확인된다.
- [0051] 추가의 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 바와 같은 병용물, 예를 들어 치료적 유효량의 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 본 명세서에 기재된 항-PD-1 항체 분자를 포함하는 병용물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 감염성 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 감염성 질환은 간염(예를 들어, C형 간염 감염), 또는 폐혈증으로부터 선택된다.
- [0052] 본 명세서에 기재된 바와 같은 병용물은 전신적으로(예를 들어, 경구, 비경구, 피하, 정맥 내, 직장 내, 근육 내, 복강 내, 비강 내, 경피 또는 흡입 또는 공동 내 투여) 투여될 수 있다.
- [0053] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물은 다른 항체 분자, 화학요법, 다른 항암 요법(예를 들어, 표적화된 항암 요법, 유전자 요법, 바이러스 요법, RNA 요법 골수 이식, 나노요법, 또는 종양용해성 약물), 세포독성제, 면역-기반 요법(예를 들어, 사이토카인 또는 세포-기반 면역 요법), 외과적 처치(예를 들어, 소피 절제술(lumpectomy) 또는 유방절제술(mastectomy)) 또는 방사선 처치, 또는 이들 중 임의의 것의 병용물 중 하나 이상과 병용하여 투여된다. 추가의 요법은 애주번트 또는 네오애주번트 요법의 형태일 수 있다. 일부 실시형태에서, 추가의 치료법은 효소적 억제제(예를 들어, 소분자 효소적 억제제) 또는 전이성 억제제이다. 병용 투여될 수 있는 예시적인 세포독성제는 항미세소관제, 토포이소머라제 억제제, 항대사물제, 유사분열 억제제, 알킬 화제, 안트라사이클린, 빈카 알칼로이드, 삽입제(intercalating agent), 신호 전달 경로를 방해할 수 있는 작용제, 아포토시스를 촉진하는 작용제, 프로테아좀 억제제, 및 방사선(예를 들어, 국부 또는 전신 조사(예를 들어,

감마 조사))를 포함한다. 다른 실시형태에서, 추가의 요법은 수술 또는 방사선, 또는 이들의 병용이다. 다른 실시형태에서, 추가의 요법은 PI3K/AKT/mTOR 경로 중 하나 이상을 표적으로 하는 요법, HSP90 억제제, 또는 튜블린 억제제이다.

도면의 간단한 설명

[0054] **도 1:** 도 1은 스타필로코커스 장독소 B(SEB) 분석에서 IL-2 생성에 대한 IL-15/IL-15Ra 복합체와 항 PD-1 항체 분자의 병용물의 투여의 부가적 또는 상승적 효과를 나타낸다. IL-15/IL-15Ra 복합체를 PDR001과 동일한 날에 첨가하거나('콤보 동시') 또는 항-PD-1 항체 분자 투여 72시간 후 배양액에 새로 제조된 IL-15/IL-15Ra 복합체를 첨가한('콤보 순차적'), 4개의 공여체 PBMC 제제에서 IL-2 발현을 측정하였다. 4가지 상이한 공여체(E-012, E421, E444 및 1011)에 대한 분석을 3회 수행하였고, 그 결과를 각각 도 1a~b, 1c~d, 1e~f 및 1g~h에 나타내었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0055] 고친화성 및 특이성으로 프로그래밍된 사멸 1(PD-1)에 결합하는 항체 분자(예를 들어, 인간화 항체 분자)뿐만 아니라 IL-15와 IL-15Ra의 복합체가 적어도 부분적으로 본 명세서에 개시된다. IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항체 분자를 인코딩하는 핵산 분자, 발현 벡터, 숙주 세포, 및 IL-15/IL-15Ra 복합체와 항체 분자의 제조 방법이 또한 제공된다. IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항체 분자를 포함하는 약제학적 조성물 및 투여 제형이 또한 제공된다. 본 명세서에 개시된 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자는 단독으로 또는 병용하여 사용되어, 암성 장애(예를 들어, 고형 및 연질-조직 종양)와 같은 장애뿐만 아니라 전염병(예를 들어, 만성 전염성 장애 또는 패혈증)을 치료, 예방 및/또는 진단할 수 있다. 따라서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물을 사용하여, 암 및/또는 전염병을 비롯한 다양한 질환을 치료하기 위한 병용 조성물 및 방법이 본 명세서에 개시된다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 증가하는 투여 요법으로 투여된다. 특정 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 균일 또는 고정 용량으로 투여 또는 사용된다.

[0056] 이론에 얽매이기를 바라지 않으면서, 면역 반응이 면역 반응의 상이한 단계에서 다수의 표적을 통해 최적화될 때 항-종양 면역을 강화시키는 치료 접근법이 보다 효과적으로 작용한다고 믿어진다. 예를 들어, 면역 관문 경로를 조절하는 접근법과 병용된 IL-15 매개 면역 기능의 향상을 가져오는 접근법은 보다 효과적이고/이거나, 연장된 치료 반응을 초래할 수 있다.

[0057] 용어

[0058] 추가의 용어가 하기에 그리고 본 출원의 전체에 걸쳐 정의된다.

[0059] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 단수 형태는 상기 물품의 문법적 목적물 중 하나 또는 둘 이상(예를 들어, 적어도 하나)을 지칭한다.

[0060] 용어 "또는"은, 문맥이 달리 명확히 나타내지 않는 한, 용어 "및/또는"을 의미하는 것으로 본 명세서에서 사용되고, "및/또는"과 상호호환적으로 사용된다.

[0061] "약" 및 "대략"은 일반적으로 측정의 성질 및 정확도를 고려하여, 측정된 양에 대해 허용되는 오차의 정도를 의미할 것이다. 예시적인 오차의 정도는 주어진 값 또는 값들의 범위의 20 퍼센트(%) 이내, 통상적으로 10% 이내, 더 통상적으로 5% 이내이다.

[0062] 용어 "질환" 및 "장애"는 병태, 특히 병리학적 병태를 지칭하기 위해 상호호환적으로 사용된다. 특정 실시형태에서, 용어 "질환" 및 "장애"는 상호호환적으로 사용되어 IL-15 신호전달에 의해 영향을 받는 질환 및/또는 면역 효과기 반응의 촉진에 의해 영향을 받는 질환을 지칭한다.

[0063] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 장애, 예를 들어 증식성 장애의 진행, 중증도 및/또는 지속 기간의 감소 또는 개선, 또는 하나 이상의 치료법의 투여로부터 얻은 장애의 하나 이상의 증상(바람직하게는, 하나 이상의 식별가능한 증상)의 개선을 지칭한다. 구체적인 실시형태에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 환자에 의해 반드시 식별가능한 것은 아닌, 증식성 장애, 예컨대 종양의 성장의 적어도 하나의 측정가능한 신체적 파라미터의 개선을 지칭한다. 다른 실시형태에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은, 예를 들어 식별 가능한 증상의 안정화에 의해 물리적으로, 예를 들어 물리적 파라미터의 안정화에 의해 생리학적으로, 또는 둘 다로의 증식성 장애의 진행의 억제를 지칭한다. 다른 실시형태에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 종양 크기 또는 암성 세포 계수의 감소 또는 안정화를 지칭한다.

- [0064] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "치료법들" 및 "치료법"은 질환, 예를 들어 암, 전염병, 림프구 감소증, 및 면역결핍증 또는 이와 관련된 증상의 예방, 치료, 관리 또는 개선에 사용될 수 있는 임의의 프로토콜(들), 방법(들), 조성물, 제형 및/또는 제제(들)을 지칭할 수 있다. 특정 실시형태에서, 용어 "치료법들" 및 "치료법"은 당업자에게 공지된 질환 또는 이와 관련된 증상을 치료, 관리, 예방 또는 개선하는데 유용한 생물학적 치료법, 지지적 치료법 및/또는 다른 치료법을 지칭한다.
- [0065] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 수용체(예를 들어, IL-15Ra 또는 IL-15 수용체 $\beta\gamma$) 및 리간드(예를 들어, IL-15) 상호작용과 관련하여, 용어들 "특이적으로 결합한다", "특이적으로 인식한다" 및 유사한 용어들은 리간드와 수용체 사이의 특이적 결합 또는 연합을 지칭한다. 바람직하게는, 리간드는 다른 분자보다 수용체에 대해 더 높은 친화성을 갖는다. 구체적인 실시형태에서, 리간드는 야생형 IL-15이고, 수용체는 야생형 IL-15Ra이다. 또 다른 특정 실시형태에서, 리간드는 야생형 IL-15/IL-15Ra 복합체이고, 수용체는 $\beta\gamma$ 수용체 복합체이다. 추가의 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 $\beta\gamma$ 수용체 복합체에 결합하고, IL-15 매개된 신호전달을 활성화시킨다. 수용체에 특이적으로 결합하는 리간드는 예를 들어 면역분석법, BIAcore™, 또는 당업자에게 공지된 다른 기술에 의해 동정될 수 있다.
- [0066] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 항체와 관련하여 용어 "면역특이적으로 결합한다" 및 "특이적으로 결합한다"는 항원(예를 들어, 에피토프 또는 면역 복합체)에 특이적으로 결합하고 또 다른 분자에 특이적으로 결합하지 않는 분자를 지칭한다. 항원에 특이적으로 결합하는 분자는, 예를 들어, 면역분석법, BIAcore™ 또는 당해 분야에 공지된 다른 분석법에 의해 측정된 바와 같이, 보다 낮은 친화도를 갖는 다른 항원에 결합할 수 있다. 구체적인 실시형태에서, 항원에 결합하는 분자는 다른 항원과 교차-반응하지 않는다.
- [0067] "병용물" 또는 "와 병용하여"는 요법 또는 치료제가 동일한 시간에 투여되고/되거나 함께 전달을 위하여 제형화되어야 함을 암시하고자 하는 것은 아니지만, 이들 전달 방법은 본 명세서에 기재된 범주 이내에 있다. 병용물 형태의 치료제들은 하나 이상의 다른 추가의 요법 또는 치료제와 동시에, 그 전에, 또는 그에 후속하여 투여될 수 있다. 치료제 또는 치료 프로토콜은 임의의 순서대로 투여될 수 있다. 일반적으로, 각각의 작용제는 그러한 작용제에 대해 결정된 용량으로 그리고/또는 시간 스케줄에 투여될 것이다. 이 병용물에 이용되는 추가의 치료제는 단일 조성물로 함께 투여되거나 상이한 조성물로 별도로 투여될 수 있음이 또한 이해될 것이다. 일반적으로, 병용하여 이용되는 추가의 치료제는 이들이 개별적으로 이용될 때의 수준을 초과하지 않는 수준으로 이용될 것으로 예측된다. 일부 실시형태에서, 병용하여 이용되는 수준은 개별적으로 이용되는 수준보다 더 낮은 것이다.
- [0068] 용어 "억제", "억제제", 또는 "길항제"는 주어진 분자의 소정 파라미터, 예를 들어 활성의 감소를 포함하며, 예를 들어 면역 관문 억제제이다. 예를 들어, 적어도 5%, 10%, 20%, 30%, 40% 이상의 활성, 예를 들어 PD-1 또는 PD-L1 활성의 억제가 이 용어에 의해 포함된다. 따라서, 억제는 100%일 필요가 없다.
- [0069] 용어 "항암 효과"는, 예를 들어 종양 부피의 감소, 암 세포 수의 감소, 전이의 수의 감소, 기대 수명의 증가, 암 세포 증식의 감소, 암 세포 생존의 감소, 또는 암성 병증과 연관된 다양한 생리학적 증상의 개선을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 다양한 수단에 의해 나타날 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다. "항-암 효과"는 또한 먼저 암 발생의 예방에서의 펩티드, 폴리뉴클레오티드, 세포 및 항체의 능력에 의해 나타날 수 있다.
- [0070] 용어 "항-종양 효과"는, 예를 들어 종양 부피의 감소, 종양 세포 수의 감소, 종양 세포 증식의 감소, 또는 종양 세포 생존의 감소를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 다양한 수단에 의해 나타날 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다.
- [0071] 용어 "암"은 비정상 세포의 급속하고 제어되지 않은 성장을 특징으로 하는 질병을 지칭한다. 암 세포는 국부로 또는 혈류 및 림프계를 통해 신체의 다른 부분으로 확산될 수 있다. 다양한 암의 예가 본원에 기재되어 있고, 유방암, 전립선암, 난소암, 자궁경부암, 피부암, 췌장암, 결장직장암, 신암, 간암, 뇌암, 림프종, 백혈병, 폐암 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 용어 "종양" 및 "암"은 본원에서 상호호환가능하게 사용되며, 예를 들어 둘 다의 용어는 고형 및 액상, 예를 들어 미만성 또는 순환성 종양을 포괄한다. 본원에 사용된 용어 "암" 또는 "종양"은 전암성, 뿐만 아니라 악성 암 및 종양을 포함한다.
- [0072] 본원에 사용된 용어 "면역 이펙터" 또는 "이펙터" "기능" 또는 "반응"은, 예를 들어 표적 세포의 면역 공격을 증진하거나 촉진하는 면역 작동세포의 기능 또는 반응을 지칭한다. 예를 들어 면역 이펙터 기능 또는 반응은 표적 세포의 사멸, 또는 그의 성장 또는 증식의 억제를 촉진하는 T 또는 NK 세포의 특성을 지칭한다. T 세포의 경우에, 일차 자극 및 공동-자극은 면역 이펙터 기능 또는 반응의 예이다.

- [0073] 용어 "이펙터 기능"은 세포의 특수 기능을 지칭한다. T 세포의 이펙터 기능은, 예를 들어 사이토카인의 분비를 포함하는 세포용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있다.
- [0074] 본 발명의 조성물 및 방법은 특정된 서열, 또는 그것과 실질적으로 동일하거나 유사한 서열, 예를 들어, 특정된 서열과 적어도 85%, 90%, 95% 이상 동일하거나 높은 서열을 갖는 폴리펩티드 및 핵산을 포함한다. 아미노산 서열과 관련하여, 용어 "실질적으로 동일한"은 제2 아미노산 서열내 정렬된 아미노산 잔기와 i) 동일하거나 또는 ii) 이의 보존적 치환인 아미노산 잔기의 충분한 수 또는 최소 수를 함유하여, 제1 및 제2 아미노산 서열이 공통 구조적 도메인 및/또는 공통 기능 활성을 가질 수 있도록 하는 제1 아미노산을 지칭하는데 사용된다. 예를 들어, 기준 서열, 예를 들어 본원에 제공된 서열에 대하여 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 공통 구조적 도메인을 함유하는 아미노산 서열.
- [0075] 뉴클레오티드 서열과 관련하여, 용어 "실질적으로 동일한"은 제2 핵산 서열에서 정렬된 뉴클레오티드와 동일한 뉴클레오티드의 충분한 수 또는 최소 수를 함유하여, 제1 및 제2 뉴클레오티드 서열이 공통 기능 활성을 갖는 폴리펩티드를 코딩하거나, 공통 구조적 폴리펩티드 도메인 또는 공통 기능적 폴리펩티드 활성을 코딩하도록 하는 제1 핵산 서열을 지칭하는데 사용된다. 예를 들어, 기준 서열, 예를 들어 본원에 제공된 서열에 대하여 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열.
- [0076] 용어 "기능적 변이체"는 야생형 서열과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 가지거나, 또는 실질적으로 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩되며, 야생형 서열의 하나 이상의 활성을 가질 수 있는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0077] 서열 간의 상동성 또는 서열 동일성의 계산(이 용어는 본원에서 상호호환적으로 사용됨)은 하기와 같이 수행된다.
- [0078] 2개의 아미노산 서열 또는 2개의 핵산 서열의 동일성 백분율을 결정하기 위해, 서열은 최적의 비교 목적을 위해 정렬된다(예를 들어, 최적 정렬을 위해 갭이 제1 및 제2 아미노산 또는 핵산 서열 중 하나 또는 둘 모두에 도입될 수 있으며, 비-상동 서열은 비교 목적으로 무시될 수 있다). 바람직한 실시형태에서, 비교 목적을 위해 정렬된 기준 서열의 길이는 기준 서열의 길이의 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%, 더욱 바람직하게는 적어도 90%, 95%, 및 더욱 바람직하게는 적어도 100%이다. 그리고나서, 상응하는 아미노산 위치 또는 뉴클레오티드 위치의 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드가 비교된다. 제1 서열의 위치가 제2 서열의 상응하는 위치와 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드에 의해 점유될 때, 분자는 그 위치에서 동일하다(본원에서 사용된 바와 같이, 아미노산 또는 핵산 "동일성"은 아미노산 또는 핵산 "상동성"과 동등함).
- [0079] 2개의 서열들 사이에서 동일성 백분율은 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수로서, 갭의 수 및 각각의 갭의 길이를 고려하며, 이들은 2개 서열의 최적의 정렬을 위해 도입될 필요가 있다.
- [0080] 2개 서열들 사이에서 서열의 비교 및 동일성 백분율의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 2개의 아미노산 서열 사이의 동일성 백분율은 Blossum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4, 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용하여 GCG 소프트웨어 패키지 내의 GAP 프로그램(NCBI에서 이용 가능함) 내로 혼입된 문헌 [Needleman and Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:444-453] 알고리즘을 사용하여 결정된다. 또 다른 바람직한 실시형태에서, 2개의 뉴클레오티드 서열 사이의 동일성 백분율은 NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70 또는 80의 갭 중량 및 1, 2, 3, 4, 5 또는 6의 길이 가중치를 사용하여 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램을 사용하여 결정된다. 특히 바람직한 파라미터 세트(및 달리 지정되지 않으면 사용되어야 하는 파라미터)는 갭 페널티 12, 갭 확장 페널티 4, 및 프레임이동 갭 페널티 5를 갖는 Blossum 62 점수 매트릭스이다.
- [0081] 2개의 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열 사이의 동일성 백분율은 또한 PAM120 가중 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용하는, ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 통합된 문헌[E. Meyers and W. Miller, ((1988) CABIOS, 4:11-17)]의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0082] 본 명세서에 기재된 핵산 및 단백질 서열은 예를 들어 다른 계열 구성원 또는 관련 서열을 식별하기 위해 공개 데이터베이스에 대한 검색을 수행하기 위한 "쿼리 서열"로서 사용될 수 있다. 이러한 검색은 Altschul, 등. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램(버전 2.0)을 사용하여 수행할 수 있다. BLAST 뉴클레오티드 검색은 XBLAST 프로그램, 스코어 = 100, 워드 길이 = 12로 수행되어 본 발명의 핵산(서열 번호 1) 분자와 상동인 뉴클레오티드 서열을 획득할 수 있다. BLAST 단백질 검색은 XBLAST 프로그램, 스코어 = 50, 워드 길이 = 3으로 수행되어 본 발명의 단백질 분자와 상동인 아미노산 서열을 획득할 수 있다. 비교 목적을 위한 갭 정렬을 얻기 위해, 문헌[Altschul 등, (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402]에 기술된 바와 같이, Gapped

BLAST가 이용될 수 있다. BLAST 및 Gapped BLAST 프로그램을 이용할 때, 각 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 기본 파라미터가 사용될 수 있다(NBCI에서 이용가능).

- [0083] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "저 엄격성, 중간 엄격성, 고 엄격성 또는 매우 엄격한 조건 하에서 혼성화하는"은 혼성화 및 세척 조건을 설명한다. 혼성화 반응을 수행하기 위한 지침은 Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6에서 찾아볼 수 있다. 수성 및 비수성 방법은 이 참고문헌에 기술되어 있으며, 어느 것이든 사용될 수 있다. 본 명세서에서 언급된 특정 혼성화 조건은 하기와 같다: 1) 약 45°C에서 6X 염화나트륨/시트르산 나트륨(SSC)에서의 낮은 엄격성 혼성화 조건, 이어서 0.2X SSC, 0.1% SDS 중 적어도 50°C(낮은 엄격도 조건에서는 세척물의 온도를 55°C로 증가시킬 수 있음)에서 2회 세척; 2) 약 45°C에서 6X SSC에서의 중간 엄격도 혼성화 조건, 이어서 60°C에서 0.2X SSC, 0.1% SDS에서 1회 이상 세척; 3) 약 45°C에서 6X SSC에서의 고 엄격한 혼성화 조건, 이어서 65°C에서 0.2X SSC, 0.1% SDS에서 1회 이상 세척; 및 바람직하게는 4) 매우 엄격한 혼성화 조건은 65°C에서 0.5M 인산 나트륨, 7% SDS, 이어서 65°C에서 0.2X SSC, 1% SDS에서 1회 이상 세척한다. 매우 엄격한 조건(4)이 바람직한 조건이며, 달리 명시되지 않는한 사용되어야 한다.
- [0084] 본 발명의 분자는 그의 기능에 실질적인 영향을 미치지 않는 추가의 보존적 또는 비-필수적 아미노산 치환을 가질 수 있는 것으로 이해된다.
- [0085] 용어 "아미노산"은 아미노 작용기 및 산 작용기 모두를 포함하고 야생형 아미노산의 중합체에 포함될 수 있는, 천연 또는 합성의 모든 분자를 포함하는 것으로 의도된다. 예시적인 아미노산은 야생형 아미노산; 그의 유사체, 유도체 및 동족체; 변형된 측쇄를 갖는 아미노산 유사체; 전술한 임의의 것의 모든 입체이성질체를 포함한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "아미노산"은 D- 및 L-광학 이성질체 및 펩티도모방체를 모두 포함한다.
- [0086] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 계열이 해당 분야에서 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄(예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타 분지형 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다.
- [0087] 용어 "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"(단일 사슬의 경우)은 본원에서 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭하기 위해 상호호환적으로 사용된다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있고, 변형된 아미노산을 포함할 수 있으며, 비-아미노산에 의해 차단될 수 있다. 상기 용어는 또한 변형된 아미노산 중합체; 예를 들어, 디설파이드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화 또는 라벨링 성분과의 접합과 같은 임의의 다른 조작을 포함한다. 폴리펩티드는 천연 공급원으로부터 분리될 수 있거나, 진핵 또는 원핵 숙주로부터의 재조합 기술에 의해 생산될 수 있거나, 합성 절차의 산물일 수 있다.
- [0088] 용어 "핵산", "핵산 서열", "뉴클레오티드 서열" 또는 "폴리뉴클레오티드 서열" 및 "폴리뉴클레오티드"는 상호 호환적으로 사용된다. 이들은 임의의 길이의 중합체 형태의 뉴클레오티드, 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드, 또는 이의 유사체를 지칭한다. 폴리뉴클레오티드는 단일-가닥이거나 이중-가닥일 수 있으며, 단일-가닥이 코딩 가닥 또는 비-코딩(안티센스) 가닥일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 메틸화 뉴클레오티드 및 뉴클레오티드 유사체와 같은 변형된 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 뉴클레오티드의 서열은 비-뉴클레오티드 성분에 의해 차단될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 중합 후, 예컨대 표지 성분과의 접합에 의해 추가로 변형될 수 있다. 핵산은 재조합 폴리뉴클레오티드 또는 자연적으로 발생하지 않거나 또는 비자연적 배열에서 또 다른 폴리뉴클레오티드와 연결되는 게놈, cDNA, 반합성 또는 합성 기원의 폴리뉴클레오티드일 수 있다.
- [0089] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "단리된"은 물질이 그의 원래의 또는 천연 환경(예를 들어, 그것이 야생형이라면 자연 환경)으로부터 회수되는 것을 지칭한다. 예를 들어, 살아있는 동물에 존재하는 야생형 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 단리된 것이 아니고, 인간의 개입에 의해 자연계에서 공존하는 물질의 일부 또는 전부로부터 분리된 동일한 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 단리된 것이다. 그러한 폴리뉴클레오티드는 벡터의 일부일 수 있고/있거나 그러한 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 조성물의 일부일 수 있으며, 그러한 벡터 또는 조성물은 그것이 자연에서 발견되는 환경의 일부가 아니라는 점에서 여전히 단리된 것일 수 있다.
- [0090] 본 발명의 다양한 양태가 하기에 추가로 상세히 기재되어 있다. 추가의 정의가 본 명세서 전체에 걸쳐 기재되어 있다.

[0091] IL-15

[0092] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "IL-15" 및 "인터루킨-15"는 야생형 IL-15 또는 IL-15 유도체를 지칭한다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 단백질 또는 폴리펩티드와 관련하여 용어 "야생형 IL-15" 및 "야생형 인터루킨-15"는 미성숙 또는 전구체 및 성숙 형태를 포함하는, 임의의 포유류 인터루킨-15 아미노산 서열을 지칭한다. 야생형 포유류 인터루킨-15의 다양한 종의 아미노산 서열에 대한 GeneBank Accession No.의 비-제한적 예로는 NP_000576 (인간, 미성숙 형태), CAA62616 (인간, 미성숙 형태), NP_001009207 (펠리스 카투스(Felis catus), 미성숙 형태), AAB94536 (라투스 노르베기쿠스(Rattus norvegicus), 미성숙 형태), AAB41697 (라투스 노르베기쿠스, 미성숙 형태), NP_032383 (무스 무스쿨루스(Mus musculus), 미성숙 형태), AAR19080 (개), AAB60398 (마카카 물라타(Macaca mulatta), 미성숙 형태), AAI00964 (인간, 미성숙 형태), AAH23698 (무스 무스쿨루스, 미성숙 형태), 및 AAH18149 (인간)이 포함된다. 표 1의 서열 번호 1에 제공된 바와 같이, 긴 신호 펩티드(밑줄표시) 및 성숙 인간 IL-15(이텔릭체)를 포함하는 인간 IL-15의 미성숙/전구체 형태의 아미노산 서열. 일부 실시형태에서, IL-15는 포유류 IL-15의 미성숙 또는 전구체 형태이다. 다른 실시형태에서, IL-15는 포유류 IL-15의 성숙 형태이다. 구체적인 실시형태에서, IL-15는 인간 IL-15의 전구체 형태이다. 구체적인 실시형태에서, IL-15는 인간 IL-15의 성숙 형태이다. 일 실시형태에서, IL-15 단백질/폴리펩티드는 단리되거나 정제된다.

[0093] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 핵산과 관련하여 용어 "IL-15" 및 "인터루킨-15"는 미성숙 또는 전구체 및 성숙 형태를 포함하는, 포유류 인터루킨-15를 코딩하는 임의의 핵산 서열을 지칭한다. 다양한 종의 야생형 포유류 IL-15의 뉴클레오티드 서열에 대한 GeneBank Accession No.의 비-제한적 예로는 NML000585(인간), NML008357 (무스 무스쿨루스) 및 RNU69272(라투스 노르베기쿠스)가 있다. 표 1의 서열 번호 2에 제공된 바와 같이, 긴 신호 펩티드(밑줄표시)를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 성숙 인간 IL-15(이텔릭체)를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 인간 IL-15의 미성숙/전구체 형태를 코딩하는 뉴클레오티드 서열. 구체적인 실시형태에서, 핵산은 단리되거나 정제된 핵산이다. 일부 실시형태에서, 핵산은 포유류 IL-15의 미성숙 또는 전구체 형태를 코딩한다. 다른 실시형태에서, 핵산은 포유류 IL-15의 성숙 형태를 코딩한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15를 코딩하는 핵산은 인간 IL-15의 전구체 형태를 코딩한다. 또 다른 실시형태에서, IL-15를 코딩하는 핵산은 인간 IL-15의 성숙 형태를 코딩한다.

[0094] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 단백질 또는 폴리펩티드와 관련하여 용어 "IL-15 유도체" 및 "인터루킨-15 유도체"는 하기를 지칭한다: (a) 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩티드; (b) 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 핵산 서열에 의해 코딩되는 폴리펩티드; (c) 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드에 비해 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20개 또는 그 이상의 아미노산 돌연변이(즉, 부가, 결실 및/또는 치환)를 함유하는 폴리펩티드; (d) 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드를 코딩하는 핵산과 높은, 또는 중간 엄격도 혼성화 조건 하에서 혼성화될 수 있는 핵산에 의해 코딩되는 폴리펩티드; (e) 적어도 20개의 연속적인 아미노산, 적어도 30개의 연속적인 아미노산, 적어도 40개의 연속적인 아미노산, 적어도 50개의 연속적인 아미노산, 적어도 100개의 연속적인 아미노산 또는 적어도 150개의 연속적인 아미노산의 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드의 단편을 코딩하는 핵산 서열로 높은, 또는 중간 엄격도 혼성화 조건 하에서 혼성화될 수 있는 핵산 서열에 의해 코딩되는 폴리펩티드; 및/또는 (f) 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드의 단편. IL-15 유도체는 또한 포유류 IL-15 폴리펩티드의 성숙 형태의 아미노산 서열 및 이중 신호 펩티드 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15 유도체는 야생형 인간 IL-15 폴리펩티드의 유도체이다. 또 다른 실시형태에서, IL-15 유도체는 인간 IL-15 폴리펩티드의 미성숙 또는 전구체 형태의 유도체이다. 또 다른 실시형태에서, IL-15 유도체는 인간 IL-15 폴리펩티드의 성숙 형태의 유도체이다. 또 다른 실시형태에서, IL-15 유도체는 예를 들어, Zhu 등, (2009), J. Immunol. 183: 3598 또는 미국 특허 제 8,163,879호에 기재된 IL-15N72D이다. 또 다른 실시형태에서, IL-15 유도체는 미국 특허 제8,163,879호에 기재된 IL-15 변이체 중 하나이다. 일 실시형태에서, IL-15 유도체는 단리되거나 정제된다.

[0095] 바람직한 실시형태에서, IL-15 유도체는 당해 기술 분야에 공지된 분석법, 예를 들어, ELISA, BIAcore™, 동시-면역침전법에 의해 측정된 바와 같이, IL-15Ra 폴리펩티드에 결합하기 위한 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드의 기능의 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%를 보유한다. 또 다른 바람직한 실시형태에서, IL-15 유도체는 당해 기술 분야에 공지된 분석법, 예를 들어, 전기이동성 이동 분석법, ELISA, 및 다른 면역분석법에 의해 측정된 바와 같이, IL-15-매개된 신호 전달을 유도하기 위한 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드의 기능의 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%를 보유한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15 유도체는 예를 들어 당 업계에 잘 공지된 리간드/수용체 결합 분석에 의해 평가되는 바와 같이 IL-15Ra 및/또는 IL-15Rβ γ에

결합한다. 동일성 백분율은 당업자에게 공지된 임의의 방법을 사용하여 상기 기재된 바와 같이 결정될 수 있다.

[0096] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 핵산과 관련하여 용어 "IL-15 유도체" 및 "인터루킨-15 유도체"는 하기를 지칭한다: (a) 포유류 IL-15 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 핵산 서열; (b) 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드의 아미노산 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열; (c) 포유류 IL-15 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열에 대한 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상의 핵산 염기 돌연변이(즉, 부가, 결실 및/또는 치환)를 함유하는 핵산 서열; (d) 포유류 IL-15 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열에 높은, 또는 중간 엄격도 혼성화 조건 하에서 혼성화하는 핵산 서열; (e) 포유류 IL-15 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열의 단편에 높은, 또는 중간 엄격도 혼성화 조건하에 혼성화하는 핵산 서열; 및/또는 (f) 포유류 IL-15 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열의 단편을 코딩하는 핵산 서열. 구체적인 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15 유도체는 인간 IL-15 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열의 유도체이다. 또 다른 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15 유도체는 인간 IL-15 폴리펩티드의 미성숙 또는 전구체 형태를 코딩하는 핵산 서열의 유도체이다. 또 다른 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15 유도체는 인간 IL-15 폴리펩티드의 성숙 형태를 코딩하는 핵산 서열의 유도체이다. 또 다른 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15 유도체는 예를 들어 문헌 [Zhu 등, (2009; 상동), 또는 미국 특허 제8,163,879호]에 기재된 IL-15N72D를 코딩하는 핵산 서열이다. 또 다른 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15 유도체는 미국 특허 제8,163,879호에 기재된 IL-15 변이체들 중 하나를 코딩하는 핵산 서열이다.

