



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0040158

(51)⁷ A61K 38/00; C07K 14/55

(13) B

(21) 1-2017-00263

(22) 05/08/2015

(86) PCT/US2015/043792 05/08/2015

(87) WO2016/022671 11/02/2016

(30) 62/033,726 06/08/2014 US

(45) 25/06/2024 435

(43) 25/05/2017 350A

(73) UNIVERSITY OF MIAMI (US)

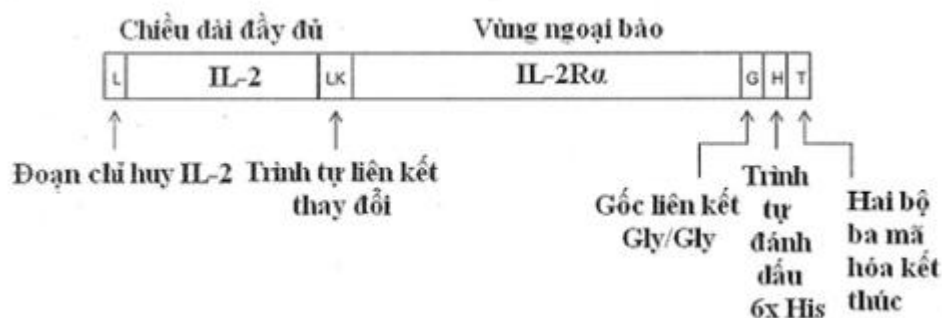
1951 NW 7th Avenue, Miami, Florida 33136, United States of America

(72) MALEK, Thomas (US).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) PROTEIN DUNG HỢP VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT PROTEIN NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến protein dung hợp chứa (a) polypeptit thứ nhất chứa interleukin-2 (IL-2), trong đó polypeptit thứ nhất này có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 70% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.2; và (b) polypeptit thứ hai, được dung hợp trong khung với polypeptit thứ nhất bằng gốc liên kết, trong đó gốc liên kết này có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.13 và polypeptit thứ hai này chứa vùng ngoại bào của thụ thể interleukin-2 alpha, có hoạt tính sinh học của vùng ngoại bào của thụ thể interleukin-2 alpha, và trong đó polypeptit thứ hai này có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 70% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, và trong đó protein dung hợp này có (1) hoạt tính IL-2 cao hơn IL-2 tự nhiên hoặc (2) hoạt tính kích thích IL-2 ổn định ở lymphô bào mang IL-2R *in vivo* cao hơn IL-2 tự nhiên; polynucleotit chứa trình tự nucleotit mã hóa protein dung hợp này; tế bào vật chủ chứa polynucleotit này; và phương pháp sản xuất protein dung hợp này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp và dược phẩm điều hòa đáp ứng miễn dịch sử dụng protein dung hợp interleukin-2/thụ thể interleukin-2 alpha.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hoạt chất sinh học interleukin-2 (IL-2) đã được sử dụng để kích thích đáp ứng miễn dịch ở người bệnh ung thư và HIV/AIDS. Gần đây, IL-2 đã được sử dụng ở liều thấp để kích thích chọn lọc khả năng chống chịu để ức chế đáp ứng miễn dịch không mong muốn liên quan đến bệnh tự miễn, như tình trạng xâm lấn của các mô tự miễn. Quan trọng là, IL-2 ở liều thấp đã không tăng cường hoặc hoạt hóa lại tế bào T tự phản ứng. Tuy nhiên, nhược điểm trong điều trị của IL-2 bao gồm thời gian bán thải in vivo rất ngắn dẫn đến làm giảm hoạt lực; và gây độc ở liều cao. Do đó, cần có hoạt chất sinh học IL-2 thế hệ mới có đặc tính dược động học và thời gian đáp ứng miễn dịch được cải thiện.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề cập đến phương pháp và dược phẩm điều hòa đáp ứng miễn dịch. Dược phẩm theo sáng chế chứa protein dung hợp chứa: (a) polypeptit thứ nhất chứa interleukin-2 (IL-2) hoặc biến thể chức năng hoặc mảnh chức năng của nó; và (b) polypeptit thứ hai, được dung hợp trong khung với polypeptit thứ nhất, và polypeptit thứ hai này chứa vùng ngoại bào của thụ thể interleukin-2 alpha (IL-2R α) hoặc biến thể chức năng hoặc mảnh chức năng của nó, và protein dung hợp này có hoạt tính IL-2.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp làm giảm đáp ứng miễn dịch ở đối tượng bao gồm bước cho đối tượng cần giảm đáp ứng miễn dịch sử dụng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế. Sáng chế cũng mô tả phương pháp làm tăng đáp ứng miễn dịch ở đối tượng bao gồm bước cho đối tượng cần tăng đáp ứng miễn dịch sử dụng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế. Sáng chế cũng mô tả phương pháp làm tăng hoạt tính tế bào điều hòa T.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp tăng cường khả năng sinh miễn dịch của vaccin hoặc phương pháp khắc phục đáp ứng miễn dịch bị ức chế bởi vaccin ở đối tượng, bao gồm các bước: (a) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-

2R α theo sáng chế; và (b) cho đối tượng sử dụng vaccin, trong đó protein dung hợp này tăng cường khả năng sinh miễn dịch của vaccin hoặc khắc phục đáp ứng miễn dịch bị ức chế bởi vaccin.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 là hình vẽ thể hiện protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế, trong đó L = peptit chỉ huy, LK = vùng liên kết, G = glyxin, H = histidin, và T = bộ ba mã hóa kết thúc.

Fig.2A và Fig.2B là các hình vẽ thể hiện trình tự suy luận của protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế. Fig.2A là hình vẽ thể hiện trình tự suy luận của protein dung hợp IL-2/IL-2R α của chuột nhắt. Trình tự IL-2 và IL-2R α của chuột của các protein dung hợp này được thể hiện nêu trên và dưới đây. Trình tự của protein dung hợp IL-2 được nêu trong SEQ ID NO.3; trình tự của protein dung hợp IL-2-(G₄S)₄-IL-2R α được nêu trong SEQ ID NO.54; trình tự của protein dung hợp IL-2-(G₄S)₅-IL-2R α được nêu trong SEQ ID NO.55; trình tự của protein dung hợp IL-2-(G₃S)₄-IL-2R α được nêu trong SEQ ID NO.56; trình tự của protein dung hợp IL-2-(G₃S)₃-IL-2R α được nêu trong SEQ ID NO.57; và vùng ngoại bào của IL-2R α được nêu trong SEQ ID NO.10. Fig.2B là hình vẽ thể hiện trình tự suy luận của protein dung hợp IL-2/IL-2R α của người. Trình tự IL-2 và IL-2R α của người của các protein dung hợp này được thể hiện nêu trên và dưới đây. Trình tự của protein dung hợp IL-2 được nêu trong SEQ ID NO.1; trình tự của protein dung hợp IL-2-(G₃S)₂-IL-2R α được nêu trong SEQ ID NO.58; trình tự của protein dung hợp IL-2-(G₃S)₃-IL-2R α được nêu trong SEQ ID NO.59; trình tự của protein dung hợp IL-2-(G₃S)₄-IL-2R α được nêu trong SEQ ID NO.60; trình tự của protein dung hợp IL-2-(G₄S)₄-IL-2R α được nêu trong SEQ ID NO.61; và vùng ngoại bào của IL-2R α được nêu trong SEQ ID NO.7.

Fig.3 là đồ thị thể hiện độ sinh khả dụng của protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế. Các tế bào COS-7 được chuyển nạp với các ADN bổ sung mã hóa protein dung hợp IL-2/IL-2R α chứa các gốc liên kết được thể hiện. Dịch nổi từ các tế bào này được nuôi cấy với nguyên bào T hoạt hóa kháng CD3 để đánh giá hoạt tính IL-2. Fig.3A là đồ thị thể hiện đáp ứng tăng sinh bởi nguyên bào T sau khi pha loãng các protein dung hợp được thể hiện. Fig.3B là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng IL-2 đến sự tăng sinh kích thích bởi dịch nổi nuôi cấy pha loãng theo tỷ lệ 1:2 chứa các protein dung hợp được thể hiện.

Fig.4 là đồ thị thể hiện hoạt tính của protein dung hợp IL-2/IL-2R α tinh chế theo sáng chế. Dịch nổi nuôi cấy tế bào CHO đã chuyển nạp được sử dụng để tinh chế protein dung hợp IL-2/(G₃S)₃/IL-2R α và protein dung hợp IL-2/(Gly₄Ser)₄/IL-2R α chứa trình tự đánh dấu 6x-His bằng phương pháp sắc ký ái lực sử dụng niken. Fig.4A là đồ thị thể hiện kết quả đo hoạt tính sinh học IL-2 bởi sự tăng sinh nguyên bào T kháng CD3 với protein dung hợp tinh chế được thể hiện. Fig.4B là đồ thị thể hiện hoạt tính của mỗi protein dung hợp tinh chế để ức chế gắn kết của các kháng thể đơn dòng kháng IL-2R α PC61 và 7D4, được định hướng đến vị trí gắn kết không phối tử, với nguyên bào T hoạt hóa kháng CD3.

Fig.5 là đồ thị thể hiện kháng thể đơn dòng kháng IL-2R α được định hướng đến vị trí gắn kết IL-2 của IL-2R α không thể gắn kết với protein dung hợp IL-2/IL-2R α . Các protein dung hợp tinh chế chứa các gốc liên kết thay đổi, như được thể hiện, trước tiên được ủ với kháng thể đơn dòng kháng IL-2R α 3C7, được định hướng đến vị trí gắn kết phối tử của IL-2R α hoặc kháng thể đơn dòng 7D4, được định hướng đến vị trí gắn kết không phối tử của IL-2R α . Khả năng gắn kết sau đó của 3C7 hoặc 7D4 với IL-2R α bề mặt tế bào được đánh giá bằng cách sử dụng tế bào EL4 được chuyển nạp IL-2R α .

Fig.6 là hình ảnh thể hiện đặc tính sinh hóa của IL-2/IL-2R α tinh chế theo sáng chế. Fig.6A là hình ảnh thể hiện kết quả điện di trên gel SDS-PAGE của protein dung hợp IL-2/IL-2R α tinh chế trong các điều kiện khử và không khử; protein dung hợp IL-2/IL-2R α được hiển thị bằng phân tích thẩm tách Western bằng cách dò bằng kháng thể được định hướng đến trình tự đánh dấu 6x-His của protein dung hợp này. Fig.6B là hình ảnh thể hiện hàm lượng protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α tinh chế được điện di trên gel SDS-PAGE trong các điều kiện khử sau khi nhuộm bằng xanh Coomassie.

Fig.7 là đồ thị thể hiện hoạt tính của protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế đến quá trình truyền tín hiệu phụ thuộc IL-2 *in vivo*. Các chuột nhắt C57BL/6 được tiêm màng bụng với liều đơn của protein dung hợp IL-2/(G₃S)₃/IL-2R α (4000 đơn vị hoạt tính IL-2) và hàm lượng pSTAT5 trong quần thể tế bào lá lách được thể hiện được đánh giá ngay lập tức. Hàm lượng pSTAT5 được xác định sau 0,5 giờ tiêm protein dung hợp IL-2/IL-2R α . Đối với tế bào T biểu hiện CD4, các tế bào này được vận chuyển qua kênh với tế bào Treg biểu hiện Foxp3 được loại bỏ.

Fig.8 là đồ thị thể hiện hoạt tính của protein dung hợp IL-2/IL-2R α đến tế bào

Treg *in vivo*. Các chuột nhắt NOD được tiêm màng bụng 3 lần (ngày 1, 3, 5) với lượng hoạt tính IL-2 được chỉ định liên quan đến protein dung hợp IL-2/(G3S)₃/IL-2R α . Hoạt tính trên Treg được đánh giá đối với lá lách, hạch bạch huyết ở tụy và tụy sau 24 giờ lần tiêm cuối cùng. Các thông số đánh giá bao gồm tỷ lệ phần trăm Treg trong các tế bào T biểu hiện CD4; mật độ huỳnh quang trung bình thể hiện mức độ biểu hiện CD25 bởi Treg sau khi chuẩn hóa đến mức độ biểu hiện CD25 bởi Treg từ các chuột nhắt được điều trị đối chứng; trạng thái tăng sinh của Treg như được đánh giá bởi mức độ biểu hiện gen chỉ thị tăng sinh Ki67; và tỷ lệ % của Treg đã biểu hiện KIRg1, biểu thị phân nhóm quần thể biệt hóa cuối cùng phụ thuộc IL-2.

Fig.9 là đồ thị thể hiện kết quả so sánh hoạt tính của protein dung hợp IL-2/IL-2R α và IL-2 tái tổ hợp để cảm ứng biến đổi tế bào Treg *in vivo*. Các chuột nhắt C57BL/6 được tiêm màng bụng 3 lần (ngày 1, 3, 5) với protein dung hợp IL-2/(G3S)₃/IL-2R α (2000 đơn vị), IL-2 tái tổ hợp của người (25000 đơn vị) hoặc phức hợp của kháng thể kháng IL-2 được điều chế sẵn (Jes-6.1; 5 μ g) và IL-2 của chuột (10000 đơn vị) (IL2/IC). Hoạt tính trên Treg được đánh giá đối với lá lách sau 24 giờ, 72 giờ và 1 tuần lần tiêm cuối cùng. Treg được đánh giá như được mô tả trên Fig.8.