[0097] IL-15 유도체 핵산 서열은 IL-15 폴리펩티드의 성숙 및 미성숙 형태를 포함하는, 포유류 IL-15 폴리펩티드를 코딩하는 코돈-최적화된 핵산 서열을 포함한다. 다른 실시형태에서, IL-15 유도체 핵산은 아미노산 서열에 영향을 미치지 않으면서 잠재적 스플라이스 부위 및 불안정성 요소(예를 들어, A/T 또는 A/U 풍부한 요소)를 제거하여, 포유류 IL-15 RNA 전사체의 안정성을 증가시키는 돌연변이를 함유하는 포유류 IL-15 RNA 전사체를 코딩하는 핵산을 포함한다. 일 실시형태에서, IL-15 유도체 핵산 서열은 W02007/084342에 기술된 코돈-최적화 핵산 서열을 포함한다. 특정 실시형태에서, IL-15 유도체 핵산 서열은 표 1의 서열 번호 4의 코돈-최적화 서열이다(상기 핵산 서열에 의해 코딩된 아미노산 서열은 표 1의 서열 번호 5에 제공됨).

[0098] 바람직한 실시형태에서, IL-15 유도체 핵산 서열은 당해 기술 분야에 공지된 분석법, 예를 들어, ELISA, BIAcore™, 동시-면역침전법에 의해 측정된 바와 같이, IL-15Ra에 결합하기 위한 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드의 기능의 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%를 보유하는 단백질 또는 폴리펩티드를 코딩한다. 또 다른 바람직한 실시형태에서, IL-15 유도체 핵산 서열은 당해 기술 분야에 공지된 분석법, 예를 들어, 전기이동성 이동 분석법, ELISA, 및 다른 면역분석법에 의해 측정된 바와 같이, IL-15-매개된 신호 전달을 유도하기 위한 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드의 기능의 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%를 보유하는 단백질 또는 폴리펩티드를 코딩한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15 유도체 핵산 서열은 예를 들어 당 업계에 잘 공지된 리간드/수용체 분석에 의해 평가되는 바와 같이 IL-15Ra 및/또는 IL-15Rβ γ에 결합하는 단백질 또는 폴리펩티드를 코딩한다.

[0099] *IL-15Ra*

[0100] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "IL-15Ra" 및 "인터루킨-15 수용체 알파"는 야생형 IL-15Ra, IL-15Ra 유도체, 또는 야생형 IL-15Ra 및 IL-15Ra 유도체를 지칭한다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 단백질 또는 폴리펩티드와 관련하여 용어 "야생형 IL-15Ra" 및 "야생형 인터루킨-15 수용체 알파"는 미성숙 또는 전구체 및 성숙 형태 및 동형체를 포함하는, 임의의 포유류 인터루킨-15 수용체 알파("IL-15Ra") 아미노산 서열을 지칭한다. 다양한 야생형 포유류 IL-15Ra의 아미노산 서열에 대한 GeneBank Accession No.의 비-제한적인 예로는 NP_002180(인간), ABK41438(마카카 물라타(*Macaca mulatta*)), NP_032384(무스 무스쿨루스(*Mus musculus*)), Q60819(무스 무스쿨루스), CAI41082(인간)을 포함한다. 표 1의 서열 번호 6에 제공된 바와 같이, 신호 펩티드(밑줄표시) 및 성숙 인간 IL-15Ra(이탈릭체)를 포함하는 전장 인간 IL-15Ra의 미성숙 형태의 아미노산 서열. 표 1의 서열 번호 7에 제공된 바와 같이, 신호 펩티드(밑줄표시) 및 성숙 인간 가용성 IL-15Ra(이탈릭체)를 포함하는 가용성 인간 IL-15Ra의 미성숙 형태의 아미노산 서열. 일부 실시형태에서, IL-15Ra는 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 미성숙 형태이다. 다른 실시형태에서, IL-15Ra는 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 성숙 형태이다. 특정 실시형태에서, IL-15Ra는 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 가용성 형태이다. 다른 실시형태에서, IL-15Ra는 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 전장 형태이다. 구체적인 실시형태에서, IL-15Ra는 인간 IL-15Ra 폴리펩티드의 미성숙 형태이다. 또 다른 실시형태에서, IL-15Ra는 인간 IL-15Ra 폴리펩티드의 성숙 형태이다. 특정 실시형태에서, IL-15Ra는 인간 IL-15Ra 폴리펩티드의 가용성 형태이다. 다른 실시형태에서, IL-15Ra는 인간 IL-15Ra 폴리펩티드의 전장 형태이다.

일 실시형태에서, IL-15Ra 단백질 또는 폴리펩티드는 단리되거나 정제된다.

[0101] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 핵산과 관련하여 용어 "IL-15Ra" 및 "인터루킨-15 수용체 알파"는 미성숙 또는 전구체 및 성숙 형태를 포함하는, 포유류 인터루킨-15 수용체 알파를 코딩하는 임의의 핵산 서열을 지칭한다. 다양한 종의 야생형 포유류 IL-15Ra의 뉴클레오티드 서열에 대한 GeneBank Accession No.의 비-제한적 예로는 NM_002189(인간), EF033114(마카카 몰라타) 및 NM_008358(무스 무스쿨루스)가 있다. 표 1의 서열 번호 8에 제공된 바와 같이, 신호 펩티드(밑줄표시)를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 성숙 인간 IL-15Ra(이텔릭체)를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 야생형 인간 IL-15Ra의 미성숙 형태를 코딩하는 뉴클레오티드 서열. 표 1의 서열 번호 9에 제공된 바와 같이, 신호 펩티드(밑줄표시)를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 성숙 인간 가용성 IL-15Ra(이텔릭체)를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 가용성 인간 IL-15Ra 단백질 또는 폴리펩티드의 미성숙 형태를 코딩하는 뉴클레오티드 서열). 구체적인 실시형태에서, 핵산은 단리되거나 정제된 핵산이다. 일부 실시형태에서, 핵산은 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 미성숙 형태를 코딩한다. 다른 실시형태에서, 핵산은 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 성숙 형태를 코딩한다. 특정 실시형태에서, 핵산은 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 가용성 형태를 코딩한다. 다른 실시형태에서, 핵산은 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 전장 형태를 코딩한다. 구체적인 실시형태에서, 핵산은 인간 IL-15 폴리펩티드의 전구체 형태를 코딩한다. 또 다른 실시형태에서, 핵산은 인간 IL-15 폴리펩티드의 성숙 형태를 코딩한다. 특정 실시형태에서, 핵산은 인간 IL-15Ra 폴리펩티드의 가용성 형태를 코딩한다. 다른 실시형태에서, 핵산은 인간 IL-15Ra 폴리펩티드의 전장 형태를 코딩한다.

[0102] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 단백질 또는 폴리펩티드와 관련하여 용어 "IL-15Ra 유도체" 및 "인터루킨-15 수용체 알파 유도체"는 하기를 지칭한다: (a) 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드에 대하여 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩티드; (b) 야생형 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 핵산 서열에 의해 코딩되는 폴리펩티드; (c) 야생형 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드에 비해 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상의 아미노산 돌연변이(즉, 부가, 결실 및/또는 치환)를 함유하는 폴리펩티드; (d) 야생형 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열과 높은, 또는 중간 엄격도 혼성화 조건 하에서 혼성화될 수 있는 핵산 서열에 의해 코딩되는 폴리펩티드; (e) 적어도 20개의 연속적인 아미노산, 적어도 30개의 연속적인 아미노산, 적어도 40개의 연속적인 아미노산, 적어도 50개의 연속적인 아미노산, 적어도 100개의 연속적인 아미노산 또는 적어도 150개의 연속적인 아미노산의 야생형 포유류 IL-15 폴리펩티드의 단편을 코딩하는 핵산 서열로 높은, 또는 중간 엄격도 혼성화 조건 하에서 혼성화될 수 있는 핵산 서열에 의해 코딩되는 폴리펩티드; (f) 야생형 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 단편; 및/또는 (g) 본 명세서에 기재된 특정 IL-15Ra 유도체. IL-15Ra 유도체는 또한 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 성숙 형태의 아미노산 서열 및 이중 신호 펩티드 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 야생형 인간 IL-15Ra 폴리펩티드의 유도체이다. 또 다른 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 인간 IL-15 폴리펩티드의 미성숙 형태의 유도체이다. 또 다른 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 인간 IL-15 폴리펩티드의 성숙 형태의 유도체이다. 일 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 가용성 형태이다. 즉, 특정 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 포유류 IL-15Ra의 가용성 형태를 포함하며, 상기 가용성 형태는 자연 발생이 아니다. IL-15Ra 유도체의 다른 예는 본 명세서에 기재된, 인간 IL-15Ra의 절단된 가용성 형태를 포함한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 정제되거나 단리된다.

[0103] 바람직한 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 당해 기술 분야에 공지된 분석법, 예를 들어, ELISA, BIAcore™, 동시-면역침전법에 의해 측정된 바와 같이, IL-15 폴리펩티드에 결합하기 위한 야생형 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 기능의 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%를 보유한다. 또 다른 바람직한 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 당해 기술 분야에 공지된 분석법, 예를 들어, 전기이동성 이동 분석법, ELISA, 및 다른 면역분석법에 의해 측정된 바와 같이, IL-15-매개된 신호 전달을 유도하기 위한 야생형 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 기능의 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%를 보유한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 당해 기술 분야에 공지된 분석법, 예를 들어, ELISA에 의해 측정된 바와 같이 IL-15에 결합한다.

[0104] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 핵산과 관련하여 용어 "IL-15Ra 유도체" 및 "인터루킨-15 수용체 알파 유도체"는 하기를 지칭한다: (a) 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 핵산 서열; (b) 야생형 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 아미노산 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열; (c) 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열에 대한 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상의 핵산 돌연변이(즉, 부가, 결실 및/또는 치환)를 함유하는 핵산 서열; (d) 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열에 높은, 또는 중간 엄격도 혼성화 조건 하에서 혼성화하는 핵산 서열; (e) 포유류 IL-15Ra 폴리

펩티드를 코딩하는 핵산 서열의 단편에 높은, 또는 중간 엄격도 혼성화 조건하에 혼성화하는 핵산 서열; (f) 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열의 단편을 코딩하는 핵산 서열; 및/또는 (g) 본 명세서에 기재된 특정 IL-15Ra 유도체를 코딩하는 핵산 서열. 구체적인 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15Ra 유도체는 인간 IL-15Ra 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열의 유도체이다. 또 다른 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15Ra 유도체는 인간 IL-15Ra 폴리펩티드의 미성숙 형태를 코딩하는 핵산 서열의 유도체이다. 또 다른 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15Ra 유도체는 인간 IL-15Ra 폴리펩티드의 성숙 형태를 코딩하는 핵산 서열의 유도체이다. 일 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15Ra 유도체는 가용성인 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 유도체를 코딩하는 핵산 서열을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15Ra 유도체는 포유류 IL-15Ra의 가용성 형태를 코딩하는 핵산 서열을 지칭하며, 상기 가용성 형태는 자연 발생이 아니다. 일부 실시형태에서, 핵산과 관련하여 IL-15Ra 유도체는 인간 IL-15Ra의 유도체를 코딩하는 핵산 서열을 지칭하며, 상기 인간 IL-15Ra의 유도체는 자연 발생이 아닌, IL-15Ra의 가용성 형태이다. 구체적인 실시형태에서, IL-15Ra 유도체 핵산 서열은 단리되거나 정제된다.

[0105] IL-15Ra 유도체 핵산 서열은 IL-15Ra 폴리펩티드의 성숙 및 미성숙 형태를 포함하는, IL-15Ra 폴리펩티드를 코딩하는 코돈-최적화된 핵산 서열을 포함한다. 다른 실시형태에서, IL-15Ra 유도체 핵산은 아미노산 서열에 영향을 미치지 않으면서 잠재적 스플라이스 부위 및 불안정성 요소(예를 들어, A/T 또는 A/U 풍부한 요소)를 제거하여, IL-15Ra RNA 전사체의 안정성을 증가시키는 돌연변이를 함유하는 IL-15Ra RNA 전사체를 코딩하는 핵산을 포함한다. 특정 실시형태에서, IL-15Ra 유도체 핵산 서열은 표 1의 서열 번호 11, 13의 코돈-최적화 서열이다(상기 핵산 서열에 의해 코딩된 아미노산 서열은 각각 표 1의 서열 번호 12, 14에 제공됨).

[0106] 구체적인 실시형태에서, IL-15Ra 유도체 핵산 서열은 당해 기술 분야에 공지된 분석법, 예를 들어, ELISA, BIAcore™, 동시-면역침전법에 의해 측정된 바와 같이, IL-15에 결합하기 위한 야생형 포유류 IL-15Ra 폴리펩티드의 기능의 적어도 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%를 보유하는 단백질 또는 폴리펩티드를 코딩한다. 또 다른 바람직한 실시형태에서, IL-15Ra 유도체 핵산 서열은 당해 기술 분야에 공지된 분석법, 예를 들어, 전기이동성 이동 분석법, ELISA, 및 다른 면역분석법에 의해 측정된 바와 같이, IL-15-매개된 신호 전달을 유도하기 위한 야생형 포유류 IL-15Ra의 기능의 적어도 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%를 보유하는 단백질 또는 폴리펩티드를 코딩한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15Ra 유도체 핵산 서열은 당해 기술 분야에 공지된 분석법, 예를 들어, ELISA에 의해 측정된 바와 같이 IL-15에 결합하는 단백질 또는 폴리펩티드를 코딩한다.

[0107] 인간 IL-15Ra의 가용성 형태가 본 명세서에 기재된다. 인간 IL-15Ra의 절단된, 가용성 형태인 특정 IL-15Ra 유도체가 본 명세서에 기재된다. 이들 특정 IL-15Ra 유도체 및 인간 IL-15Ra의 가용성 형태는 부분적으로 인간 IL-15Ra의 단백질분해 절단 부위의 동정에 기초한다. IL-15Ra의 글리코실화에 기초하여 특징분석되는 IL-15Ra의 가용성 형태가 본 명세서에 추가로 기재된다.

[0108] 인간 IL-15Ra의 단백질분해성 절단은 야생형 전장 인간 IL-15Ra의 미성숙 형태의 제공된 아미노산 서열에서 볼드체 및 밑줄표시된 잔기(즉, Gly170 및 His171) 사이에서 일어난다:

MAPRRARGCR TLGLPALLL LLLRPPATRG ITCPPMSVE HADIWVKSYS LYSRERYICN
SGFKRKAGTS SLTECVLNKA TNVAHWTPS LKCRDPALV HQRAPPSTV TTAGVTPQPE
SLSPSGKEPA ASSPSSNNTA ATTAIVPGS QLMPSPSPST GTTEISSHES SHGTPSQTTA
KNWELTASAS HQPPGVYPQG HSDTTVAIST STVLLCGLSA VSLLACYLKS RQTPPLASVE

[0109] MEAMEALPVT WGTSSRDEDL ENCSHHL (표 1의 서열 번호 6).

[0110] 따라서, 일 양태에서, 인간 IL-15Ra의 가용성 형태(예를 들어, 인간 IL-15Ra의 정제된 가용성 형태)가 본원에 제공되며, 여기서 인간 IL-15Ra의 가용성 형태의 아미노산 서열은 야생형 막-결합 인간 IL-15Ra의 단백질분해성 절단 부위에서 종결된다. 특히, 인간 IL-15Ra의 가용성 형태(예를 들어, 인간 IL-15Ra의 정제된 가용성 형태)가 본원에 제공되는데, 여기서 인간 IL-15Ra의 가용성 형태의 아미노산 서열은 PQG(여기서, G는 Gly170임)로 종결된다(표 1의 서열 번호 20). 특정 실시형태에서, 인간 IL-15Ra의 가용성 형태(예를 들어, 인간 IL-15Ra의 정제된 가용성 형태)가 본원에 제공되며, 이는 표 1의 서열 번호 7에 나타낸 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, (i) 표 1의 서열 번호 7과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하고; 및 (ii) 아미노산 서열 PQG(표 1의 서열 번호 20)로 종결하는 폴리펩티드인, IL-15Ra 유도체(예를 들어, IL-15Ra 유도체의 정제된 및/또는 가용성 형태)가 본원에 제공된다. 다른 특정 실시형태에서, 인간 IL-15Ra의 가용성 형태(예를 들어, 인간 IL-15Ra의 정제된 가용성 형태)가 본원에 제공되며, 이는 표 1의 서열 번호 10의 아미노산 서열을 갖

는다. 일부 실시형태에서, 표 1의 서열 번호 10과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩티드인, IL-15Ra 유도체(예를 들어, IL-15Ra 유도체의 정제된 및/또는 가용성 형태)가 본원에 제공되며, 선택적으로, IL-15Ra 유도체의 가용성 형태의 아미노산 서열은 PQG(표 1의 서열 번호 20)로 종결한다.

[0111] 일부 실시형태에서, 인간 IL-15Ra의 IL-15Ra 유도체가 본원에 제공되며, 상기 IL-15Ra 유도체는 가용성이며, 및: (a) IL-15Ra 유도체의 C-말단에서의 마지막 아미노산은 아미노산 잔기 PQGHSDDT(표 1의 서열 번호 15)로 구성되고; (b) IL-15Ra 유도체의 C-말단에서의 마지막 아미노산은 아미노산 잔기 PQGHSDD(표 1의 서열 번호 16)로 구성되고; (c) IL-15Ra 유도체의 C-말단에서의 마지막 아미노산은 아미노산 잔기 PQGHSD(표 1의 서열 번호 17)로 구성되고; (d) IL-15Ra 유도체의 C-말단에서의 마지막 아미노산은 아미노산 잔기 PQGHS(표 1의 서열 번호 18)로 구성되고; 또는 (e) IL-15Ra 유도체의 C-말단에서의 마지막 아미노산은 아미노산 잔기 PQGH(표 1의 서열 번호 19)로 구성된다. 특정 실시형태에서, 상기 IL-15Ra 유도체의 아미노산 서열은 표 1의 서열 번호 21의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일하다. 일부 실시형태에서, 이들 IL-15Ra 유도체는 정제된다.

[0112] 또 다른 양태에서, IL-15Ra의 글리코실화 형태(예를 들어, IL-15Ra의 정제된 글리코실화 형태)가 본원에 제공되며, IL-15Ra의 글리코실화는 당해 기술 분야의 숙련자에게 공지된 기술에 의해 평가된 바와 같은 IL-15Ra의 질량(분자량)의 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 또는 20% 내지 25%, 20% 내지 30%, 25% 내지 30%, 25% 내지 35%, 30% 내지 35%, 30% 내지 40%, 35% 내지 40%, 35% 내지 45%, 40% 내지 50%, 45% 내지 50%, 20% 내지 40%, 또는 25% 내지 50% 차지한다. IL-15Ra의 글리코실화가 차지하는 IL-15Ra(예를 들어, 정제된 IL-15Ra)의 질량(분자량)의 백분율은, 예를 들어 제한없이, 겔 전기영동 및 겔의 정량적 농도측정법, 및 IL-15Ra의 글리코실화된 형태(예를 들어, IL-15Ra의 정제된 글리코실화된 형태)의 평균 질량(분자량)과 IL-15Ra의 비-글리코실화된 형태(예를 들어, IL-15Ra의 정제된 비-글리코실화된 형태)의 비교를 사용하여 결정될 수 있다. 일 실시형태에서, IL-15Ra(예컨대, 정제된 IL-15Ra)의 평균 질량(분자량)은 시나판산을 기질로 사용하여 Cova1X HM-1 고 질량 검출기가 장착된 Voyager De-Pro에서 MALDI-TOF MS 스펙트럼을 사용하여 측정될 수 있으며, IL-15Ra의 글리코실화 형태(예를 들어, IL-15Ra의 정제된 글리코실화 형태)의 질량은 IL-15Ra의 비-글리코실화 형태(예를 들어, IL-15Ra의 정제된 비-글리코실화 형태)의 질량과 비교하여, 글리코실화가 차지하는 질량의 백분율을 결정할 수 있다.

[0113] 다른 양태에서, IL-15Ra의 글리코실화 형태가 본원에 제공되며, 상기 IL-15Ra는 특정 아미노산 잔기에서 글리코실화(N- 또는 O-글리코실화)된다. 특정 실시형태에서, 하기 글리코실화 부위 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7개, 또는 모두에서 글리코실화된 인간 IL-15Ra가 본원에 제공된다: (i) IL-15Ra에서 아미노산 서열 NWELTASASHQPPGVYPQG(표 1의 서열 번호 22)의 위치 5에서의 트레오닌에 대한 O-글리코실화; (ii) IL-15Ra에서 아미노산 서열 NWELTASASHQPPGVYPQG(표 1의 서열 번호 22)의 위치 7에서의 세린에 대한 O-글리코실화; (iii) IL-15Ra에서 아미노산 서열 ITCPPPMSVEHADIWVK(표 1의 서열 번호 23)의 위치 8에서의 세린, 또는 IL-15Ra에서 아미노산 서열 ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS(표 1의 서열 번호 24)의 위치 8에서의 세린에 대한 N-글리코실화; (iv) IL-15Ra에서 아미노산 서열 ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS(표 1의 서열 번호 24)의 Ser 18에 대한 N-글리코실화; (v) IL-15Ra에서 아미노산 서열 ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS(표 1의 서열 번호 24)의 위치 20에서의 세린에 대한 N-글리코실화; (vi) IL-15Ra에서 아미노산 서열 ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS(표 1의 서열 번호 24)의 위치 23에서의 세린에 대한 N-글리코실화; 및/또는 (vii) IL-15Ra에서 아미노산 서열 ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS(표 1의 서열 번호 24)의 위치 31에서의 세린에 대한 N-글리코실화.

[0114] 구체적인 실시형태에서, 글리코실화된 IL-15Ra는 야생형 인간 IL-15Ra이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 글리코실화된 IL-15Ra는 인간 IL-15Ra의 IL-15Ra 유도체이다. 일부 실시형태에서, 글리코실화된 IL-15Ra는 야생형 가용성 인간 IL-15Ra, 예컨대 표 1의 서열 번호 7 또는 10이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 글리코실화된 IL-15Ra는 인간 IL-15Ra의 가용성 형태인 IL-15Ra 유도체이다. 특정 실시형태에서, 글리코실화된 IL-15Ra는 정제되거나 단리된다.

[0115] *IL-15/IL-15Ra 복합체*

[0116] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "IL-15/IL-15Ra 복합체"는 서로 공유결합 또는 비공유결합된 IL-15 및 IL-15Ra를 포함하는 복합체를 지칭한다. 바람직한 구현예에서, IL-15Ra는 당 업계에 공지된 기술, 예를 들어, KinEx A 분석, 혈장 표면 공명(예를 들어, BIAcore™ 분석)에 의해 측정된 바와 같이, IL-15에 대해 비교적 높은 친화도, 예를 들어 10 내지 50 pM의 KD를 갖는다. 또 다른 바람직한 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 당 업계에 잘 공지된 분석, 예를 들어 전기이동성 이동 분석법, ELISA 및 다른 면역분석법에 의해 측정된 바와

같은, IL-15-매개된 신호전달을 유도한다. 일부 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 $\beta \gamma$ 사슬에 특이적으로 결합하는 능력을 보유한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 세포로부터 단리된다.

- [0117] IL-15 수용체의 $\beta \gamma$ 서브유닛에 결합하고, IL-15 신호전달(예를 들어, Jak/Stat 신호전달)을 유도하고, IL-15-매개된 면역 기능을 증강시키는 복합체가 본원에 제공되며, 상기 복합체는 인터루킨-15 수용체 알파("IL-15Ra")에 공유결합 또는 비공유결합된 IL-15를 포함한다("IL-15/IL-15Ra 복합체"). IL-15/IL-15Ra 복합체는 $\beta \gamma$ 수용체 복합체에 결합할 수 있다.
- [0118] IL-15/IL-15Ra 복합체는 야생형 IL-15 또는 IL-15 유도체 및 야생형 IL-15Ra 또는 IL-15Ra 유도체로 구성될 수 있다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 상기 기술된 IL-15 또는 IL-15 유도체 및 IL-15Ra를 포함한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 표 1의 서열 번호 10의 아미노산 서열을 갖는 IL-15 또는 IL-15 유도체 및 IL-15Ra를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 상기 기술된 IL-15 또는 IL-15 유도체 및 IL-15Ra의 글리코실화된 형태를 포함한다.
- [0119] 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 야생형 IL-15 또는 IL-15Ra 유도체 및 가용성 IL-15Ra(예를 들어, 야생형 가용성 인간 IL-15Ra)를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 IL-15 유도체 및 IL-15Ra 유도체로 구성된다. 또 다른 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 야생형 IL-15 및 IL-15Ra 유도체로 구성된다. 일 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 IL-15Ra의 가용성 형태이다. IL-15Ra의 가용성 형태의 특정 예가 상기 기재되어 있다. 구체적인 실시형태에서, IL-15Ra의 가용성 형태는 야생형 IL-15Ra의 막투과 도메인 및 임의로 야생형 IL-15Ra의 세포내 도메인을 갖지 않는다. 또 다른 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 야생형 IL-15Ra의 세포외 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 야생형 IL-15Ra의 스시 도메인 또는 엑손 2를 포함하는 세포외 도메인의 단편이다. 일부 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 야생형 IL-15Ra의 스시 도메인 또는 엑손 2를 포함하는 세포외 도메인의 단편 및 엑손 3에 의해 코딩되는 적어도 하나의 아미노산을 포함한다. 특정 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 야생형 IL-15Ra의 스시 도메인 또는 엑손 2 및 IL-15Ra 힌지 영역 또는 이의 단편을 포함하는 세포외 도메인의 단편을 포함한다. 특정 실시형태에서, IL-15Ra는 표 1의 서열 번호 10의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0120] 또 다른 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 야생형 IL-15Ra를 절단하는 내인성 프로테아제에 의한 절단을 억제하는 세포외 도메인 절단 부위에서의 돌연변이를 포함한다. 구체적인 실시형태에서, IL-15Ra의 세포외 도메인 절단 부위는 이중의 공지된 프로테아제에 의해 인식되고 절단되는 절단 부위로 대체된다. 이러한 이중 프로테아제 절단 부위의 비-제한적인 예는 푸린(furin) 프로테아제에 의해 인식되고 절단되는 Arg-X-X-Arg(표 1의 서열 번호 25); 및 트롬빈 프로테아제에 의해 인식되고 절단되는 A-B-Pro-Arg-X-Y(표 1의 서열 번호 26)(A 및 B는 소수성 아미노산이고, X 및 Y는 비-산성 아미노산임) 및 Gly-Arg-Gly를 포함한다.
- [0121] 또 다른 실시형태에서, IL-15는 예를 들어 WO 2007/084342 및 WO 2010/020047; 및 미국 특허 제5,965,726호; 제6,174,666호; 제6,291,664호; 제6,414,132호; 및 제6,794,498호에 기재된 바와 같은 방법을 사용하여, IL-15의 발현을 증진시키도록 최적화된 핵산 서열에 의해 코딩된다.
- [0122] 특정 실시형태에서, 표 1의 서열 번호 22, 23 및 24를 참고하여, 상기 기재된 글리코실화 부위 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7개 또는 전부에서 글리코실화되는 인간 IL-15Ra를 포함하는 IL-15/IL-15Ra 복합체가 본원에 제공된다. 구체적인 실시형태에서, 글리코실화된 IL-15Ra는 야생형 인간 IL-15Ra이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 글리코실화된 IL-15Ra는 인간 IL-15Ra의 IL-15Ra 유도체이다. 일부 실시형태에서, 글리코실화된 IL-15Ra는 야생형 가용성 인간 IL-15Ra, 예컨대 표 1의 서열 번호 7 또는 10이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 글리코실화된 IL-15Ra는 인간 IL-15Ra의 가용성 형태인 IL-15Ra 유도체이다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 정제되거나 단리된다.
- [0123] IL-15 및 IL-15Ra 이외에, IL-15/IL-15Ra 복합체는 이중 분자를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이중 분자는 단백질 안정성을 증가시킨다. 이러한 분자의 비-제한적 예로는 생체내에서 IL-15 또는 IL-15Ra의 반감기를 증가시키는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), IgG 면역글로불린 또는 이의 단편의 Fc 도메인, 또는 알부민이 포함된다. 특정 실시형태에서, IL-15Ra는 면역글로불린(예를 들어, IgG1) 또는 이의 단편의 Fc 도메인에 접합/융합된다. 구체적인 실시형태에서, IL-15RaFc 융합 단백질은 표 1의 서열 번호 27 또는 28의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, IL-15RaFc 융합 단백질은 Han 등, (2011), Cytokine 56: 804-810, 미국 특허 제 8,507,222호 또는 미국 특허 제8,124,084호에 기재된 IL-15Ra/Fc 융합 단백질이다. 이중 분자를 포함하는 IL-15/IL-15Ra 복합체에서, 이중 분자는 IL-15 및/또는 IL-15Ra에 접합될 수 있다. 일 실시형태에서, 이중 분자는 IL-15Ra에 접합된다. 또 다른 실시형태에서, 이중 분자는 IL-15에 접합된다.

- [0124] IL-15/IL-15Ra 복합체의 성분은 비공유 결합 또는 공유 결합을 사용하여 (예를 들어, 펩티드 결합을 통해 아미노산 서열을 병용함으로써) 직접 융합될 수 있고/있거나, 하나 이상의 링커를 사용하여 병용될 수 있다. IL-15/IL-15Ra 복합체를 제조하기에 적합한 링커는 펩티드, 알킬기, 화학적으로 치환된 알킬기, 중합체, 또는 둘 이상의 성분을 함께 결합할 수 있는 임의의 다른 공유-결합 또는 비-공유 결합된 화학 물질을 포함한다. 중합체 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함하는 당 업계에 공지된 임의의 중합체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상의 아미노산 길이인 펩티드이다. 구체적인 실시형태에서, 링커는 IL-15가 IL-15Ra에 결합하는 능력을 보존하기에 충분히 길다. 다른 실시형태에서, 링커는 IL-15/IL-15Ra 복합체가 $\beta\gamma$ 수용체 복합체에 결합하고 IL-15 신호전달을 매개하는 작용제로서 작용하는 능력을 보존하기에 충분히 길다.
- [0125] 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 본 명세서에 기재된 방법에서 사용하기 전에(예를 들어, IL-15/IL-15Ra 복합체와 세포를 접촉시키기 전에, 또는 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에게 투여하기 전에) 예비-커플링된다. 다른 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 본 명세서에 기재된 방법에서 사용하기 전에 예비-커플링되지 않는다.
- [0126] 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 당업계에 잘 공지된 분석법, 예를 들어, ELISPOT, ELISA 및 세포 증식 검정법을 사용하여 IL-15/IL-15Ra 복합체를 투여하지 않은 대상체의 면역 기능에 대하여, 대상체의 면역 기능을 적어도 99%, 적어도 95%, 적어도 90%, 적어도 85%, 적어도 80%, 적어도 75%, 적어도 70%, 적어도 60%, 적어도 50%, 적어도 45%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 35%, 적어도 30%, 적어도 25%, 적어도 20%, 또는 적어도 10% 증진 또는 유도시킨다. 구체적인 실시형태에서, 면역 기능은 사이토카인 방출(예를 들어, 인터페론 감마, IL-2, IL-5, IL-10, IL-12 또는 형질전환 성장 인자(TGF)-베타)이다. 일 실시형태에서, IL-15 매개된 면역 기능은 NK 세포 증식이며, 이는 NK 세포(예를 들어, CD56)의 마커를 발현하는 세포의 수를 검출하기 위해 예를 들어, 유동 세포계측법에 의해 분석될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, IL-15 매개된 면역 기능은 항체 생산이고, 이는 예를 들어 ELISA에 의해 분석될 수 있다. 일부 실시형태에서, IL-15 매개된 면역 기능은 예를 들어, 세포독성 분석 또는 당 업계에 잘 공지된 다른 분석법에 의해 분석될 수 있는 이펙터 기능이다.
- [0127] 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체에 의해 강화된 면역 기능의 예는 림프구의 증식/증대(예를 들어, 림프구의 수 증가), 림프구의 세포자멸의 억제, 수지상 세포(또는 항원 제시 세포)의 활성화 및 항원 제시를 포함한다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체에 의해 강화된 면역 기능은 CD4+ T 세포(예를 들어, Th1 및 Th2 헬퍼 T 세포), CD8+ T 세포(예를 들어, 세포독성 T 림프구, 알파/베타 T 세포 및 감마/델타 T 세포), B 세포(예를 들어, 플라즈마 세포), 기억 T 세포, 기억 B 세포, 수지상 세포(미성숙 또는 성숙), 항원 제시 세포, 대식세포, 비만 세포, 자연 살해 T 세포(NKT 세포), 종양-상주 T 세포, CD122+ T 세포 또는 자연 살해 세포(NK 세포)의 증식/활성화 수 증대이다. 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 림프구 전구세포의 증식/증대 또는 수를 증가시킨다. 일부 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 CD4+ T 세포(예를 들어, Th1 및 Th2 헬퍼 T 세포), CD8+ T 세포(예를 들어, 세포독성 T 림프구, 알파/베타 T 세포 및 감마/델타 T 세포), B 세포(예를 들어, 플라즈마 세포), 기억 T 세포, 기억 B 세포, 수지상 세포(미성숙 또는 성숙), 항원 제시 세포, 대식세포, 비만 세포, 자연 살해 T 세포(NKT 세포), 종양-상주 세포, CD122+ T 세포 또는 자연 살해 세포(NK 세포)의 수를 음성 대조군(예를 들어, IL-15/IL-15Ra 복합체와 함께 처리, 배양 또는 접촉하지 않은 각각의 세포의 수)에 비해, 약 1배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배 또는 그 이상 증가한다.
- [0128] 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 스타필로코커스 장독소 B(SEB)에 의해 활성화된 전혈 상에서의 IL-2의 발현을 증가시킨다. 예를 들어, IL-15/IL-15Ra 복합체는 SEB 단독으로 사용될 때 IL-2의 발현과 비교하여 IL-2의 발현을 적어도 약 2, 3, 4 또는 5배 증가시킨다.
- [0129] 항-PD-1 항체 분자
- [0130] 본 명세서에 기재된 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 방법에 따라 단독으로 또는 본 명세서에 기재된 하나 이상의 추가의 작용제와 병용하여 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 병용물은 본 명세서에 기재된 PD-1 억제제, 예를 들어 항-PD-1 항체 분자(예를 들어, 인간화 항체 분자)를 포함한다.
- [0131] 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자(예를 들어 단리된 또는 재조합 항체 분자)는 하기의 특성 중 하나 이상을 갖는다:
- [0132] (i) 높은 친화도로, 예를 들어 적어도 약 10^7 M^{-1} , 전형적으로 약 10^8 M^{-1} , 및 더욱 전형적으로, 약 10^9 M^{-1} 내지

10^{10} M^{-1} 이상의 친화도 상수로, PD-1, 예를 들어 인간 PD-1에 결합함;

- [0133] (ii) CD28, CTLA-4, ICOS 또는 BTLA에 실질적으로 결합하지 않음;
- [0134] (iii) PD-1 리간드, 예를 들어 PD-L1 또는 PD-L2 또는 둘 모두로의 PD-1의 결합을 억제하거나 감소시킴;
- [0135] (iv) PD-1상의 에피토프, 예를 들어, 표 1에 기재된 항체 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E에 의해 인식되는 에피토프와 동일하거나 유사한 에피토프에 결합함;
- [0136] (v) 표 1에 기재된 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E와 동일하거나 유사한 결합 친화도 또는 특이성, 또는 둘 모두를 나타냄;
- [0137] (vi) 표 1의 서열 번호 35 및 45 또는 서열 번호 55 및 65의 아미노산 서열을 갖는 항체 분자, 예를 들어 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역과 동일하거나 유사한 결합 친화도 또는 특이성 또는 둘 모두를 나타냄;
- [0138] (vii) 표 1의 서열 번호 36 및 46 또는 서열 번호 56 및 66에 나타낸 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩되는 항체 분자, 예를 들어 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역과 동일하거나 유사한 결합 친화도 또는 특이성 또는 둘 모두를 나타냄;
- [0139] (viii) 표 1의 서열 번호 37 및 47 또는 서열 번호 57 및 67의 아미노산 서열을 갖는 항체 분자, 예를 들어 중쇄 및 경쇄와 동일하거나 유사한 결합 친화도 또는 특이성 또는 둘 모두를 나타냄;
- [0140] (ix) PD-1에 대한 제2 항체 분자의 결합을 억제, 예를 들어, 경쟁적으로 억제하며, 상기 제2 항체 분자가 본 명세서에 기재된 항체 분자, 예를 들어, 표 1에 기재된 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택된 항체 분자임;
- [0141] (x) PD-1에 대하여, 제2 항체 분자와 동일한 또는 중복되는 에피토프를 결합하며, 상기 제2 항체 분자가 본 명세서에 기재된 항체 분자, 예를 들어, 표 1에 기재된 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택된 항체 분자임;
- [0142] (xi) PD-1에 대한, 제2 항체 분자와 동일한 에피토프의 결합에 대하여 경쟁하고/하거나, 결합하며, 상기 제2 항체 분자가 본 명세서에 기재된 항체 분자, 예를 들어, 표 1에 기재된 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택된 항체 분자임;
- [0143] (xii) 본 명세서에 기재된 항체 분자, 예를 들어, 표 1에 기재된 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택된 항체 분자의 하나 이상의 생물학적 특성들을 가짐;
- [0144] (xiii) 본 명세서에 기재된 항체 분자, 예를 들어, 표 1에 기재된 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택된 항체 분자의 하나 이상의 약동학적 특성들을 가짐;
- [0145] (xiv) PD-1의 하나 이상의 활성을 억제, 예를 들어 종양 침윤 림프구의 증가, T-세포 수용체 매개의 증식의 증가 또는 암성 세포에 의한 면역 회피의 감소 중 하나 이상을 초래함;
- [0146] (xv) 인간 PD-1에 결합하며, 사이노몰거스 PD-1과 교차-반응성임;
- [0147] (xvi) PD-1의 C 가닥, CC' 루프, C' 가닥 또는 FG 루프, 또는 PD-1의 C 가닥, CC' 루프, C' 가닥 또는 FG 루프 중 2개, 3개 또는 모두의 병용물 내의 하나 이상의 잔기에 결합하며, 예를 들어 결합은 ELISA 또는 BIAcoreTM을 사용하여 검정함; 또는
- [0148] (xvii) VH 영역보다 PD-1으로의 결합에 더 기여하는 VL 영역을 가짐.
- [0149] 일부 실시형태에서, 항체 분자는 높은 친화성으로, 예를 들어 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자, 예를 들어 본원에 기재된 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자의 KD와 대략 동일하거나 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 더 높거나 더 낮은 KD로 PD-1에 결합한다. 일부 실시형태에서, 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자의 KD는 예를 들어 BIAcoreTM 방법에 의해 측정하여, 약 0.4, 0.3, 0.2, 0.1 또는 0.05 nM 미만이다. 일부 실시형태에서, 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자의 KD는 약 0.2 nM 미만, 예를 들어 약 0.135 nM이다. 다른 실시형태에서, 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자의 KD는 예를 들어 PD-1을 발현하는 세포(예를 들어 300.19 세포) 상의 결합에 의해 측정하여, 약 10, 5, 3, 2 또는 1 nM 미만이다. 일부 실시형태에서, 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자의 KD는 약 5 nM 미만, 예를 들어 약 4.60 nM(또는 약 0.69 $\mu\text{g}/\text{ml}$)이다.

- [0150] 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 1×10^{-4} , 5×10^{-5} , 또는 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, 예를 들어, 약 $1.65 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 보다 느린 Koff로 PD-1과 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , or $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, 예를 들어, 약 $1.23 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 보다 빠른 Kon으로 PD-1과 결합한다.
- [0151] 일부 실시형태에서, 항체 분자의 발현 수준은 쥐과 또는 키메라 항체 분자, 예를 들어 본원에 기재된 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자의 발현 수준보다 더 높으며, 예를 들어 적어도 약 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10배 더 높다. 일부 실시형태에서, 항체 분자는 CHO 세포에서 발현된다.
- [0152] 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자, 예를 들어 본원에 기재된 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자의 IC₅₀과 대략 동일하거나 더 낮은, 예를 들어 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 더 낮은 IC₅₀(50% 억제 시의 농도)으로 하나 이상의 PD-1-연관 활성을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자의 IC₅₀은 예를 들어 PD-1을 발현하는 세포(예를 들어 300.19 세포) 상의 결합에 의해 측정하여, 약 6, 5, 4, 3, 2 또는 1 nM 미만이다. 일부 실시형태에서, 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자의 IC₅₀은 약 4 nM 미만, 예를 들어 약 3.40 nM(또는 약 0.51 $\mu\text{g}/\text{ml}$)이다. 일부 실시형태에서, 감소된 PD-1-연관 활성은 PD-1으로의 PD-L1 및/또는 PD-L2의 결합이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 스타필로코커스 장독소 B(SEB)에 의해 활성화되는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에 결합한다. 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 SEB에 의해 활성화되는 전혈 상의 IL-2의 발현을 증가시킨다. 예를 들어 항-PD-1 항체는 아이소타입 대조군(예를 들어 IgG4)이 사용되는 경우의 IL-2의 발현에 비하여 IL-2의 발현을 적어도 약 2, 3, 4 또는 5배 증가시킨다.
- [0153] 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자, 예를 들어 본원에 기재된 쥐과 또는 키메라 항-PD-1 항체 분자보다 개선된 안정성을 가지며, 예를 들어 생체내 또는 시험관내에서 적어도 약 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10배 더 안정하다.
- [0154] 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 인간화 항체 분자이며, 300 내지 700, 400 내지 650, 450 내지 600의 T 세포 에피토프 분석에 기초한 위험 점수 또는 본원에 기재된 바와 같은 위험 점수를 갖는다.
- [0155] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체로부터의 적어도 1개, 2개, 3개 또는 4개의 가변 영역, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 전술한 서열 중 임의의 서열과 실질적으로 동일한(예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한) 서열에 의해 코딩된 항체를 포함한다.
- [0156] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체로부터의 적어도 1개, 또는 2개의 중쇄 가변 영역, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 전술한 서열 중 임의의 서열과 실질적으로 동일한(예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한) 서열에 의해 코딩된 항체를 포함한다.
- [0157] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체로부터의 적어도 1개, 또는 2개의 경쇄 가변 영역, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 전술한 서열 중 임의의 서열과 실질적으로 동일한(예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한) 서열에 의해 코딩된 항체를 포함한다.
- [0158] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 IgG4, 예를 들어 인간 IgG4에 대한 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 인간 IgG4는 EU 넘버링에 따른 위치 228에 치환(예를 들어 Ser에서 Pro으로의 치환)을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 IgG1, 예를 들어 인간 IgG1에 대한 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 인간 IgG1은 EU 넘버링에 따른 위치 297에 치환(예를 들어 Asn에서 Ala으로의 치환)을 포함한다. 일 실시형태에서, 인간 IgG1은 EU 넘버링에 따른 위치 265에 치환, EU 넘버링에 따른 위치 329에 치환, 또는 둘 모두(예를 들어 위치 265에 Asp에서 Ala으로의 치환 및/또는 위치 329에 Pro에서 Ala으로의 치환)를 포함한다. 일 실시형태에서, 인간 IgG1은 EU 넘버링에 따른 위치 234에 치환, EU 넘버링에 따른 위치 235에 치환, 또는 둘 모두(예를 들어 위치 234에 Leu에서 Ala으로의 치환 및/또는 위치 235에 Leu에서 Ala으로의 치환)를 포함한다. 일 실시형태에서, 중쇄 불변 영역은 표 1의 서열 번호 98 내지 103에 기재된 아미노산 서열, 또는 이와 실질적으로 동일한(예를 들어 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한) 서열을 포함한다.
- [0159] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 카파 경쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 카파 경쇄 불변 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 경쇄 불변 영역은 표 1의 서열 번호 104에 기재된 아미노산 서열, 또는 이와 실질적으로

로 동일한(예를 들어 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한) 서열을 포함한다.

- [0160] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 IgG4, 예를 들어 인간 IgG4에 대한 중쇄 불변 영역 및 카파 경쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 카파 경쇄 불변 영역, 예를 들어 표 1에 기재된 아미노 서열 또는 이와 실질적으로 동일한(예를 들어 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한) 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 인간 IgG4는 EU 넘버링에 따른 위치 228에 치환(예를 들어 Ser에서 Pro으로의 치환)을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 IgG1, 예를 들어 인간 IgG1에 대한 중쇄 불변 영역 및 카파 경쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 카파 경쇄 불변 영역, 예를 들어 표 1에 기재된 아미노 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 불변 영역 또는 이와 실질적으로 동일한(예를 들어 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한) 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 인간 IgG1은 EU 넘버링에 따른 위치 297에 치환(예를 들어 Asn에서 Ala으로의 치환)을 포함한다. 일 실시형태에서, 인간 IgG1은 EU 넘버링에 따른 위치 265에 치환, EU 넘버링에 따른 위치 329에 치환, 또는 둘 모두(예를 들어 위치 265에 Asp에서 Ala으로의 치환 및/또는 위치 329에 Pro에서 Ala으로의 치환)를 포함한다. 일 실시형태에서, 인간 IgG1은 EU 넘버링에 따른 위치 234에 치환, EU 넘버링에 따른 위치 235에 치환, 또는 둘 모두(예를 들어 위치 234에 Leu에서 Ala으로의 치환 및/또는 위치 235에 Leu에서 Ala으로의 치환)를 포함한다.
- [0161] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 표 1에 기재되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되는 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E의 아미노산 서열; 또는 상기 서열 중 임의의 것과 실질적으로 동일한(예를 들어 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한) 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 불변 영역, 경쇄 가변 도메인 및 불변 영역, 또는 둘 모두를 포함한다. 항-PD-1 항체 분자는 선택적으로, 중쇄, 경쇄 또는 둘 모두로부터의 리더 서열; 또는 이와 실질적으로 동일한 서열을 포함한다.
- [0162] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 전술한 서열 중 임의의 서열과 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한) 서열에 의해 코딩된 항체의 중쇄 가변 영역으로부터의 적어도 1개, 2개 또는 3개의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다.
- [0163] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 표 1에 개시된, 또는 표 1에 나타낸 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역으로부터의 적어도 1, 2 또는 3개의 CDR(또는 집합적으로 모든 CDR)을 포함한다. 일 실시형태에서, CDR 중 하나 이상(또는 집합적으로 모든 CDR)은 표 1에 나타내거나, 표 1에 나타낸 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되는 아미노산 서열에 비하여, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 변경, 예를 들어 아미노산 치환 또는 결실을 갖는다.
- [0164] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 전술한 서열 중 임의의 서열과 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한) 서열에 의해 코딩된 항체의 경쇄 가변 영역으로부터의 적어도 1개, 2개 또는 3개의 CDR를 포함한다.
- [0165] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 표 1에 나타내거나, 표 1에 나타낸 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역으로부터의 적어도 1, 2 또는 3개의 CDR(또는 집합적으로 모든 CDR)을 포함한다. 일 실시형태에서, CDR 중 하나 이상(또는 집합적으로 모든 CDR)은 표 1에 나타내거나, 표 1에 나타낸 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되는 아미노산 서열에 비하여, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 변경, 예를 들어 아미노산 치환 또는 결실을 갖는다.
- [0166] 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되는 항체로부터의 6개의 CDR 모두; 표 1에 기재된, 또는 표 1의 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩되는, 또는 밀접하게 관련된 CDR, 예를 들어, 동일하거나 적어도 하나의 아미노산 변경, 그러나 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어, 보존적 치환)을 갖는 CDR을 포함한다. 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본원에 기재된 임의의 CDR을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 경쇄 CDR 내에 치환, 예를 들어 경쇄의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 내에 하나 이상의 치환을 포함한다.
- [0167] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 임의의 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 전술한 서열 중 임의의 서열과 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상

동일한) 서열; 또는 표 1에 제시된 Kabat 등에 따른 1개, 2개 또는 3개의 CDR에 대한 적어도 하나의 아미노산 변경을 갖지만, 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어, 보존적 치환)을 갖는 서열에 의해 코딩된 항체의 중쇄 가변 영역으로부터의 Kabat 등에 따른 적어도 1개, 2개, 또는 3개의 CDR(예를 들어, 표 1에 제시된 Kabat 정의에 따른 적어도 1, 2, 또는 3개의 CDR)을 포함한다.

[0168] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 임의의 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 전술한 서열 중 임의의 서열과 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한) 서열; 또는 표 1에 제시된 Kabat 등에 따른 1개, 2개 또는 3개의 CDR에 대한 적어도 하나의 아미노산 변경을 갖지만, 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어, 보존적 치환)을 갖는 서열에 의해 코딩된 항체의 경쇄 가변 영역으로부터의 Kabat 등에 따른 적어도 1개, 2개, 또는 3개의 CDR(예를 들어, 표 1에 제시된 Kabat 정의에 따른 적어도 1, 2, 또는 3개의 CDR)을 포함한다.

[0169] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 전술한 서열 중 임의의 서열과 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한) 서열; 또는 표 1에 제시된 Kabat 등에 따른 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR에 대한 적어도 하나의 아미노산 변경을 갖지만, 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어, 보존적 치환)을 갖는 서열에 의해 코딩된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역들로부터의 Kabat 등에 따른 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR(예를 들어, 표 1에 제시된 Kabat 정의에 따른 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR)을 포함한다.

[0170] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 전술한 서열 중 임의의 서열과 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한) 서열; 또는 표 1에 제시된 Kabat 등에 따른 모든 6개의 CDR에 대한 적어도 하나의 아미노산 변경을 갖지만, 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어, 보존적 치환)을 갖는 서열에 의해 코딩된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역들로부터의 Kabat 등에 따른 적어도 모든 6개의 CDR(예를 들어, 표 1에 제시된 Kabat 정의에 따른 모든 6개의 CDR)을 포함한다. 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본원에 기재된 임의의 CDR을 포함할 수 있다.

[0171] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 PD-1과 접촉하는 추가 변 루프로부터의 적어도 아미노산; 또는 표 1에 제시된 Chothia 등에 따른 1개, 2개 또는 3개의 추가 변 루프에 대한 적어도 하나의 아미노산 변경을 갖지만, 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어, 보존적 치환)을 갖는 서열에 의해 코딩된 항체의 중쇄 가변 영역으로부터의 적어도 1개, 2개, 또는 3개의 Chothia 추가 변 루프(예를 들어, 표 1에 제시된 Chothia 정의에 따른 적어도 1, 2, 또는 3개의 추가 변 루프)를 포함한다.

[0172] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 PD-1과 접촉하는 추가 변 루프로부터의 적어도 아미노산; 또는 표 1에 제시된 Chothia 등에 따른 1개, 2개 또는 3개의 추가 변 루프에 대한 적어도 하나의 아미노산 변경을 갖지만, 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어, 보존적 치환)을 갖는 서열에 의해 코딩된 항체의 경쇄 가변 영역의 적어도 1개, 2개, 또는 3개의 Chothia 추가 변 루프(예를 들어, 표 1에 제시된 Chothia 정의에 따른 적어도 1, 2, 또는 3개의 추가 변 루프)를 포함한다.

[0173] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 표 1에 기재된 바와 같은 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나, 표 1의 뉴클레오타이드 서열; 또는 PD-1과 접촉하는 추가 변 루프로부터의 적어도 아미노산; 또는 표 1에 제시된 Chothia 등에 따른 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 추가 변 루프에 대한 적어도 하나의 아미노산 변경을 갖지만, 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어, 보존적 치환)을 갖는 서열에 의해 코딩된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역으로부터의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 추가 변 루프(예를 들어, 표 1에 제시된 Chothia 정의에 따른 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 추가 변 루프)를 포함한다.

[0174] 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E

로부터 선택된 항체의 모든 6개의 추가변 루프(예를 들어, 표 1에 제시된 Chothia 정의에 따른 모든 6개의 추가변 루프), 또는 밀접하게 관련된 추가변 루프, 예를 들어 표 1에 제시된 Chothia 등에 따른 모든 6개의 추가변 루프에 대한 동일한 또는 적어도 1개의 아미노산 변경, 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어, 보존적 치환)을 갖거나; 또는 적어도 1개의 아미노산 변경, 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어, 보존적 치환)을 갖는 추가변 루프를 포함한다. 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본원에 기재된 임의의 추가변 루프를 포함할 수 있다.

[0175] 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어, BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택된 항체의 상응하는 추가변 루프와 동일한 정준 구조, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체의 중쇄 및/또는 경쇄 가변 도메인의 적어도 루프 1 및/또는 루프 2와 동일한 정준 구조를 갖는 적어도 1, 2 또는 3개의 추가변 루프를 포함한다. 추가변 루프 정준 구조에 대하여, 예를 들어, Chothia 등, (1992) J. Mol. Biol. 227: 799-817; Tomlinson 등, (1992) J. Mol. Biol. 227: 776-798을 참조한다. 이들 구조는 이들 참고문헌에 기재된 표의 검토에 의해 결정될 수 있다.

[0176] 특정 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 Kabat 등 또는 Chothia 등에 따라 정의된 CDR 또는 추가변 루프의 병용물을 포함한다.

[0177] 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본원에 기재된 항체, 예를 들어 Kabat 또는 Chothia 정의에 따른, 표 1에 제시된 BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E로부터 선택되거나; 또는 표 1의 뉴클레오티드 서열; 또는 상기 서열 중 임의의 것과 실질적으로 동일한(예를 들어 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한) 서열; 또는 표 1에 제시된 Kabat 및/또는 Chothia에 따른 1, 2 또는 3개의 CDR 또는 추가변 루프에 비하여, 적어도 하나의 아미노산 변경을 갖지만, 2, 3 또는 4개 이하의 변경(예를 들어 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 서열에 의해 인코딩되는 항체의 중쇄 가변 영역으로부터의 적어도 1, 2 또는 3개의 CDR 또는 추가변 루프(예를 들어 표 1에 기재된 Kabat 및 Chothia 정의에 따른 적어도 1, 2 또는 3개의 CDR 또는 추가변 루프)를 포함한다.

[0178] 예를 들어, 항-PD-1 항체 분자는 Kabat 등에 따른 VH CDR1 또는 Chothia 등에 따른 VH 추가변 루프 1, 또는 이들의 병용물을 포함할 수 있으며, 이들은, 예를 들어 표 1에 제시된 바와 같다. 일 실시형태에서, VH CDR1의 Kabat 및 Chothia CDR의 병용물은 아미노산 서열 GYFTTYWMH(서열 번호 93), 또는 이와 실질적으로 동일한(예를 들어, 적어도 하나의 아미노산 변경을 갖는, 그러나 2개, 3개 또는 4개 이하의 변경(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는) 아미노산 서열을 포함한다. 항-PD-1 항체 분자는 예를 들어, 표 1에 제시된 바와 같이, 예를 들어 Kabat 등에 따른 VH CDRs 2-3 및 Kabat 등에 따른 VL CDRs 1-3을 추가로 포함할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 프레임워크 영역은 Kabat 등에 따라 정의되는 CDR 및 Chothia 등에 따라 정의되는 추가변 루프의 병용물에 기초하여 정의된다. 예를 들어 항-PD-1 항체 분자는 Chothia 등에 따른 VH 추가변 루프 1에 기초하여 정의되는 VH FR1 및 Kabat 등에 따른 VH CDR 1-2에 기초하여 정의되는 VH FR2를 포함할 수 있다. 항-PD-1 항체 분자는 예를 들어 Kabat 등에 따른 VH CDR 2-3에 기초하여 정의되는 VH FR 3-4 및 Kabat 등에 따른 VL CDR 1-3에 기초하여 정의되는 VL FR 1-4를 추가로 포함할 수 있다.

[0179] 항-PD-1 항체 분자는 Kabat 및 Chothia 정의에 따른 CDR 또는 추가변 루프의 임의의 병용물을 함유할 수 있다. 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 Kabat 및 Chothia 정의에 따라, 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어, BAP049-클론-B 또는 BAP049-클론-E 중 어느 하나로부터 선택된 항체의 경쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR(예를 들어, 표 1에 제시된 Kabat 및 Chothia 정의에 따른 적어도 1, 2, 또는 3개의 CDR)을 포함한다.

[0180] 본원의 병용물에서, 또 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 (i) 서열 번호 29, 서열 번호 32 또는 서열 번호 93으로부터 선택되는 VHCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 30 또는 서열 번호 33의 VHCDR2 아미노산 서열; 및 서열 번호 31의 VHCDR3 아미노산 서열로부터 선택되는 중쇄 가변 영역(VH); 및 (ii) 서열 번호 39 또는 서열 번호 42의 VLCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 40 또는 서열 번호 43의 VLCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 41 또는 서열 번호 44의 VLCDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0181] 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는: 서열 번호 29의 VHCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 30의 VHCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 31의 VHCDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열 번호 39의 VLCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 40의 VLCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 41의 VLCDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0182] 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는: 서열 번호 32의 VHCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 33의 VHCDR2 아미노

산 서열, 및 서열 번호 34의 VHCDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열 번호 42의 VLCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 43의 VLCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 44의 VLCDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0183] 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는: 서열 번호 93의 VHCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 33의 VHCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 34의 VHCDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열 번호 42의 VLCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 43의 VLCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 44의 VLCDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다; 또는

[0184] 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는: 서열 번호 93의 VHCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 30의 VHCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 31의 VHCDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열 번호 39의 VLCDR1 아미노산 서열, 서열 번호 40의 VLCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 41의 VLCDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0185] *작제물 & 세포*

[0186] IL-15 및/또는 IL-15Ra 및/또는 항-PD-1 항체 분자를 코딩하는 핵산은 포유류 세포, 박테리아, 효모 및 바이러스에서 발현을 위한 핵산 작제물에 삽입될 수 있다. IL-15 및 IL-15Ra는 (예를 들어, 바이시스트로닉 핵산 작제물을 사용하여) 동일한 핵산 작제물로부터 또는 (예를 들어, 모노시스트로닉 핵산 작제물을 사용하여) 상이한 핵산 작제물로부터 재조합적으로 발현될 수 있다. 일 실시형태에서, IL-15 및 IL-15Ra는 IL-15 및 IL-15Ra의 단일 오픈 리딩 프레임(ORF)을 포함하는 단일 핵산 작제물로부터 재조합적으로 발현될 수 있다.

[0187] 핵산 작제물은 IL-15 및/또는 IL-15Ra 및/또는 항-PD-1 항체 분자의 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 하나 이상의 전사 조절 요소(들)을 포함할 수 있다. 전사 조절 요소는 전형적으로 코딩 서열의 5'이며, IL-15 및/또는 IL-15Ra 및/또는 항-PD-1 항체 분자를 코딩하는 핵산의 전사를 지시한다. 일부 실시형태에서, 야생형 IL-15 및/또는 야생형 IL-15Ra 유전자의 전사를 조절하기 위해 자연계에서 발견되는 하나 이상의 전사 조절 요소를 사용하여 전사를 조절한다. 다른 실시형태에서, 야생형 IL-15 및/또는 야생형 IL-15Ra 유전자에 이종인 하나 이상의 전사 조절 요소를 사용하여 전사를 조절한다. 당업자에게 공지된 임의의 전사 조절 요소(들)이 사용될 수 있다. 전사 조절 요소(들)의 유형의 비-제한적인 예는 구성적 프로모터, 조직-특이적 프로모터 및 유도성 프로모터를 포함한다. 구체적인 실시형태에서, 전사는 포유류(일부 실시형태에서는, 인간) 전사 조절 요소(들)에 의해 적어도 부분적으로 제어된다. 구체적인 실시형태에서, 전사는 강력한 프로모터, 예를 들어 CMV에 의해 적어도 부분적으로 제어된다. 일부 양태에서, 유도성 프로모터가 사용될 수 있다.

[0188] 핵산 작제물은 또한, IL-15 및/또는 IL-15Ra 및/또는 항-PD-1 항체 분자의 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 하나 이상의 후-전사 조절 요소(들)을 포함할 수 있다. 후-전사 조절 요소는 코딩 서열의 5' 및/또는 3'이며, IL-15 및/또는 IL-15Ra 및/또는 항-PD-1 항체 분자를 코딩하는 RNA 전사체의 전사의 후-전사 조절을 지시한다.

[0189] 또 다른 양태에서, 핵산 작제물은 예를 들어 국제 공개 번호 WO1994/12650 및 WO2001/68882에 기재된 바와 같이, 유전자의 현존 조절 영역을 다른 유전자로부터 단리된 조절 서열 또는 신규한 조절 서열로 대체하는 유전자 표적화 벡터일 수 있다. 특정 실시형태에서, 예를 들어, 내인성 IL-15 및/또는 IL-15Ra 유전자의 조절 영역을 변경시킴으로써, 내인성 IL-15 및/또는 IL-15Ra의 생산을 증가시키도록 숙주 세포가 조작될 수 있다.

[0190] 선택된 핵산 작제물은 IL-15 및/또는 IL-15Ra 및/또는 항-PD-1 항체 분자를 발현시키는데 사용되는 전사 조절 요소 및 숙주 세포의 강도를 제한없이 포함하는 다양한 인자에 의존할 것이다. 핵산 작제물은 플라스미드, 파지미드, 코스미드, 바이러스 벡터, 파지, 인공 염색체 등일 수 있다. 일 양태에서, 벡터는 임의의 적합한 수단(형질전환, 형질감염, 접합, 원형질체 융합, 전기천공, 인산 칼슘-침전, 직접 마이크로인젝션 등)에 의해 적절한 숙주 세포에 도입되어, 이들은 형질전환시킬 수 있는 에피솜 또는 비-상동적으로 통합된 벡터일 수 있다.

[0191] 핵산 작제물은 숙주 세포에서 IL-15 및/또는 IL-15Ra 및/또는 항-PD-1 항체 분자의 일시적 또는 안정적인 발현을 위한 플라스미드 또는 안정적인 통합 벡터일 수 있다. 안정적인 발현을 위해, 벡터는 표적 부위 또는 무작위 염색체 부위에서 염색체 통합을 매개할 수 있다. IL-15 및/또는 IL-15Ra 및/또는 항-PD-1 항체 분자를 발현하는데 사용될 수 있는 숙주 세포-벡터 시스템의 비-제한적인 예는 바이러스(예를 들어, 우두 바이러스, 아데노바이러스, 레트로바이러스, 렌티바이러스 등)에 의해 감염된 포유류 세포 시스템; 바이러스(예를 들어, 바콜로바이러스)에 의해 감염된 곤충 세포 시스템; 박테리오파지, DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA로 형질전환된 박테리아 또는 효모 벡터를 함유하는 효모와 같은 미생물; 및 선택 마커를 사용하여 형질전환에 의해 생성된 안정적인 세포주를 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산 작제물은 네오마이신(neo), 디하이드로폴레이트 리덕타제(dhfr) 및 하

이그로마이신(hyg)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 선택가능한 마커 유전자를 포함한다.