Fig.10 là đồ thị thể hiện hoạt tính liều thấp IL-2 ức chế bệnh đái tháo đường ở các chuột nhắt NOD. Các chuột nhắt NOD (8 chuột nhắt/nhóm) được điều trị bằng protein dung hợp IL-2/IL-2R α , IL-2R α hòa tan, hoặc PBS theo sơ đồ trên Fig.10A. Nồng độ glucoza trong máu và nước tiểu được kiểm soát cho đến khi các chuột nhắt đạt 40 tuần tuổi. Các chuột nhắt được coi là bị bệnh đái tháo đường sau 2 lần đo nồng độ glucoza nối tiếp >250mg/dL.

Fig.11 là đồ thị thể hiện hoạt tính liều cao của protein dung hợp IL-2/IL-2R α tăng cường phát triển tế bào ghi nhớ T biểu hiện CD8. Các chuột nhắt C57BL/6 được điều trị bằng tế bào T chuyển gen thụ thể tế bào T OT-I đặc hiệu albumin trứng giới hạn nhóm I chỉ khác nhau một cụm gen trong nhiễm sắc thể. Các chuột nhắt này được gây đáp ứng miễn dịch và điều trị bằng liều đơn của protein dung hợp IL-2/(G3S)₃/IL-2R α , IL2/IC chứa 15000 đơn vị IL-2, hoặc IL-2 tái tổ hợp (25000 đơn vị). Ở các thời điểm xác định, tỷ lệ phần trăm tương đối của tế bào T OT-I trong toàn bộ khoang tế bào T biểu hiện CD8 trong máu ngoại vi được đánh giá.

Fig.12 là biểu đồ thể hiện loại tế bào ghi nhớ OT-I ổn định được hỗ trợ bởi liều

cao protein dung hợp IL-2/IL-2R α . Fig.12A là biểu đồ thể hiện phương pháp chọn lọc để xác định tế bào ghi nhớ tác động và tế bào ghi nhớ trung tâm. Fig.12B là biểu đồ thể hiện phân bố tế bào ghi nhớ OT-I sau 28 và 202 ngày gây miễn dịch cho chuột nhắt cũng được điều trị bằng IL-2/IL-2R α (12000 đơn vị).

Fig.13 là đồ thị thể hiện đặc tính của protein dung hợp IL-2/IL-2R α của người chứa gốc liên kết glyxin/serin có chiều dài thay đổi, như được thể hiện. Fig.13A là đồ thị thể hiện hoạt tính sinh học IL-2 của IL-2/IL-2R α tinh chế của người bằng cách sử dụng thử nghiệm sinh học CTLL. Fig.13B là hình ảnh thể hiện phân tích thẩm tách Western của protein dung hợp IL-2/IL-2R α của người sau khi điện di trên gel SDS-PAGE trong các điều kiện khử.

Fig.14 là biểu đồ thể hiện protein dung hợp IL-2/IL-2R α của người gắn kết các kháng thể đơn dòng kháng IL-2R α . Các protein dung hợp tinh chế chứa các gốc liên kết được thể hiện trước tiên được ủ với kháng thể đơn dòng BC96 kháng IL-2R α , được định hướng đến vùng gắn kết phối tử của IL-2R α của người hoặc kháng thể đơn dòng M-A257, được định hướng đến vùng gắn kết không phối tử của IL-2R α của người. Khả năng gắn kết sau đó của BC96 hoặc M-A257 với IL-2R α bề mặt tế bào được đánh giá bằng cách sử dụng tế bào CHO đã chuyển nạp IL-2R α .

Fig.15 là đồ thị thể hiện IL-2 tương tác với vị trí gắn kết IL-2 của IL-2R α trong chuỗi protein dung hợp IL-2/IL-2R α của người. Hoạt tính sinh học IL-2 của các protein dung hợp được thể hiện chứa gốc liên kết glyxin/serin thay đổi được đánh giá bằng cách sử dụng tế bào CTLL. Thể đột biến (Mut) là các protein dung hợp ở đó IL-2R α chứa các đột biến Arg³⁵→Thr, Arg³⁶→Ser. Phân tích thẩm tách Western kiểm chứng lượng tương đương của toàn bộ các protein dung hợp (không thể hiện).

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn cùng với các hình vẽ kèm theo, trong đó không phải tất cả các phương án theo sáng chế được thể hiện. Cụ thể, sáng chế có thể được thể hiện dưới nhiều hình thức khác nhau và không chỉ giới hạn ở các phương án được thể hiện trong bản mô tả này; đúng hơn là các phương án này được đề cập đến để sáng chế này sẽ đáp ứng yêu cầu pháp lý. Các chữ số giống nhau thể hiện các đối tượng giống nhau trong toàn bộ bản mô tả.

Dựa trên nhiều phương án cải biến và các phương án khác theo sáng chế được thể

hiện trong bản mô tả này, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu được các lợi ích của sáng chế được thể hiện trong phần mô tả và hình vẽ liên quan nêu trên. Do đó, cần hiểu rằng sáng chế không chỉ giới hạn ở các phương án cụ thể được bộc lộ và các phương án cải biến và các phương án khác vẫn nằm trong phạm vi của bộ yêu cầu bảo hộ kèm theo. Mặc dù các thuật ngữ cụ thể được sử dụng trong sáng chế, nhưng các thuật ngữ này được sử dụng chỉ nhằm mục đích mô tả chứ không giới hạn phạm vi của sáng chế.

I. Tổng quan

Các phương pháp hiện nay chủ yếu sử dụng interleukin-2 tái tổ hợp (IL-2), có đặc tính được học kém, đặc biệt là thời gian bán thải ngắn làm hạn chế tác dụng điều trị. Sáng chế đề cập đến protein dung hợp interleukin-2/thụ thể interleukin-2 alpha (IL-2/IL-2R α) có đặc tính khác biệt so với IL-2 tái tổ hợp và các protein dung hợp IL-2 khác. Thứ nhất, protein dung hợp IL-2/IL-2R α này có kích cỡ thích hợp làm tăng thời gian bán thải *in vivo* của nó. Thứ hai, tương tác yếu giữa IL-2 và IL-2R α (một tiểu đơn vị của IL-2R) trong chuỗi protein dung hợp IL-2/IL-2R α này tạo ra một cơ chế khác để kéo dài độ sinh khả dụng của IL-2. Không bị giới hạn bởi cơ chế tác dụng cụ thể, độ sinh khả dụng kéo dài của hoạt tính IL-2 có thể xảy ra nhờ tương tác cạnh tranh giữa gốc IL-2 với IL-2R α của protein dung hợp IL-2/IL-2R α và với tế bào biểu hiện IL-2R.

II. Protein dung hợp interleukin-2/thụ thể interleukin-2 alpha và polynucleotit mã hóa nó

Protein dung hợp theo sáng chế chứa polypeptit thứ nhất chứa interleukin-2 (IL-2) hoặc biến thể chức năng hoặc mảnh chức năng của nó được dung hợp trong khung với polypeptit thứ hai chứa hoặc bao gồm vùng ngoại bào của polypeptit thụ thể interleukin-2 alpha (IL-2R α) hoặc biến thể chức năng hoặc mảnh chức năng của nó.

Thuật ngữ “protein dung hợp” được dùng trong bản mô tả để chỉ mối liên kết trong khung của ít nhất hai polypeptit không tương đồng. Sau khi phiên mã/dịch mã, một protein duy nhất được tạo ra. Theo cách này, nhiều protein hoặc mảnh chức năng của chúng có thể được kết hợp thành một polypeptit duy nhất. Thuật ngữ “liên kết điều khiển” được dùng trong bản mô tả để chỉ mối liên kết chức năng giữa hai hoặc nhiều đoạn. Ví dụ, mỗi liên kết điều khiển giữa hai polypeptit dung hợp cả hai polypeptit với nhau trong khung để tạo ra protein dung hợp polypeptit duy nhất. Theo khía cạnh cụ thể, protein dung hợp này còn chứa polypeptit thứ ba được mô tả chi tiết dưới đây, có thể

chứa gốc liên kết.

Protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế hoặc biến thể hoạt tính hoặc mảnh hoạt tính của nó có một hoặc nhiều đặc tính/hoạt tính sau: (1) làm tăng hoạt tính của tế bào T điều hòa (Treg) và/hoặc làm tăng độ dung nạp miễn dịch trong các phương pháp điều trị sử dụng IL-2 liều thấp; (2) làm tăng đáp ứng miễn dịch và ghi nhớ trong các phương pháp điều trị liều cao; (3) làm tăng độ sinh khả dụng của IL-2 khi so với IL-2 tái tổ hợp; và/hoặc (4) làm tăng kích thích ổn định IL-2 của lympho bào mang IL-2R *in vivo*. Hoạt tính này và phương pháp đánh giá được mô tả chi tiết hơn trong sáng chế. Xem, ví dụ 1 theo sáng chế.

Theo một phương án, hoạt tính gia tăng của Treg thu được từ protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế hoặc biến thể hoạt tính hoặc mảnh hoạt tính của nó có thể được đánh giá theo nhiều phương pháp bao gồm, ví dụ (1) làm tăng biểu hiện và số lượng Treg trong khoang tế bào T biểu hiện CD4; (2) điều hòa kích thích biểu hiện CD25 phụ thuộc IL-2; (3) kích thích tăng sinh như được đánh giá bởi mức độ biểu hiện gen chỉ thị tăng sinh Ki67; và (4) làm tăng số lượng phân nhóm Treg biểu hiện KIRg1 biệt hóa cuối cùng phụ thuộc IL-2. Các hoạt tính này trên Treg có thể được quan sát trong lá lách và tụy bị viêm.

Theo một phương án, protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế hoặc biến thể hoạt tính hoặc mảnh hoạt tính của nó làm tăng Treg dung nạp và ức chế miễn dịch và khả năng miễn dịch nhờ làm tăng đáp ứng ghi nhớ/tác động tế bào T và, theo các phương án khác, protein dung hợp IL-2/IL-2R α có đặc tính dược động học được cải thiện bằng cách phân bố các đáp ứng này ở (1) mức độ hiệu quả hoạt tính IL-2 thấp hơn so với IL-2 tự nhiên hoặc IL-2 tái tổ hợp; (2) thể hiện nhiều đáp ứng sinh học ổn định hơn IL-2 tự nhiên hoặc IL-2 tái tổ hợp; và/hoặc (3) vẫn giữ lại hệ thống phân cấp với đáp ứng Treg ở mức độ liều thấp hơn mức độ tế bào ghi nhớ/tác động T.

Theo phương án cụ thể, protein dung hợp này có hoạt tính được cải thiện hơn IL-2 tự nhiên hoặc IL-2 tái tổ hợp. Ví dụ, hoạt tính của protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể làm tăng Treg dung nạp ở khoảng 2 lần, 5 lần, 10 lần, 20 lần, 30 lần, 40 lần, 50 lần, 60 lần, 70 lần, 80 lần, 90 lần, 100 lần 150 lần, 200 lần hoặc hoạt tính IL-2 thấp hơn so với IL-2 tự nhiên hoặc IL-2 tái tổ hợp. Theo các phương án khác, protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế có hoạt tính cảm ứng tăng sinh ổn định Treg và các đặc tính liên

quan hữu hiệu hơn IL-2 tự nhiên hoặc IL-2 tái tổ hợp.

Sáng chế cũng đề cập đến mảnh chức năng và biến thể chức năng IL-2 và IL-2R α có nguồn gốc từ nhiều sinh vật có thể được sử dụng để tạo ra protein dung hợp IL-2/vùng ngoại bào IL-2R α . Các thành phần này được mô tả chi tiết trong sáng chế. Ví dụ không giới hạn về dạng tiền chất của protein dung hợp IL-2/vùng ngoại bào IL-2R α được thể hiện trong SEQ ID NO.17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 36, 38, 44, 46, 54, 55, 56, 58, 59, 60, 61, 62, và 64, và ví dụ không giới hạn về dạng hoàn thiện của protein dung hợp IL-2/vùng ngoại bào IL-2R α được thể hiện trong SEQ ID NO.16, 18, 20, 22, 24, 26, 37, 39, 43, 45, và 57. Ví dụ không giới hạn về polynucleotit mã hóa các protein dung hợp này được thể hiện trong SEQ ID NO.29, 30, 31, 32, 33, 34, 42, 47, 48, 49, 63, và 65.

Thuật ngữ “trình tự tín hiệu bài tiết” được dùng trong bản mô tả để chỉ trình tự polynucleotit mã hóa polypeptit (“peptit bài tiết”) là thành phần của polypeptit mạch dài, điều khiển polypeptit mạch dài này trong chu trình bài tiết của tế bào ở đó peptit này được tổng hợp. Polypeptit mạch dài này thường được phân cắt để loại bỏ peptit bài tiết trong khi vận chuyển qua chu trình bài tiết. Thuật ngữ “dạng hoàn thiện của protein dung hợp hoặc polypeptit” được dùng trong bản mô tả để chỉ dạng đã phân cắt của polypeptit đã được loại bỏ peptit bài tiết. Thuật ngữ “dạng tiền chất của protein dung hợp” được dùng trong bản mô tả để chỉ dạng tiền chất của polypeptit vẫn còn trình tự peptit bài tiết.

Sáng chế cũng đề cập đến mảnh hoạt tính sinh học hoặc biến thể hoạt tính sinh học của dạng hoàn thiện và dạng tiền chất của protein dung hợp IL-2/vùng ngoại bào IL-2R α , và polynucleotit mã hóa chúng. Mảnh polypeptit chức năng này có thể chứa ít nhất 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 hoặc nhiều axit amin nối tiếp có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 45, 46, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, hoặc 64. Theo phương án khác, biến thể polypeptit chức năng có thể có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 45, 46, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, hoặc 64.

Sáng chế cũng đề cập đến mảnh hoạt tính và biến thể hoạt tính của polynucleotit mã hóa protein dung hợp IL-2/vùng ngoại bào IL-2R α . Polynucleotit này có thể chứa ít

nhất 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1100, 1200, 1300, 1500, 1800, 2000 nucleotit nối tiếp có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.29, 30, 31, 32, 33, 34, 42, 47, 48, 49, 63 hoặc 65 hoặc polynucleotit mã hóa polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 45, 46, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, hoặc 64 và mã hóa protein dung hợp IL-2/vùng ngoại bào IL-2R α chức năng. Theo phương án khác, polynucleotit chức năng có thể có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.29, 30, 31, 32, 33, 34, 42, 47, 48, 49, 63 hoặc 65 hoặc polynucleotit mã hóa polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 45, 46, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, hoặc 64 và mã hóa protein dung hợp IL-2/vùng ngoại bào IL-2R α .

Các thành phần của protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế có thể được bố trí theo thứ tự bất kỳ. Theo một phương án, polypeptit IL-2 là ở đầu tận cùng N và vùng ngoại bào của IL-2R α là ở đầu tận cùng C của protein dung hợp này.

i. Interleukin-2

Thuật ngữ “Interleukin-2” hoặc “IL-2” được dùng trong bản mô tả để chỉ IL-2 tự nhiên hoặc IL-2 tái tổ hợp có nguồn gốc từ động vật có xương sống bất kỳ, bao gồm động vật có vú, như động vật linh trưởng (ví dụ người) và động vật gặm nhấm (ví dụ chuột nhắt và chuột cống), và động vật có vú nuôi trong nhà hoặc động vật có vú phục vụ nông nghiệp trừ khi có quy định khác. Thuật ngữ này bao gồm dạng tiền chất của IL-2, cũng như dạng bất kỳ của IL-2 thu được từ quá trình xử lý trong tế bào (tức là dạng hoàn thiện của IL-2). Thuật ngữ này cũng bao gồm biến thể hoặc mảnh chức năng có trong tự nhiên của IL-2, ví dụ biến thể cắt nối hoặc biến thể alen, và biến thể không có trong tự nhiên. Ví dụ về trình tự axit amin của dạng hoàn thiện của IL-2 của người (có trình tự tín hiệu chứa 20 axit amin) được thể hiện trong SEQ ID NO.2. Dạng tiền chất của IL-2 của người cũng chứa peptit tín hiệu chứa 20 axit amin ở đầu tận cùng N (SEQ ID NO.1), không có mặt trong phân tử IL-2 hoàn thiện. Ví dụ về trình tự axit amin của dạng hoàn thiện của IL-2 của chuột (có trình tự tín hiệu chứa 20 axit amin) được thể hiện trong SEQ ID NO.4. Dạng tiền chất của IL-2 của chuột cũng chứa peptit tín hiệu chứa 20 axit amin ở đầu tận cùng N (SEQ ID NO.3), không có mặt trong phân tử IL-2 hoàn thiện. Cũng

xem Fig.2A và Fig.2B. Thuật ngữ “IL-2 tự nhiên” và “IL-2 thể đại” được dùng trong bản mô tả để chỉ IL-2 có trong tự nhiên hoặc IL-2 tái tổ hợp.

Các trình tự axit amin và axit nucleic bổ sung đối với IL-2 đã biết. Ví dụ, xem Mã truy cập Ngân hàng gen số Q7JFM2 (*Aotus lemurinus* (khỉ bụng xám)); Q7JFM5 (*Aotus nancymae* (khỉ đêm)); P05016 (*Bos taurus* (bò)); Q29416 (*Canis familiaris* (chó) (*Canis lupus familiaris*)); P36835 (*Capra hircus* (dê)); và P37997 (*Equus caballus* (ngựa)).

Sáng chế cũng đề cập đến mảnh hoạt tính sinh học và biến thể hoạt tính sinh học của IL-2. Mảnh hoặc biến thể hoạt tính IL-2 này sẽ vẫn có hoạt tính IL-2. Thuật ngữ “hoạt tính sinh học của IL-2” được dùng trong bản mô tả để chỉ một hoặc nhiều hoạt tính sinh học của IL-2, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, khả năng kích thích lympho bào mang thụ thể IL-2. Hoạt tính này có thể được đánh giá cả trong điều kiện *in vitro* và *in vivo*. IL-2 là chất điều hòa toàn thân có hoạt tính miễn dịch và các tác dụng quan sát được là tác dụng tổng cộng của các hoạt tính này. Ví dụ, IL-2 điều hòa hoạt tính sống sót (Bcl-2), bao gồm hoạt tính tác động T (IFN-gama, Granzym B, và Perforin), và thúc đẩy hoạt tính tế bào T điều hòa (FoxP3). Ví dụ, xem Malek *et al.* (2010) *Immunity* 33(2):153-65, được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn.

Biến thể hoạt tính sinh học của IL-2 đã biết. Ví dụ, xem Công bố đơn Patent Mỹ số 20060269515 và 20060160187 và WO99/60128, được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn.

Mảnh hoạt tính sinh học và biến thể hoạt tính sinh học của IL-2 có thể được sử dụng trong protein dung hợp theo sáng chế. Mảnh chức năng này có thể chứa ít nhất 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 125, 150 hoặc nhiều axit amin nối tiếp có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 2, 3, hoặc 4. Theo phương án khác, biến thể chức năng có thể có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 2, 3, hoặc 4.

Sáng chế cũng đề cập đến mảnh hoạt tính và biến thể hoạt tính của polynucleotit mã hóa protein IL-2. Polynucleotit này có thể chứa ít nhất 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 nucleotit nối tiếp của polypeptit mã hóa SEQ ID NO.1, 2, 3, hoặc 4, và mã hóa protein có hoạt tính IL-2. Theo phương án khác, polynucleotit chức năng có thể có độ

tương đồng trình tự ít nhất bằng 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với polypeptit mã hóa trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.1, 2, 3, hoặc 4 và mã hóa polypeptit IL-2 chức năng.

ii. Thụ thể Interleukin-2 alpha

Thuật ngữ “CD25” hoặc “thụ thể IL-2 α ” hoặc “IL-2R α ” được dùng trong bản mô tả để chỉ IL-2R α tự nhiên hoặc IL-2R α tái tổ hợp có nguồn gốc từ động vật có xương sống bất kỳ, bao gồm động vật có vú, như động vật linh trưởng (ví dụ người) và động vật gặm nhấm (ví dụ, chuột nhắt và chuột cống) và động vật có vú nuôi trong nhà hoặc động vật có vú phục vụ nông nghiệp trừ khi có quy định khác. Thuật ngữ này cũng bao gồm biến thể có trong tự nhiên của IL-2R α , ví dụ biến thể cắt nối hoặc biến thể alen, hoặc biến thể không có trong tự nhiên. IL-2 của người phát huy tác dụng sinh học của nó thông qua quá trình truyền tín hiệu nhờ hệ thụ thể của nó, IL-2R. IL-2 và thụ thể của nó (IL-2R) là cần cho sự tăng sinh tế bào T và các chức năng cơ bản quan trọng khác của đáp ứng miễn dịch. IL-2R bao gồm 3 protein xuyên màng tít I được liên kết không đồng hóa trị là các chuỗi alpha (p55), beta (p75), và gamma (p65). Chuỗi IL-2R alpha của người chứa vùng ngoại bào gồm 219 axit amin, vùng xuyên màng gồm 19 axit amin, vùng nội bào gồm 13 axit amin. Vùng ngoại bào bài tiết của IL-2R alpha (IL-2R α) có thể được sử dụng trong protein dung hợp theo sáng chế.

Ví dụ về trình tự axit amin của dạng hoàn thiện của IL-2R α của người được thể hiện trong SEQ ID NO.6. Dạng tiền chất của IL-2R α của người được thể hiện trong SEQ ID NO.5. Vùng ngoại bào của SEQ ID NO.6 được nêu trong SEQ ID NO.7. Ví dụ về trình tự axit amin của dạng hoàn thiện của IL-2R α của chuột được thể hiện trong SEQ ID NO.9. Dạng tiền chất của IL-2R α của chuột được thể hiện trong SEQ ID NO.8. Vùng ngoại bào của SEQ ID NO.9 được nêu trong SEQ ID NO.10. Thuật ngữ “IL-2R α tự nhiên” và “IL-2R α thể đại” được dùng trong bản mô tả để chỉ IL-2R α có trong tự nhiên hoặc IL-2R α tái tổ hợp. Trình tự của phân tử IL-2R α tự nhiên của người được thể hiện trong SEQ ID NO.5 và 6.

Trình tự axit amin và axit nucleic đối với IL-2R α đã biết. Ví dụ, xem Mã truy cập Ngân hàng gen số NP_001030597.1 (*P. Troglodytes*); NP_001028089.1 (*Mmulatta*); NM_001003211.1 (*C.lupus*); NP_776783.1 (*B. Taurus*); NP_032393.3 (*M.musculus*); và NP_037295.1 (*R.norvegicus*), được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn.

Sáng chế cũng đề cập đến mảnh hoạt tính sinh học và biến thể hoạt tính sinh học của vùng ngoại bào của IL-2R α . Mảnh hoạt tính sinh học và biến thể hoạt tính sinh học của vùng ngoại bào của IL-2R α này sẽ vẫn có hoạt tính vùng ngoại bào IL-2R α . Thuật ngữ “hoạt tính sinh học của vùng ngoại bào IL-2R α ” được dùng trong bản mô tả để chỉ một hoặc nhiều hoạt tính sinh học của vùng ngoại bào của IL-2R α , bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, khả năng tăng cường truyền tín hiệu nội bào trong tế bào đáp ứng thụ thể IL-2. Ví dụ không giới hạn về mảnh hoạt tính sinh học và biến thể hoạt tính sinh học của IL-2R α được mô tả trong Robb et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:5654-5658, 1988, được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn.

Mảnh hoạt tính sinh học và biến thể hoạt tính sinh học của vùng ngoại bào của IL-2R α có thể được sử dụng trong protein dung hợp theo sáng chế. Mảnh chức năng này có thể chứa ít nhất 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 215 hoặc nhiều axit amin nối tiếp của vùng ngoại bào có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.6, 9, 7, 10, 5, hoặc 8. Theo phương án khác, biến thể chức năng có thể có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.6, 9, 7, 10, 5, hoặc 8.

Theo một phương án, protein dung hợp theo sáng chế có thể chứa ít nhất một đột biến nằm ở vùng ngoại bào của IL-2R α . Theo phương án cụ thể, Arginin ở vị trí số 35 của IL-2R α có thể được đột biến thành Threonin và/hoặc Arginin ở vị trí số 36 của IL-2R α có thể được đột biến thành Serin. Protein dung hợp này có thể có hoạt tính IL-2 cao hơn protein dung hợp không chứa các đột biến này ở vùng ngoại bào của IL-2R α và/hoặc IL-2 tự nhiên hoặc IL-2 tái tổ hợp. Ví dụ về trình tự axit amin của protein dung hợp chứa IL-2R α có các đột biến nằm ở vùng ngoại bào của IL-2R α được thể hiện trong SEQ ID NO.62 và 64. Theo một phương án, protein dung hợp này chứa trình tự axit amin như nêu trong trình tự SEQ ID NO.62 hoặc 64; hoặc trình tự có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 80%, 85%, 90%, hoặc 95% so với trình tự SEQ ID NO.62 hoặc 64.

Sáng chế cũng đề cập đến mảnh hoạt tính và biến thể hoạt tính của polynucleotit mã hóa vùng ngoại bào của IL-2R α . Polynucleotit này có thể chứa ít nhất 100, 200, 300, 400, 500, 600 hoặc nhiều nucleotit nối tiếp của polypeptit mã hóa SEQ ID NO.6, 9, 7, 10, 5, hoặc 8 và mã hóa protein có hoạt tính vùng ngoại bào của IL-2R α . Theo phương án

khác, polynucleotit chức năng có thể có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với polypeptit mã hóa trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.6, 9, 7, 10, 5, hoặc 8 và mã hóa protein có hoạt tính vùng ngoại bào của IL-2R α .

iii. Các thành phần bổ sung

Protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể còn chứa các đoạn bổ sung. Such đoạn có thể hỗ trợ sự biểu hiện của protein dung hợp này, hỗ trợ sự bài tiết của protein dung hợp này, cải thiện độ ổn định của protein dung hợp này, cho phép tinh chế protein hiệu quả hơn, và/hoặc điều hòa hoạt tính của protein dung hợp này.

Thuật ngữ “không tương đồng” liên quan đến polypeptit hoặc polynucleotit là polypeptit hoặc polynucleotit có nguồn gốc từ protein hoặc polynucleotit khác. Các thành phần bổ sung của protein dung hợp này có thể có nguồn gốc từ cùng sinh vật như các thành phần polypeptit còn lại của protein dung hợp này, hoặc các thành phần bổ sung có thể có nguồn gốc từ sinh vật khác với các thành phần polypeptit còn lại của protein dung hợp này.

Theo một phương án, protein dung hợp IL-2/IL-2R α chứa gốc liên kết nằm giữa polypeptit IL-2 và polypeptit IL-2R α .

Gốc liên kết này có thể có chiều dài bất kỳ và chứa ít nhất 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 50 hoặc 60 hoặc nhiều axit amin. Theo một phương án, gốc liên kết bao gồm các gốc axit amin glyxin. Theo các phương án khác, gốc liên kết bao gồm tổ hợp của các gốc axit amin glyxin và serin.