- [0192] 핵산 작제물은 모노시스트로닉 또는 멀티시스트로닉일 수 있다. 멀티시스트로닉 핵산 작제물은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상, 또는 2~5, 5~10 또는 10~20개의 유전자/뉴클레오티드 서열의 범위를 코딩할 수 있다. 예를 들어, 바이시스트로닉 핵산 작제물은 프로모터, 제1 유전자(예를 들어, IL-15), 및 제2 유전자 및 (예를 들어, IL-15Ra)를 다음 순서로 포함할 수 있다. 이러한 핵산 작제물에서, 두 유전자의 전사는 프로모터에 의해 유도되는 반면, 제1 유전자로부터의 mRNA의 번역은 cap-의존성 스캐닝 메커니즘에 의한 것이고, 제2 유전자로부터의 mRNA의 번역은 cap-독립적 메커니즘, 예를 들어 IRES에 의한 것이다.
- [0193] 상기 양태들을 실시하기 위한 기술은 달리 지시되지 않는 한, 분자 생물학, 미생물학 및 재조합 DNA 조작 및 생산의 통상적인 기술을 사용할 것이며, 이는 당업자에 의해 일상적으로 실시된다. 예를 들어, Sambrook, 1989, 분자 클로닝, A Laboratory Manual, Second Edition; DNA Cloning, Volumes I 및 II (Glover, Ed. 1985); 올리고뉴클레오티드 합성(Gait, Ed. 1984); 핵산 혼성화(Hames & Higgins, Eds. 1984); 전사 및 번역(Hames & Higgins, Eds. 1984); 동물 세포 배양(Freshney, Ed. 1986); 고정화된 세포 및 효소(IRL Press, 1986); Perbal, 분자 클로닝에 대한 실용 가이드 (1984); 포유류 세포에 대한 유전자 전달 벡터(Miller & Calos, Eds. 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); 효소학 방법, Volumes 154 및 155 (각각 Wu & Grossman, 및 Wu, Eds.), (Mayer & Walker, Eds., 1987); 세포 및 분자 생물학에 있어서 면역화학적 방법(Academic Press, London, Scopes, 1987), 분자 생물학의 현 프로토콜에서 우두 바이러스 벡터를 사용하여 포유류 세포에서의 단백질 발현, Volume 2 (Ausubel et al., Eds., 1991)를 참고한다.
- [0194] 핵산의 발현을 위해 선택된 숙주 세포는 세포의 의도된 용도에 의존할 것이다. 세포가 예를 들어, IL-15 및/또는 IL-15Ra 및/또는 항-PD-1 항체 분자를 내인성으로 발현하는 세포와 유사하게 글리코실화하는지 여부와 같은 요소들이 숙주 세포를 선택하는데 고려될 수 있다.
- [0195] 본 발명의 핵산 작제물에 의해 코딩되는 단백질(들)을 발현하는데 사용될 수 있는 숙주 세포의 비-제한적인 예는 포유류 세포, 박테리아 세포, 효모 세포, 일차 세포, 불멸화 세포, 식물 세포 및 곤충 세포를 포함한다. 구체적인 실시형태에서, 숙주 세포는 포유류 세포주이다. 포유류 세포주의 예로는 COS, CHO, HeLa, NIH3T3, HepG2, MCF7, HEK 293, HEK 293T, RD, PC12, 하이브리도마, pre-B 세포들, 293, 293H, K562, SkBr3, BT474, A204, M07Sb, TFβ1, Raji, Jurkat, MOLT-4, CTLL-2, MC-IXC, SK-N-MC, SK-N-MC, SK-N-DZ, SH-SY5Y, C127, NO, 및 BE(2)-C 세포가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 발현을 위한 숙주로서 입수가 가능한 다른 포유류 세포주는 당 업계에 공지되어 있으며, 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection, ATCC)에서 입수할 수 있는 많은 불멸화 세포주를 포함한다.
- [0196] 구체적인 실시형태에서, IL-15 또는 IL-15Ra를 코딩하는 핵산 작제물은 동일한 숙주 세포 또는 상이한 숙주 세포 내로 공동-형질감염되거나 형질감염될 수 있다. 선택적으로, 선별 마커 유전자를 코딩하는 핵산을 포함하는 핵산 작제물이 동일한 세포에 형질감염되어, 형질감염된 세포를 선별할 수도 있다. IL-15 및 IL-15Ra를 코딩하는 핵산을 포함하는 핵산 작제물이 상이한 세포에 형질 감염된 경우, 상이한 세포에 의해 발현되는 IL-15 및 IL-15Ra는 단리되고 상기 기재된 IL-15/IL-15Ra 복합체를 형성하기에 적합한 조건하에 서로 접촉될 수 있다. 예를 들어 형질전환, 형질감염, 접합, 원형질체 융합, 전기천공, 인산 칼슘-침전, 직접 마이크로인젝션 및, 아데노바이러스, 렌티바이러스 및 레트로 바이러스를 포함하지만 이에 한정되지는 않는 바이러스에 의한 감염을 포함하는, 당업자에게 공지된 임의의 기술은 숙주 세포를 핵산으로 형질감염시키거나 형질도입시키는데 사용될 수 있다.
- [0197] 재조합 IL-15 및 IL-15Ra 폴리펩티드 및/또는 항-PD-1 항체 분자의 장기간, 고 수율 생산을 위해, 안정한 세포주가 생성될 수 있다. 예를 들어, 동일한 또는 별도의 핵산 작제물 상에 선별가능한 마커 유전자를 함유할 수 있는 세포주는 본 명세서에 기재된 핵산 작제물을 사용하여 형질전환될 수 있다. 선별가능한 마커 유전자는 공동-형질감염에 의해 동일한 세포 내로 도입될 수 있다. 벡터의 도입 후, 세포를 선별 배지로 전환하기 전에 부유 배지에서 1~2일 동안 성장시켜 도입된 핵산을 성공적으로 발현하는 세포의 성장 및 회복을 허용한다. 안정하게 형질전환된 세포의 내성 클론은 세포 유형에 적합한 당해 분야에 공지된 조직 배양 기술을 사용하여 증식될 수 있다. 특정 실시형태에서, 세포주는 무-혈청 배지에서 성장하도록 적응되어 있다. 일 실시형태에서, 세포주는 셰이커 플라스크내 무-혈청 배지에서 성장하도록 적응되어 있다. 일 실시형태에서, 세포주는 교반 또는 회전 플라스크내에서 성장하도록 적응되어 있다. 특정 실시형태에서, 세포주는 현탁액에서 배양된다. 특정 실시형태에서, 세포주는 접착성이 아니거나 비접착성 세포로서 성장하도록 적응되어 있다. 특정 실시형태에서, 세포주는 저 칼슘 조건에서 성장하도록 적응되어 있다. 특정 실시형태에서, 세포주는 저 혈청 배지에서 성장하도록 배양

또는 적응된다.

- [0198] 구체적 실시형태에서, 본 발명의 재조합 폴리펩티드의 고-수율 생산의 특히 바람직한 방법은 미국 특허 제 4,889,803호에 기술된 바와 같이, 연속적으로 증가하는 수준의 메토티렉세이트를 사용하여, DHFR-결핍 CHO 세포에서 디하이드로 폴레이트 리덕타제(DHFR) 증폭의 사용을 통한 방법이다. 상기 세포로부터 수득된 폴리펩티드는 글리코실화된 형태일 수 있다.
- [0199] 일 실시형태에서, 세포주는 야생형 인간 IL-15 및 야생형 가용성 인간 IL-15Ra의 안정한 이중이량체를 발현하도록 조작되고, 정제된 후 인간에게 투여될 수 있다. 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 이중이량체의 안정성은 IL-15 및 IL-15Ra 모두를 재조합적으로 발현하는 세포주로부터 생산될 때 증가된다.
- [0200] 구체적 실시형태에서, 숙주 세포는 IL-15 및 전장 IL-15Ra를 재조합적으로 발현한다. 또 다른 실시형태에서, 숙주 세포는 IL-15 및 가용성 형태의 IL-15Ra를 재조합적으로 발현한다. 또 다른 특정 실시형태에서, 숙주 세포는 IL-15 및 세포 표면으로부터 절단되지 않고 세포와 결합된 막-결합 형태의 IL-15Ra를 재조합적으로 발현한다. 일부 실시형태에서, IL-15 및/또는 IL-15Ra(전장 또는 가용성 형태)를 재조합적으로 발현하는 숙주 세포는 또한 다른 폴리펩티드(예를 들어, 사이토카인 또는 그의 단편)를 재조합적으로 발현한다.
- [0201] 특정 실시형태에서, 상기 숙주 세포는 IL-15Ra 폴리펩티드 이외에 IL-15 폴리펩티드를 재조합적으로 발현한다. IL-15 및/또는 IL-15Ra를 코딩하는 핵산은 IL-15 및 IL-15Ra의 단리 및 정제를 위해 다량으로 IL-15 및 IL-15Ra를 재조합적으로 발현하는 포유류 세포를 생성시키는데 사용될 수 있으며, 바람직하게는 IL-15 및 IL-15Ra는 복합체로서 연합된다. 일 실시형태에서, 다량의 IL-15/IL-15Ra 복합체는 세포에 의해 발현되는 IL-15/IL-15Ra 복합체의 양을 대조군 세포(예를 들어, IL-15, IL-15Ra 또는 IL-15 및 IL-15Ra 모두를 재조합적으로 발현하도록 유전적으로 조작되지 않은 세포, 또는 공 벡터를 포함하는 세포)에 의해 내인성으로 발현된 IL-15/IL-15Ra 복합체의 양보다 적어도 1배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6 배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20 배 또는 20 배 이상 더 높은 양의 세포에 의해 발현된 IL-15/IL-15Ra 복합체의 양을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 숙주 세포는 당업자에게 공지된 기술(예를 들어, ELISA)에 의해 측정된 약 0.1 pg 내지 25 pg, 0.1 pg 내지 20 pg, 0.1 pg 내지 15 pg, 0.1 pg 내지 10 pg, 0.1 pg 내지 5 pg, 0.1 pg 내지 2 pg, 2 pg 내지 10 pg, 또는 5 내지 20 pg의 IL-15를 발현한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 숙주 세포는 당업자에게 공지된 기술(예를 들어, ELISA)에 의해 측정된 약 0.1 pg 내지 0.25 pg/일, 0.25 pg 내지 0.5 pg/일, 0.5 pg 내지 1 pg/일, 1 pg 내지 2 pg/일, 2 pg 내지 5 pg/일, 또는 5 내지 10 pg/일의 IL-15를 발현한다. 일 실시형태에서, IL-15Ra 유도체는 IL-15Ra의 가용성 형태이다. 구체적 실시형태에서, IL-15Ra는 안정한 이중이량체에서 IL-15와 관련된 IL-15Ra의 가용성 형태로서, 수율을 증가시키고 생체활성 이중이량체 IL-15/가용성 IL-15Ra 사이토카인의 생산 및 정제를 단순화시킨다.
- [0202] 재조합 단백질 생산 및 정제 방법을 사용하여 재조합 IL-15 및 IL-15Ra 및 항-PD-1 항체 분자가 정제될 수 있으며, 정제는 당 기술분야, 예를 들어, 국제 공개 WO 2007/070488에 공지되어 있다. 간략하게, 폴리펩티드는 세포 내, 세포질 주위 공간에서 생성되거나, 배지로 직접 분비될 수 있다. 폴리펩티드를 포함하는 세포 용해물 또는 상등액은 예를 들어 히드록실아파타이트 크로마토 그래피, 겔 전기영동, 투석 및 친화도 크로마토 그래피를 사용하여 정제될 수 있다. 이온-교환 컬럼상에서의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 상의 크로마토 그래피, 헤파린 SEPHAROSE™(겔 여과 물질; Pharmacia Inc., Piscataway, New Jersey) 상의 크로마토 그래피, 음이온 또는 양이온 교환 수지 상의 크로마토그래피(예컨대, 폴리아스파르트 산 칼럼), 크로마토포커싱, SDS-PAGE 및 황산 암모늄 침전과 같은 단백질 정제를 위한 다른 기술도 가능하다.
- [0203] 일부 실시형태에서, IL-15 및 IL-15Ra는 상이한 세포에 의해 합성되거나 재조합적으로 발현되고, 이어서 단리되고 병용되어, 대상체에게 투여하기 전에 시험관 내에서 IL-15/IL-15Ra 복합체를 형성한다. 다른 실시형태에서, IL-15 및 IL-15Ra는 상이한 세포에 의해 합성되거나 재조합적으로 발현되고, 이어서 단리되어, 원위치 또는 생체내에서, 대상체에게 IL-15/IL-15Ra 복합체를 동시에 투여한다. 또 다른 실시형태에서, IL-15 및 IL-15Ra는 동일 세포에 의해 함께 합성되거나 발현되며, 형성된 IL-15/IL-15Ra 복합체가 단리된다.
- [0204] 조성물
- [0205] IL-15/IL-15Ra 복합체를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 항-PD-1 항체 분자를 포함하는 조성물도 또한 본원에 제공된다. 상기 조성물은 단위 투여 형태 제조에 사용될 수 있는 약제학적 조성물(예를 들어, 불순한 또는 비-멸균 조성물) 및 약제학적 조성물(즉, 대상체 또는 환자에게 투여하기에 적합한 조성물)의 제조에 유용한 벌크 약물 조성물을 포함한다. 상기 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)은 유효량의 IL-15/IL-15Ra 복합체 또는

항-PD-1 항체 분자, 또는 IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자 및 약제학적으로 허용가능한 담체의 병용물을 포함한다. 구체적인 실시형태에서, 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)은 유효량의 하나 이상의 IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 부가적인 치료제, 예를 들어, 항암제, 항-바이러스제, 항염증제, 애주번트를 추가로 포함한다. 상기 치료제의 비-제한적인 예는 하기에 제공된다.

[0206] 구체적인 실시형태에서, 용어 "약제학적으로 허용가능한"은 연방 정부 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나, 미국 약전 또는 동물에서, 특히 인간에 사용하기 위해 일반적으로 인정되는 약전에 열거되어 있음을 의미한다. 용어 "담체"는 희석제, 애주번트(예를 들어, 프로인트 애주번트(완전 및 불완전) 또는 보다 바람직하게는 MF59C.1 애주번트), 부형제 또는 치료제가 투여되는 비히클을 의미한다. 이러한 약제학적 담체는 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 원료, 예컨대 땅콩 유, 대두유, 광유, 참기름 등의 물 및 오일과 같은 무균 액체일 수 있다. 일 실시형태에서, 물은 약제학적 조성물이 정맥내 투여될 때 담체이다. 염분 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액은 또한 특히 주사가 가능한 용액을 위한 액체 담체로서 사용될 수 있다. 적합한 약제학적 부형제는 진분, 글루코스, 락토오스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 초크, 실리카 겔, 스테아르산 나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다. 상기 조성물은 원한다면 소량의 습윤제 또는 유화제 또는 pH 완충제를 또한 함유할 수 있다. 상기 조성물은 용액, 현탁액, 유제, 정제, 환제, 캡슐, 분말, 서방형 제형 등의 형태를 취할 수 있다.

[0207] 약제학적 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 사용하여 임의의 통상적인 방식으로 제형화될 수 있다. 구체적인 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 따라 대상체에게 투여된 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자는 약제학적 조성물로서 투여된다.

[0208] 일반적으로, IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자를 포함하는 약제학적 조성물의 성분들은 단위 제형 중에 별개로, 또는 함께 혼합하여, 예를 들어 건조된 동결건조 분말, 또는 무수 농축액으로서, 활성제의 양을 표시한 기밀 용기, 예를 들어 앰플 또는 봉지 내에 공급된다. IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자가 주입에 의해 투여될 경우, 이는 멸균된 약제학적 등급의 물 또는 식염수(예를 들어, PBS)를 함유하는 주입 병에 분배될 수 있다. IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자가 주사에 의해 투여되는 경우, 성분들이 투여 전 혼합될 수 있도록 멸균된 주사용 물 또는 식염수의 앰플이 제공될 수 있다.

[0209] 일부 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자는 비경구(예를 들어, 피하, 정맥내, 종양내 또는 근육내) 투여를 포함하지만 이에 한정되지 않는, 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해 투여를 위해 제형화될 수 있다. 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자는 국소 또는 전신 비경구 투여, 예를 들어 종양내 투여를 위해 제형화된다. 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자는 각각 피하 투여 또는 정맥내 투여를 위해 제형화된다. 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자는 약제학적으로 적합한 용액으로 제형화된다.

[0210] IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자는 주사에 의해, 예를 들어, 보강 주입 또는 연속 주입에 의해 비경구 투여를 위해 제형화될 수 있다. 주사용 제형물은 단위 투여량 형태, 예를 들어 앰플 또는 다중-용량 용기에서, 첨가되는 보존제와 함께 제공될 수 있다. 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중 현탁액, 용액 또는 에멀전과 같은 형태를 취할 수 있고, 현탁화제, 안정화제 및/또는 분산제와 같은 제형화 제제를 함유할 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은 적합한 비히클, 예를 들어 멸균 발열원-비함유수로 사용 전에 구성하기 위한 분말 형태일 수 있다.

[0211] *예방적 및 치료적 사용을 위한 용량 요법*

[0212] 일 양태에서, 특정 용량 요법으로 복합체 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에게 피하 투여하는 단계를 포함하는, IL-15-매개된 면역 기능을 증진시키는 방법이 본원에 제공된다. IL-15-매개된 면역 기능을 증진시키는 것이 특정 장애의 예방, 치료 및/또는 관리에 유익하기 때문에, IL-15/IL-15Ra 복합체를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 상기 장애의 예방, 치료 및/또는 관리 방법이 본원에 제공된다. IL-15-매개된 면역 기능을 증진시키는 것이 유익한 질환의 비-제한적인 예는 암, 림프구감소증, 면역결핍증, 감염성 질환 및 상처를 포함한다.

[0213] 일 실시형태에서, 대상체의 장애를 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법으로서, IL-15-매개된 면역 기능의 증진이 이러한 장애의 예방, 치료 및/또는 관리에 유익하고, IL-15/IL-15Ra 복합체의 동일한 투여용량을 치료주기의 지속 기간 동안 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 일 실시형태에서, 투여용량은 0.1

µg/kg 및 0.5 µg/kg의 범위이다. 일 실시형태에서, 투여용량은 0.25 µg/kg 및 1 µg/kg의 범위이다. 구체적인 실시형태에서, 투여용량은 0.5 µg/kg 및 2 µg/kg의 범위이다. 또 다른 실시형태에서, 투여용량은 1 µg/kg 내지 4 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 투여용량은 2 µg/kg 내지 8 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 투여용량은 0.1 µg/kg, 0.25 µg/kg, 0.5 µg/kg, 1 µg/kg, 2 µg/kg, 4 µg/kg, 5 µg/kg, 6 µg/kg, 8 µg/kg이다. 구체적인 실시형태에서, 투여용량은 1 µg/kg이다. 특정 실시형태에서, 투여용량은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 이상, 또는 1 내지 3, 1 내지 4, 2 내지 4, 2 내지 5, 2 내지 6, 3 내지 6, 4 내지 6, 6 내지 8, 5 내지 8, 또는 5 내지 10회 투여된다. 특정 실시형태에서, 투여용량은 5 내지 7일, 5 내지 10일, 7 내지 12일, 7 내지 14일, 7 내지 21일 또는 14 내지 21일 기간에 걸쳐, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 이상, 또는 1 내지 3, 1 내지 4, 2 내지 4, 2 내지 5, 1 내지 5, 2 내지 6, 3 내지 6, 4 내지 6, 또는 6 내지 8회 투여된다. 구체적인 실시형태에서, 각 투여용량은 5 내지 6일, 7 내지 12일, 7 내지 14일, 7 내지 21일 또는 14 내지 21일 기간에 걸쳐, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6회 또는 그 이상 투여된다. 또 다른 특정 실시형태에서, 각각의 용량은 적어도 1회 투여되고, 대상체는 3주 동안 1주일에 1회 용량으로 투여받는다.

[0214] 또 다른 실시형태에서, 대상체의 장애를 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법으로서, IL-15-매개된 면역 기능의 증진이 이러한 장애의 예방, 치료 및/또는 관리에 유익하고, IL-15/IL-15Ra 복합체를 비-투여 기간 전에 투여주기에서 적어도 1회, 2회, 4회 또는 6회 용량 요법으로 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 4주째에 투여하지 않고 3주 동안 1주일에 1회 투여된다. 그리고나서, 투여 주기가 반복된다.

[0215] 대안적인 실시형태에서, 대상체의 장애를 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법으로서, IL-15-매개된 면역 기능의 증진이 이러한 장애의 예방, 치료 및/또는 관리에 유익하고, (a) 적어도 하나의 초기 저용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에게 투여하는 단계; 및 (b) 치료주기의 지속 기간 동안 대상체에게 IL-15/IL-15Ra 복합체의 높은 투여용량을 연속적으로 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 구체적인 실시형태에서, 대상체의 암을 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법으로서, (a) 치료주기의 지속 기간 동안 초기 용량의 IL-15/IL-15Ra 복합체를 대상체에게 투여하는 단계; 및 (b) 치료주기의 지속 기간 동안 대상체에게 IL-15/IL-15Ra 복합체의 높은 투여용량을 연속적으로 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 구체적인 실시형태에서, 초기 투여용량은 0.1 µg/kg 및 0.5 µg/kg의 범위이다. 구체적인 실시형태에서, 초기 투여용량은 0.25 µg/kg 및 1 µg/kg의 범위이다. 또 다른 실시형태에서, 초기 투여용량은 0.5 µg/kg 및 2 µg/kg의 범위이다. 구체적인 실시형태에서, 초기 투여용량은 1 µg/kg 내지 4 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 초기 투여용량은 2 µg/kg 내지 8 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 초기 투여용량은 약 0.25 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 초기 투여용량은 약 0.5 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 초기 투여용량은 약 1 µg/kg이다. 또 다른 실시형태에서, 초기 투여용량은 0.1 µg/kg, 0.25 µg/kg, 0.5 µg/kg, 1 µg/kg, 2 µg/kg, 4 µg/kg, 5 µg/kg, 6 µg/kg, 8 µg/kg이다. 특정 실시형태에서, 초기 투여용량은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 이상, 또는 1 내지 3, 1 내지 4, 2 내지 4, 2 내지 5, 2 내지 6, 3 내지 6, 4 내지 6, 6 내지 8, 5 내지 8, 또는 5 내지 10회 투여된다. 특정 실시형태에서, 초기 투여용량은 5 내지 7일, 5 내지 10일, 7 내지 12일, 7 내지 14일, 7 내지 21일 또는 14 내지 21일 기간에 걸쳐, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 이상, 또는 1 내지 3, 1 내지 4, 2 내지 4, 2 내지 5, 1 내지 5, 2 내지 6, 3 내지 6, 4 내지 6, 또는 6 내지 8회 투여된다. 특정 실시형태에서, 각각의 연속적으로 더 높은 투여용량은 이전 투여용량보다 1.2, 1.25, 1.3, 1.35, 1.4, 1.45, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 또는 6배 높거나, 이전 투여용량보다 1.2 내지 2, 2 내지 3, 2 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 6, 3 내지 4, 3 내지 6, 또는 4 내지 6배 높거나, 또는 이전 투여용량보다 2배 더 높다. 일부 실시형태에서, 각각 연속적으로 더 높은 투여용량은 이전 투여용량보다 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, 115%, 120%, 125%, 130%, 135%, 140%, 145%, 150%, 155%, 160%, 165%, 170%, 175%, 180%, 185%, 190%, 195%, 또는 200% 더 높다. 구체적인 실시형태에서, 각 투여용량은 5 내지 6일, 7 내지 12일, 7 내지 14일, 7 내지 21일 또는 14 내지 21일 기간에 걸쳐, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6회 또는 그 이상 투여된다. 또 다른 특정 실시형태에서, 각각의 용량은 적어도 1회 투여되고, 대상체는 2주간 주당 7일에 3회(예를 들어, 월요일, 수요일 및 금요일) 투여받는다.

[0216] 특정 실시형태에서, 대상체는 하기 부작용, 예컨대 3 또는 4등급 혈소판감소증, 3 또는 4등급 과립구감소증, 3 또는 4등급 백혈구증가증(백혈구(WBC) > 100,000 mm³), 3 또는 4등급 WBC, 절대 림프구 수(ALC) 및/또는 절대 호중구 수(ANC) 감소, 림프구증가증 및 기관 기능장애(예를 들어, 간 또는 신장 기능장애)와 같은 부작용을 모니터링한다. 특정 실시형태에서, 투여용량이 증가하지 않으며, 투여용량이 동일하거나, 대상체가 부작용, 예컨대 3 또는 4등급 혈소판감소증, 3 또는 4등급 과립구감소증, 3 또는 4등급 백혈구증가증 > 100,000 mm³), 3 또는 4등

급 WBC, 절대 림프구 수(ALC) 및/또는 절대 호중구 수(ANC) 감소, 림프구증가증 및 기관 기능장애(예를 들어, 간 또는 신장 기능장애)와 같은 부작용을 경험하는 경우, 중지되거나 감소될 수 있다. 이들 실시형태에 따라, 대상체에게 투여된 IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량은 부작용이 감소하거나 사라질 때까지 감소되거나 동일하게 유지될 수 있다.

[0217] 또 다른 실시형태에서, 대상체의 장애를 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법으로서, IL-15-매개된 면역 기능의 증진이 이러한 장애의 예방, 치료 및/또는 관리에 유익하고, 0.25 µg/kg 내지 4 µg/kg의 초기 투여용량을 포함하는 제1 주기 및 투여용량이 이전 투여용량보다 2 내지 3배 증가하는 순차적 주기로 시작하는 용량 요법으로 IL-15/IL-15Ra 복합체를 인간 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 각 투여용량은 투여용량을 다음 수준으로 상승시키기 전에 적어도 1회, 2회, 4회 또는 6회 투여하고, IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량을 투여한 후 특정 시간(예를 들어, IL-15/IL-15Ra 복합체 투여용량의 투여 후 및 IL-15/IL-15Ra 복합체의 다른 투여용량의 투여 전 약 24시간 내지 약 48시간, 약 24시간 내지 약 36시간, 약 24시간 내지 약 72시간, 약 48시간 내지 약 72시간, 약 36시간 내지 약 48시간, 또는 약 48시간 내지 60시간) 후에 다음 수준으로 투여용량을 높이기 전에 대상체로부터 수득된 샘플(예를 들어, 혈장 샘플) 중의 유리 IL-15의 농도가 모니터링된다.

[0218] 또 다른 실시형태에서, 대상체의 장애를 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법으로서, IL-15-매개된 면역 기능의 증진이 이러한 장애의 예방, 치료 및/또는 관리에 유익하고, IL-15/IL-15Ra 복합체를 다음의 순차 투여용량으로 용량 요법으로 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. (i) 0.25 µg/kg; (ii) 0.5 µg/kg; (iii) 1 µg/kg; (iv) 2 µg/kg; (v) 4 µg/kg; 및 (vi) 8 µg/kg. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 다음의 순차 투여용량으로 용량 요법으로 대상체에게 투여된다: (i) 1 µg/kg; (ii) 2 µg/kg; (iii) 4 µg/kg; 및 (iv) 8 µg/kg. 각 투여용량은 투여용량을 다음 수준으로 상승시키기 전에 투여 사이클의 적어도 1회, 2회, 4회 또는 6회 투여하고, IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량을 투여한 후 특정 시간(예를 들어, IL-15/IL-15Ra 복합체 투여용량의 투여 후 및 IL-15/IL-15Ra 복합체의 다른 투여용량의 투여 전 약 24시간 내지 약 48시간, 약 24시간 내지 약 36시간, 약 24시간 내지 약 72시간, 약 48시간 내지 약 72시간, 약 36시간 내지 약 48시간, 또는 약 48시간 내지 60시간) 후에 다음 수준으로 투여용량을 높이기 전에 대상체로부터 수득된 샘플(예를 들어, 혈장 샘플) 중의 유리 IL-15의 농도가 모니터링된다.

[0219] 또 다른 실시형태에서, 대상체의 암을 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법으로서, IL-15/IL-15Ra 복합체를 다음의 순차 투여용량으로 용량 요법으로 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다: (i) 1 µg/kg; (ii) 2 µg/kg; (iii) 4 µg/kg; 및 (iv) 8 µg/kg, 여기서, 각 투여용량은 투여용량을 다음 수준으로 상승시키기 전에 투여 주기에서 적어도 1회, 2회, 4회 또는 6회 투여된다.

[0220] 특정 실시형태에서, 대상체는 인간 대상체이다. 특정 실시형태에서, 치료 주기에서 투여용량은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 이상, 또는 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 5, 1 내지 6, 2 내지 6, 1 내지 6, 3 내지 6, 4 내지 6, 6 내지 8, 5 내지 8, 또는 5 내지 10회 투여된다. 특정 실시형태에서, 투여용량은 5 내지 7일, 5 내지 10일, 7 내지 12일, 7 내지 14일, 7 내지 21일 또는 14 내지 21일 기간에 걸쳐, 1, 2, 3, 4, 6, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 이상, 또는 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 5, 2 내지 5, 1 내지 6, 3 내지 6, 4 내지 6, 또는 6 내지 8회 투여된다. 특정 실시형태에서, 각 투여용량은 투여 주기당 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 이상, 또는 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 5, 1 내지 6, 2 내지 6, 1 내지 6, 3 내지 6, 4 내지 6, 6 내지 8, 5 내지 8, 또는 5 내지 10회 투여된다. 구체적인 실시형태에서, 투여용량은 5 내지 7일, 6 내지 1일, 7 내지 12일, 7 내지 14일, 7 내지 21일 또는 14 내지 21일 기간에 걸쳐, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6회 또는 그 이상, 또는 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 5, 1 내지 6, 2 내지 6, 1 내지 5, 3 내지 5, 4 내지 6, 6 내지 8, 5 내지 8, 또는 5 내지 10회 투여된다.

[0221] 또 다른 특정 실시형태에서, 대상체는 주당 7일에 3회(예를 들어, 월요일, 수요일 및 금요일) 용량을 투여받는다. 특정 실시형태에서, 대상체는 하기 부작용, 예컨대 3 또는 4등급 혈소판감소증, 3 또는 4등급 과립구감소증, 3 또는 4등급 백혈구증가증(백혈구(WBC) $> 100,000 \text{ mm}^3$), 3 또는 4등급 WBC, 절대 림프구 수(ALC) 및/또는 절대 호중구 수(ANC) 감소, 림프구증가증 및 기관 기능장애(예를 들어, 간 또는 신장 기능장애)와 같은 부작용을 모니터링한다. 특정 실시형태에서, 투여용량이 증가하지 않으며, 투여용량이 동일하거나, 대상체가 부작용, 예컨대 3 또는 4등급 혈소판감소증, 3 또는 4등급 과립구감소증, 3 또는 4등급 백혈구증가증 $> 100,000 \text{ mm}^3$, 3 또는 4등급 WBC, 절대 림프구 수(ALC) 및/또는 절대 호중구 수(ANC) 감소, 림프구증가증 및 기관 기능장애(예를 들어, 간 또는 신장 기능장애)와 같은 부작용을 경험하는 경우, 중지되거나 감소될 수 있다. 이들 실시형태에 따라, 대상체에게 투여된 IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여용량은 부작용이 감소하거나 사라질 때까지 감

소되거나 동일하게 유지될 수 있다.

- [0222] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 따라, 각각의 용량은 3주 동안 1주일에 1회 투여된다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 따라, 각각의 용량은 2주 동안 1주일에 1회, 3회 투여된다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 따라, 각각의 용량은 2, 3 또는 4주 동안 1주일에 1회, 3회 투여된다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 따라, 각각의 용량은 2, 3 또는 4주 동안 1주일에 1회, 6회 투여된다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 따라, 각각의 용량은 2, 3 또는 4주 동안 격일로 투여된다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 따라, 각각의 용량은 2, 3 또는 4주 동안 매일 1회 투여된다.
- [0223] 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 본 명세서에 기재된 방법에 따라 대상체에게 피하 투여된다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 본 명세서에 기재된 방법에 따라 대상체에게 정맥 내 또는 근육 내로 투여된다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 본 명세서에 기재된 방법에 따라 대상체에게 종양내로 투여된다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 본 명세서에 기재된 방법에 따라 대상체의 부위(예를 들어, 감염 부위)에 국소 투여된다.
- [0224] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 따라 대상체로부터 취득된 샘플은 혈액 샘플이다. 구체적 실시형태에서, 샘플은 혈장 샘플이다. IL-15의 기초 혈장 수준은 인간에서 약 1 pg/ml, 원숭이(예컨대, 마카크)에서 약 8~10 pg/ml, 설치류(예컨대, 마우스)에서 약 12 pg/ml이다. 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 대상체로부터 샘플을 취득할 수 있다.
- [0225] 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 예를 들어 대상체의 과증식 병태 또는 장애(예를 들어, 암)의 예방, 치료, 및/또는 관리 방법이 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체 분자는 약 200 mg 내지 500 mg, 예를 들어 약 250 mg 내지 450 mg, 약 300 mg 내지 400 mg, 약 250 mg 내지 350 mg, 약 350 mg 내지 450 mg, 또는 약 300 mg 또는 약 400 mg의 용량(예를 들어, 균일 용량)으로 주사에 의해(예를 들어, 피하 또는 정맥내) 투여된다. 투여 스케줄(예를 들어, 균일 투여 스케줄)은, 예를 들어 주 1회 내지 매 2주, 3주, 4주, 5주, 또는 6주마다 1회로 다양할 수 있다. 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 약 300 mg 내지 400 mg의 용량으로 3주마다 1회 또는 4주마다 1회 투여된다. 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 약 300 mg의 용량으로 3주마다 1회 투여된다. 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 약 400 mg의 용량으로 4주마다 1회 투여된다. 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 약 300 mg의 용량으로 4주마다 1회 투여된다. 일 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 약 400 mg의 용량으로 3주마다 1회 투여된다.
- [0226] 본 명세서에 기재된 방법에 따라, 약제학적 조성물의 IL-15/IL-15Ra 복합체가 대상체에게 투여될 수 있다. 구체적 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 하나 이상의 다른 치료법, 예를 들어, 항-PD-1 항체 분자와 병용하여 투여된다. 병용 요법은 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 동시 및 연속 투여를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자는 환자에게 동일한 날, 예를 들어 동시에 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8시간 간격으로 투여되는 경우, 동시에 투여된다. 대조적으로, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자는 환자에게 상이한 날 투여되는 경우, 연속적으로 투여된다고 하며, 예를 들어 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자는 1일, 2일 또는 3일 간격으로 투여될 수 있다. 본 명세서에 기재된 방법에서, IL-15/IL-15Ra 복합체의 투여는 항 PD-1 항체 분자의 투여를 선행하거나 후속할 수 있다. 동시에 투여되는 경우, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자는 동일한 약제학적 조성물 또는 상이한 약제학적 조성물 내에 존재할 수 있다.
- [0227] 구체적 실시형태에서, 본원에 기재된 방법에 의해 강화된 면역 기능의 예는 림프구의 증식/팽창(예를 들어, 림프구의 수 증가), 림프구의 세포자멸의 억제, 수지상 세포(또는 항원 제시 세포)의 활성화 및 항원 제시를 포함한다. 특정 실시형태에서, 본원에 기재된 방법에 의해 강화된 면역 기능은 CD4+ T 세포(예를 들어, Th1 및 Th2 헬퍼 T 세포), CD8+ T 세포(예를 들어, 세포독성 T 림프구, 알파/베타 T 세포 및 감마/델타 T 세포), B 세포(예를 들어, 플라즈마 세포), 기억 T 세포, 기억 B 세포, 수지상 세포(미성숙 또는 성숙), 항원 제시 세포, 대식세포, 비만 세포, 자연 살해 T 세포(NKT 세포), 종양-상주 T 세포, CD122+ T 세포 또는 자연 살해 세포(NK 세포)의 증식/활성화 수 증대이다. 일 실시형태에서, 본원에 기재된 방법은 림프구 전구세포의 증식/증대 또는 수를 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 방법은 CD4+ T 세포(예를 들어, Th1 및 Th2 헬퍼 T 세포), CD8+ T 세포(예를 들어, 세포독성 T 림프구, 알파/베타 T 세포 및 감마/델타 T 세포), B 세포(예를 들어, 플라즈마 세포), 기억 T 세포, 기억 B 세포, 수지상 세포(미성숙 또는 성숙), 항원 제시 세포, 대식세포, 비만 세포, 자연 살해 T 세포(NKT 세포), 종양-상주 세포, CD122+ T 세포 또는 자연 살해 세포(NK 세포)의 수를 음성

대조군에 비해, 약 1배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배 또는 그 이상 증가한다.

[0228] 구체적 실시형태에서, 본원에 기재된 방법은 예를 들어, ELISPOT, ELISA 및 세포 증식 분석과 같은 당 업계에 공지된 방법을 사용하여 IL-15/IL-15Ra 복합체와 항-PD-1 항체 분자의 병용물을 투여하지 않은 대상체에서의 면역 기능에 비해, 대상체의 면역 기능을 적어도 0.2배, 0.5배, 0.75배, 1배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 또는 적어도 10배 증진 또는 유도한다. 구체적 실시형태에서, 본원에 기재된 방법은 당업계에 잘 공지된 분석법, 예를 들어, ELISPOT, ELISA 및 세포 증식 검정법을 사용하여 IL-15/IL-15Ra 복합체와 항-PD-1 항체 분자의 병용물을 투여하지 않은 대상체의 면역 기능에 대하여, 대상체의 면역 기능을 적어도 99%, 적어도 95%, 적어도 90%, 적어도 85%, 적어도 80%, 적어도 75%, 적어도 70%, 적어도 60%, 적어도 50%, 적어도 45%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 35%, 적어도 30%, 적어도 25%, 적어도 20%, 또는 적어도 10% 증진 또는 유도한다. 구체적 실시형태에서, 면역 기능은 사이토카인 방출(예를 들어, 인터페론 감마, IL-2, IL-5, IL-10, IL-12 또는 형질전환 성장 인자(TGF)-베타)이다. 일 실시형태에서, IL-15 매개된 면역 기능은 NK 세포 증식이며, 이는 NK 세포(예를 들어, CD56)의 마커를 발현하는 세포의 수를 검출하기 위해 예를 들어, 유동 세포계측법에 의해 분석될 수 있다. 일 실시형태에서, IL-15 매개된 면역 기능은 CD8+ T 세포 증식이고, 이는 예를 들어 유동법에 의해 분석될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, IL-15 매개된 면역 기능은 항체 생산이고, 이는 예를 들어 ELISA에 의해 분석될 수 있다. 일부 실시형태에서, IL-15 매개된 면역 기능은 예를 들어, 세포독성 분석 또는 당 업계에 잘 공지된 다른 분석법에 의해 분석될 수 있는 이펙터 기능이다. 말초 혈액 림프구 수에 대한 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물의 하나 이상의 투여용량의 효과는 당업자에게 공지된 표준 기술을 사용하여 모니터링/평가될 수 있다. 포유류에서의 말초 혈액 림프구 수는, 예를 들어 상기 포유류로부터 말초 혈액 샘플을 얻고, 예를 들어 FicollHypaque(Pharmacia) 구배 원심분리를 사용하여 혈장과 같은 말초 혈액의 다른 성분으로부터 림프구를 분리하고, 트립판 블루(trypan blue)를 이용하여 림프구를 계수함으로써 결정될 수 있다. 포유류에서의 말초 혈액 T-세포 수는, 예를 들어 Ficoll-Hypaque(Pharmacia) 구배 원심분리법을 사용하여 혈장과 같은 말초 혈액의 다른 성분으로부터 림프구를 분리하고, T 세포를 FITC 또는 피코에리트린에 접합된 CD3, CD4 및 CD8과 같은 T-세포 항원에 대한 항체로 라벨링하고, 및 FACS에 의해 T-세포의 수를 측정함으로써 결정될 수 있다. 또한, T 세포(예를 들어, CD2+, CD4+, CD8+, CD4+RO+, CD8+RO+, CD4+RA+, 또는 CD8+RA+) 또는 NK 세포의 특정 서브셋에 미치는 영향은 FACS와 같은 당업자에게 공지된 표준 기술을 사용하여 측정될 수 있다.

[0229] IL-15 및/또는 PD-1의 혈장 수준은 당업자에게 공지된 표준 기술을 사용하여 평가될 수 있다. 예를 들어, 혈장은 대상체로부터 수득된 혈액 샘플로부터 수득될 수 있고, 혈장 중의 IL-15 및/또는 PD-1의 수준은 ELISA에 의해 측정될 수 있다.

[0230] 암 치료

[0231] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "암"은 조직병리학적 유형 또는 침윤성 단계와 무관하게 모든 유형의 암 성장 또는 발암 과정, 전이 조직 또는 악성 형질전환된 세포, 조직 또는 기관을 포함하여 의미한다.

[0232] 유효량의 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자 또는 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자를 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암의 예방, 치료 및/또는 관리 방법이 본원에 제공된다. 구체적 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체는 동일, 반복 투여용량으로, 또는 대안적으로 투여용량 확대 요법으로 피하 투여된다. 구체적 실시형태에서, 항-PD-1 항체 분자는 균등한 투여 요법에서 정맥내 주입으로서 투여된다.

[0233] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 따라 대상체에게 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물을 투여하면 1 개, 2 개 또는 3 개 이상의 결과를 얻는다: (1) 종양 또는 신생물의 성장 감소; (2) 종양 형성의 감소; (3) 원발성, 국소진행성 및/또는 전이성 암의 근절, 제거 또는 통제; (4) 전이성 확산의 감소; (5) 사망률의 감소; (6) 생존율의 증가; (7) 생존 기간의 증가; (8) 완화된 환자 수의 증가; (9) 입원율의 감소; (10) 입원 기간 단축; 및 (11) 10% 이상, 또는 8% 이상, 또는 6% 이상, 또는 4% 이상 증가하지 않도록; 바람직하게는 종양의 크기가 2% 이상 증가하지 않도록 종양 크기의 유지.

[0234] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바에 따라 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물을 암을 가진 대상체(일부 실시형태에서는 암 동물모델)에 투여함으로써 당해 분야에 공지된 분석법을 사용하여 측정된 바와 같이 음성 대조군을 투여한 암을 가진 대상체(일부 실시형태에서, 암에 대한 동일한 동물 모델에서)에서의 종양의 성장에 비해 적어도 2배, 바람직하게는 적어도 2.5배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 7 배 또는 적어도 10 배 종양의 성장을 억제하거나 감소시킨다. 또 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재

된 바에 따라 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물을 암을 가진 대상체(일부 실시형태에서는 암 동물모델)에 투여함으로써 당해 분야에 공지된 분석법을 사용하여 측정된 바와 같이 음성 대조군, 또는 단일 제제로서의 항-PD-1 항체 분자를 투여한 암을 가진 대상체(일부 실시형태에서, 암에 대한 동일한 동물 모델에서)에서의 종양의 성장에 비해 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 종양의 성장을 억제하거나 감소시킨다.

- [0235] 암성 질환의 예는 고형 종양, 혈액 암, 연조직 종양 및 전이성 병변을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 고형 종양의 예는 다양한 기관계의 악성 종양, 예를 들어, 육종 및 암종(선암종, 및 편평 세포 암종 포함), 예컨대 간, 폐, 유방, 림프, 위장관(예를 들어, 대장), 비뇨생식관(예를 들어, 신장, 요로상피 세포), 전립선, 및 인두에 영향을 미치는 것들을 포함한다. 선암종은 대부분의 대장암, 직장암, 신장세포 암종, 간암, 폐의 비소세포 암종, 소장암 및 식도암과 같은 악성 종양을 포함한다. 편평 세포 암은 폐, 식도, 피부, 두경부, 구강, 항문 및 자궁 경부의 악성 종양을 포함한다. 일 실시형태에서, 암은 흑색종, 예를 들어 진행성 단계 흑색종이다. 전술한 암들 중 전이성 병변 또한 본 발명의 방법 및 조성물을 사용하여 치료 또는 예방될 수 있다.
- [0236] 본원에 개시된 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물을 사용하여 성장이 억제될 수 있는 예시적인 암은 전형적으로 면역요법에 반응하는 암을 포함한다. 치료를 위해 바람직한 암의 비-제한적인 예로는 흑색종(예를 들어, 전이성 악성 흑색종), 신장 암(예를 들어, 투명 세포 암종), 전립선 암(예를 들어, 호르몬 불응성 전립선 선암종), 유방암, 대장암 및 폐암(예를 들어, 비-소세포 폐암)이 포함된다. 또한, 난치성 또는 재발성 악성종양은 본 명세서에 기재된 병용 요법을 사용하여 치료될 수 있다.
- [0237] 치료할 수 있는 다른 암의 예로는 골암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 피부 또는 안내 악성 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문 암, 위-식도, 위암, 고환암, 자궁암, 난관 암, 자궁 내막암, 자궁 경부암, 질 암종, 외음부암종, 메르켈 세포 암, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 식도암, 소장암, 내분비계 암, 부갑상선암, 부신 암, 연조직 육종, 요도 암, 음경 암, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병을 포함하는 만성 또는 급성 백혈병, 소아의 고형 종양, 림프구성 림프종, 방광암, 다발성 골수종, 골수형성이상 증후군, 신장 또는 요관 암, 신우암종, 중추신경계(CNS)의 신생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관 신생, 척추 신경 종양, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 표피암, 편평세포암, T-세포 림프종, 석면에 의해 유발된 암을 포함하는, 환경적으로 유발된 암(예를 들어, 중피종), 및 상기 암의 병용이 포함된다.
- [0238] 구체적인 실시형태에서, 암은 흑색종, 신장 암, 결장암 또는 전립선 암이다. 또 다른 실시형태에서, 암은 전이성이다.
- [0239] IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물은 하나 이상의 다른 치료제, 예를 들어, 항암제, 사이토카인 또는 항-호르몬 제제와 함께 투여하여 암을 치료 및/또는 관리할 수 있다. 항암제의 비-제한적인 예가 하기에 기재되어 있다.
- [0240] IL-15/IL-15Ra 복합체와 항-PD-1 항체 분자의 병용물은 예를 들어 암세포를 파괴하기 위한 엑스레이, 감마선 및 다른 방사선원을 포함하는 방사선 치료와 함께 투여될 수 있다. 구체적인 실시형태에서, 방사선 치료는 방사선이 원격 소스로부터 지향되는 외부 빔 방사선 또는 텔레 테라피로서 투여된다. 다른 실시형태에서, 방사선 치료는 방사선원이 암 세포 또는 종양 표상에 가까운 신체 내부에 배치되는 내부 치료 또는 근접 치료로서 투여된다. IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자는 또한 화학 요법과 병용 투여될 수 있다. 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자는 방사선 요법 또는 화학 요법 전, 도중 또는 후에 본 명세서에 기재된 방법에 따라 투여될 수 있다. 일 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물은 수술 전, 수술 중 또는 수술 후에 투여될 수 있다.
- [0241] 일부 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물은 암을 앓거나 암으로 진단받은 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물은 암에 걸리기 쉽거나 발병하기 쉬운 대상체에게 투여된다.
- [0242] 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물은 0 내지 6개월, 6 내지 12개월, 1 ~ 5 세, 5 ~ 10세, 10 ~ 15세, 15 ~ 20세, 20 ~ 25세, 25 ~ 30세, 30 ~ 35세, 35 ~ 40세, 40 ~ 45세, 45 ~ 50세, 50 ~ 55세, 55 ~ 60세, 60 ~ 65세, 65 ~ 70세, 70 ~ 75세, 75 ~ 80세, 80 ~ 85세, 85 ~ 90세, 90 ~ 95 세 또는 95 ~ 100세인 대상체에게 투여된다. 다른 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물은 인간 성인에게 투여된다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물은

수술, 화학 요법 및/또는 방사선 치료를 받고 있거나, 받을 예정이거나 또는 진행될 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물은 난치성 환자에게 투여된다. 특정 실시형태에서, 난치성 환자는 표준 항암 요법에 내성인 환자이다. 특정 실시형태에서, 암을 가진 환자는, 암이 현저히 박멸되지 않고/않거나 증상이 현저하게 완화되지 않은 경우, 치료에 난치성이다. 환자가 난치성인지 여부의 결정은, 이러한 맥락에서 당 분야에서 받아들여지는 "난치성"의 의미를 사용하여, 치료의 효과를 평가하기 위한 당 업계에 공지된 임의의 방법에 의해 생체내 또는 시험관내에서 행해질 수 있다. 다양한 양태에서, 암을 가진 환자는 암성 종양이 감소하지 않았거나 증가된 경우에 난치성이다.

[0243] 전염병

[0244] 본 발명의 다른 방법은 특정 독소 또는 병원체에 노출된 환자를 치료하는데 사용된다. 따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 대상체에게 본 명세서에 개시된 병용물, 예를 들어 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자를 포함하는 병용물을 투여하여, 대상체가 전염병에 대해 치료되도록 하는 단계를 포함하는, 대상체에서 전염병을 치료하는 방법을 제공한다.

[0245] 감염(예를 들어, 급성 및/또는 만성)의 치료에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물의 투여는 감염에 대한 자연 숙주 면역 방어를 자극하는 것에 더해, 또는 대신에, 통상적인 치료법과 병용될 수 있다. 감염에 대한 자연 숙주 면역 방어는 염증, 발열, 항체-매개된 숙주 방어, 림포카인 분비 및 세포독성 T-세포(특히 바이러스 감염 중)를 포함한 T-림프구-매개된 숙주 방어, 보체 매개된 용해 및 옹소닌화(촉진된 식균작용) 및 식균 작용을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 역기능 T-세포를 재활성화시키는 항-PD-1 항체 분자의 능력은 만성 감염, 특히 세포-매개된 면역이 완전한 회복에 중요한 것을 치료하는데 유용할 것이다.

[0246] 항체 매개된 PD-1 차단제는 IL-15/IL-15Ra 복합체 투여에 대한 애주번트로서, 또는 IL-15/IL-15Ra 복합체 및/또는 백신과 병용하여 작용하여, 병원체, 독소 및 자가-항원에 대한 면역 반응을 자극할 수 있다. 이 치료법이 특히 유용할 수 있는 병원체의 예로는 현재 효과적인 백신이 없는 병원체, 또는 기존의 백신이 완전히 효과적이지 않은 병원체가 포함된다. 여기에는 HIV, 간염(A, B, 및 C), 인플루엔자, 헤르페스, 지아디아, 말라리아, 레슈마니아(Leishmania), 스타필로코커스 아우레우스(Staphylococcus aureus), 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas Aeruginosa)가 포함되지만, 이에 한정되지 않는다. IL-15/IL-15Ra 복합체 및 PD-1 차단제에 의한 면역 시스템 자극은 감염과 관련하여 변이된 항원을 나타내는 HIV와 같은 약제에 의한 확립된 감염에 대해 특히 유용하다. 이러한 신규한 에피토프는 치료시 이물질로 인식되어, 예를 들어 PD-1을 통한 음성 신호에 의해 완충되지 않는 강한 T 세포 반응을 유발한다.

[0247] 추가의/병용 요법

[0248] 질병, 예를 들어 암, 전염병, 림프구결핍증, 면역결핍증의 예방, 치료 및/또는 관리를 위해 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항 PD-1 항체 분자와 병용하여 사용될 수 있는 다른 치료법들은 소분자, 합성 약물, 펩티드(환형 펩티드 포함), 폴리펩티드, 단백질, 핵산(예를 들어, 안티센스 뉴클레오티드 서열, 삼중 나선을 포함하지만, 이에 한정되지 않는 DNA 및 RNA 뉴클레오티드, RNAi 및 생물학적 활성 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 포함), 항체, 합성 또는 천연 무기 분자, 유사 물질 및 합성 또는 천연 유기 분자를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 이러한 치료법의 특정 예로는 면역조절제(예를 들어, 인터페론), 항염증제(예를 들어, 아드레노코르티코이드, 코르티코스테로이드(예를 들어, 베클로메타손, 부테소니드, 플루니솔리드, 플루티카손, 트리암시놀론, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 프레드니손, 하이드로코르티손), 글루코코르티코이드, 스테로이드, 및 비-스테로이드 항-염증제(예를 들어, 아스피린, 이부프로펜, 디클로페낙, 및 COX-2 억제제), 통증 완화제, 류코트리엔 길항제(예를 들어, 몬테루카스트, 메틸 크산틴, 자필루카스트, 및 질류톤), 베타2-작동제(예를 들어, 알부테롤, 비테롤, 페노테롤, 이소테리, 메타프로테레놀, 피르부테롤, 살부타몰, 터부탈린 포름테롤, 살메테롤, 및 살부타몰 터부탈린), 항콜린성 제제(예를 들어, 이프라트로퓜 브로마이드 및 옥시트로퓜 브로마이드), 설파살라진, 페니실라민, 덤손, 항히스타민제, 항-말라리아 제제(예를 들어, 히드록시클로로퀸), 항-바이러스 제제(예를 들어, 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 지도부딘, 아시클로비르, 간시클로비르, 비다라빈, 이독수리딘, 트리플루리딘, 및 리바비린), 포스카르벳, 아만타딘, 리만타딘, 사퀴나비르, 인디나비르, 리토나비르, 및 AZT) 및 항생제(예를 들어, 닥티노마이신(구 악티노마이신), 블레오마이신, 에리트로마이신, 페니실린, 미트라마이신, 및 안트라마이신(AMC))이 포함되지만, 이에 한정되지 않는다.

[0249] IL-15 기능/신호전달 및/또는 면역관문 변조에 의해 영향을 받는 질환의 예방, 관리 및/또는 치료에 유용하거나 사용되었거나 현재 사용되고있는 치료법이 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용요법과 병용하여 사용될 수 있다. 질병 또는 장애, 예를 들어 암, 전염병, 림프구감소증, 면역결핍증 및 상처의 예방, 치료 및/

또는 관리에 사용되었거나 현재 사용되고있는 치료법(예를 들어, 예방 또는 치료제)와 관련된 정보를 위해, 예를 들어, 문헌 [Gilman 등, Goodman 및 Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., McGraw-Hill, New York, 2001; The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Berkow, M.D. 등. (eds.), 17th Ed., Merck Sharp & Dohme Research Laboratories, Rahway, NJ, 1999; Cecil Textbook of Medicine, 20th Ed., Bennett and Plum (eds.), W.B. Saunders, Philadelphia, 1996, 및 Physicians' Desk Reference (66th ed. 2012)]를 참고한다.

[0250] IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용요법 이외에 사용될 수 있는 하나 이상의 다른 요법의 비-제한적 예로는 면역조절제, 예컨대 화학요법제 및 비-화학요법 면역조절제를 포함한다. 화학요법제의 비-제한적 예로는 메트트렉세이트, 시클로스포린 A, 레플루노미드, 시스플라틴, 이포스파미드, 탁산, 예컨대 탁솔 및 파클리탁솔, 토포이소머라제 I 억제제(예를 들어, CPT-11, 토포테칸, 9-AC 및 GG-211), 켈시타빈, 비노렐빈, 옥살리플라틴, 5-플루오로우라실(5-FU), 류코보린, 비노렐빈, 테모달, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리ست린, 빈블라스틴, 콜키신, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데히드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카이인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 및 퓨로마이신 동족체, 및 사이토카인이 포함된다.

[0251] 생물학적 활성

[0252] 일 양태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및/또는 항-PD-1 항체 분자는 예를 들어 항체 반응(체액성 반응) 또는 세포 면역 반응, 예를 들어 사이토카인 분비(예를 들어, 인터페론-감마), 헬퍼 활성 또는 세포성 세포독성일 수 있는 면역 반응을 증가시킨다. 일 실시형태에서, 증가된 면역 반응은 증가된 사이토카인 분비, 항체 생산, 이펙터 기능, T 세포 증식 및/또는 NK 세포 증식이다. 이러한 활성을 측정하기 위한 다양한 분석법은 당 업계에 잘 공지되어 있으며, 효소-결합 면역흡착 분석법(ELISA; 예를 들어, in Section 2.1 of Current Protocols in Immunology, Coligan 등. (eds.), John Wiley and Sons, Inc. 1997 참고), 항원-특이적 T 세포를 동정하기 위한 "테트라머 염색" 분석법(Altman 등, (1996), Science 274: 94-96 참고), 혼합 림프구 표적 배양 분석법(예를 들어, in Palladino 등, (1987), Cancer Res. 47:5074-5079 참고) 및 시험관내에서 사이토카인 방출을 측정하는데 사용될 수 있는 ELISPOT 분석법(예를 들어, Scheibenbogen 등, (1997), Int. J. Cancer 71:932-936 참고)을 포함한다.

[0253] 일부 양태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물에 의해 유도되거나 증진된 면역 반응은 당 업계의 임의의 공지된 방법으로 분석한 바와 같이 음성 대조군, 또는 단일 제제로서 투여된 IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-IL-15Ra 복합체에 의해 유도된 면역 반응과 비교하여, 적어도 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 11배 또는 12배 증진되거나 증가된다. 특정 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물에 의해 유도된 면역 반응은 당 업계의 임의의 공지된 방법으로 분석한 바와 같이 음성 대조군에 의해 유도된 면역 반응과 비교하여, 적어도 0.5~2배, 적어도 2~5배, 적어도 5~10 배 적어도 10~50배, 적어도 50~100배, 적어도 100~200배, 적어도 200~300배, 적어도 300~400배, 또는 적어도 400~500배 증진된다. 구체적인 실시형태에서, 면역 반응을 평가하기 위해 사용된 분석은 항체 생산, 사이토카인 생산 또는 세포의 세포독성의 수준을 측정하고, 상기 분석법은 당 업계에 잘 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 면역 반응을 측정하는데 사용되는 분석은 항체 또는 사이토카인 수준을 측정하는 효소-결합 면역흡착 분석(ELISA), 사이토카인 방출을 측정하는 ELISPOT 분석, 또는 세포독성을 결정하는 [51Cr] 방출 분석이다.

[0254] 구체적인 실시형태에서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물은 스타필로코커스 장독소 B(SEB)에 의해 활성화된 전혈 상에서의 IL-2의 발현을 증가시킨다. 예를 들어, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자는 IL-15/IL-15Ra 복합체, 항-PD-1 항체 분자 또는 아이소타입 대조군(예를 들어, IgG4)이 단독으로 사용되는 경우의 IL-2의 발현에 비하여 IL-2의 발현을 적어도 약 2, 3, 4 또는 5배 증가시킨다. 이러한 효과는 실시예 1 및 도 1 내지 4에 도시되어 있다. IL-15/IL-15Ra 복합체가 항-PD-1 항체 분자의 투여 72시간 후에 투여되었을때보다는, IL-15/IL-15Ra 복합체를 항 PD-1 항체와 동일한 날에 투여했을 때 첨가제 또는 상승 효과가 더욱 현저하였다.

[0255] 일 실시형태에 있어서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물과 접촉된 암세포의 증식 또는 생존 가능성은 당 업계의 임의의 공지된 방법을 사용하여, 예를 들어 CSFE, BrdU 및 방사성 티미딘 도입을 사용하여 분석한 바와 같이 음성 대조군, 또는 단일 제제로서 IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자와 접촉할 때 암세포의 증식과 비교하여, 적어도 2배, 바람직하게는 적어도 2.5배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 7 배 또는 적어도 10 배 억제 또는 감소된다. 대안적으로, 세포 생존력은 세포 분해시 방출되는 안정한

세포질 효소인 젓산 탈수소 효소(LDH) 또는 세포 용해시 [51Cr]의 방출에 의해 측정하는 분석법에 의해 측정될 수 있다. 또 다른 실시형태에 있어서, IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물과 접촉된 암세포의 증식은 당 업계의 임의의 공지된 방법을 사용하여, 예를 들어 CFSE, BrdU 및 방사성 티미딘 도입을 사용하여 분석한 바와 같이 음성 대조군, 또는 단일 제제로서 IL-15/IL-15Ra 복합체 또는 항-PD-1 항체 분자와 접촉된 암세포와 비교하여, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 억제 또는 감소된다.

[0256] 상기 분석이 수행될 수 있는 암 세포주는 당업자에게 잘 알려져있다. 괴사, 아포토시스 및 증식 분석은 또한 일차 세포, 예컨대 조직 이식편에서 수행될 수 있다.

[0257] 일 실시형태에서, 괴사성 세포는 뉴트럴 레드, 트립판 블루, 또는 ALAMARTM 블루와 같은 염료를 세포가 흡수할 수 있는 능력 또는 불가능에 의해 측정된다(Page 등, (1993), *Int'l. J. of Oncology* 3:473-476). 이러한 분석에서, 세포는 염료를 함유하는 배지에서 배양되고, 세포는 세척되고, 염료의 세포 흡수를 반영하는 나머지 염료가 분광광도계로 측정된다. 또 다른 실시형태에서, 염료는 단백질에 대한 결합이 세포독성의 척도로서 사용될 수 있는 설포로다민 B(SRB)이다(Skehan 등, (1990), *J. Nat'l Cancer Inst.* 82:1107-12). 또 다른 실시형태에서, MTT와 같은 테트라졸륨 염은 생존하는, 그러나 죽지 않은 세포를 검출함으로써 포유류 세포 생존 및 증식을 위한 정량적 비색 분석에 사용된다(예를 들어, Mosmann, (1983), *J. Immunol. Methods* 65:55-63 참고).

[0258] 다른 실시형태에서, 아포토시스 세포는 배양물의 부착된 및 "부유하는" 구획 모두에서 측정된다. 두 구획은 상등액을 제거하고, 부착된 세포를 트립신 처리하고, 원심분리 세척 단계(10 분, 2000 rpm) 후 두 제제를 결합하여 수집한다. 현저한 양의 세포자멸사를 얻도록 술린닥(sulindac) 및 관련 화합물로 종양 세포 배양물을 처리하기 위한 프로토콜이 문헌에 기재되어 있다(예를 들어, Piazza 등, (1995) *Cancer Research* 55: 3110-16 참고). 이 방법의 특징은 부유 세포 및 부착 세포를 모두 수집하고, 세포자멸사를 관찰하기 위한 최적의 치료 시간 및 용량 범위를 확인하고, 및 최적의 세포 배양 조건을 확인하는 것을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 세포자멸사는 DNA 단편화를 측정함으로써 정량된다. DNA 단편화의 정량적 시험관내 측정을 위한 상업적 측광 방법이 이용가능하다. TUNEL(단편화된 DNA에서 표지된 뉴클레오티드의 혼입을 검출함) 및 ELISA-기반 분석을 포함한 상기 분석의 예는 Biochemica, (1999), no. 2, pp.34-37(Roche Molecular Biochemicals)에 기재되어 있다. 또 다른 실시형태에서, 세포자멸사는 형태학적으로 관찰될 수 있다.

[0259] **특정 실시형태, 인용 및 참고문헌**

[0260] 본 발명은 본 명세서에 기재된 특정 실시형태에 의해 범위가 한정되지 않는다. 실제로, 당업자에게는 본 명세서에 기재된 것에 추가하여 본 발명의 다양한 변형이 전술한 설명 및 첨부된 도면으로부터 명백해질 것이다. 상기 변형은 첨부된 청구 범위의 범주 내에 속한다.