Gốc liên kết glyxin/serin này có thể chứa tổ hợp bất kỳ của các gốc axit amin, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, peptit GGGS hoặc GGGGS hoặc các đoạn lặp của peptit tương tự, bao gồm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 hoặc nhiều các đoạn lặp của các peptit này. Ví dụ, gốc liên kết có thể chứa GGGSGGGSGGGS (SEQ ID NO.13) (cũng được gọi là (Gly₃Ser)₃); GGGSGGGSGGGSGGGS (SEQ ID NO.11) (cũng được gọi là (Gly₃Ser)₄); hoặc (Gly₃Ser)₅; (Gly₃Ser)₆; (Gly₃Ser)₇, v.v. Gốc liên kết có thể còn chứa (Gly₄Ser)₃ như nêu trong SEQ ID NO.50; GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO.40) (cũng được gọi là (Gly₄Ser)₄); GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO.41) (cũng được gọi là (Gly₄Ser)₅); (Gly₄Ser)₂, (Gly₄Ser)₁, (Gly₄Ser)₆; (Gly₄Ser)₇;

(Gly₄Ser)₈, v.v. Ngoài ra, biến thể hoạt tính và mảnh hoạt tính của gốc liên kết bất kỳ cũng có thể được sử dụng trong protein dung hợp theo sáng chế.

Polynucleotit mã hóa protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế có thể chứa các đoạn bổ sung hỗ trợ dịch mã protein dung hợp này. Ví dụ về các trình tự này bao gồm trình tự kozak được gắn vào đầu 5' của polynucleotit mã hóa protein dung hợp này. Trình tự kozak bảo thủ này là trình tự xuất hiện trong ARN thông tin của sinh vật nhân sơ đóng vai trò hoạt hóa quá trình dịch mã và có đoạn bảo thủ (gcc)gccRccAUGG (SEQ ID NO.35); trong đó (1) chữ cái in thường thể hiện bazơ phổ biến nhất ở vị trí ở đó bazơ này có thể thay đổi thường xuyên; (2) chữ cái in hoa thể hiện các bazơ bảo thủ cao, tức là “trình tự AUGG” là hằng định hoặc hiếm gặp, nếu có, thay đổi thì ngoại trừ là mã IUPAC không rõ ràng “R” thể hiện purin (adenin hoặc guanin) thường được quan sát ở vị trí này; và (3) trình tự trong ngoặc đơn ((gcc)) là trình tự đặc biệt không xác định. Theo một phương án, trình tự kozak chứa trình tự như nêu trong SEQ ID NO.53.

Theo một phương án, protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế chứa trình tự kozak tối ưu đoạn chỉ huy IL-2 như nêu trong SEQ ID NO.28 hoặc biến thể chức năng hoặc mảnh chức năng của nó. Biến thể chức năng hoặc mảnh chức năng của trình tự kozak vẫn có khả năng làm tăng dịch mã protein khi so với mức độ dịch mã từ trình tự không có đoạn chỉ huy. Mảnh chức năng này có thể chứa ít nhất 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40 nucleotit nối tiếp của trình tự kozak hoặc trình tự như nêu trong SEQ ID NO.28 hoặc 53. Theo phương án khác, biến thể chức năng có thể có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự kozak hoặc trình tự như nêu trong SEQ ID NO.28 hoặc 53.

Theo các phương án khác, protein dung hợp IL-2/IL-2R α chứa một hoặc nhiều trình tự đánh dấu ở đầu tận cùng C để hỗ trợ tinh chế polypeptit. Ví dụ về các trình tự đánh dấu này bao gồm trình tự đánh dấu Histidin. Theo phương án cụ thể, trình tự đánh dấu 6x-His được sử dụng. Gốc liên kết bổ sung có thể được sử dụng nằm giữa protein dung hợp này và trình tự đánh dấu His.

Protein dung hợp IL-2/IL-2R α được thể hiện trên Fig.1, Fig.2A, và Fig.2B. Protein dung hợp này chứa peptit chỉ huy, IL-2 hoặc biến thể chức năng hoặc mảnh chức năng của nó, gốc liên kết thay đổi, IL-2R α , gốc liên kết glyxin, trình tự đánh dấu 6x-His,

và hai bộ ba mã hóa kết thúc.

iv. Biến thể và mảnh chức năng

a. Polynucleotit

Biến thể và mảnh chức năng của polynucleotit mã hóa protein dung hợp IL-2/vùng ngoại bào IL-2R α hoặc các thành phần khác nhau chứa trong đó (tức là vùng ngoại bào IL-2R α , polypeptit IL-2R α , gốc liên kết và/hoặc trình tự kozak) có thể được sử dụng trong phương pháp và được phẩm theo sáng chế. Thuật ngữ “mảnh chức năng” được dùng trong bản mô tả để chỉ đoạn polynucleotit và protein được mã hóa bởi đoạn polynucleotit này hoặc đoạn polypeptit. Mảnh chức năng của polynucleotit có thể mã hóa mảnh protein vẫn có hoạt tính sinh học của protein tự nhiên, do đó có hoạt tính IL-2, hoạt tính vùng ngoại bào IL-2R α , hoạt tính protein dung hợp IL-2/IL-2R α , hoặc khi mã hóa gốc liên kết, thì tạo ra hoạt tính mong muốn của protein dung hợp IL-2/IL-2R α .

Đoạn hoạt tính sinh học của vùng ngoại bào IL-2R α , polypeptit IL-2, protein dung hợp IL-2/IL-2R α , trình tự kozak, hoặc gốc liên kết có thể được điều chế bằng cách phân lập đoạn của một trong số các polynucleotit mã hóa đoạn vùng ngoại bào IL-2R α hoặc polypeptit IL-2 và biểu hiện đoạn polypeptit được mã hóa (ví dụ, bằng cách biểu hiện tái tổ hợp *in vitro*), và đánh giá hoạt tính của đoạn vùng ngoại bào IL-2R α hoặc/và polypeptit IL-2 hoặc hoạt tính của protein dung hợp IL-2/IL-2R α .

“Các trình tự biến thể” có độ tương đồng trình tự cao. Đối với polynucleotit, các biến thể bảo thủ bao gồm các trình tự, do sự suy thoái của mã di truyền, mã hóa trình tự axit amin của một trong số các polypeptit vùng ngoại bào IL-2R α , polypeptit IL-2, protein dung hợp IL-2/IL-2R α , hoặc gốc liên kết. Các biến thể, như these có thể được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử đã biết, như phản ứng chuỗi polymeaza (PCR) và kỹ thuật lai hóa. Polynucleotit biến thể cũng bao gồm các trình tự nucleotit tổng hợp, như các trình tự nucleotit được tạo ra bằng phương pháp đột biến điểm có định hướng nhưng vẫn mã hóa vùng ngoại bào IL-2R α , polypeptit IL-2, protein dung hợp IL-2/IL-2R α , trình tự kozak, hoặc gốc liên kết.

b. Polypeptit

Thuật ngữ “protein biến thể” được dùng trong bản mô tả để chỉ protein thu được từ protein tự nhiên bằng cách loại bỏ (cũng được gọi là cắt bỏ) hoặc bổ sung một hoặc

nhiều axit amin vào đầu tận cùng N và/hoặc đầu tận cùng C của protein tự nhiên; loại bỏ hoặc bổ sung một hoặc nhiều axit amin ở một hoặc nhiều vị trí trong protein tự nhiên; hoặc thay thế một hoặc nhiều axit amin ở một hoặc nhiều vị trí trong protein tự nhiên. Các protein biến thể có hoạt tính sinh học mong muốn, tức là hoạt tính protein dung hợp IL-2/IL-2R α , hoạt tính IL-2 hoặc hoạt tính vùng ngoại bào IL-2R α . Các biến thể này có thể thu được từ kỹ thuật đa hình di truyền hoặc từ chọn lọc bởi người. Biến thể hoạt tính sinh học của protein dung hợp IL-2/IL-2R α hoặc một trong số các thành phần bất kỳ của nó (tức là polypeptit vùng ngoại bào IL-2R α , polypeptit IL-2, hoặc gốc liên kết) sẽ có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng khoảng 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin của protein tự nhiên như được xác định bằng các chương trình và thông số sắp thẳng hàng trình tự được mô tả trong sáng chế. Biến thể hoạt tính sinh học của protein có thể khác biệt so với protein bởi 1-15 gốc axit amin, tốt hơn nếu 1-10, như 6-10, tốt hơn nếu 5, tốt hơn nếu 4, 3, 2, hoặc thậm chí 1 gốc axit amin.

Các protein có thể được biến đổi bằng nhiều phương pháp bao gồm thay thế, loại bỏ, cắt bỏ, và chèn axit amin. Các phương pháp để tạo ra các đột biến này đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, các biến thể trình tự axit amin của vùng ngoại bào IL-2R α , polypeptit IL-2, protein dung hợp IL-2/IL-2R α , hoặc gốc liên kết có thể được điều chế bằng cách gây đột biến trong ADN. Phương pháp đột biến và thay thế trình tự nucleotit đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, xem Kunkel (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488-492; Kunkel et al. (1987) *Methods in Enzymol.* 154:367-382; U.S. Patent No. 4,873,192; Walker and Gaastra, eds. (1983) *Techniques in Molecular Biology* (MacMillan Publishing Company, New York) và các tài liệu tham khảo được trích dẫn trong đó. Phương pháp để tạo ra các đột biến thay thế axit amin thích hợp không ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của protein quan tâm được mô tả trong tài liệu Dayhoff et al. (1978) *Atlas of Protein Sequence and Structure* (Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.), được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn. Các đột biến thay thế bảo thủ, như trao đổi một axit amin bằng một axit amin khác có cùng đặc tính, có thể được ưu tiên.

Do đó, polynucleotit theo sáng chế có thể bao gồm các trình tự có trong tự nhiên, trình tự “nguyên thể”, cũng như các dạng đột biến. Tương tự, các protein được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế bao gồm các protein có trong tự nhiên cũng như các biến thể và dạng cải biến của chúng. Các biến thể này sẽ tiếp tục có khả năng thực hiện

tái tổ hợp gen. Nhìn chung, các đột biến được tạo ra trong polynucleotit mã hóa polypeptit biến thể sẽ không nằm ngoài khung đọc mã mở, và/hoặc tạo ra các vùng bổ sung có thể tạo ra cấu trúc ARN thông tin thứ cấp. Xem, Công bố đơn Patent Châu Âu số. 75,444.

Polynucleotit biến thể và protein cũng bao gồm các trình tự và protein thu được từ quy trình tái tổ hợp và đột biến gen, như xáo trộn ADN.

Một hoặc nhiều trình tự mã hóa IL-2 hoặc vùng ngoại bào IL-2R α khác nhau có thể được tạo ra từ quy trình này để tạo ra vùng ngoại bào IL-2R α hoặc polypeptit IL-2 thể hệ mới có đặc tính mong muốn. Theo cách này, thư viện polynucleotit tái tổ hợp được tạo ra từ quần thể trình tự polynucleotit liên quan chứa các vùng trình tự có độ tương đồng trình tự cao và có thể được tái tổ hợp tương đồng *in vitro* hoặc *in vivo*. Phương pháp xáo trộn ADN đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, xem Stemmer (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:10747-10751; Stemmer (1994) *Nature* 370:389-391; Cramer *et al.* (1997) *Nature Biotech.* 15:436-438; Moore *et al.* (1997) *J Mol. Biol.* 272:336-347; Zhang *et al.* (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:4504-4509; Cramer *et al.* (1998) *Nature* 391:288-291; và Patent Mỹ số 5,605,793 và 5,837,458.

III. Polynucleotit mã hóa protein dung hợp IL-2/IL-2R α và phương pháp điều chế

Dược phẩm theo sáng chế còn bao gồm polynucleotit phân lập mã hóa protein dung hợp mô tả nêu trên, và biến thể và mảnh chức năng của nó. Sáng chế cũng đề cập đến vector và cat-xet biểu hiện chứa polynucleotit theo sáng chế. Cat-xet biểu hiện sẽ thường bao gồm vùng khởi đầu liên kết điều khiển với polynucleotit và vùng kết thúc phiên mã và dịch mã.

Thuật ngữ “polynucleotit” theo sáng chế không chỉ giới hạn ở polynucleotit bao gồm ADN. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng polynucleotit có thể bao gồm ribonucleotit và tổ hợp của ribonucleotit và deoxyribonucleotit. Deoxyribonucleotit và ribonucleotit này bao gồm cả phân tử có trong tự nhiên lẫn chất tương tự tổng hợp.

Polynucleotit hoặc protein “phân lập” hoặc “tinh chế”, hoặc đoạn hoạt tính sinh học của chúng, hầu như hoặc gần như không chứa các thành phần thường đi cùng hoặc tương tác với polynucleotit hoặc protein này như được tìm thấy trong môi trường tự

nhiên của nó. Do đó, polynucleotit hoặc protein phân lập hoặc tinh chế hầu như không chứa các vật liệu tế bào khác, hoặc môi trường nuôi cấy khi được tạo ra bằng kỹ thuật tái tổ hợp, hoặc hầu như không chứa các tiền chất hóa học hoặc các chất hóa học khác khi tổng hợp hóa học. Một cách tối ưu, polynucleotit ‘phân lập’ không chứa các trình tự (các trình tự mã hóa protein tối ưu) giới hạn hai đầu một cách tự nhiên polynucleotit (tức là các trình tự nằm ở đầu 5’ và đầu 3’ của polynucleotit) trong ADN bộ gen của sinh vật từ đó polynucleotit thu được. Ví dụ, theo các phương án khác nhau, polynucleotit phân lập có thể chứa nhỏ hơn khoảng 5kb, 4kb, 3 kb, 2kb, 1kb, 0,5kb, hoặc 0,1 kb trình tự nucleotit giới hạn hai đầu một cách tự nhiên polynucleotit trong ADN bộ gen của tế bào từ đó polynucleotit thu được. Protein hầu như không chứa vật liệu tế bào bao gồm các chế phẩm protein có nhỏ hơn khoảng 30%, 20%, 10%, 5%, hoặc 1% protein tạp (khối lượng khô). Khi protein theo sáng chế hoặc đoạn hoạt tính sinh học của nó được tạo ra bằng kỹ thuật tái tổ hợp, môi trường nuôi cấy tối ưu là chứa nhỏ hơn khoảng 30%, 20%, 10%, 5%, hoặc 1% tiền chất hóa học hoặc hóa chất không phải là protein mong muốn (khối lượng khô).

Các kỹ thuật ADN tái tổ hợp, vi sinh vật học, và sinh học phân tử thông thường có thể được sử dụng trong sáng chế. Các kỹ thuật này được mô tả chi tiết trong các tài liệu chuyên ngành. Ví dụ, xem Sambrook *et al.*, “*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*” (1989); “*Current Protocols in Molecular Biology*” Volumes I-III [Ausubel, R. M., ed. (1994)]; “*Cell Biology: A Laboratory Handbook*” Volumes I-III [J. E. Celis, ed. (1994)]; “*Current Protocols in Immunology*” Volumes I-III [Coligan, J. E., ed. (1994)]; “*Oligonucleotide Synthesis*” (M.J. Gaited. 1984); “*Nucleic Acid Hybridization*” [B.D. Hames & S.J. Higgins eds. (1985)]; “*Transcription And Translation*” [B.D. Hames & S.J. Higgins, eds. (1984)]; “*Animal Cell Culture*” [R.I. Freshney, ed. (1986)]; “*Immobilized Cells And Enzymes*” [IRL Press, (1986)]; B. Perbal, “*A Practical Guide To Molecular Cloning*” (1984).

Vector chứa polynucleotit nêu trên liên kết điều khiển với vùng khởi đầu is also theo sáng chế. Trình tự nucleotit được “liên kết điều khiển” với trình tự điều khiển biểu hiện (ví dụ, vùng khởi đầu) khi trình tự điều khiển biểu hiện này điều khiển và điều hòa phiên mã và dịch mã trình tự này. Thuật ngữ “liên kết điều khiển” được dùng trong bản mô tả để chỉ trình tự nucleotit bao gồm đoạn tín hiệu khởi đầu thích hợp (ví dụ, ATG) nằm trước trình tự nucleotit cần biểu hiện và duy trì khung đọc mã mở chính xác để cho

phép biểu hiện trình tự này trong điều kiện kiểm soát bởi trình tự điều khiển biểu hiện này và sản sinh hợp chất mong muốn mã hóa bởi trình tự này. Khi cần chèn một gen vào phân tử axit nucleic tái tổ hợp không chứa trình tự tín hiệu khởi đầu thích hợp, thì trình tự tín hiệu khởi đầu này có thể được chèn vào nằm trước gen này. Thuật ngữ “vector” được dùng trong bản mô tả để chỉ hệ tái bản, như plasmit, thực khuẩn thể hoặc cosmit, mà một đoạn axit nucleic khác có thể được gắn vào hệ tái bản này để tái bản đoạn được gắn vào. Vùng khởi đầu có thể là hoặc giống hệt với vùng khởi đầu của vi khuẩn, nấm men, côn trùng hoặc động vật có vú. Hơn nữa, vector có thể là plasmit, cosmit, nhiễm sắc thể nhân tạo của nấm men (YAC), thực khuẩn thể hoặc ADN virus nhân sơ.

Các vector khung khác đã biết trong lĩnh vực này hữu ích để biểu hiện protein có thể được sử dụng. Các vector này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở adenovirus, simian virus 40 (SV40), cytomegalovirus (CMV), virus gây ung thư vú ở chuột (MMTV), virus gây bệnh bạch cầu ở chuột, hệ phân phối ADN, tức là liposom, và hệ phân phối plasmit biểu hiện. Hơn nữa, một nhóm vector chứa ADN đoạn thu được từ virus, như virus gây bệnh u nhú ở bò, virus gây u não và ung thư tủy, baculovirus, retrovirus hoặc virus Semliki Forest. Các vector này có thể thu được trên thị trường hoặc lắp ráp từ các trình tự được mô tả bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này.

Sáng chế cũng đề cập đến hệ vector vật chủ để sản xuất polypeptit chứa vector của tế bào vật chủ thích hợp. Các tế bào vật chủ thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tế bào nhân sơ hoặc tế bào nhân thật, ví dụ tế bào vi khuẩn (bao gồm tế bào gram dương), tế bào nấm men, tế bào vi nấm, tế bào côn trùng, và tế bào động vật. Nhiều tế bào động vật có vú có thể được sử dụng làm vật chủ, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, nguyên bào sợi của chuột nhắt NIH 3T3, tế bào CHO, tế bào HeLa, tế bào Ltk⁻, v.v. Các tế bào động vật khác, như tế bào R1.1, tế bào B-W và tế bào L-M, tế bào thận khỉ mông xanh châu phi (ví dụ, COS1, COS7, BSC1, BSC40, và BMT10), tế bào côn trùng (ví dụ, Sf9), và tế bào người và tế bào thực vật trong nuôi cấy mô cũng có thể được sử dụng.

Nhiều tổ hợp vector biểu hiện/vật chủ có thể được sử dụng để biểu hiện trình tự polynucleotit theo sáng chế. Ví dụ các vector biểu hiện hữu ích có thể chứa các đoạn nhiễm sắc thể, trình tự ADN phi nhiễm sắc thể và trình tự ADN tổng hợp. Các vector thích hợp bao gồm dẫn xuất của SV40 và plasmit vi khuẩn đã biết, ví dụ plasmit *E. coli* col E1,

pCR1, pBR322, pMB9 và dẫn xuất của chúng, plasmit, như RP4; ADN thực khuẩn thể, ví dụ dẫn xuất của thực khuẩn thể λ , ví dụ NM989, và các ADN khác của thực khuẩn thể, ví dụ M13 và ADN sợi đơn của thực khuẩn thể; plasmit nấm men, như plasmit 2 μ hoặc dẫn xuất của nó; các vector hữu ích trong tế bào nhân thật, như các vector hữu ích trong tế bào côn trùng hoặc tế bào động vật có vú; các vector thu được từ tổ hợp của plasmit và ADN thực khuẩn thể, như plasmit đã được cải biến để sử dụng ADN thực khuẩn thể hoặc các trình tự điều khiển biểu hiện khác; và tương tự.

Nhiều trình tự điều khiển biểu hiện (các trình tự kiểm soát biểu hiện trình tự nucleotit được liên kết điều khiển với nó) có thể được sử dụng trong các vector này để biểu hiện trình tự polynucleotit theo sáng chế. Hoặc các trình tự điều khiển biểu hiện hữu ích này bao gồm, ví dụ vùng khởi đầu giai đoạn đầu hoặc giai đoạn cuối của SV40, CMV, virus gây bệnh đậu mùa, virus gây u não và ung thư tủy hoặc adenovirus, hệ *lac*, hệ *trp*, hệ *TAC*, hệ *TRC*, hệ *LTR*, vùng khởi đầu và vùng chỉ huy chính của thực khuẩn thể λ , vùng điều khiển mã hóa protein vỏ *fd*, vùng khởi đầu mã hóa 3-phosphoglycerat kinaza hoặc các enzym phân hủy đường khác, vùng khởi đầu mã hóa axit phosphataza (ví dụ, Pho5), vùng khởi đầu mã hóa yếu tố giao nạp α của nấm men, và các trình tự khác đã biết để điều khiển biểu hiện các gen của tế bào nhân sơ hoặc tế bào nhân thật hoặc virus của chúng, và tổ hợp của chúng.

Cần hiểu rằng không phải toàn bộ các vector, trình tự điều khiển biểu hiện và vật chủ sẽ có chức năng tương đương để biểu hiện trình tự polynucleotit theo sáng chế. Không phải toàn bộ các vật chủ sẽ có chức năng tương đương với cùng hệ biểu hiện. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể chọn lọc các vector, trình tự điều khiển biểu hiện và vật chủ thích hợp mà không cần thử nghiệm để thực hiện quá trình biểu hiện mong muốn mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế. Ví dụ, trong quá trình chọn lọc vector, vật chủ phải được xem xét do vector phải thể hiện chức năng trong đó. Số lượng bản sao của vector, khả năng kiểm soát số lượng bản sao, và mức độ biểu hiện của các protein bất kỳ khác mã hóa bởi vector, như gen chỉ thị kháng sinh, cũng sẽ được xem xét.

Trong quá trình chọn lọc trình tự điều khiển biểu hiện, nhiều yếu tố thường sẽ được xem xét. Các yếu tố này bao gồm, ví dụ độ ổn định tương đối của hệ biểu hiện, khả năng kiểm soát của nó, khả năng tương thích của nó với trình tự nucleotit hoặc gen cụ thể

cần biểu hiện, đặc biệt là liên quan đến các cấu trúc bậc hai hoạt tính mạnh. Các vật chủ đơn bào thích hợp có thể được chọn lọc dựa trên khả năng tương thích của nó với vector được chọn, đặc tính bài tiết của nó, khả năng để gấp nếp chính xác protein của nó, và các yêu cầu lên men của nó, cũng như độc tính với vật chủ của hợp chất mã hóa bởi trình tự nucleotit cần biểu hiện, và khả năng dễ tinh chế hợp chất được biểu hiện.

Trong quá trình điều chế cat-xet biểu hiện, nhiều polynucleotit có thể được lắp ráp, để tạo ra trình tự polynucleotit theo chiều thích hợp, và khi cần trong khung đọc mã mở thích hợp. Để đạt được mục đích này, các trình tự nối hoặc gốc liên kết có thể được sử dụng để nối các polynucleotit hoặc các phương pháp lắp ráp khác có thể được sử dụng để tạo ra vị trí giới hạn thích hợp, loại bỏ ADN còn dư, loại bỏ vị trí giới hạn, hoặc tương tự. Ví dụ, gốc liên kết, như hai glyxin có thể được bổ sung vào giữa các polypeptit. Các gốc metionin mã hóa bởi các trình tự nucleotit *atg* có thể được bổ sung vào để cho phép hoạt hóa phiên mã gen. Vì mục đích này, phương pháp đột biến gen *in vitro*, sửa chữa bằng đoạn mồi, cắt giới hạn, lai hóa, chuyển vị, ví dụ chuyển tiếp hoặc chuyển đổi, có thể được sử dụng.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất polypeptit bao gồm bước biểu hiện polynucleotit mã hóa protein dung hợp theo sáng chế trong tế bào vật chủ trong các điều kiện thích hợp cho phép sản xuất polypeptit và thu nhận polypeptit thu được.

IV. Phương pháp sử dụng

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều hòa đáp ứng miễn dịch. Thuật ngữ “điều hòa” được dùng trong bản mô tả để chỉ phương pháp cảm ứng, ức chế, tăng cường, gia tăng, làm tăng, hoặc làm giảm đáp ứng hoặc hoạt tính mong muốn.

Thuật ngữ “đối tượng” được dùng trong bản mô tả để chỉ động vật có vú, ví dụ động vật linh trưởng, người, động vật có vú nuôi trong nhà và động vật có vú phục vụ nông nghiệp, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chó, mèo, gia súc, ngựa, lợn, cừu, và động vật tương tự. Theo một phương án, đối tượng được điều trị bằng dược phẩm theo sáng chế là người.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α ” được dùng trong bản mô tả để chỉ lượng protein dung hợp IL-2/IL-2R α đủ để tạo ra đáp ứng sinh học mong muốn. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng lượng hữu hiệu tuyệt đối của protein dung hợp IL-2/IL-2R α cụ thể có thể thay đổi phụ thuộc vào các

yếu tố, như đáp ứng sinh học mong muốn, protein dung hợp IL-2/IL-2R α được sử dụng, tế bào đích hoặc mô đích, và yếu tố tương tự. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cũng sẽ hiểu rằng lượng hữu hiệu có thể được sử dụng ở dạng đơn liều, hoặc có thể đạt được bằng cách sử dụng đa liều (tức là 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 hoặc nhiều liều).

i. Phương pháp làm tăng đáp ứng miễn dịch

Sáng chế cũng mô tả phương pháp làm tăng đáp ứng miễn dịch ở đối tượng. Phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần tăng đáp ứng miễn dịch sử dụng lượng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α . Theo phương án cụ thể, IL-2 được sử dụng tạm thời ở liều cao để kích thích đáp ứng miễn dịch ghi nhớ và tác động.

Đã biết rằng protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với kháng nguyên để tăng cường đáp ứng miễn dịch với kháng nguyên này. Do đó, protein dung hợp IL-2/IL-2R α cũng có thể được sử dụng làm chất bổ trợ vaccin để tăng cường đặc hiệu đáp ứng miễn dịch ghi nhớ qua trung gian tế bào.