[0261] 특허 출원, 특허 및 과학 출판물을 비롯한 다양한 참고문헌이 본원에 인용되어있으며; 이러한 각각의 참고문헌의 개시는 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0262]

[표 1]

서열표

서열 번호	설명	서열
IL-15 관련 서열		
1	인간 IL-15(신호 펩티드 포함)	MRISKPHLRISISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVVFILGCFSAGLPKTEANWVN VTSDLKRIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSRVTKMKCFLELQVTSLESGD ASIHDTVENLIIILANNSLSSNGNVTESGGKECEELEEKNIKEFLQSFVHVQ MFINTS
2	인간 IL-15 DNA(신호 펩티드 포함)	atgagaattt cgaaacccaca tttgagaagt atttccatcc agtgctactt gtgtttactt ctaaacagtc attttctaac tgaagctggc attcatgtct tcatttttggg ctgtttcagt gcagggcttc ctaaacacaga agccaactgg gtgaaatgtaa taagtgattt gaaaaaaaaatt gaagatctta tccaatctat gcataatgat gotactttat atacggaag tgatgttoac cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatttcaact gagtcocggag atgcaagbat tcatgatata gtgaaaaatc tgatccatct agcaaaccaac agttttgtctt ctaatgggaa tgytaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag gaaaaaaaaata tbaaagaatt tttgcagagt ttgtacata ttgtccaat gttoatcaac acttcttga
3	GMCSF 신호 펩티드를 갖는 인간 IL-15	atgtggctcc agagcctgct actcctgggg acgggtggcct gcagcatctc gaactgggtg aactgatct cggacctgaa gaagatcgag gacctcatcc agtcgatgca catcgacgag acgctgtaca cggagtggga cgtccaccog tcgtgcaagg tcaocgcat gaagtgtctt ctcctggagc tccaagtcat ctcctcgag tcgggggacg cgtcgatcca cgaacgggtg gagaacctga tcatctggc gaacaactcg ctgtctgca acgggaactc caggagctg ggctgcaagg agtgcgagga gctggaggag aagaacatca aggagtctct cgagtcttct gtgcacatcg tccagatggt catcaacacg tctgta cctggccatt gcatacgttg tatccatata ataatatgta catttatatt ggctcatgtc caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgggttac ataacttac gtaaatggcc cgcctggctg accgccaac gacccccgc cattgacgtc aataatgaog tatgttccca tagtaacgoc aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaactg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tggcaagtac gccccctatt gacgtcaatg atggtaaatg gccocctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttcctactt ggcagtacat ctaagtatta gctatgcta ttaccatggt gatgctgtt tggcagtaca tcaatgggog tggatagcgy tttgactcac ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag tttgttttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtacaact ccgccccatt gacgaaaatg ggcggtaggc gtgtacgggt ggaggtctat ataagcagag ctcttttagt gaaccgtcag atcgcctgga gacgccatcc acgctgtttt gacctccata gaagacaccy ggaccgatcc agcctccgcy ggcggcggct gacaagaaat ggcgatctcg aagccgcacc tgcggtgat atcgatccag tgctaactgt gcctgctcct gaactcgac tctctaccgy aggocgggat acacgtcttc atcctgggct gcttctcggc ggggtgccc aagacggagc cgaactgggt gaactgtatc tggacctga agaagatcga ggacctcacc cagtcgatgc acatcgacgc gacgctgtac accgagtcgy acgtccaccc gtctgtcaag gtcacggcga tgaagtgtct cctcctggag ctccaagtca tctcgtcga gtcgggggac gctcgtatcc acgacacggt gggagaacctg atcatcctgg cgaacaactc gctgtctgog aacgggaacg tcacggagtc gggctgcaag gagtgcgagc agctggagga gaagaacatc aaggagttcc tgcagtcgtt cgtgcacatc gtccagatgt tcatcaacac gtctgtgaggy cccggcgcgc cgaattcggc gatatcgggt aacggatcca gatctgctgt gccttctagt tgccagccat ctgtgtgttg cccctcccc gtgccttctc tgacctgga aggtgccact cccactgtcc tttcctaata aaatgaggaa attgcatcgc atgtctgag taggtgtcat tctattctgy ggggtggggt ggggcaggac agcaaggggg aggatggga agacaatagc aggcatgctg gggatcgggt gggctctatg ggtacccagg tctgaaagaa ttgacccggt tctcctggg ccagaaagaa gcaggccat cccctctct gtgacaacac ctgtccaogc cctgggtctc tagttccaagc cccactata ggacactcat agctcaggag ggctccgctc tcaatccac ccgctaaagt acttgagcgy gtctctcct cctcctcag cccacaaaac caaacctagc
4	IL-15 코돈 최적화된 DNA	cctggccatt gcatacgttg tatccatata ataatatgta catttatatt ggctcatgtc caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgggttac ataacttac gtaaatggcc cgcctggctg accgccaac gacccccgc cattgacgtc aataatgaog tatgttccca tagtaacgoc aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaactg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tggcaagtac gccccctatt gacgtcaatg atggtaaatg gccocctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttcctactt ggcagtacat ctaagtatta gctatgcta ttaccatggt gatgctgtt tggcagtaca tcaatgggog tggatagcgy tttgactcac ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag tttgttttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtacaact ccgccccatt gacgaaaatg ggcggtaggc gtgtacgggt ggaggtctat ataagcagag ctcttttagt gaaccgtcag atcgcctgga gacgccatcc acgctgtttt gacctccata gaagacaccy ggaccgatcc agcctccgcy ggcggcggct gacaagaaat ggcgatctcg aagccgcacc tgcggtgat atcgatccag tgctaactgt gcctgctcct gaactcgac tctctaccgy aggocgggat acacgtcttc atcctgggct gcttctcggc ggggtgccc aagacggagc cgaactgggt gaactgtatc tggacctga agaagatcga ggacctcacc cagtcgatgc acatcgacgc gacgctgtac accgagtcgy acgtccaccc gtctgtcaag gtcacggcga tgaagtgtct cctcctggag ctccaagtca tctcgtcga gtcgggggac gctcgtatcc acgacacggt gggagaacctg atcatcctgg cgaacaactc gctgtctgog aacgggaacg tcacggagtc gggctgcaag gagtgcgagc agctggagga gaagaacatc aaggagttcc tgcagtcgtt cgtgcacatc gtccagatgt tcatcaacac gtctgtgaggy cccggcgcgc cgaattcggc gatatcgggt aacggatcca gatctgctgt gccttctagt tgccagccat ctgtgtgttg cccctcccc gtgccttctc tgacctgga aggtgccact cccactgtcc tttcctaata aaatgaggaa attgcatcgc atgtctgag taggtgtcat tctattctgy ggggtggggt ggggcaggac agcaaggggg aggatggga agacaatagc aggcatgctg gggatcgggt gggctctatg ggtacccagg tctgaaagaa ttgacccggt tctcctggg ccagaaagaa gcaggccat cccctctct gtgacaacac ctgtccaogc cctgggtctc tagttccaagc cccactata ggacactcat agctcaggag ggctccgctc tcaatccac ccgctaaagt acttgagcgy gtctctcct cctcctcag cccacaaaac caaacctagc

[0263]

		ctccaagagt gggaagaaat taaagcaaga taggctatta agtgcagag gagagaaaaat gcctccaaca tgtgaggaag taatgagaga aatcata
5	IL-15 코돈 최적화 된 아미노산	MRISKPHLRSTISIQCYLCLLNHSHFLTEAGIHVIFILGCFPSAGLPKTEANWVNVIS DLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCRVTAMKCFLELQVISLESGDASIH TVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSEVHVIVQMFINTS
6	신호 펩티드를 갖는 인간 IL-15Ra	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAVHQRPAAPS TVTTAGVTQPPELSLSPGKPEAASSPSSNNATAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGT TEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYVPGHSDTTVAISTSTVLLC GLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDELDLENCSHHL
7	신호 펩티드를 갖는 인간 가용성 IL-15 Ra	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAVHQRPAAPS TVTTAGVTQPPELSLSPGKPEAASSPSSNNATAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGT TEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYVPG
8	신호 펩티드 DNA 를 갖는 인간 IL-15Ra	atggccccgc ggcggggcgcg cggctgcccgc accctcgggtc tccccggcgt gctaactgctg ctgctgctcc ggcgcggcgc gaacgggggc atoactgtcc ctccccccat gtcctgggaa cacycagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactcca gggagcggta cttttgtaac tctgggttca agcgtaaagc cggcaactgc agcctgacgg agtgctgttt gaacaaggcc acgaatgtcg ccccactggc aacccccagt ctcaaatgca tttagagaacc tgcctcgggt caccaaaaggc cagcgcacc ctccacagta acgaaggcag ggggtgacccc acagccagag agcctctccc cttctggaaa agagccccca gcttcacttc ccagctcaaa caacacagcg gccacacacag cagctattgt cccgggctcc cagctgatgc ctcaaaaatc accttccaca ggaacacacag agataagcag tcactgatgc tccccaggca cccccctcca gacaacagcc aagaactggg aaactacagc atccgctccc caccagcgc caggtgtgta tccacagggc cacagggaca ccaactgtgc tctctccag tccactgtcc tgcctgtgtgg gctgagcgtc gtgtctctcc tggcactgta cctcaagta aggcacaactc ccccctggc cagcgttgaa atggaagcca tggaggctct cccgggtgact tgggggacca gcagcagaga tgaagaattg gaaaactgct ctcaccact atga
9	신호 펩티드 DNA 를 갖는 인간 가용성 I L-15Ra	atggccccgc ggcggggcgcg cggctgcccgc accctcgggtc tccccggcgt gctaactgctg ctgctgctcc ggcgcggcgc gaacgggggc atoactgtcc ctccccccat gtcctgggaa cacycagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactcca gggagcggta cttttgtaac tctgggttca agcgtaaagc cggcaactgc agcctgacgg agtgctgttt gaacaaggcc acgaatgtcg ccccactggc aacccccagt ctcaaatgca tttagagaacc tgcctcgggt caccaaaaggc cagcgcacc ctccacagta acgaaggcag ggggtgacccc acagccagag agcctctccc cttctggaaa agagccccca gcttcacttc ccagctcaaa caacacagcg gccacacacag cagctattgt cccgggctcc cagctgatgc ctcaaaaatc accttccaca ggaacacacag agataagcag tcactgatgc tccccaggca cccccctcca gacaacagcc aagaactggg aaactacagc atccgctccc caccagcgc caggtgtgta tccacagggc
10	인간 가용성 IL-15R a(PQG 종결)	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVA HWTTPSLKCIRDPAVHQRPAAPSSTVITAGVTQPPELSLSPGKPEAASSPSSNN ATAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQ PPGVYVPG
11	L-15Ra 코돈 최적화 된 DNA	cttggccatt gcatacgttg tatccatato ataatatgta catttatatt ggctcatgtc caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggctcattagt tcatagccca tatatggagt tcccgcttac ataacttac gtaaatggcc cgcctggctg acgcaccaac gacccccgcc cactgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgcc aatagggact ttccattgac gtcfaatgggt ggagtattta cggtaaaactg ccccctggc agtacatcaa gtgtatcata tgcacaagta gcccccctatt gacgtcaaat atggtaaatg cccccctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac ttctactctt ggcagtaact ctactgatta gtcacgcta ttaccatggt gatgcccgtt tggcagtaca tcaatgggct tggatagcgg tttgactcac ggggatttcc aagctccac ccacttgacg tcaatgggag ttgttttg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaaaact ccgccccatt gacgcaaatg ggcggtaggc gtgtacgggt ggaggctctat ataagcagag ctgcttagt gaaccgtcag atgcctgga gacgccatcc acgctgtttt gacctcata gaagacaccg ggaccgatcc agcctccog

[0264]

		<pre> ggcgcgcgctc gacgctagca agaaatggcc ccgaggcggg cgcgaggctg ccggaccctc ggtctcccg gctctgctact gctcctgctg ctccggccgc cggcgacgcg gggcatcaac tgcccccccc ccattgtccgt ggagcacgca gacatctggg tcaagagcta cagcttgtag tccccgggagc ggtacatctg caactcgggt tccaagcgga aggcgggcac gtcccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccaagcaat gtgcccactt ggacgacccc ctcgctcaag tgcataccgcg acccggccct ggttcaaccag cggccccgcg caccctccac cgtaaacgac gggggggtga ccccgcagcc ggagagcctc tccccgtgg gaaaggagcc cgcgcgctcg tgcgccagct cgaacaacac ggcgccaca actgcagoga tctcccggg ctcccagctg atgcccgtga agtgcggctc cacgggaacc acggagatca gcagtcatga gtccctccac ggcacccccct cgcaaacgac ggccaagaac tgggaactca cggcgtccgc ctcccaccag cccgccggggg tgtatccgca aggcacacgc gacaccaagg tggcgatctc cacgtccacg gtccctgctg gtgggctgag cgcggtgctg ctccctgggt gctaccccaa gtcgaggcag actccccccg tggccagcgt tgagatggag gccaatggag ctctgcccgt gacgtggggg acccagcagca gggatgagga cttggagaac tgctcgcacc acctataatg agaattcgat ccagatctgc tgtgccttct agttgcccag catctgttgt ttgccccctc ccogtgcctt ccttgaccct ggaaggtgct actcccactg tcccttccca ataaaaatgag gaaaattgcat cgcattgtct gactaggtgt cattctattc tggggggtg gggtgggagc gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggatgc ggtgggctct atgggtaccc aggtgctgaa gaattgacc ggttccctct gggccagaaa gaagcaggca catccccctc tctgtgacac accctgtcca cgcctcgtt tottagttcc agccccactc ataggacact catagctcag gagggtccg cctcaatcc caccgcgtaa agtactggga cgcgtctctc cctccctcat cagcccacca aacaaaacct agcctccaag agtggggaga aattaaagca agataggcta ttaagtgcag agggagagaa aatgcctcca acatgtgagg aagtaatgag agaaatcata </pre>
12	L-15Ra 코돈 최적화된 아미노산	<pre> MAPRRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIVKYSYSLYSR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWITPSLKCIRDPALVHQRPAFSP IVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAALVPGSQLMPKSPSTGT TEISSHESHGTPSQITAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLC GLSAVSLLACYLKSRTPLPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDELENCSSHL </pre>
13	CMV IL-15Ra 코돈 최적화된 DNA	<pre> cctggccatt gcatacgttg tatccatata ataatatgta catttatatt ggctcatgct caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaaagttaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tcccgcttac ataacttacg gtaaatggcc cgcctggctg accgccaac gacccccgcc cattgacgct aataatgaog tatgttccca tagtaacgcc aatagggact tccattgac gtoaatgggt ggagtattta cggtaaacg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgcacaagta gcccccatt gacgtcaatg atggtaaatg gcccgccctg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttcctaact ggcagtacat ctaogtatta gtcacgcta ttaccatggt gatgcgggtt tggcagtaca tcaatgggag tggatagcgg tttgactcac ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag tttgttttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact ccgccccatt gacgcaaatg ggoggtaggc gtgtacgggt ggaggtttat ataagcagag ctogtttagt gaaccgtcag atcgcctgga gacgcatcc acgctgtttt gacctccata gaagacacgg ggaccgatcc agcctccgg ggcgcgcgctc gacgctagca agaaatggcc ccgaggcggg cgcgaggctg ccggaccctc ggtctcccg gctctgctact gctcctgctg ctccggccgc cggcgacgcg gggcatcaac tgcccccccc ccattgtccgt ggagcacgca gacatctggg tcaagagcta cagcttgtag tccccgggagc ggtacatctg caactcgggt tccaagcgga aggcgggcac gtcccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccaagcaat gtgcccactt ggacgacccc ctcgctcaag tgcataccgcg acccggccct ggttcaaccag cggccccgcg caccctccac cgtaaacgac gggggggtga ccccgcagcc ggagagcctc tccccgtgg gaaaggagcc cgcgcgctcg tgcgccagct cgaacaacac ggcgccaca actgcagoga tcttcccggg ctcccagctg atgcccgtga agtgcggctc cacgggaacc acggagatca gcagtcatga gtccctccac ggcacccccct cgcaaacgac ggccaagaac tgggaactca cggcgtccgc ctcccaccag cccgccggggg tgtatccgca aggcacacgc gacaccaagt aatgagaatt cggcgatata ggttaacgga tcaagatctg ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgccccct ccccgctgcct tccctgaccc tggagggtgc </pre>

[0265]

		cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaattgca tgcattgtc tgagttagtg tcattctatt ctggggggtg ggggggggca ggacagcaag ggggaggatt ggaagacaa tagcaggcat gctggggatg cgggtggctc tatgggtacc cagggtgctga agaattgacc cggttcctcc tgggccaaga agaagcaggc acatcccctt ctctgtgaca caccctgtcc acgcccctgg ttcttagttc cagccccact cataggacac tcatagctca ggagggtcc gccttcaatc ccacccgcta aagtacttgg agcgggtctct cctccctca tcagcccacc aaaccaaacc tagcctccaa gagtgggaag aaataaagc aagataggct attaagtga gagggagaga aatgcctcc aacatgtgag gaagtaatga gagaaatcat a
14	CMV IL-15Rα 코돈 최적화된 아미노산	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLRPPATRGTICPPFMSVEHADIWVKSYSLSYR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVHWITPSLKCIRDPALVHQRPAAPS TVTIAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGT TEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDIT
15	가용성 인간 IL-15Rα a의 C-말단	PQGHSDTT
16	가용성 인간 IL-15Rα a의 C-말단	PQGHSDT
17	가용성 인간 IL-15Rα a의 C-말단	PQGHSD
18	가용성 인간 IL-15Rα a의 C-말단	PQGH
19	가용성 인간 IL-15Rα a의 C-말단	PQGH
20	가용성 인간 IL-15Rα a의 C-말단	PQG

[0266]

21	인간 가용성 IL-15R _a	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAALVHQRPAPPSTVTITAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT
22	IL-15Ra 0-클리코실화	NWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT
23	IL-15Ra N-클리코실화	ITCPPPMSVEHADIWVK
24	IL-15Ra N-클리코실화	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNS
25	퓨린 프로테아제에 의해 인식된 IL-15R _a 이중성 프로테아제 절단 부위 Xaa = 임의의 아미노산	RXXR
26	IL-15Ra 이중성 프로테아제 절단 부위 1,2 Xaa = 소수성 아미노산 5,6 Xaa = 비-산성 아미노산	XXPRXX
27	합성 sIL-15R 알파-Fc 융합 단백질 huIL15aRa205-Fc	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAALVHQRPAPSTVTITAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTPKSCDKHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
28	합성 sIL-15R 알파-Fc 융합 단백질 huIL15aRa200-Fc	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAALVHQRPAPSTVTITAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTPKSCDKHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
FD-1 관련 서열		
BAPO49-클론-B HC		
29	HCDR1 (Kabat)	TYWMH
30	HCDR2 (Kabat)	NIYPTGGSNFDEKFKN
31	HCDR3 (Kabat)	WITGTGAY
32	HCDR1 (Chothia)	GYTFTTY
33	HCDR2 (Chothia)	YPTGG
34	HCDR3 (Chothia)	WITGTGAY
35	VH	EVQLVQSGAEVKKPGEISLRISCKGSGYFTFTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYPTGGSNFDEKFKNRVITADKSTSTAYMELSLRSEDAVYYCTRWTGTGAYWGQGITIVSS
36	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCACTGAGAAATTAGCTGTAAGGTTCAAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCTCGAGTGGATGGGTAATATCTACCCCGCACCCGGCGCTCTAAGTTCGACGAGAAGTITTAAGAATAGAGTACTATCAC

[0267]

		CGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAACGTCTAGCCTGAGATCAG AGGACACCGCGCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCACAGGGCCTAC TGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTIAGC
37	HC	EVQLVQSGAEVKKPGEISLRISCKGSGYFTFTYVMMHWVRQATGQGLEWMGNIYP GTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTISTAYMELSSLRSEDITAVYYCTRWITGTGAY WQGGTIVIVSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDRKPSNTKVD KRVEISKYGPCCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVDSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK KVSINRGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYFP DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNYHTQKSLSLSLG
38	DNA HC	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGCGAGTCACT GAGAATTAGCTGTAAAGGTTCAAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACT GGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCTCGAGTGGATGGGTAATATCTACCCC GGCACCGCGCGCTCTAACTTCGACGAGAAAGTTTAAAGAATAGAGTGACTATCAC CGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAACGTCTAGCCTGAGATCAG AGGACACCGCGCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCACAGGGCCTAC TGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTGC CGTGTTCCCCCTGGCACTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGGCC TCGGTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAC AGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCGCTGTGCTGCAGAGCTC CGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTACCGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTA CAAGAACCTACACTTGCAACGTGGACCAACAGCCTTCCAACACTAAGGTGGAC AAGCGCTCGAATCGAAGTACGGCCACCGGTGCCCGCCTTGTCCCGCGCCGGA GTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTCTGTTCACCGAAGCCCAAGGACACTT TGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTGGTGGACGCTGCACAG GAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAA CGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCACTTCACTCCACTTACCGCGTCTGTGT CCGTGCTGACGGTGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGC AAAGTGTCCAACAAGGACTTCCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAAGC CAAGGGACAGCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCTGCCACCGAGCCAGGAAG AAATGACTAAGAAACCAAGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTAOCOA TCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCACCGGCCAGCCGAAAACAACACTACAA GACCACCCCTCCGCTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGC TGACCGTGGATAAGAGCAGATGCGCAGGAGGAAATGTGTTCAAGTGTCTGTG ATGCATGAAGCCCTGCACAACCCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCT GGGA
RAP049-클론-B LC		
39	LCDR1 (Kabat)	KSSQLLDSGNQKNFLT
40	LCDR2 (Kabat)	WASTRES
41	LCDR3 (Kabat)	QNDYSYPYT
42	LCDR1 (Chothia)	EQSLLDSGNQKNF
43	LCDR2 (Chothia)	WAS
44	LCDR3 (Chothia)	DYSYPY
45	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQLLDSGNQKNFLTWYQQKPKGKAPKLLI YMASTRSGVPSRFSGSGSGTDFFTFISSLQPEDIAITYYQNDYSYPYTFGQGT KVEIK
46	DNA VL	GAGATCGTCCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGG GCTACACTGAGCTGTAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAG AACTTCCCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAGCCCTAAGCTGCTGATC TACTGGGCTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACTTCACTATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCT ACCTACTACTGTGAGAAGGACTATAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAAGGCACT AAGGTCGAGATTAAG
47	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQLLDSGNQKNFLTWYQQKPKGKAPKLLI YMASTRSGVPSRFSGSGSGTDFFTFISSLQPEDIAITYYQNDYSYPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVIVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEK
48	DNA LC	GAGATCGTCCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGG GCTACACTGAGCTGTAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAG AACTTCCCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAGCCCTAAGCTGCTGATC

[0268]

		<p> TACTGGGCCTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCAGACTTCACCTTCACTATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCT ACCTACTACTGTGAGAACGACTATAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAAGGCCT AAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCCGACCGTGGTGTGCTGCTGAACAAC TTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCACACGCCAGGAGAGCGTCAACGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGC CTGAGCAGCACCTGACCTGAGCAAGGCCACTACGAGAAGCATAAAGGTGTAC GCCTGGCAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGAOCCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC </p>
BAP049-클론-E HC		
49	HCDR1 (Kabat)	TYWMH
50	HCDR2 (Kabat)	NIYPGTGGSNFDEKFKN
51	HCDR3 (Kabat)	WTTGTGAY
52	HCDR1 (Chothia)	GYTFTTY
53	HCDR2 (Chothia)	YFSTGG
54	HCDR3 (Chothia)	WTTGTGAY
55	VH	<p> EVQLVQSGAEVKKPGEISLRISCKGSGYFTFTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYP GTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYCTRWTGTGAY WGQGTITVIVSS </p>
56	DNA VH	<p> GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCACT GAGAATTAGCTGTAAGGTTTCAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACT GGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGTAATATCTACCCC GGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTAAGAATAGAGTACTATCAC CGCCGATAAGTCTACTAGCACCCCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAG AGGCACCCGCGCTCTACTACTGCACTAGSTGGACTACCGGCACAGGCGCTAC TGGGGTCAAGGCCTACCGTGACCGTGTCTAGC </p>
57	HC	<p> EVQLVQSGAEVKKPGEISLRISCKGSGYFTFTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYP GTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYCTRWTGTGAY WGQGTITVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGLVVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTQCNVDHKPSNPKVD KRVESKYGPPCPAPFELGGPSVFLFPPKFDLMISSRTPETVTCVVVDVSD EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKFEEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KRVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYF SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG </p>
58	DNA HC	<p> GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCACT GAGAATTAGCTGTAAGGTTTCAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACT GGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGTAATATCTACCCC GGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTAAGAATAGAGTACTATCAC CGCCGATAAGTCTACTAGCACCCCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAG AGGCACCCGCGCTCTACTACTGCACTAGSTGGACTACCGGCACAGGCGCTAC TGGGGTCAAGGCCTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGT CGTGTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCC TCGGCTGCCTGSTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAC AGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCGCTGTGCTGCAGAGCTC CGGGCTGTACTCGCTGTCTCGTGGTGCAGGTGCGCTTCACTAGCCTGGGTA CCAAGACTACACTTGCAACGTGGACCAAGCCCTTCCAACACTAAGSTGGAC AAGCGCGTCAAGTCAAGTACGGCCACCGTGCCTGTGCTCCCGCGCCGGA GTTCTCGCGGCTCCCTCGGCTTTCTGTGTCCACCGAAGCCCAAGGACACTT TGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGCATGCGTGGTGTGGACGTGTACAG GAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAA CGCCAAAACCAAGCCGAGGAGGAGCAGTCAACTCCACTTACCAGGTGCTGT CCGTGTGACCGTGTGATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGATACAAGTGC AAGTGTCCCAACAGGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGC CAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCTGCCACCGAGCCAGGAAG AAATGACTAAGAACCAAGTCTCATGACTTGCTGTGAAGGGCTTCTACCCA TCGGATATCGCCGTGGAATGGAGTCCAACGGCCAGCCGAAAAACAACACTACAA GACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCTACTACTCGCGGC TGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTCAGCTGTTCTGTG ATGATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCT GGA </p>
BAP049-클론-E LC		

[0269]

87	LCDR1 (Kabat)	AAATCTAGTCAGTCACGTGCTGGATAGCGGTAAATCAGAAGAAGCTTCCTGACC
88	LCDR2 (Kabat)	TGGGCCTCTACTAGAGAATCA
89	LCDR3 (Kabat)	CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC
90	LCDR1 (Chothia)	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAAATCAGAAGAAGCTTC
91	LCDR2 (Chothia)	TGGGCCTCT
92	LCDR3 (Chothia)	GACTATAGCTACCCCTAC
93	BAF049-탈론-B/E HC 병용된 HCDR1 Kabat/Chothia	GYTFTTYVMH

인간화 mAb 에 대한 중쇄 및 경쇄 리더 서열의 아미노산 서열

BAF049-탈론-B		
94	HC	MAWVWTLFPLMRAAQSVQA
95	LC	MSVLTQVLALLLLWLTGTRC
BAF049-탈론-E		
96	HC	MAWVWTLFPLMRAAQSVQA
97	LC	MSVLTQVLALLLLWLTGTRC

인간 IgG 중쇄 및 인간 카파 경쇄(EU 넘버링)의 불변 영역 아미노산 서열

98	IgG4 (S228P) 돌연 변이 불변 영역 아 미노산 서열	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQI YICNVNHNKPS NTKVDRKRVES KYGPPCPFCPC APEFLGGPSV FLFPPKPKDI LMSRTPEVT CVVVDVDSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK FREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPSS SIEKTIKAK GQPREPQVYI LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPPVLD SGGFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LLSLSLGK
99	IgG4 (S228P) 돌연 변이 불변 영역 아 미노산 서열 레이스 C-말단 라이신 (K)	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQI YICNVNHNKPS NTKVDRKRVES KYGPPCPFCPC APEFLGGPSV FLFPPKPKDI LMSRTPEVT CVVVDVDSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK FREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPSS SIEKTIKAK GQPREPQVYI LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPPVLD SGGFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LLSLSLG
100	IgG1 야생형	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQI YICNVNHNKPS NTKVDRKRVES KSCDKTHTCP PCPAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSD HEDEPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTRNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDDSGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
101	IgG1 (N297A) 돌연 변이 불변 영역 아 미노산 서열	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQI YICNVNHNKPS NTKVDRKRVES KSCDKTHTCP PCPAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSD HEDEPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYA STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTRNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDDSGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
102	IgG1 (D265A, P329 A) 돌연변이 불변 영역 아미노산 서열	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQI YICNVNHNKPS NTKVDRKRVES KSCDKTHTCP PCPAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSD HEDEPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LAAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTRNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDDSGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
103	IgG1 (L234A, L235 A) 돌연변이 불변	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQI YICNVNHNKPS NTKVDRKRVES KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSD

	영역 아미노산 서열	HEDEPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTRNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDDSGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
104	인간 카파 불변 영 역 아미노산 서열	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSLTGLNSDIYFDDYVKFQYKWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSLSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC

[0271]

[0272]

[0273]

[0274]

[0275]

[0276]

[0277]

[0278]

실시예 1

실시예 1: 인간 PBMCs를 이용한 IL-15/IL-15Ra 복합체 및 항-PD-1 항체 분자의 병용물에 의한 부가/시너지 효과의 증명

본 실시예는 적정 농도의 제조합 이중이량체 IL-15/가용성 IL-15Ra 복합체(het IL-15) 및 고정된 농도의 항-PD-1 항체 분자 PDR001의 존재하에 생체의 스타필로코커스 장독소 B(SEB) 분석을 사용하여, SEB에 의해 활성화된 전혈에서의 IL-2 생성 증가를 측정하였다. 6가지 파라미터를 시험하였다:

(i) het IL-15 단독

(ii) het IL-15 + 0.5 µg/ml에서의 hIgG4 (이소타입 대조군)

(iii) het IL-15 + 0.5 µg/ml에서의 PDR001

- [0279] (iv) 0.5 µg/ml에서의 PDR001 단독
- [0280] (v) 1ng/ml에서의 SEB 단독
- [0281] (vi) SEB 없음
- [0282] 재료 및 방법
- [0283] 새로운 T-세포 배양 배지를 하기 추가의 보충물과 함께 Gibco (12440-053)제 IMDM 배지 상에 기반하여 제조하였다: 10% 태아 소 혈청(Life Technologies Cat. No. 26140-079), 1% 소듐 피루베이트(Gibco, Cat. No. 11360-070), 1% L-글루타민(Gibco, Cat. No.25030-081), 1% HEPES(Gibco, Cat. No.15630-080), 1% Pen-Strep(Gibco, Cat. No.15140-122) 및 1% MEM NAA(Gibco, Cat. No.11140-050).
- [0284] 분석을 위해, Leucocep (Greiner Bio-one, Cat# 227-290)을 사용하여 4명의 인간 공여자의 전혈(E-012, E421, E444 및 1011)로부터 PBMC를 분리하였다. 최종 세척 후, 세포를 T-세포 배양 배지 5 ml에 재현탁시켰다. 세포를 변형시키고, T 세포 배양 배지 1 ml에서 1:20 희석하여 단일 세포 현탁액을 제조하였다. Vi-Cell XR (세포 생존력 분석기)를 사용하여 세포 수를 계산하였다. 세포를 T-세포 배양 배지에서 4x10⁶ 세포/ml로 희석하고, 50 µl 세포를 96-웰 평면 바닥 플레이트(Costar, Cat# 3596)의 각 웰에 첨가하였다.
- [0285] 4 x 1 µg/ml hetIL-15(농도: 1.627mg/ml; 임상 등급)를 T-세포 배양 배지에서 제조하고, 1:10의 용량 적정을 플레이트 아래의 6-점 용량 반응으로 수행했다. 50 µl의 적정된 hetIL-15를 적절한 플레이트 웰에 첨가하였다. 4 x 0.5 µg/ml의 PDR001 또는 이소타입 대조군 hIgG4(S228P)를 T-세포 배지에서 제조하였다. 50 µl의 배지 단독 또는 2 µg/ml PDR001(농도: 10 mg/ml; 임상 등급) 또는 hIgG4(S228P)(농도: 3.63 mg/ml)의 제조된 원액을 적당한 그룹/웰에 첨가하였다. 플레이트를 조직 배양기에서 1시간 동안 배양하였다. 그룹 '콤보 동시에' hetIL-15를 PDR001과 같은 날에 첨가하였다. '콤보 순차적'의 경우, hetIL-15를 새로 제조하여 PDR001 첨가 72 시간 후 배양물에 첨가하였다.
- [0286] 먼저 2.5 mg/ml ~ 25 µg/ml(1:100)의 SEB 스톡을 희석하여 새로운 T-세포 배양 배지에서 4 x 1 ng/ml의 SEB를 제조한 다음, 4 ng/ml의 스톡을 제조하는데 이를 사용했다. 플레이트를 1시간 동안 배양한 후, 4 x SEB 50 µl를 적절한 웰에 1 ng/ml의 최종 농도로 첨가하였다.
- [0287] SEB 없음(2 웰), 배지 단독 + SEB(2 웰) 및 PDR001 0.5 µg/ml + SEB(2 웰)을 포함하는 대조군을 제조하였다. 시험 군은 hetIL-15 단독, hetIL-15 + hIgG4(S228P) 및 hetIL-15 + PDR001을 포함한다. 시험 군의 모든 샘플은 3 중으로 실행하였다.
- [0288] 플레이트를 37°C, 5% CO₂에서 4일간 배양하였다. 4일째에, 플레이트를 2000 rpm으로 2분 동안 회전시켰다. 약 120 µl 세포 상등액을 96-웰 폴리프로필렌 V-바닥 판(Greiner Bio-one, Cat# 651261, Lot E150935P)에 수집하였다. 플레이트를 밀봉하고 분석할 때까지 -80°C에서 동결시켰다.
- [0289] 제조사의 프로토콜에 따라 V-PLEX(MSD, Cat# K151QQD-4)를 사용하여 IL-2 측정을 수행하였다. 샘플을 키트에서 Diluent2로 1:5로 희석하고 4회 반복 실행하였다. MSD 분석 소프트웨어를 사용하여 데이터를 분석하였다.
- [0290] 결과
- [0291] 1 µg/ml의 농도에서, hetIL-15는 모든 4명의 공여자에서 SEB 유도된 IL-2 생성을 강화시키는 것으로 관찰되었다. 그러나, 이 효과는 PDR001의 존재에 의해 더욱 강화되었으며, 특히 병용물을 동시에 투여했을 때, hetIL-15 및 PDR001의 병용물은 hetIL-15 단독에 대해 관찰된 것보다 SEB 유도된 IL-2 생산을 더욱 강화시켰다. 따라서, 이들 결과는 공여자 PBMC로부터의 IL-2 생산에 대한 hetIL-15와 PDR001의 병용물의 부가적 또는 상승적 효과를 입증한다.
- [0292] **실시예 2: 전이성 암을 가진 성인에서 IL-15/IL-15Ra 복합체 단독 또는 항-PD-1 항체 분자와의 병용물의 단계 1/1b 연구**
- [0293] 본 실시예는 전이성 암을 가진 인간 환자에게 피하(SC) 재조합 이종이량체 IL-15/IL-15Ra 복합체(hetIL-15)를 단독 투여하거나, 또는 항-PD-1 항체 분자 PDR001과 병용 투여한 것의 안전성, 내약성, 용량-제한 독성(DLT) 및 최대 내약 용량(MTD)을 측정하기 위한 연구를 기술하였다. 환자는 현재 전이성이고, 표준 의료치료에 불응하거나 부적절한 암으로 확진된 진단을 받았다. 연구는 또한: (i) hetIL-15단독으로 또는 PDR001과의 병용물의 예비 항-종양 활성을 평가하고; (ii) hetIL-15 단독 및 PDR001과의 병용물의 약동학(PK) 프로파일을 특성화하고; (iii) hetIL-15 단독 및 PDR001과의 병용물의 면역원성을 평가하고; 및 (iv) hetIL-15 단독 및 PDR001과의 병

용물의 약동학(PD) 효과를 평가할 수 있다.