Ví dụ, protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể được sử dụng để tăng cường hiệu lực của dược phẩm vaccin. Do đó, protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế hữu ích để làm tăng hiệu lực của vaccin kháng ung thư hoặc vaccin có khả năng sinh miễn dịch thấp. Sáng chế cũng mô tả phương pháp tăng cường hiệu lực hoặc khả năng sinh miễn dịch của vaccin ở đối tượng, hoặc phương pháp khắc phục đáp ứng miễn dịch bị ức chế bởi vaccin ở đối tượng, bao gồm các bước (i) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α và (ii) cho đối tượng sử dụng vaccin.

Thuật ngữ “vaccin” được dùng trong bản mô tả để chỉ dược phẩm hữu ích để kích thích đáp ứng miễn dịch đặc hiệu (hoặc đáp ứng sinh miễn dịch) ở đối tượng. Theo một số phương án, đáp ứng sinh miễn dịch là đáp ứng bảo vệ hoặc tạo ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ. Ví dụ, trong trường hợp của sinh vật gây bệnh, vaccin cho phép đối tượng đề kháng tốt hơn với tình trạng nhiễm trùng hoặc tiến triển bệnh từ sinh vật bị kháng bởi vaccin. Theo phương án khác, trong trường hợp của bệnh ung thư, vaccin tăng cường khả năng miễn dịch tự nhiên của đối tượng chống lại bệnh ung thư đã phát triển. Các loại vaccin này cũng có thể phòng ngừa sự tiến triển tiếp theo của bệnh ung thư đang tồn tại, ngăn ngừa tái phát bệnh ung thư đã được điều trị, và/hoặc loại bỏ tế bào ung thư không bị tiêu diệt bởi các phương pháp điều trị đã biết.

Ví dụ về vaccin bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vaccin kháng bệnh bạch

hầu, bệnh uốn ván, bệnh ho gà, bệnh bại liệt, bệnh sởi, bệnh quai bị, bệnh rubella, bệnh viêm gan B, *Haemophilus influenzae* týp b, bệnh thủy đậu, bệnh viêm màng não, virus gây suy giảm miễn dịch ở người, bệnh lao, virus Epstein Barr, bệnh sốt rét, bệnh viêm gan E, bệnh sốt dengue, rotavirus, bệnh herpes, virus gây u nhú ở người, và bệnh ung thư. Vaccin quan tâm bao gồm hai vaccin đã được cấp phép bởi cục quản lý dược và thực phẩm Hoa Kỳ để phòng ngừa bệnh lây nhiễm virus có thể gây ung thư: vaccin viêm gan B, phòng ngừa lây nhiễm virus viêm gan B, tác nhân lây nhiễm liên quan đến bệnh ung thư gan (*MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 46:107-09, 1997); và Gardasil™, phòng ngừa lây nhiễm hai loại virus gây u nhú ở người gây ra 70% ca ung thư cổ tử cung trên toàn thế giới (Speck and Tying, *Skin Therapy Lett.* 11:1-3, 2006). Vaccin quan tâm còn lại bao gồm vaccin kháng ung thư, bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh u lympho tế bào B thể nang không Hodgkin, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư tế bào hắc tố da, bệnh ung thư tế bào hắc tố mắt, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, và bệnh đa u tủy xương.

Thuật ngữ “tăng cường hiệu lực” hoặc “tăng cường khả năng sinh miễn dịch” liên quan đến vaccin được dùng trong bản mô tả để chỉ phương pháp cải thiện kết quả, ví dụ như được đánh giá bằng sự thay đổi về trị số cụ thể, như làm tăng hoặc làm giảm thông số cụ thể về hoạt tính của vaccin liên quan đến miễn dịch bảo vệ. Theo một phương án, thuật ngữ “tăng cường” được dùng trong bản mô tả để chỉ phương pháp làm tăng ít nhất 5%, 10%, 25%, 50%, 100% hoặc nhiều hơn 100% thông số cụ thể. Theo một phương án khác, thuật ngữ “tăng cường” được dùng trong bản mô tả để chỉ phương pháp làm giảm ít nhất 5%, 10%, 25%, 50%, 100% hoặc nhiều hơn 100% thông số cụ thể. Theo một phương án, “thuật ngữ tăng cường hiệu lực hoặc khả năng sinh miễn dịch của vaccin” được dùng trong bản mô tả để chỉ phương pháp làm tăng khả năng ức chế hoặc điều trị tiến triển bệnh của vaccin, như làm tăng ít nhất 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, hoặc nhiều hơn 100% hiệu lực điều trị của vaccin. Theo một phương án khác, “thuật ngữ tăng cường hiệu lực hoặc khả năng sinh miễn dịch của vaccin” được dùng trong bản mô tả để chỉ phương pháp làm tăng khả năng phục hồi miễn dịch tự nhiên của đối tượng chống lại bệnh ung thư đã phát triển của vaccin, như làm tăng ít nhất 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, hoặc nhiều hơn 100% hiệu lực điều trị của vaccin.

Thuật ngữ “khắc phục đáp ứng miễn dịch ức chế” liên quan đến vaccin được dùng trong bản mô tả để chỉ phương pháp cải thiện kết quả, ví dụ như được đánh giá bằng sự thay đổi về trị số cụ thể, như phục hồi trị số tích cực của thông số cụ thể về hoạt tính của

vacxin liên quan đến miễn dịch bảo vệ. Theo một phương án, overcoming được dùng trong bản mô tả để chỉ phương pháp làm tăng ít nhất 5%, 10%, 25%, 50%, 100% hoặc nhiều hơn 100% thông số cụ thể. Theo một phương án, thuật ngữ “khắc phục đáp ứng miễn dịch bị ức chế bởi vacxin” được dùng trong bản mô tả để chỉ phương pháp hồi phục khả năng ức chế và điều trị tiến triển bệnh của vacxin, như phục hồi ít nhất 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, hoặc nhiều hơn 100% hiệu lực điều trị của vacxin. Theo một phương án khác, thuật ngữ “khắc phục đáp ứng miễn dịch bị ức chế bởi vacxin” được dùng trong bản mô tả để chỉ phương pháp phục hồi miễn dịch tự nhiên của đối tượng chống lại bệnh ung thư đã phát triển của vacxin, như ít nhất phục hồi ít nhất 25%, 50%, 100%, hoặc nhiều hơn 100% hiệu lực điều trị của vacxin.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu” được dùng trong bản mô tả để chỉ lượng hữu ích trong điều trị, phòng ngừa hoặc chẩn đoán bệnh hoặc tình trạng bệnh. Thuật ngữ “lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α ” được dùng trong bản mô tả để chỉ lượng khi sử dụng cho đối tượng, đủ để đạt được tác dụng mong muốn, như điều hòa đáp ứng miễn dịch ở đối tượng mà hầu như không gây ra tác dụng độc tế bào ở đối tượng. Như nêu trên, lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể được sử dụng cho đối tượng để làm tăng đáp ứng miễn dịch, tăng cường đáp ứng miễn dịch với kháng nguyên, tăng cường hiệu lực hoặc khả năng sinh miễn dịch của vacxin ở đối tượng, hoặc khắc phục đáp ứng miễn dịch bị ức chế bởi vacxin. Lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α hữu ích để điều hòa các chức năng này sẽ phụ thuộc vào đối tượng cần điều trị, mức độ nghiêm trọng của bệnh, và cách thức sử dụng protein dung hợp IL-2/IL-2R α . Các liều cụ thể bao gồm khoảng 10^4 đến 10^7 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành, khoảng 10^4 đến 10^5 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành, khoảng 10^5 đến 10^6 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành, khoảng 10^6 đến 10^7 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành. Theo các phương án khác, liều hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α là khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 100-lần, là khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 10-lần, khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 2-lần, khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 20-lần, khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 30-lần, khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 40-lần, khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 50-lần, khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 60-lần, khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 70-lần, khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 80-lần, hoặc khoảng 10^5 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 90-lần. Theo phương án không giới hạn cụ thể, protein dung hợp IL-2 của người được sử dụng ở liều này.

Theo một phương án, chất chuẩn đối chiếu của protein dung hợp IL-2 của chuột là

IL-2 của chuột do eBiosciences cung cấp (số hồ sơ: 14-8021). Cụ thể, độ sinh khả dụng của IL-2 của chuột do eBiosciences cung cấp là như sau: Liều ED_{50} của protein này, như được đo bằng thử nghiệm tăng sinh tế bào CTLL-2, nhỏ hơn hoặc bằng 175pg/mL. Liều này tương đương với hoạt tính riêng lớn hơn hoặc bằng $5,7 \times 10^6$ đơn vị/mg.

Theo một phương án khác, chất chuẩn đối chiếu của protein dung hợp IL-2 của người là IL-2 của người, tức là biệt dược aldesleukin (Proleukin). Do đó, protein dung hợp IL-2 theo sáng chế được so sánh được định hướng đến biệt dược protein dung hợp aldesleukin được sử dụng trong phương pháp điều trị sử dụng liều cao hoặc liều thấp IL-2. Hoạt tính IL-2 của IL-2 của chuột và IL-2 của người sử dụng thử nghiệm tương tự và hoạt tính của chúng tính theo đơn vị/mg là tương đương. Liên quan đến biệt dược IL-2 của người, tức là aldesleukin (Proleukin), lượng IL-2 được tính theo đơn vị quốc tế tiêu chuẩn (International Unit - IU) không phải là lượng cố định nhưng là lượng tạo ra tác dụng ổn định trong thử nghiệm hoạt tính sinh học đặc hiệu, tức là thử nghiệm tăng sinh CTLL. Trong thực tế, quy trình sản xuất IL-2 được chuẩn hóa và có sự chuyển đổi giữa khối lượng dược chất và đơn vị quốc tế, tức là $1,1 \text{ mg IL-2} = 18 \text{ triệu IU}$ (viết tắt là 18 MIU).

Cũng được hiểu rằng liều thích hợp của tác nhân chức năng phụ thuộc vào hoạt lực của hoạt chất liên quan đến hoạt tính cần điều hòa. Liều thích hợp này có thể được xác định bằng cách sử dụng các thử nghiệm theo sáng chế. Ngoài ra, được hiểu rằng liều đặc hiệu cho đối tượng động vật cụ thể bất kỳ sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể được sử dụng, độ tuổi, trọng lượng cơ thể, tình trạng sức khỏe chung, giới tính, và chế độ dinh dưỡng của đối tượng, thời gian sử dụng, đường đưa thuốc, tốc độ thải trừ, và/hoặc dược chất phối hợp bất kỳ.

Khi sử dụng cho mục đích điều trị, sử dụng có thể để phòng ngừa hoặc chữa bệnh. Khi sử dụng để phòng ngừa, dược chất được sử dụng trước khi xuất hiện triệu chứng bất kỳ. Sử dụng dược chất để phòng ngừa là để ngăn ngừa hoặc làm giảm các triệu chứng bất kỳ xuất hiện sau đó. Khi sử dụng để điều trị, dược chất được sử dụng khi hoặc ngay sau khi xuất hiện triệu chứng. Sử dụng dược chất để chữa bệnh là để làm giảm triệu chứng cấp tính bất kỳ.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng một số yếu tố có thể ảnh hưởng đến liều cần để điều trị hữu hiệu cho đối tượng, bao gồm nhưng không chỉ

giới hạn ở, mức độ nghiêm trọng của bệnh hoặc rối loạn, phương pháp điều trị trước đó, tình trạng sức khỏe chung và/hoặc độ tuổi của đối tượng, và các bệnh đi kèm khác. Hơn nữa, quá trình điều trị cho đối tượng bằng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể bao gồm một đợt điều trị duy nhất hoặc tốt hơn nếu có thể bao gồm nhiều đợt điều trị. Cũng được hiểu rằng liều hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α được sử dụng để điều trị có thể tăng hoặc giảm trong quá trình điều trị cụ thể. Các thay đổi về liều có thể trở nên rõ ràng và thu được từ kết quả của các thử nghiệm chẩn đoán như được mô tả sáng chế.

Lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể được xác định bằng các nghiên cứu trên động vật. Khi các thử nghiệm trên động vật được sử dụng, liều được sử dụng để tạo ra nồng độ mong muốn *in vivo* tương đương với nồng độ đã được chứng minh là hữu hiệu trong các thử nghiệm trên động vật.

ii. Phương pháp làm giảm đáp ứng miễn dịch

Sáng chế cũng mô tả phương pháp làm giảm đáp ứng miễn dịch ở đối tượng. Phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần làm giảm đáp ứng miễn dịch sử dụng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α .

Có rất nhiều lợi ích để khai thác hoạt tính ức chế của Treg để ức chế đáp ứng miễn dịch không mong muốn. Dữ liệu trên chuột và người thể hiện tăng cường truyền tín hiệu IL-2R với liều thấp của IL-2 kích thích chọn lọc Treg và tăng cường cơ chế dung nạp miễn dịch. Protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế là dạng mới và được cải thiện của IL-2 tăng cường Treg hiệu quả hơn. Do đó, protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể được sử dụng cho người bị bệnh tự miễn, bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ mãn tính, phản ứng thải loại mảnh ghép, và các tình trạng bệnh khác để ức chế phản ứng tự miễn.

Ví dụ, lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α that promotes độ dung nạp miễn dịch có thể được sử dụng trong điều trị cho đối tượng bị rối loạn viêm hoặc tự miễn, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, thải loại mảnh ghép và dị ứng. Do đó, sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị cho đối tượng bị rối loạn viêm hoặc tự miễn. Phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α .

Ví dụ không giới hạn về rối loạn tự miễn có thể được điều trị hoặc phòng ngừa bao gồm bệnh đái tháo đường týp 1, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh viêm khớp dạng thấp,

bệnh không dung nạp gluten, bệnh luput ban đỏ hệ thống, bệnh viêm khớp tự phát thiếu niên, bệnh Crohn, bệnh viêm loét đại tràng hoặc bệnh xơ cứng toàn thân, bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ, bệnh viêm mạch do virus viêm gan C (HCV), bệnh rụng tóc từng vùng hoặc bệnh vẩy nến.

Các bệnh tự miễn khác bao gồm các bệnh có triệu chứng suy giảm Treg và sẽ được điều trị hiệu quả từ phương pháp kích thích miễn dịch Treg phụ thuộc IL-2. Về vấn đề này, các dạng đa hình đơn nucleotit (SNP) của IL-2, IL-2R α , hoặc IL-2R13 đã được xác định là yếu tố di truyền gây bệnh đái tháo đường t₁, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh không dung nạp gluten, bệnh luput ban đỏ hệ thống, bệnh viêm khớp tự phát thiếu niên, bệnh Crohn, bệnh viêm loét đại tràng, and bệnh xơ cứng toàn thân. Các nghiên cứu cho thấy rằng yếu tố di truyền này có liên quan đến số lượng và/hoặc hoạt tính Treg bị suy giảm. Ngoài ra, phương pháp điều trị sử dụng IL-2 liều thấp đã được kiểm chứng là có lợi cho người bị bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ mãn tính và bệnh viêm mạch do virus viêm gan C (HCV). Do đó, quần thể người bệnh này cũng có thể được sử dụng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α .

Theo các phương án khác, protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể được sử dụng kết hợp với dược chất điều trị để làm giảm đáp ứng miễn dịch với dược chất này (tức là protein). Ví dụ, protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể được sử dụng kết hợp với dược chất protein phải được sử dụng thường xuyên cho đối tượng. Do đó, theo phương án cụ thể, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng sử dụng ít nhất một dược chất bổ sung kết hợp với protein dung hợp IL-2/IL-2R α . Ví dụ về các dược chất này bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, xytokin, glucocorticoid, anthracyclin (ví dụ, doxorubicin hoặc epirubicin), floquinolon (ví dụ, ciprofloxacin), dược chất kháng folat (ví dụ, metotrexat), dược chất kháng chuyển hóa (ví dụ, fluracil), chất ức chế topoisomerase (ví dụ, camptothecin, irinotecan hoặc etoposid), dược chất alkyl hóa (ví dụ, cyclophosphamid, ifosfamid, mitolactol, hoặc melphalan), dược chất kháng androgen (ví dụ, flutamid), dược chất kháng estrogen (ví dụ, tamoxifen), dược chất platin (ví dụ, cisplatin), alkaloit dừa cạn (ví dụ, vinorelbin, vinblastin hoặc vindesin), hoặc dược chất ức chế phân bào (ví dụ, paclitaxel hoặc docetaxel).

Hơn nữa, lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α cũng có thể được sử dụng trong các phương pháp điều trị kết hợp để làm tăng Treg độ dung nạp. Các phương

pháp điều trị kết hợp này có thể sử dụng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α kết hợp với dược chất kháng TNF α hoặc các dược chất khác để ức chế đáp ứng viêm.

Lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α hữu ích để làm giảm đáp ứng miễn dịch sẽ phụ thuộc vào đối tượng cần điều trị, mức độ nghiêm trọng của bệnh, và cách thức sử dụng protein dung hợp IL-2/IL-2R α . Các liều cụ thể bao gồm khoảng 10^3 IU đến 10^6 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành hoặc khoảng 10^4 IU đến 10^6 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành. Các liều cụ thể bao gồm khoảng 10^3 đến 10^6 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành, khoảng 10^3 đến 10^4 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành, khoảng 10^4 đến 10^6 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành, khoảng 10^4 đến 10^5 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành, hoặc khoảng 10^5 đến 10^6 IU hoạt tính IL-2/người trưởng thành. Theo các phương án khác, liều hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α là khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 100-lần, là khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 10-lần, khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 2-lần, khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 20-lần, khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 30-lần, khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 40-lần, khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 50-lần, khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 60-lần, khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 70-lần, khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 80-lần, hoặc khoảng 10^4 IU hoạt tính IL-2 $\pm$ 90-lần. Theo phương án không giới hạn cụ thể, protein dung hợp IL-2 của người được sử dụng ở liều này.

Theo một phương án, chất chuẩn đối chiếu của protein dung hợp IL-2 của chuột là IL-2 của chuột do eBiosciences cung cấp (số hồ sơ: 14-8021). Cụ thể, độ sinh khả dụng của IL-2 của chuột do eBiosciences cung cấp là như sau: Liều ED₅₀ của protein này, như được đo bằng thử nghiệm tăng sinh tế bào CTLL-2, nhỏ hơn hoặc bằng 175pg/mL. Liều này tương đương với hoạt tính riêng lớn hơn hoặc bằng $5,7 \times 10^6$ đơn vị/mg.

Theo một phương án khác, chất chuẩn đối chiếu của protein dung hợp IL-2 của người là IL-2 của người, tức là dược chất aldesleukin (Proleukin). Do đó, protein dung hợp IL-2 theo sáng chế được so sánh được định hướng đến dược chất protein dung hợp IL-2 này được sử dụng trong phương pháp điều trị sử dụng liều cao hoặc liều thấp IL-2. Hoạt tính IL-2 của IL-2 của chuột và IL-2 của người sử dụng thử nghiệm tương tự và hoạt tính của chúng tính theo đơn vị/mg là tương đương. Liên quan đến biệt dược IL-2 của người, tức là aldesleukin (Proleukin), lượng IL-2 được tính theo đơn vị quốc tế tiêu chuẩn (International Unit - IU) không phải là lượng cố định nhưng là lượng tạo ra tác

dụng ổn định trong thử nghiệm hoạt tính sinh học đặc hiệu, tức là thử nghiệm tăng sinh CTLL. Trong thực tế, quy trình sản xuất IL-2 được chuẩn hóa và có sự chuyển đổi giữa khối lượng dược chất và đơn vị quốc tế, tức là $1,1\text{mg IL-2} = 18 \text{ triệu IU}$ (viết tắt là 18 MIU).

Cũng được hiểu rằng liều thích hợp của tác nhân chức năng phụ thuộc vào hoạt lực của hoạt chất liên quan đến biểu hiện hoặc hoạt tính cần điều hòa. Liều thích hợp này có thể được xác định bằng cách sử dụng các thử nghiệm theo sáng chế. Ngoài ra, được hiểu rằng liều đặc hiệu cho đối tượng động vật cụ thể bất kỳ sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể được sử dụng, độ tuổi, trọng lượng cơ thể, tình trạng sức khỏe chung, giới tính, và chế độ dinh dưỡng của đối tượng, thời gian sử dụng, đường đưa thuốc, tốc độ thải trừ, và/hoặc dược chất phối hợp bất kỳ.

Khi sử dụng cho mục đích điều trị, sử dụng có thể để phòng ngừa hoặc chữa bệnh. Khi sử dụng để phòng ngừa, dược chất được sử dụng trước khi xuất hiện triệu chứng bất kỳ. Sử dụng dược chất để phòng ngừa là để ngăn ngừa hoặc làm giảm các triệu chứng bất kỳ xuất hiện sau đó. Khi sử dụng để điều trị, dược chất được sử dụng khi hoặc ngay sau khi xuất hiện triệu chứng. Sử dụng dược chất để chữa bệnh là để làm giảm triệu chứng cấp tính bất kỳ.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng một số yếu tố có thể ảnh hưởng đến liều cần để điều trị hữu hiệu cho đối tượng, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở mức độ nghiêm trọng của bệnh hoặc rối loạn, phương pháp điều trị trước đó, tình trạng sức khỏe chung và/hoặc độ tuổi của đối tượng, và các bệnh đi kèm khác. Hơn nữa, quá trình điều trị cho đối tượng bằng lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể bao gồm một đợt điều trị duy nhất hoặc tốt hơn nếu có thể bao gồm nhiều đợt điều trị. Cũng được hiểu rằng liều hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α được sử dụng để điều trị có thể tăng hoặc giảm trong quá trình điều trị cụ thể. Các thay đổi về liều có thể trở nên rõ ràng và thu được từ kết quả của các thử nghiệm chẩn đoán như được mô tả sáng chế.

Lượng hữu hiệu của protein dung hợp IL-2/IL-2R α có thể được xác định bằng các nghiên cứu trên động vật. Khi các thử nghiệm trên động vật được sử dụng, liều được sử dụng để tạo ra nồng độ mong muốn ở mô đích tương đương với nồng độ đã được chứng minh là hữu hiệu trong các thử nghiệm trên động vật.

iii. Dược phẩm

Protein dung hợp IL-2/IL-2R α theo sáng chế (sau đây cũng được gọi tắt là “hoạt chất”) có thể được bào chế thành dược phẩm thích hợp để sử dụng. Dược phẩm này thường chứa protein dung hợp này và chất mang dược dụng. Thuật ngữ “chất mang dược dụng” được dùng trong bản mô tả để chỉ dung môi, môi trường phân tán, tá dược bao, chất kháng khuẩn và kháng nấm, chất đẳng trương và làm chậm hấp thu, và chất tương tự, thích hợp để sử dụng trong dược phẩm. Việc sử dụng các môi trường và chất mang này cho các dược chất đã biết trong lĩnh vực này. Ngoại trừ trường hợp môi trường hoặc chất mang thông thường bất kỳ không tương thích với hoạt chất, việc sử dụng chúng trong dược phẩm được cân nhắc. Hoạt chất bổ sung cũng có thể được kết hợp vào dược phẩm.

Dược phẩm theo sáng chế được bào chế để tương thích với đường đưa thuốc mong muốn. Ví dụ về đường đưa thuốc bao gồm đường tiêm, ví dụ tiêm tĩnh mạch, tiêm trong da, tiêm dưới da, đường miệng (ví dụ, đường hít), qua da (khu trú), và qua niêm mạc. Ngoài ra, cần sử dụng lượng hữu hiệu của dược phẩm khu trú đến vị trí cần điều trị. Điều này có thể đạt được bằng cách tiêm truyền hoặc truyền dịch khu trú hoặc tại chỗ trong quá trình phẫu thuật, bôi tại chỗ, tiêm, ống thông, thuốc đạn, hoặc cấy ghép (ví dụ, mảnh cấy được làm từ vật liệu xốp, không xốp, hoặc dạng keo, bao gồm màng, như sialastic màng hoặc xơ), và tương tự. Theo một phương án khác, lượng hữu hiệu của dược phẩm được phân phối trong nang nhỏ, như liposom (ví dụ, xem Langer, *Science* 249:1527-33, 1990 và Treat *et al.*, in *Liposom in the Therapy of Infectious Disease and Cancer*, Lopez Berestein and Fidler (eds.), Liss, N.Y., pp. 353- 65, 1989).

Theo một phương án khác, lượng hữu hiệu của dược phẩm có thể được phân phối trong hệ giải phóng có kiểm soát. Theo một phương án, bơm tiêm có thể được sử dụng (ví dụ, xem Langer, *Science* 249:1527-33, 1990; Sefton, *Crit. Rev. Biomed. Eng.* 14:201-40, 1987; Buchwald *et al.*, *Surgery* 88:507-16, 1980; Saudek *et al.*, *N Engl. J Med.* 321:574-79, 1989). Theo một phương án khác, các chất polyme có thể được sử dụng (ví dụ, xem Levy *et al.*, *Science* 228:190-92, 1985; During *et al.*, *Ann. Neural.* 25:351-56, 1989; Howard *et al.*, *J Neurosurg.* 71:105-12, 1989). Các hệ giải phóng có kiểm soát khác được mô tả trong tài liệu Langer (*Science* 249:1527-33, 1990), cũng có thể được sử dụng.

Dung dịch hoặc hỗn dịch để sử dụng theo đường tiêm, tiêm qua da, hoặc tiêm dưới da có thể bao gồm các thành phần sau: tá dược pha loãng vô trùng, như nước pha tiêm, dung dịch nước muối, dầu không bay hơi, polyetylen glycol, glycerin, propylen glycol hoặc các dung môi tổng hợp khác; chất kháng khuẩn, như rượu benzylic hoặc metyl paraben; chất chống oxy hóa, như axit ascorbic hoặc natri bisulfite; chất tạo phức chelat, như axit etylenđiamintetraaxetic; chất đệm, như axetat, xitrat hoặc phosphat và chất điều chỉnh độ đẳng trương, như natri clorua hoặc dextroza. Độ pH có thể được điều chỉnh bằng axit hoặc bazơ, như axit hydrocloric hoặc natri hydroxit. Dược phẩm dùng theo đường tiêm có thể đóng gói trong ống tiêm, bơm tiêm dùng một lần, hoặc lọ chứa nhiều liều làm bằng thủy tinh hoặc chất dẻo.