- [0294] 연구에 포함시키기 위해 선택한 인간 환자는 하기 기준을 모두 충족한다:
- [0295] a. 연령 \geq 18세.
- [0296] b. 환자는 조직학적으로, 전이성이거나 절제불가능한 고형 종양 악성종양이 확인되었으며, (환자 및/또는 연구 의사가 정의한 바와 같이) 표준 치료 또는 완화 조치가 없거나 최소 환자 생존율과 관련된 적어도 1개의 이전 치료법에서 진행되었다. 안전하게 생검할 수 있는 종양이 있는 환자를 포함시키는 것이 좋다.
- [0297] 이외에, 연구에 포함시키기 위해 선택한 인간 환자는 또한, 하기 기준 중 하나 이상, 또는 모두를 모두 충족시킬 수 있다:
- [0298] c. 환자는 치료 기관의 지침에 따라 생검에 적합한 질병 부위가 있어야 하고 종양 생검의 후보자이어야 한다. 환자들은 기저 상태에서 새로운 종양 생검을 받고, 치료 중에 이 연구에 다시 기꺼이 받아야 한다.
- [0299] d. 환자는 적어도 하나의 치수(비-결절 병변의 경우 가장 긴 직경, 및 결절성 병변의 경우 짧은 축경)에서 정확하게 측정할 수 있는 적어도 하나의 병변을 기존의 기술로 20 mm 이상으로 정의하거나, 나선형 컴퓨터 단층촬영 (CT) 스캔으로 10 mm 이상으로 정의되는, 평가할 수 있거나 측정가능한 질병이 있어야 한다.
- [0300] e. 환자는 4주 이상 이전에 투여된 이전 화학 요법 또는 생물학적 요법의 독성으로부터 1 등급 이하의 NCI Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) 버전 4.0.3으로 회복되어야 한다.
- [0301] f. 임의의 암에 대한 비스포스포네이트 또는 전립선 암에 대한 호르몬 요법에 대하여, 환자는 이 치료를 계속할 수 있다. 그러나 전립선 암 환자는 테스토스테론의 거세동물 수준을 생성하는 호르몬 요법에도 불구하고, 진행된 전이성 질환을 확인받아야 한다. (거세동물 테스토스테론 수준은 거세한 후 몇시간 이내에, 및 황체형성 호르몬-방출 호르몬 작용제의 2~3주내에 나타남.)
- [0302] g. 동부 협동 종양학 그룹(ECOG) 성능 상태 \leq 1.
- [0303] h. 환자들은 하기에 정의된 대로 정상 기관 및 골수 기능을 가지고 있어야 한다:
- [0304] - 백혈구 \geq 3,000/ μ L
- [0305] - 절대 호중구 수(ANC) \geq 1,500/ μ L 및 혈소판 \geq 100,000/ μ L
- [0306] - 헤모글로빈 $>$ 8.0 g/dL 및 정상적인 기관 제한내 총 빌리루빈
- [0307] - AST/ALT \leq 2.5 \times 정상의 제도적 상한
- [0308] - 혈청 크레아티닌 수치가 기관 표준보다 1.5 배 이상 높은 환자의 경우 크레아티닌 $<$ 1.5 \times 정상의 제도적 상한 또는 크레아티닌 클리어런스 \geq 60 mL/분/1.73 m².
- [0309] i. DLCO/VA 및 FEV1 \geq 폐기능 검사시 예측된 수치의 50%.
- [0310] j. 2차(전이성) CNS 종양은 연구 진입 30일 전에 임상적으로 안정하고 스테로이드 또는 항-경련 치료의 요건이 없다면 허용된다.
- [0311] 하기 기준 중 하나 이상 또는 모두를 충족하는 환자는 연구 대상 환자로 선택될 수 없다:
- [0312] a. 임의의 이전의 IL-15 치료를 받은 환자. 등록 전 4주 이내에는 세포독성 치료, 면역요법, 방사선 요법, 주요 수술 또는 항종양 백신 접종을 하지 않는다. 그러나 환자들은 주기 1, 하루 1(C1D1) 이전에 6주 이상 동안 항-CTLA-4 또는 항 PD-1/PD-L1 또는 니트로소우레아 또는 미토마이신 C를 가지게 될 것이다.
- [0313] b. 이 연구에서 치료되는 것 이외의 악성 질환이 있는 환자. 연구 치료 전 2년 이내에 치료를 받았고 재발하지 않은 악성 종양; 완전 절제된 기저 세포 및 편평 세포 피부암; 및 임의의 유형의 원위치에서 완전 절제된 암종.
- [0314] c. 원발성 뇌암 또는 활동성 CNS 전이가 있는 환자.
- [0315] d. hetIL-15와 유사한 화학적 또는 생물학적 조성의 화합물에 기인한 알레르기 반응의 병력이 있는 환자.
- [0316] e. 연구 의사의 관점에서 안전한 치료 또는 정보에 입각한 동의를 제공할 수 없고, 연구 요건을 준수하도록 제한된, 진행 중이거나 활동적인 감염, 인지 장애, 활동성 약물 남용 또는 정신병/사회적 상황을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 통제되지 않은 병발성 질환이 있는 환자.

- [0317] f. 임의의 하기를 포함하는, 손상된 심장 기능 또는 임상적으로 유의한 심장 질환이 있는 환자: (a) 치료를 요하는 울혈성 심부전(NYHA 등급 ≥ 2), 조절되지 않는 고혈압 또는 임상적으로 유의한 부정맥과 같은 임상적으로 유의하고/하거나 조절되지 않는 심장병; (b) 선천성 긴 QT 증후군 선별 검사에서 QTcF > 470 msec; (c) 연구 진입 3개월 미만 전의 급성 심근경색증 또는 불안정형 협심증.
- [0318] g. 치료 중 효과적인 피임, 또는 임신 또는 적극적인 모유 수유를 수행하는 환자의 무능력 또는 거부.
- [0319] h. 활성 또는 만성 B형 간염 또는 C형 간염에 대한 HIV 감염 또는 양성 혈청학, 활성 박테리아 감염, 혈청학적 또는 PCR 증거가 기록된 환자.
- [0320] i. 심한 천식의 병력이 있거나 만성 흡입성 코르티코스테로이드 치료가 절대적으로 필요한 환자.
- [0321] j. 자가면역 질환의 병력이 있는 환자.
- [0322] k. 부신 기능부전으로 인한 스테로이드 대체 요법 이외의 프레드니손이 ≥ 10 mg/일인, 전신 스테로이드 요법으로 만성적인 치료가 필요한 환자. 국소, 흡입, 비강 및 안과 스테로이드는 금지되어 있지 않다.
- [0323] l. 연구 치료 시작 4주 이내에 전염병(예를 들어, 인플루엔자, 수두, 폐렴)에 대한 백신의 사용은 허용되지 않는다.
- [0324] m. 연구 약물을 시작하기 2주 전에 조혈 모세포 자극 성장 인자(예를 들어, G-CSF, GM-CSF, M-CSF)를 사용하는 것은 허용되지 않으며; 그러나 적혈구 자극제는 연구 치료의 첫 번째 투여 전 적어도 2주 전에 시작되어 안정된 투여용량으로 유지되는 한 허용된다.
- [0325] 단일 제제 het IL-15의 MTD 및/또는 권장 확장 용량(RDE)은 이 공개 토론 연구의 1 단계에서 결정될 것이다. 단일 제제의 MTD 및/또는 RDE를 확인한 후 단일요법의 안전성, PK, PD 및 예비 활동을 특성화하기 위해 용량 확장 부분을 열 수 있다.
- [0326] het IL-15와 PDR001의 병용물의 MTD 및/또는 RDE는 본 연구의 1b 단계에서 결정될 것이다. MTD 또는 RDE를 확인하면, 확장 부분을 열어 병용물의 안전성, PK, PD 및 예비 활동을 특성화할 수 있다. 이 확장 부분은 조직적으로 항-PD-1 치료법에 내성이 있는 암 환자와 항-PD-1 치료법에 조직적으로 민감한 암 환자의 두 그룹으로 구성될 것이다(조직적으로 민감한 암에는 NSCLC, 흑색종 및 방광암이 있지만, 이에 한정되지는 않음).
- [0327] 환자는 병의 진행 또는 중단 규칙을 충족할 때까지 단일 제제 het IL-15 또는 PDR001과의 병용 투여를 계속 받을 것이다.
- [0328] **실시예 3: 단계 I에 대한 용량 확대 가이드라인**
- [0329] **3.1 het IL-15 투여**
- [0330] 환자는 het IL-15 총 6회 SC 주사 (2주간 주 3회 [MWF])를 맞을 것이며, 각 치료주기(28일) 동안 2-주씩 휴식을 취할 것이다. 환자는 연구에 진입하는 순서에 따라 순차적으로 용량 수준에 배정될 것이다. 표 2는 평가될 잠정적인 용량 수준을 제공한다. 연구 과정에서 추가의 및/또는 중간 용량 수준을 추가하는 것이 가능하다. 또한, 예를 들어, 주기의 첫 2주 동안 het IL-15를 주 1회 또는 2회 투여하는 것과 같이, het IL-15의 대체 투여 일정을 평가할 수 있다. 안전성, PK 및/또는 PD를 더 잘 이해하기 위해 MTD 아래의 임의의 용량 수준에서 코호트를 추가할 수 있다.
- [0331] **3.2 단일 약제 het IL-15의 시작 용량 이론적 근거**
- [0332] 마카크(1.27 μ g/kg)에서 시험한 최저 용량보다 5배 낮았고 NOAEL 용량(12.67 μ g/kg)보다 50배 낮았기 때문에 het IL-15의 0.25 μ g/kg/SC 주사 시작 용량을 선택하였다. 이 시작 용량은 신체 표면적의 차이에 기초한 중간 교배로 적어도 10배의 안전 여유를 제공한다.

[0333] [표 2]

코호트 수 및 het IL-15 용량 수준	
환자 코호트	het IL-15의 SC 용량 ($\mu\text{g/kg/일} \times \text{주기당 6회}$)
1	0.25
2	0.5
3	1
4	2
5	4
6	8

[0334]

[0335] **3.3 MTD/RDE의 단계 I 단일 제제 투여용량 확대 및 결정에 대한 가이드라인**

[0336] 이 연구의 단계 I 부분은 MTD 및/또는 RDE를 결정하기 위해 단일 제제 het IL-15의 양을 점차 확대하는 것으로 구성된다. MTD는 3 또는 6명의 환자 중 2명 이상이 DLT를 경험한 용량 이하의 용량 수준으로 정의되며, 첫 번째 치료주기(처음 28일) 동안 발생하는 이벤트에 한정될 것이다. 환자는 최소한의 안전성 평가와 약물 노출로 최소 1 주기의 치료를 완료해야하거나, 치료 첫 번째 주기 내 DLT를 가져야만 용량 확대 결정을 평가할 수 있는 것으로 간주된다. 환자가 DLT를 경험하지 않았고 최소 노출 기준을 충족시키지 못하면, 환자는 MTD 결정에 대해 평가할 수 없으며 대체될 것이다.

[0337] 새로운 환자는 이전 용량 수준으로 치료한 모든 환자가 주기 1, 치료 28일에 도달하고 조사자와 후원자 간의 합의에 도달할 때까지 다음 용량 코호트에 등록되지 않고 치료를 시작할 것이다.

[0338] 실험은 단일 환자 투여 코호트로 시작될 것이며, 첫 번째 2 등급 이상의 AE가 관찰되면 표준 3+3 설계로 전환될 것이다. 3+3 알고리즘을 기반으로 한 용량 확대 계획은 도 2에 제시되어 있다. 단일 환자 코호트는 0.25 $\mu\text{g/kg/주}$ 로 시작될 것이며, 임상 2등급 이상 또는 실험실 치료-응급 AE 또는 DLT의 부재하에, 환자가 투여 코호트의 확장이 필요하거나 DLT가 있는 AE가 없다면, 표 2에 나와있는대로 순차적으로 용량 확대가 진행될 것이다.

[0339] 용량-확대 과정 중에, 안전성, PK 및/또는 PD를 보다 잘 이해하기 위해, 최대 6명의 환자의 추가 코호트를 3+3 또는 MTD로 결정된 다음 용량 수준 이하로 임의의 계획된 또는 중간 용량 수준으로 등록할 수 있다. 3+3 알고리즘(표 3 참조)에서 이러한 추가 코호트에서 관찰된 DLT 데이터는 고려될 수 없지만(표 3 참조), 다음 코호트를 3+3 알고리즘에 의해 결정된 용량보다 낮은 용량으로 개봉하는 것이 더 적절하다면, 스폰서와 조사자는 이 데이터를 검토한 후 3+3 알고리즘을 증가하기로 결정할 수 있다.

[0340] [표 3]

용량 확대

시나리오	주어진 용량 수준에서 DLT를 갖는 환자 수	확대 결정 규칙
새로운 용량 수준에서의 새로운 코호트 3명의 환자		
A	DLT = 0/3	최대 용량 수준인 경우 다음 더 높은 용량 수준 또는 동일한 용량 수준의 새로운 코호트 3명의 환자.
B	DLT = 1/3	동일 용량 수준의 새로운 코호트 3명의 환자(아래 D 또는 E로 이동).
C	DLT > 1/3	다음 저용량 수준의 새로운 코호트 3명의 환자, 또는 6명의 환자가 이미 검사를 받으면(재-확대되지 않음), 다음 저용량 수준에서 MTD를 공언함.
상기 시나리오 B로부터		
D	DLT = 1/6	다음 고용량 수준의 새로운 코호트 3명의 환자, 또는 그렇지 않으면 MTD를 공언함.
E	DLT >1/6	다음 저용량 수준의 새로운 코호트 3명의 환자, 또는 6명의 환자가 이미 검사를 받으면(재-확대되지 않음), 다음 저용량 수준에서 MTD를 공언함.

[0341]

[0342]

MTD/RDE를 확인한 후, 확장 부분을 열어 단일요법의 안전성을 추가로 특성화할 수 있다. 9명의 환자가 안전성 확장에 포함될 것이며, 동일한 스케줄(2주간 주 3회[MWF])로 MTD/RDE에서 치료될 것이며, 각 치료주기(28일) 동안 2-주씩 휴식을 취하였다. 독성 프로파일에 기초하여, 예를 들어, 주기의 첫 2주 동안 hetIL-15를 주 1회 또는 2회 투여하는 것과 같이, hetIL-15의 대체 투여 일정을 조사할 수 있다.

[0343]

실시예 4: 단계 Ib에 대한 용량 확대 가이드라인

[0344]

4.1 PDR001 및 hetIL-15 투여

[0345]

본 연구의 단계 Ib 투여용량 확대 부분은 PDR001의 고정 용량(400 mg, IV 주입, Q4W), 및 안전성, 내약성을 평가하고 확장 코호트에 사용된 병용물의 MTD 및/또는 RDE를 결정하기 위해 hetIL-15의 용량을 단계적으로 확대하여 구성될 것이다. 같은 날 PDR001과 hetIL-15를 투여하는 날에는 PDR001이 먼저 투여되고 PDR001 주입이 완료된 후 hetIL-15가 투여될 것이다.

[0346]

4.2 PDR001과의 hetIL-15의 병용에 대한 시작 용량 이론적 근거

[0347]

PDR001은 고정 용량(400 mg Q4W IV 주입)으로 제공될 것이다. 병용물 중의 hetIL-15의 시작 용량은 1 µg/kg/용량이 될 것이다. Doses of 0.25, 0.5 및 1 µg/kg/용량의 용량들을 평가하였으며, DLT는 확인되지 않았다. 2 µg/kg/용량은 현재 조사중이다. 확대 그룹에서 사용할 병용물에서 MTD 및/또는 RDE를 결정하기 위해 hetIL-15의 용량을 단계적으로 확대할 것이다. hetIL-15의 용량 수준의 단계적 확대는 1 µg/kg/용량 수준부터 시작하여 표 2에 요약된대로 진행될 것이다. 연구 과정에서 추가의 및/또는 중간 용량 수준을 추가하는 것이 가능하다. 또한, 예를 들어, 주기의 첫 2주 동안 hetIL-15를 주 1회 또는 2회 투여하는 것과 같이, hetIL-15의 대체 투여 일정을 평가할 수 있다. 안전성, PK 및/또는 PD를 더 잘 이해하기 위해 MTD 아래의 임의의 용량 수준에서 코호트를 추가할 수 있다. 어떤 시점에서든 PDR001과 병용 투여시 hetIL-15의 투여용량 또는 빈도가 단일 제제 MTD를 초과하지 않을 것이다.

[0348]

PDR001은 진행중인 다기관 오픈-라벨 연구 CPDR001X2101에서 단계 I 용량 확대 부분과 단계 II 부분으로 시험되고 있다. 약동학 데이터, 노출 데이터의 모델링, 용량 확대로부터 얻은 안전성 데이터는 평형 또는 mg/kg 투여의 사용을 뒷받침한다. 예상된 PDR001 최저 농도(Ctrough)는 펌브롤리주맵에 대한 관찰되는 정상 상태 평균 최저 농도와 일치하였으며, 이는 몇몇의 암 유형에서 상당한 효능이 입증되었다. PDR001의 권장되는 단계 2 용량은 400 mg Q4W로 공언되었다. 면역-관련 독성은 용량과 관련이 없는 것으로 나타났으므로, (DLT가 없는 안전한 용량으로 입증된) 1mg/kg 용량의 투여로 시작하는 hetIL-15의 용량 확대에 400 mg Q4W에서 PDR001의 고정 용량이 시작 용량이 될 것이다.

[0349] **4.3 MTD/RDE의 단계 Ib 투여용량 확대 및 결정에 대한 가이드라인**

[0350] DLT 관찰 기간이 2주기(처음 56일)로 확대된다는 점을 제외하고는 위의 섹션 3.3 및 표 3에 제시된 것과 동일한 가이드라인이 이중 병용물의 단계적 확대에 사용될 것이다. 따라서 MTD는 6회 중 2회 미만(33% 미만) DLT를 주기 1 또는 2(처음 56 일) 동안 경험할 수 있는 가장 높은 용량 수준으로 정의될 것이다. 용량 수준으로 등록된 첫 번째 환자는 코호트에서 다음 환자의 등록을 고려하기 전에 최소 2주간의 치료를 완료할 것이다. 적어도 6명의 환자에서 MTD 결과를 입증해야하며, 1명 이하의 환자는 첫번째 복용 후 56일 이내에 DLT를 경험했다.

[0351] **실시예 5: 단계 Ib에 대한 용량 확대 가이드라인**

[0352] 단계 Ib 용량 확대 부분에서 병용물에 대한 RDE가 선언되면, 환자는 연구의 투여용량 확대 부분에 등록되고 병용물 RDE-15 + PDR001에 대해 확인된 RDE가 투여될 것이다.

[0353] 용량 확대 부분은 아래에 나열된 2두개의 다른 그룹으로 구성될 것이다. 그룹에 등록하는 것은 환자가 PD-1 또는 PD-L1 치료 여부가 순진하거나 전처리 여부와 관계가 없다:

[0354] 그룹 1: 조직적으로 항-PD-1 내성 암이 있는 환자

[0355] 그룹 2: 조직적으로 항-PD-1 민감성 암이 있는 환자

[0356] 각 그룹에는 20명의 환자들이 등록할 것이다.

[0357] **실시예 6: 용량-제한 독성의 정의**

[0358] 용량 제한 독성은 표 4에 정의되어 있다. 모든 독성들은 NCI CTCAE 버전 4.03에 따라 등급이 매겨질 것이다. 용량 제한 독성은 hetIL-15 또는 PDR001, 또는 단독 요법 hetIL-15 치료의 시작, 또는 표 4에 요약된 하기 예외사항들과의 병용 치료 개시로부터 56일 동안 주기 1(처음 28 일) 동안 발생하는 병용물과 관련하여 평가된 3 등급 또는 4 등급의 AE로 정의된다. 또한, 표 4는 DLT로 간주되는 일부 G2 AE를 나열한다:

[0359] [표 4]

용량 제한 독성

용량 확대 및 코호트 확대를 위해 DLT는 하기와 같이 정의된다:	
임의의등급 4 AE는하기를 제외한 DLT 이다:	
열 또는 다른 임상 증상과 관련이 없는 5 일 이하 지속되는 호중구감소증.	
7 일 미만 지속되는 림프구감소증 또는 백혈구감소증	
임상 후유증과 관련이 없거나 임상적으로 유의하지 않은 것으로 판단되고, 발병 후 72 시간 이내에 적절한 관리 또는 보충으로 교정된 전해질 이상.	
임의의 등급 3 AE는 하기를 제외한 DLT 이다:	
6 시간 이내에 등급 1 이하로 해결되는 주입 반응.	
최적의 구토 방지 치료를 시작한 후 2 일 이내에 해결되는 구역질 및 구토.	
중대한 출혈이 없는 혈소판감소증.	
최적의 항-설사 치료를 시작한 후 2 일 이내에 해결되는 설사.	
주사 또는 주입 후 7 일 이내에 해결되는 고혈압	
5 일 이내에 해결되는 호중구감소증 부재하의 감염 또는 발열.	
치료를 시작한 후 7 일 이내에 해결되는 발진 또는 감광도.	
7 일 이내에 해결되는 피로.	
코르티코스테로이드 치료 시작 후 7 일 이내에 해결되는 면역-관련 부작용.	
주사 또는 주입 후 3 일 이내에 해결되는 식욕부진	
수혈로 고칠 수 있는 무증상 빈혈 또는 증상있는 빈혈	
AST, ALT, 알칼리성 포스파타제, 또는 7 일 이하 동안 전체 또는 간접 빌리루빈 CTCAE 등급 3	
하기 등급 2 AE는 DLT로 간주된다:	
CTCAE 등급 2 AST/ALT 이상인 신생 등급 2 전체 빌리루빈.	
코르티코스테로이드 치료 시작 후 7 일 이내에 해결되지 않는 폐렴.	
국소 치료에 반응하지 않고 국소 치료 시작 2 주 이내에 등급 1의 중증도로 개선되지 않거나, 전신 치료를 필요로 하는 안구 통증.	
단일 사건 또는 동일한 사건의 복수 발생을 포함하여 다른 임상적으로 유의한 독성이 DLT로 간주될 수 있다.	

[0360]

6.1 치료 기간

[0362] DLT를 경험하지도 않고 irRC 당 질병 진행을 암시하는 임상적 퇴행의 증거가 없는 환자는 두 번째 치료주기로 진행하여, 주기 3, 1일(± 3일)에 방사선 질환 검사를 받게될 것이다.

[0363] 면역-관련 반응 기준(irRC) 당 질환 진행의 증거가 있는 환자는 프로토콜 치료를 중단할 것이다. 안정된 질병(SD)이 있거나 치료 반응의 증거가 있는 환자(마커 병변의 합계가 15% 초과 감소하거나 일부 측정-불가능한 병변이 개선되거나 소실되고, 및/또는 중앙 마커가 10% 초과 감소한 것으로 정의됨)는 후-주기 2 반응 평가에서 irRC 당 질환 진행까지 연구 치료를 계속할 수 있다.

6.2 후속 조치 기간

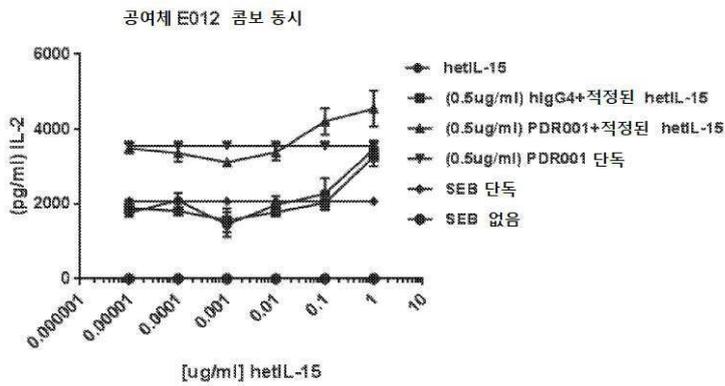
[0365] het IL-15만 받는 환자는 연구 약물을 마지막으로 투여한 후 30일 동안 추적할 것이다. 병용물을 받는 환자는 PDR001을 마지막으로 투여한 후 150일 동안 추적할 것이다. 수용할 수 없는 AE(들) 또는 IL-15/IL-15Ra 항체의 개발을 위한 연구에서 제외된 환자는 AE의 해결 또는 안정화가 될 때까지 추적될 것이다.

실시예 7: het-IL-15에 의한 임상 경험

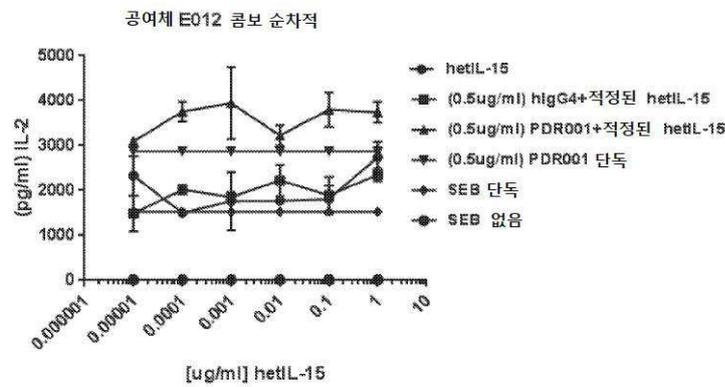
[0367] 2016년 6월 23일 현재 6명의 환자가 본 연구의 단일 제제 용량 확대 단계에서 het IL-15로 치료를 받았다. 환자들은 각 28일 주기 중 첫 2주 동안 0.25 µg/kg/용량(N=1), 0.5 µg/kg/용량(N=2), 또는 1.0 µg/kg/용량(N=3)을 주 3회 받았다. 현재까지 DLT가 확인되지 않았다. 등록은 1.0 µg/kg/용량 확대 단계로 계속된다.

도면

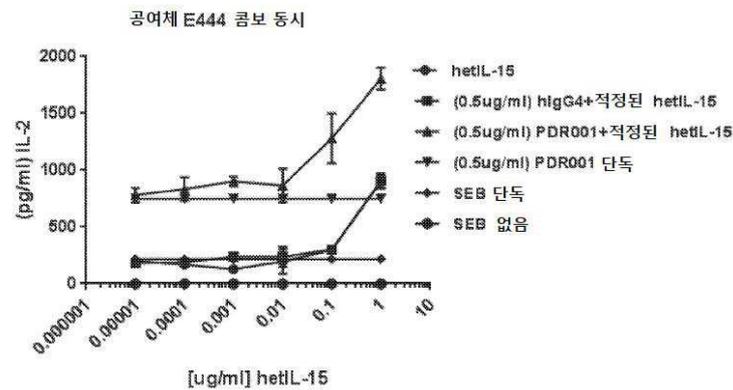
도면1a



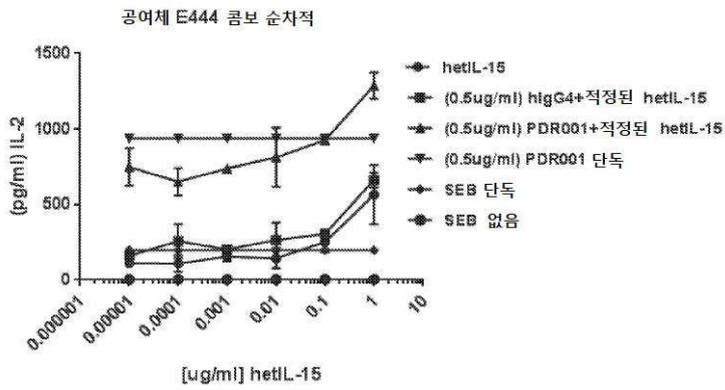
도면1b



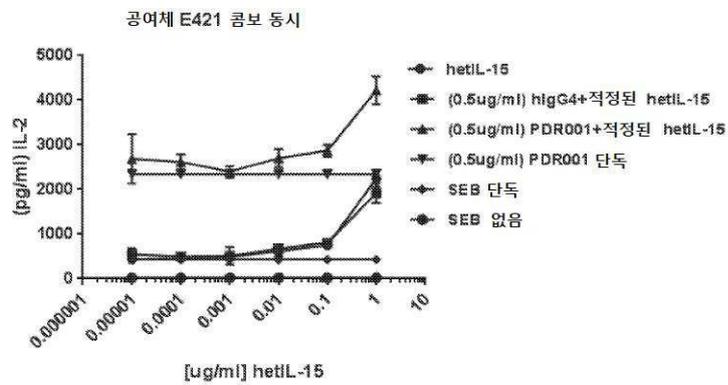
도면1c



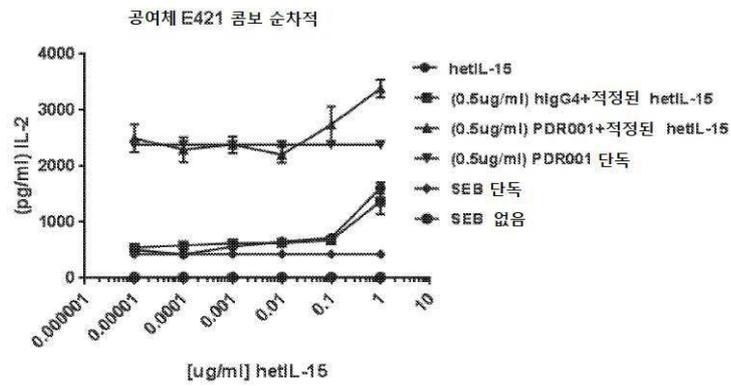
도면1d



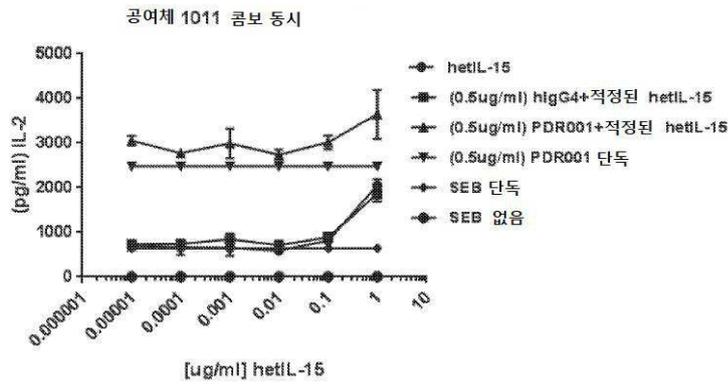
도면1e



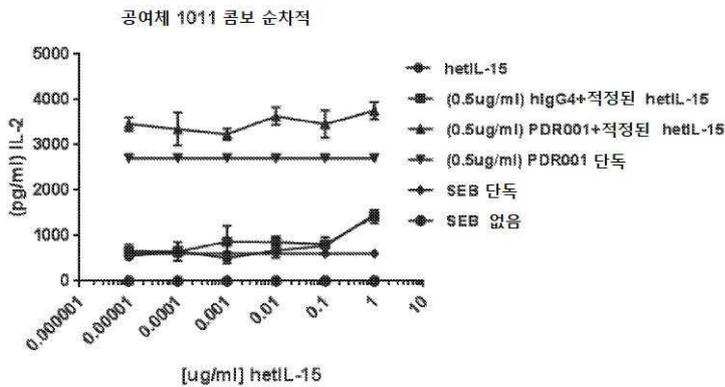
도면1f



도면1g



도면1h



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Novartis AG

<120> COMBINATION THERAPY FOR THE TREATMENT OF CANCER

<130> PAT057506-WO-PCT

<150> US 62/448,460

<151> 2017-01-20

<160> 104

<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> 489

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

atgagaattt cgaaccaca ttgagaagt atttccatcc agtgctactt gtgtttactt 60
 ctaaacagtc attttctaac tgaagctggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt 120
 gcagggcttc ctaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtgattt gaaaaaatt 180
 gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac 240
 cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatttcactt 300
 gagtccggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaacaac 360

agtttgcctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag 420
 gaaaaaata ttaagaatt tttgcagagt tttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac 480
 acttcttga 489
 <210> 3
 <211> 396
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Human IL-15 with GMCSF signal peptide
 <400> 3
 atgtggctcc agagcctgct actcctgggg acggtggcct gcagcatctc gaactgggtg 60
 aacgtgatct cggacctgaa gaagatcgag gacctcatcc agtcgatgca catcgacgcg 120

 acgctgtaca cggagtcgga cgtccaccgg tcgtgcaagg tcacggcgat gaagtgcctc 180
 ctctggagc tccaagtcac ctgctcgag tcgggggacg cgtcgatcca cgacacggtg 240
 gagaacctga tcatcctggc gaacaactcg ctgtcgtcga acgggaacgt cacggagtcg 300
 ggctgcaagg agtgcgagga gctggaggag aagaacatca aggagttcct gcagtcgttc 360
 gtgcacatcg tccagatgtt catcaacacg tcgtga 396
 <210> 4
 <211> 1847
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> IL-15 codon optimized DNA
 <400> 4
 cctggccatt gcatacgttg tatecatatc ataatatgta catttatatt ggctcatgtc 60

 caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg 120
 ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg gtaaatggcc 180
 cgctggctg accgccaac gacccccgcc cattgacgtc aataatgacg tatgttccca 240
 tagtaacgcc aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaaacgt 300
 cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gcccctatt gacgtcaatg 360
 atggtaaatg gccgcctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttcctactt 420
 ggcagtacat ctacgtatta gtcacgcta ttaccatggt gatgcggttt tggcagtaca 480

 tcaatgggcg tggatagcgg tttgactcac ggggatttcc aagtctccac cccattgacg 540
 tcaatgggag tttgttttgg caccaaatc aacgggactt tccaaatgt cgtaacaact 600

ccgccccatt gacgcaaatg ggcggttagc gtgtacggtg ggaggtctat ataagcagag 660
 ctcgtttagt gaaccgtcag atcgctgga gacgcatcc acgctgtttt gacctcata 720
 gaagacaccg ggaccgatcc agcctccgcg ggcgcgcgtc gacaagaaat gcggatctcg 780
 aagccgcacc tgcggtcgat atcgatccag tctacctgt gcctgctcct gaactcgcac 840
 ttctcacgg aggccggtat acacgtcttc atcctgggct gcttctcggc ggggctgccg 900

aagacggagg cgaactgggt gaactgatac tcggacctga agaagatcga ggacctcacc 960
 cagtcgatgc acatcgacgc gacgctgtac acggagtcgg acgtccaccc gtcgtgcaag 1020
 gtcacggcga tgaagtgctt cctcctggag ctccaagtca tctcgtcga gtcgggggac 1080
 gcgtcgatcc acgacacggt ggagaacctg atcatcctgg cgaacaactc gctgtcgtcg 1140
 aacgggaacg tcacggagtc gggctgcaag gactgagagg agctggagga gaagaacatc 1200
 aaggagtcc tgcagtcgtt cgtgcacatc gtccagatgt tcatcaacac gtcgtgaggg 1260
 cccggcgcgc cgaattcgcg gatatcggtt aacggatcca gatctgctgt gccttctagt 1320

tgccagccat ctgttgttg cccctcccc gtgccttctt tgaccctgga aggtgccact 1380
 cccactgtcc ttctctaata aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag taggtgtcat 1440
 tctattctgg ggggtggggt ggggcaggac agcaaggggg aggattggga agacaatagc 1500
 aggcattctg gggatgcggt gggctctatg ggtaccagg tgctgaagaa ttgaccgggt 1560
 tcctcctggg ccagaaagaa gcaggcacat ccctttctct gtgacacacc ctgtccagc 1620
 ccctgtttct tagttccagc cccactcata ggacactcat agctcaggag ggctccgct 1680
 tcaatcccac ccgctaaagt acttgagcgc gtctctcctt ccctcatcag cccaccaaac 1740

caaacctagc ctccaagagt gggaagaaat taaagcaaga taggctatta agtcagagg 1800
 gagagaaat gcctccaaca tgtgaggaag taatgagaga aatcata 1847

<210> 5

<211> 162

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-15 codon optimized amino acid

<400> 5

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> 6

<211> 267

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

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

Leu 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
 Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala
 65 70 75 80
 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
 195 200

<210> 8

<211> 804

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

atggccccgc ggcgggscgcg cggctgccgg accctcggtc tcccggcget gctactgctg 60
 ctgctgctcc ggcgcgccgc gacgcggggc atcacgtgcc ctcccccat gtccgtggaa 120

cacgcagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactcca gggagcggta catttgtaac 180

tctggtttca agcgtaaagc cggcacgtcc agcctgacgg agtgcgtgtt gaacaaggcc 240

acgaatgtcg cccactggac aacccccagt ctcaaatgca ttagagacce tgccctggtt 300

caccaaaggc cagcgcacc ctccacagta acgacggcag gggtagaccc acagccagag 360

agcctctccc ctcttgaaa agagcccgca gttcatctc ccagctcaa caacacagcg 420

gccacaacag cagctattgt cccgggctcc cagctgatgc cttcaaaatc accttcaca 480

ggaaccacag agataagcag tcatgagtcc tcccacggca cccctctca gacaacagcc 540

aagaactggg aactcacagc atccgcctcc caccagccgc caggtgtgta tccacagggc 600

cacagcgaca cactgtggc tatctccacg tccactgtcc tgctgtgtgg gctgagcgt 660

gtgtctctcc tggcatgcta cctcaagtca aggcaaacct ccccgctggc cagcgtgaa 720

atggaagcca tggagctct gccggtgact tgggggacca gcagcagaga tgaagacttg 780

gaaaactgct ctaccacct atga 804

<210> 9

<211> 600

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 9

atggccccgc ggcgggcgcg cggctgccgg accctcggtc tcccggcgt gctactgctg 60

ctgctgctcc ggccgccggc gacgcggggc atcacgtgcc ctcccccat gtccgtggaa 120

cacgcagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactcca gggagcggta catttgtaac 180

tctggtttca agcgtaaagc cggcacgtcc agcctgacgg agtgcgtgtt gaacaaggcc 240

acgaatgtcg cccactggac aacccccagt ctcaaatgca ttagagacce tgccctggtt 300

caccaaaggc cagcgcacc ctccacagta acgacggcag gggtagaccc acagccagag 360

agcctctccc ctcttgaaa agagcccgca gttcatctc ccagctcaa caacacagcg 420

gccacaacag cagctattgt cccgggctcc cagctgatgc cttcaaaatc accttcaca 480

ggaaccacag agataagcag tcatgagtcc tcccacggca cccctctca gacaacagcc 540

aagaactggg aactcacagc atccgcctcc caccagccgc caggtgtgta tccacagggc 600

<210> 10

<211> 170

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

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

165 170

<210> 11

<211> 2140

<212>

DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-15Ra codon optimized DNA

<400> 11

cctggccatt gcatacgttg tatccatatac ataatatgta catttatatt ggctcatgtc 60

caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg 120

ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttac gtaaattggcc 180

cgctggctg accgccaac gacccccgc cattgacgtc aataatgacg tatgttccca 240
 tagtaacgcc aataggact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg 300
 cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg 360

 atggtaaatg gccgcctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttcctactt 420
 ggcagtagat ctacgtatta gtcacgcta ttaccatggt gatgcggttt tggcagtaca 480
 tcaatgggcg tggatagcgg ttgactcac ggggatttcc aagtctccac cccattgacg 540
 tcaatgggag ttigtittgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact 600
 ccgccccatt gacgcaaatg ggcgtaggc gtgtacggtg ggaggtctat ataagcagag 660
 ctcgtttagt gaaccgtcag atcgctgga gacgcatcc acgctgtttt gacctcata 720
 gaagacaccg ggaccgatcc agcctccgcg ggcgcgctc gacgctagca agaaatggcc 780

 ccgaggcggg cgcgagctg ccggacctc ggtctcccgg cgctgctact gctcctgctg 840
 ctccggccgc cggcgacgcg gggcatcacg tgccccccc ccatgtccgt ggagcacgca 900
 gacatctggg tcaagagcta cagcttgtac tcccgggagc ggtacatctg caactcgggt 960
 ttcaagcgga aggccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat 1020
 gtcgcccact ggacgacccc ctcgctcaag tgcacccgcg acccggccct ggttcaccag 1080
 cggcccgcgc caccctcac cgtaacgacg gcgggggtga ccccgagcc ggagagcctc 1140
 tccccgtcg gaaaggagcc cgccgcgtcg tcgccagct cgaacaacac ggcgccaca 1200

 actgcagcga tcgtcccggg ctcccagctg atgccgtcga agtcgccgtc cacgggaacc 1260
 acggagatca gcagtcatga gtccctcccac ggcaccccct cgcaaacgac ggccaagaac 1320
 tgggaactca cggcgtccgc ctcccaccag ccgccggggg tgtatccgca aggccacagc 1380
 gacaccacgg tggcgtctc cacgtccagc gtctctgtgt gtgggctgag cgcggtgtcg 1440
 ctctggcgt gctacctcaa gtcgagcag actccccgcg tggccagcgt tgagatggag 1500
 gccatggagg ctctgccgtt gacgtggggg accagcagca gggatgagga cttggagaac 1560
 tgctgcacc acctataatg agaattcgat ccagatctgc tgtgccttct agttgccagc 1620

 catctgttgt ttgcccctcc cccgtgcctt ccttgacct ggaaggtgcc actcccactg 1680
 tcctttccta ataaaatgag gaaattgcat cgcattgtct gactaggtgt cattctatc 1740
 tgggggttg ggtggggcag gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg 1800
 ctggggatgc ggtgggctct atgggtacc aggtgctgaa gaattgacc ggttcctcct 1860
 gggccagaaa gaagcaggca catcccctc tctgtgacac acctgtcca cgeccctggt 1920
 tcttagttcc agccccactc ataggacct catagctcag gagggtccg cttcaatec 1980

cacccgctaa agtacttgga gcggctcttc cctccctcat cagcccacca aaccaaacct 2040

agcctccaag agtgggaaga aattaaagca agataggcta ttaagtgcag agggagagaa 2100

aatgcctcca acatgtgagg aagtaatgag agaaatcata 2140

<210> 12

<211> 267

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-15Ra codon optimized amino acid

<400> 12

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

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

65 70 75 80

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> 13

<211> 1971

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CMV IL-15Ra codon optimized DNA

<400> 13

cttggccatt gcatacgttg tatccatatac ataatatgta catttatatt ggctcatgtc 60

caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg 120

ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg gtaaatggcc 180

cgcttgctg accgccaac gacccccgcc cattgacgtc aataatgacg tatgttccca 240

tagtaacgcc aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg 300

cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gcccctatt gacgtcaatg 360

atggtaaatg gcccgctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttcctactt 420

ggcagtagat ctacgtatta gtcacgcta ttacatggt gatgcggttt tggcagtaca 480

tcaatgggcg tggatagcgg ttgactcac ggggatttcc aagtctccac cccattgacg 540

tcaatgggag ttigtitttg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact 600

ccgccccatt gacgcaaatg ggcggtaggc gtgtacggtg ggaggtctat ataagcagag 660

ctcgtttagt gaacgtcag atcgctgga gacgcatcc acgctgtttt gacctccata 720

gaagacaccg ggaccgatcc agcctccgcg ggcgcgctc gacgctagca agaaatggcc 780

ccgaggcggg cgcgaggctg ccggaccctc ggtctcccgg cgctgctact gtcctgctg 840

ctccggccgc cggcgacgcg gggcatcacg tgcccccccc ccatgtccgt ggagcacgca 900

gacatctggg tcaagagcta cagcttgtac tcccgggagc ggtacatctg caactcgggt 960

ttcaagcggga aggccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat 1020

gtcgcctact ggacgacccc ctcgctcaag tgcattccgc acccggccct ggttcaccag 1080

cggccccgcg caccctccac cgtaacgacg gcgggggtga ccccgcagcc ggagagcctc 1140

tccccgtcgg gaaaggagcc cgcccgctcg tcgcccagct cgaacaacac ggccggccaca 1200

actgcagcga tcgtccccggg ctcccagctg atgccgtcga agtcgccgtc cacgggaacc 1260

acggagatca gcagtcatga gtctctccac ggcaccccct cgcaaacgac ggccaagaac 1320

tggaactca cggcgtccgc ctcccaccag ccgccggggg tgtatccgca aggccacagc 1380

gacaccacgt aatgagaatt cgcggatac ggttaacgga tccagatctg ctgtgccttc 1440

tagttgccag ccatctgttg tttgccctc ccccgctcct tccttgacc tggaaagtgc 1500

cactccact gtcttttct aataaatga gaaattgca tcgcattgtc tgagtaggtg 1560

tcattctatt ctggggggtg ggggtgggca ggacagcaag ggggaggatt gggaagacaa 1620

tagcaggcat gctgggatg cggtgggctc tatgggtacc caggtgctga agaattgacc 1680

cggttctcc tgggccagaa agaagcaggc acatcccctt ctctgtgaca caccctgtcc 1740

acgccctgg ttcttagttc cagecccaact cataggacac tcatagctca ggaggctcc 1800

gccttcaatc ccaccgcta aagtacttgg agcgggtctc ccctccctca tcagcccacc 1860

aaaccaaacc tagcctcaa gagggggaag aaattaaagc aagataggct attaagtgca 1920

gaggagaga aaatgcctcc aacatgtgag gaagtaatga gagaaatcat a 1971

<210> 14

<211> 205

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CMV IL-15Ra codon optimized amino acid

<400> 14

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

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

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
 195 200 205

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C-terminal of soluble human IL-15Ra

<400> 15

Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr

1 5

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C-terminal of soluble human IL-15Ra

<400> 16

Pro Gln Gly His Ser Asp Thr

1 5

<210> 17

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C-terminal of soluble human IL-15Ra

<400> 17

Pro Gln Gly His Ser Asp

1 5

<210> 18

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C-terminal of soluble human IL-15Ra

<400> 18

Pro Gln Gly His Ser

1 5

<210> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C-terminal of soluble human IL-15Ra

<400> 19

Pro Gln Gly His

1

<210> 20

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C-terminal of soluble human IL-15Ra

<400> 20

Pro Gln Gly

1

<210> 21

<211> 175

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

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> 22

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-15Ra O-glycosylation

<400> 22

Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln Pro Pro Gly Val Tyr

1 5 10 15

Pro Gln Gly

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-15Ra N-glycosylation

<400> 23

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val

1 5 10 15

Lys

<210> 24

<211> 31

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> IL-15Ra N-glycosylation

<400> 24

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

 20 25 30

<210> 25

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-15Ra heterologous protease cleavage site recognized by furin

protease. Xaa = any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 25

Arg Xaa Xaa Arg

1

<210> 26

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-15Ra heterologous protease cleavage site. 1,2 Xaa =
hydrophobic amino acids

5,6 Xaa = non-acidic amino acids

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(6)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 26

Xaa Xaa Pro Arg Xaa Xaa

1 5

<210> 27

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sIL-15Ralpha-Fc fusion protein huIL15sRa205-Fc

<400> 27

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
 Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala
 65 70 75 80
 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 Pro Lys Ser
 195 200 205
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 210 215 220
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 225 230 235 240
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 245 250 255
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 260 265 270
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

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
 Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala
 65 70 75 80
 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 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 195 200 205
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 210 215 220

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

<400> 30

Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asn

<210> 31

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B HCDR3 (Kabat)

<400> 31

Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr

1 5

<210> 32

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B HCDR1 (Chothia)

<400> 32

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 33

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B HCDR2 (Chothia)

<400> 33

Tyr Pro Gly Thr Gly Gly

1 5

<210> 34

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B HCDR3 (Chothia)

<400> 34

Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr

1 5

<210> 35

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B VH

<400> 35

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 36

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B VH DNA

<400> 36

gaggtgcagc tgggtgcagtc aggcgccgaa gtgaagaagc cggcgagtc actgagaatt 60

agctgtaaag gttcaggcta caccttcaact acctactgga tgcactgggt cgccaggct 120
 accggtaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccccg gcaccggcgg ctctaacttc 180
 gacgagaagt ttaagaatag agtgactatc accgccgata agtctactag caccgcctat 240
 atggaactgt ctagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcac taggtggact 300
 accggcacag gcgcctactg gggtaaggc actaccgtga ccgtgtctag c 351

<210> 37

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B HC

<400> 37

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Arg Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205

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

 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 275 280 285
 Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 290 295 300
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 305 310 315 320
 Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 325 330 335

 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
 340 345 350
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 355 360 365
 Phe Tyr Pro Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 370 375 380
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 385 390 395 400

 Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly

	405	410	415	
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr				
	420	425	430	
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly				
	435	440		
<210>	38			
<211>	1329			
<212>	DNA			
<213>	Artificial Sequence			
<220><223>	BAP049-Clone-B HC DNA			
<400>	38			
gaggtgcagc tgggtgcagtc aggcgccgaa gtgaagaagc ccggcgcagtc actgagaatt				60
agctgtaaag gttcaggcta caccttcact acctactgga tgcactgggt ccgccaggct				120
accggfcaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccgcc gcaccggcgg ctctaacttc				180
gacgagaagt ttaagaatag agtgactatc accgccgata agtctactag caccgcctat				240
atggaactgt ctagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcac taggtggact				300
accggcacag gcgcctactg gggfcaagge actaccgtga ccgtgtctag cgctagcact				360
aagggcccgt ccgtgttccc cctggcacct tglagccgga gcaactagca atccaccgt				420
gcctcggct gcctggfcaa ggattacttc ccggagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc				480
ggagccctga cctccggagt gcacaccttc cccgtgtgfc tgcagagctc cgggctgtac				540
tcgtgtcgt cggfggfca c ggtgccttca tctagcctgg gtaccaagac ctacacttgc				600
aacgtggacc acaagccttc caacactaag gtggacaagc gcgtcgaatc gaagtacggc				660
ccaccgtgcc cgcttgtccc cgcgccggag ttccctggcg gtcctcgggt ctttctgttc				720
ccaccgaagc ccaaggacac tttgatgatt tccgcaccc ctgaagtgac atgcgtggfc				780
gtggacgtgt cacaggaaga tccggaggf cagttcaatt ggtacgtgga tggcgtcgag				840
gtgcacaacg ccaaaaccaa gccgagggag gagcagfca actccactta ccgcgtcgtg				900
tcctgtctga cggfctgca fcaggactgg ctgaacggga aggagtacaa gtgcaaagtg				960
tccaacaagg gacttcctag ctcaatcga aagaccatct cgaaagccaa gggacagccc				1020
cgggaacccc aagtgtatac cctgccaccg agccaggaag aaatgactaa gaaccaagtc				1080
tcattgactt gccttgtgaa gggcttctac ccatcgata tgcctgtgga atgggagfcc				1140
aacggccagc cggaaaacaa ctacaagacc acccctccgg fgctggactc agacggatcc				1200
ttcttctct actcgcggct gaccgtggat aagagcagat ggcaggaggg aaatgtgttc				1260

agctgttctg tgatgcatga agccctgcac aaccactaca ctcagaagtc cctgtccctc 1320

tccttgga 1329

<210> 39

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B LCDR1 (Kabat)

<400> 39

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu

1 5 10 15

Thr

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B LCDR2 (Kabat)

<400> 40

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B LCDR3 (Kabat)

<400> 41

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 42

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B LCDR1 (Chothia)

<400> 42
 Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe
 1 5 10

<210> 43

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B LCDR2 (Chothia)

<400> 43

Trp Ala Ser

1

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B LCDR3 (Chothia)

<400> 44

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr

1

5

<210> 45

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B VL

<400> 45

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 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20

25

30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

35

40

45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50

55

60

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

210 215 220

<210> 48

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B LC DNA

<400> 48

gagatcgtcc tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga gcgggctaca 60
 ctgagctgta aatctagtca gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa ctctctgacc 120
 tggtatcagc agaagcccgg taaagcccct aagctgctga tctactgggc ctctactaga 180
 gaatcaggcg tgcctctag gtttagcggg agcggtagtg gcaccgactt caccttca 240

atctctagcc tgcagcccga ggatatcgct acctactact gtcagaacga ctatagctac 300

ccctacacct tcggtcaagg cactaaggtc gagattaagc gtacggtggc cgctcccagc 360

gtgttcatct tccccccag cgacgagcag ctgaagagcg gcaccgccag cgtggtgtgc 420

ctgctgaaca acttctaccc ccgggaggcc aaggtgcagt ggaaggtgga caacgcctg 480

cagagcggca acagccagga gagcgtcacc gagcaggaca gcaaggactc cacctacagc 540

ctgagcagca cctgaccct gagcaaggcc gactacgaga agcataaggt gtacgcctgc 600

gaggtgacc accagggcct gtccagcccc gtgaccaaga gttcaacag gggcgagtgc 660

<210> 49

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E HCDR1 (Kabat)

<400> 49

Thr Tyr Trp Met His

1 5

<210> 50

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E HCDR2 (Kabat)

<400> 50

Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asn

<210> 51

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E HCDR3 (Kabat)

<400> 51

Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr

1 5
 <210> 52
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E HCDR1 (Chothia)
 <400> 52

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5
 <210> 53
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E HCDR2 (Chothia)
 <400> 53

Tyr Pro Gly Thr Gly Gly

1 5
 <210> 54
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E HCDR3 (Chothia)
 <400> 54

Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr

1 5
 <210> 55
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E VH
 <400> 55

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
 Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe

50 55 60
 Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Thr Arg Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 56

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E VH DNA

<400> 56

gaggtgcagc tgggtgcagtc aggcgccgaa gtgaagaagc cggcgagtc actgagaatt 60

agctgtaaag gttcaggcta caccttcaact acctactgga tgcactgggt cgccaggct 120

accggtcaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccccg gcaccggcgg ctctaacttc 180

gacgagaagt ttaagaatag agtgactatc accgccgata agtctactag caccgcctat 240

atggaactgt cttagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcac taggtggact 300

accggcacag ggcctactg gggtaagc actaccgtga ccgtgtctag c 351

<210> 57

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E HC

<400> 57

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30

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

 Thr Arg Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
 210 215 220

 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 225 230 235 240
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440

<210> 58

<211> 1329

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E HC DNA

<400> 58

gaggtgcagc tgggtgcagtc aggcgccgaa gtgaagaagc cgggcgagtc actgagaatt 60

agctgtaaag gttcaggcta caccttcaact acctactgga tgcactgggt cgccaggct 120

accggtcaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccccg gcaccggcgg ctctaacttc 180

gacgagaagt ttaagaatag agtgactatc accgccgata agtctactag caccgcctat 240

atggaactgt ctagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcac taggtggact 300

accggcacag ggcctactg gggtaagc actaccgtga cegtgtctag cgctagcact 360

aagggcccg cegtgttccc cctggcacct ttagccgga gcactagcga atccaccgt 420

gccctcggct gcctggtaaa ggattacttc ccggagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga cctccggagt gcacaccttc cccgtgtgc tgcagagctc ggggctgtac 540

tcgtgtcgt cgggtgtcac ggtgccttca tctagcctgg gtaccaagac ctacacttgc 600

aacgtggacc acaagccttc caactaag gtggacaagc gcgtcgaatc gaagtacggc 660

ccaccgtgcc cgccttgccc cgcgccggag ttctcggcg gtcctcgggt ctttctgttc 720

ccaccgaagc ccaaggacac tttgatgatt tcccgcaccc ctgaagtgac atgcgtgttc 780

gtggactgt cacaggaaga tccggaggtg cagttcaatt ggtacgtgga tggcgtcgag 840

gtgcacaacg ccaaaaccaa gccgaggag gagcagttca actccactta ccgcgtcgtg 900

tccgtgtgta cgggtgtgca tcaggactgg ctgaacggga aggagtacaa gtgcaaagtg 960

tccaacaagg gacttcctag ctcaatcga aagaccatct cgaaagcaa gggacagccc 1020

cggaacccc aagtgtatac cctgccaccg agccaggaag aaatgactaa gaaccaagtc 1080

tcattgactt gccttgtgaa gggcttctac ccatcggata tcgccgtgga atgggagtcc 1140

aacggccagc cggaaaacaa ctacaagacc acccctcgg tgctggactc agacggatcc 1200

ttcttctct actcggcgt gaccgtggat aagagcagat ggcaggaggg aaatgtgttc 1260

agctgttctg tgatgcatga agccctgcac aaccactaca ctcagaagtc cctgtcctc 1320

tcctggga 1329

<210> 59

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LCDR1 (Kabat)

<400> 59

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu

1 5 10 15

Thr

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LCDR2 (Kabat)

<400> 60

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LCDR3 (Kabat)

<400> 61

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 62

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LCDR1 (Chothia)

<400> 62

Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe

1 5 10

<210> 63

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LCDR2 (Chothia)

<400> 63

Trp Ala Ser

1

<210> 64

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LCDR3 (Chothia)

<400> 64

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr

1 5

<210> 65

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E VL

<400> 65

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 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 66

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E VL DNA

<400> 66

gagatcgtcc tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga ggggctaca 60
 ctgagctgta aatctagtc gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa cttcctgacc 120
 tggatcagc agaagcccgg tcaagcccct agactgctga tctactgggc ctctactaga 180
 gaatcaggcg tgcctctag gtttagcggg agcggtagtg gcaccgactt caccttcact 240
 atctctagcc tggagccga ggacgccgct acctactact gtcagaacga ctatagctac 300

ccctacacct tcggtcaagg cactaaggctc gagattaag 339

<210> 67

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LC

<400> 67

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 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125
 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

 165 170 175
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215 220

<210> 68

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LC DNA

<400> 68

gagatcgtcc tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga gcgggctaca 60
 ctgagctgta aatctagtca gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa cttcctgacc 120
 tggatcagc agaagcccgg tcaagcccct agactgctga tctactgggc ctctactaga 180
 gaatcaggcg tgcctctag gtttagcggg agcggtagtg gcaccgactt caccttcact 240
 atctctagcc tggaaagcca ggacccgct acctactact gtcagaacga ctatagctac 300
 ccctacacct tcggtaaggg cactaaggtc gagattaagc gtacgggtggc cgctcccagc 360
 gtgttcatct tccccccag cgacgagcag ctgaagagcg gcaccgccag cgtgggtgtgc 420

ctgctgaaca acttctaccc ccgggaggcc aaggtgcagt ggaaggtgga caacgccctg 480
 cagagcggca acagccagga gagcgtcacc gagcaggaca gcaaggactc cacctacagc 540
 ctgagcagca ccctgacct gagcaaggcc gactacgaga agcataaggt gtacgcctgc 600
 gaggtgacce accagggcct gtccagcccc gtgaccaaga gcttcaacag gggcgagtgc 660

<210> 69

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B HCDR1 (Kabat)

<400> 69
acctactgga tgcac 15
<210> 70

<211> 51
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> BAP049-Clone-B HCDR2 (Kabat)
<400> 70
aatatctacc ccggcaccgg cggctctaac ttcgacgaga agttaaagaa t 51
<210> 71
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> BAP049-Clone-B HCDR3 (Kabat)
<400> 71
tggactaccg gcacaggcgc ctac 24
<210> 72
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> BAP049-Clone-B HCDR1 (Chothia)
<400> 72
ggctacacct teactaccta c 21

<210> 73
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> BAP049-Clone-B HCDR2 (Chothia)
<400> 73
taccgccgca ccggcggc 18
<210> 74
<211> 24
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-B HCDR3 (Chothia)
 <400> 74
 tggactaccg gcacaggegc ctac 24
 <210> 75
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-B LCDR1 (Kabat)
 <400>
 > 75
 aaatctagtc agtcactgct ggatagcggg aatcagaaga acttctgac c 51
 <210> 76
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-B LCDR2 (Kabat)
 <400> 76
 tgggcctcta ctagagaatc a 21
 <210> 77
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-B LCDR3 (Kabat)
 <400> 77
 cagaacgact atagctaccc ctacacc 27
 <210> 78
 <211> 39
 <212> DNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-B LCDR1 (Chothia)
 <400> 78
 agtcagtcac tgctggatag cggtaatcag aagaacttc 39
 <210> 79

<211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-B LCDR2 (Chothia)
 <400> 79
 tgggcctct 9
 <210> 80
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-B LCDR3(Chothia)
 <400> 80
 gactatagct acccctac 18

 <210> 81
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E HCDR1 (Kabat)
 <400> 81
 acctactgga tgcac 15
 <210> 82
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E HCDR2 (Kabat)
 <400> 82
 aatatctacc ccggcaccgg cggctctaac ttcgacgaga agttaaagaa t 51
 <210> 83
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E HCDR3 (Kabat)
 <400> 83

tggactaccg gcacagcgctac 24

<210> 84

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E HCDR1 (Chothia)

<400> 84

ggctacacct tcactaccta c 21

<210> 85

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E HCDR2 (Chothia)

<400> 85

taccccgca ccggcgcc 18

<210> 86

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E HCDR3 (Chothia)

<400> 86

tggactaccg gcacagcgctac 24

<210> 87

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LCDR1 (Kabat)

<400> 87

aaatctagtc agtcactgct ggatagcggc aatcagaaga acttctgac c 51

<210> 88

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LCDR2 (Kabat)

<400> 88
 tgggcctcta ctagagaatc a 21

<210> 89
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E LCDR3 (Kabat)
 <400> 89
 cagaacgact atagctaccc ctacacc 27

<210> 90
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E LCDR1 (Chothia)
 <400> 90
 agtcagtcac tgctggatag cggtaatcag aagaacttc 39

<210> 91
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E LCDR2 (Chothia)
 <400>
 > 91
 tgggcctct 9

<210> 92
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> BAP049-Clone-E LCDR3 (Chothia)
 <400> 92
 gactatagct acccctac 18

<210> 93
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B/E HC

Combined HCDR1 Kabat/Chothia

<400> 93

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Trp Met His

1 5 10

<210> 94

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B HC leader sequence

<400> 94

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser

1 5 10 15

Val Gln Ala

<210> 95

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-B LC Leader sequence

<400> 95

Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Trp Leu Thr

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys

20

<210> 96

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E HC leader sequence

<400> 96

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser

1 5 10 15

Val Gln Ala

<210> 97

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BAP049-Clone-E LC leader sequence

<400> 97

Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Trp Leu Thr

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys

20

<210> 98

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG4 (S228P) mutant constant region amino acid sequence

<400> 98

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr

65

70

75

80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85

90

95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG4 (S228P) mutant constant region amino acid sequence lacing
C-terminal lysine (K)

<400> 99

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly 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 Glu Glu
 225 230 235 240

Met 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 Lys
 325 330

<210> 101

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG1 (N297A) mutant constant region amino acid sequence

<400> 101

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

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

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly 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 Ala 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 Glu Glu

225 230 235 240

Met 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 Lys

325 330

<210> 102

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG1 (D265A, P329A) mutant constant region amino acid sequence

<400> 102

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 103

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG1 (L234A, L235A) mutant constant region amino acid sequence

<400> 103

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

Arg 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 Gly 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 Glu Glu
 225 230 235 240
 Met 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 Lys
 325 330
 <210> 104
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 104
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