Dược phẩm thích hợp để sử dụng theo đường tiêm bao gồm dung dịch nước vô trùng (hòa tan trong nước) hoặc thể phân tán hoặc bột vô trùng để bào chế tại chỗ dung dịch hoặc thể phân tán tiêm vô trùng. Để sử dụng qua đường tiêm tĩnh mạch, các chất mang thích hợp bao gồm nước muối sinh lý, nước vô khuẩn, Cremophor ELS (BASF; Parsippany, NJ), hoặc dung dịch muối đệm phosphat (PBS). Trong toàn bộ các trường hợp, dược phẩm phải vô trùng và ở trạng thái lỏng nhất định để dễ dàng vận chuyển qua bơm tiêm. Dược phẩm phải ổn định trong các điều kiện sản xuất và bảo quản và phải được bảo quản chống lại sự hoạt động của vi sinh vật tạp, như vi khuẩn và vi nấm. Chất mang có thể dung môi hoặc môi trường phân tán chứa, ví dụ nước, etanol, polyol (ví dụ, glyxerol, propylen glycol, và polyetylen glycol lỏng, và tương tự), và hỗn hợp thích hợp của chúng. Trạng thái lỏng thích hợp có thể được duy trì, ví dụ bằng cách sử dụng tá dược bao, như lecithin, bằng cách duy trì kích cỡ hạt mong muốn trong trường hợp của thể phân tán, và bằng cách sử dụng chất hoạt động bề mặt. Hoạt động của vi sinh vật có thể được ngăn ngừa bằng cách sử dụng chất kháng khuẩn và kháng nấm, ví dụ paraben, chlorobutanol, phenol, axit ascorbic, thimerosal, và tương tự. Trong nhiều trường hợp, tốt hơn nếu dược phẩm chứa chất đẳng trương, ví dụ đường, rượu đa chức như manitol, sorbitol, natri clorua. Sự hấp thu kéo dài của dược phẩm dùng qua đường tiêm có thể được tạo ra bằng cách sử dụng chất làm chậm hấp thu, ví dụ nhôm monostearat và gelatin.

Dung dịch tiêm vô trùng có thể được bào chế bằng cách kết hợp hoạt chất ở lượng mong muốn trong dung môi thích hợp với một hoặc hỗn hợp thành phần liệt kê ở trên, theo yêu cầu, sau đó lọc vô trùng. Nhìn chung, thể phân tán được bào chế bằng cách kết

hợp hoạt chất vào chất dẫn thuốc vô trùng chứa môi trường phân tán cơ bản và các thành phần cần thiết khác liệt kê ở trên. Trong trường hợp của bột vô trùng để bào chế dung dịch tiêm vô trùng, các phương pháp bào chế ưu tiên là sấy chân không và sấy đông khô, để thu được bột hoạt chất cộng với thành phần bổ sung mong muốn bất kỳ từ dung dịch được lọc vô trùng trước đó của chúng.

Để sử dụng qua đường hít, hợp chất được phân phối ở dạng thuốc xịt khí dung từ đồ chứa hoặc thiết bị phân tán được tạo áp suất chứa chất đẩy thích hợp, ví dụ khí, như cacbon dioxit, hoặc ống phun.

Hoạt chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng toàn thân bằng cách qua da hoặc qua niêm mạc. Để sử dụng qua da hoặc qua niêm mạc, các chất thấm thích hợp cho hàng rào cần thấm qua được sử dụng trong dược phẩm. Các chất thấm này đã biết trong lĩnh vực này, và bao gồm, ví dụ để sử dụng qua niêm mạc, chất tẩy rửa, muối mật, và dẫn xuất axit fusidic. Việc sử dụng qua niêm mạc có thể được thực hiện bằng cách sử dụng thuốc xịt mũi hoặc thuốc đạn. Để sử dụng qua da, hoạt chất được bào chế thành thuốc mỡ, thuốc cao thuốc gel, hoặc thuốc kem như đã biết trong lĩnh vực này. Hợp chất cũng có thể được bào chế ở dạng thuốc đạn (ví dụ, với tá dược thuốc đạn thông thường, như bơ ca cao và các glyxerit khác) hoặc thuốc thụt rửa để phân phối qua trực tràng.

Theo một phương án, hoạt chất được bào chế với chất mang sẽ bảo vệ hợp chất chống lại sự thải loại nhanh khỏi cơ thể, như dược phẩm giải phóng có kiểm soát, bao gồm mảnh cấy và hệ phân phối vi nang. Polyme tương thích và phân hủy sinh học có thể được sử dụng, như etylen vinyl axetat, polyanhydrit, axit polyglycolic, collagen, polyorthoeste, và axit polylactic. Phương pháp bào chế các dược phẩm này đã biết trong lĩnh vực này. Các hợp chất này cũng có thể được mua từ Alza Corporation và Nova Pharmaceuticals, Inc. Hỗn dịch liposom (bao gồm liposom được hướng đích vào tế bào bị lây nhiễm với kháng thể đơn dòng kháng kháng nguyên virus) cũng có thể được sử dụng làm chất mang dược dụng. Các hỗn dịch này có thể được bào chế theo phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ như được mô tả trong Patent Mỹ số 4,522,811.

Tốt hơn nếu bào chế dược phẩm dùng qua đường miệng hoặc đường tiêm ở dạng bào chế đơn vị để dễ sử dụng và đồng đều liều lượng. Thuật ngữ “dạng bào chế đơn vị” được dùng trong bản mô tả để chỉ dạng bào chế tách rời thích hợp cho đối tượng được điều trị bằng mỗi đơn vị chứa lượng xác định trước của hoạt chất được tính toán để tạo ra

tác dụng điều trị mong muốn kết hợp với chất mang được dụng mong muốn. Tiêu chuẩn của dạng bào chế đơn vị theo sáng chế được quyết định bởi và phụ thuộc trực tiếp vào đặc tính của hoạt chất và tác dụng điều trị cụ thể cần đạt được, và các hạn chế cố hữu trong lĩnh vực tổng hợp hợp chất chức năng để điều trị cho từng cá thể.

Dược phẩm có thể được đựng trong đồ chứa, bao bì, hoặc thiết bị phân tán cùng với tờ hướng dẫn sử dụng.

iv. Kit

Thuật ngữ “kit” chứa protein dung hợp IL-2/IL-2R α để sử dụng trong điều hòa đáp ứng miễn dịch, như được mô tả trong sáng chế. Thuật ngữ “kit” và “hệ phân phối” được dùng trong bản mô tả để chỉ ít nhất một hoặc nhiều protein dung hợp IL-2/IL-2R α được kết hợp với một hoặc nhiều loại thành phần và yếu tố khác (ví dụ, các loại thuốc thử sinh hóa khác, đồ chứa, bao bì, như bao bì để bán trên thị trường, tờ hướng dẫn sử dụng, và tương tự).

V. Độ tương đồng trình tự

Như nêu trên, sáng chế đề cập đến mảnh hoạt tính và biến thể hoạt tính của protein dung hợp IL-2/IL-2R α hoặc polynucleotit mã hóa chúng, bao gồm các thành phần khác nhau của protein dung hợp IL-2/IL-2R α . Các thành phần này bao gồm, IL-2, vùng ngoại bào của IL-2R α , gốc liên kết hoặc trình tự kozak. Hoạt tính của biến thể chức năng hoặc mảnh chức năng của protein dung hợp này hoặc thành phần xác định của protein dung hợp này được mô tả chi tiết trong sáng chế.

Các biến thể này có thể có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với polypeptit hoặc polynucleotit đối chiếu. Mảnh có thể chứa ít nhất 10, 20, 30, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000 nucleotit nối tiếp của trình tự nucleotit đối chiếu hoặc lên đến chiều dài đầy đủ của trình tự nucleotit đối chiếu; hoặc mảnh có thể chứa ít nhất 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200 axit amin nối tiếp hoặc lên đến chiều dài đầy đủ của trình tự polypeptit đối chiếu.

Thuật ngữ “độ tương đồng trình tự” hoặc “độ tương đồng” trong mạch của hai polynucleotit hoặc polypeptit trình tự được dùng trong bản mô tả để chỉ trị số so sánh các gốc giống nhau trong hai trình tự được sắp thẳng hàng tối ưu trong cửa sổ so sánh đặc hiệu. Khi tỷ lệ phần trăm độ tương đồng trình tự được sử dụng trong các protein đối

chiều, đã biết là các vị trí gốc không giống hết nhau thường khác biệt bởi các gốc axit amin thay thế bảo thủ, trong đó gốc axit amin được thay thế bằng một gốc axit amin khác có cùng đặc tính hóa học (ví dụ, điện tích hoặc tính kỵ nước) và do đó không làm thay đổi đặc tính chức năng của phân tử. Khi các trình tự khác biệt về các đột biến thay thế bảo thủ, tỷ lệ phần trăm độ tương đồng trình tự có thể được điều chỉnh để hiệu chỉnh tính chất bảo thủ của gốc thay thế. Các trình tự khác biệt bởi các đột biến thay thế bảo thủ này được cho là có “độ tương đồng trình tự” hoặc “độ tương đồng”. Các phương pháp điều chỉnh là đã biết trong lĩnh vực này. Thông thường, phương pháp này bao gồm việc chấm điểm gốc thay thế bảo thủ dưới dạng từng điểm chứ không phải điểm bất cặp sai lệch đầy đủ, nhờ đó làm tăng tỷ lệ phần trăm độ tương đồng trình tự. Do đó, ví dụ trong đó một axit amin giống hết được tính điểm số bằng 1 và gốc thay thế không bảo thủ được tính điểm số bằng 0, gốc thay thế bảo thủ được tính điểm số nằm trong khoảng 0 và 1. Điểm số của các đột biến thay thế bảo thủ được tính toán bằng chương trình PC/GENE (Intelligenetics, Mountain View, California).

Thuật ngữ “tỷ lệ phần trăm độ tương đồng trình tự” được dùng trong bản mô tả để chỉ trị số được xác định bằng cách so sánh hai trình tự được sắp thẳng hàng tối ưu trong cửa sổ so sánh, trong đó đoạn trình tự polynucleotit trong cửa sổ so sánh có thể chứa gốc bổ sung hoặc loại bỏ (tức là khoảng trống) khi so với trình tự đối chiếu (không chứa gốc bổ sung hoặc loại bỏ) để sắp thẳng hàng tối ưu hai trình tự. Tỷ lệ phần trăm độ tương đồng trình tự được tính toán bằng cách xác định số lượng vị trí ở đó bazơ nitơ hoặc gốc axit amin giống hết nhau xuất hiện ở cả hai trình tự để thu được số lượng vị trí trùng nhau, lấy số lượng vị trí trùng nhau chia cho số lượng vị trí trong cửa sổ so sánh, và nhân kết quả thu được với 100 để thu được tỷ lệ phần trăm độ tương đồng trình tự.

Trừ khi có quy định khác, độ tương đồng trình tự/độ tương đồng theo sáng chế là trị số thu được bằng cách sử dụng chương trình GAP phiên bản 1.0 bằng cách sử dụng các thông số sau: % độ tương tự và % độ tương đồng của trình tự nucleotit bằng cách sử dụng độ dài khoảng trống bằng 50 và chiều dài so sánh bằng 3, và phần mềm nws gapdna.cmp; % độ tương tự và % độ tương đồng của trình tự axit amin bằng cách sử dụng Độ dài khoảng trống bằng 8 và chiều dài so sánh bằng 2, và phần mềm BLOSUM62; hoặc chương trình tương đương bất kỳ của nó. Thuật ngữ “chương trình tương đương” được dùng trong bản mô tả để chỉ chương trình so sánh hai trình tự truy vấn, tạo ra trình tự sắp thẳng hàng có nucleotit hoặc gốc axit amin giống hết trùng nhau

và tỷ lệ phần trăm độ tương đồng trình tự giống hệt khi so với trình tự sắp thẳng hàng tương ứng được tạo ra bởi chương trình GAP phiên bản 10.

Mạo từ số ít “a,” “an,” và “the” cũng bao gồm số nhiều trừ khi có quy định khác. Tương tự, thuật ngữ “hoặc” được dùng trong bản mô tả cũng bao gồm “và” trừ khi có quy định khác. Cũng được hiểu rằng toàn bộ kích cỡ bazơ hoặc axit amin, và toàn bộ khối lượng phân tử hoặc trị số trọng lượng phân tử là gần đúng, và sử dụng để mô tả axit nucleic hoặc polypeptit.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết thông qua các ví dụ không giới hạn dưới đây.

Ví dụ 1

IL-2 là hoạt chất sinh học đã được sử dụng để kích thích đáp ứng miễn dịch ở người bệnh ung thư và HIV/AIDS. Gần đây, nhiều IL-2 đã được sử dụng ở liều thấp để kích thích chọn lọc khả năng chống chịu để ức chế đáp ứng miễn dịch không mong muốn liên quan đến bệnh tự miễn, như tình trạng xâm lấn của các mô tự miễn. Quan trọng là, IL-2 ở liều thấp không tăng cường hoặc hoạt hóa lại tế bào T tự phản ứng. Tuy nhiên, nhược điểm trong điều trị của IL-2 bao gồm thời gian bán thải *in vivo* rất ngắn dẫn đến làm giảm hoạt lực; và gây độc ở liều cao. Do đó, hoạt chất sinh học IL-2 thế hệ mới đã được điều chế nhằm cải thiện đặc tính dược động học của nó và thời gian đáp ứng miễn dịch để sử dụng 1) trong phương pháp điều trị sử dụng liều thấp IL-2 để kích thích tế bào T điều hòa (Treg) và độ dung nạp miễn dịch và 2) trong phương pháp điều trị hỗ trợ ở liều cao để kích thích đáp ứng miễn dịch và ghi nhớ. Để đạt được mục đích này, protein dung hợp IL-2/IL-2R α đã được phát triển, trong đó protein dung hợp này được thiết kế để làm tăng độ sinh khả dụng của IL-2 bằng cách làm tăng kích thích ổn định IL-2 của lympho bào mang IL-2R *in vivo*. Protein dung hợp này chứa các protein được thiết kế như sau (Fig.1): 1) đoạn chỉ huy của IL-2 chứa trình tự kozak tối ưu để dịch mã hiệu quả; 2) trình tự IL-2 có chiều dài đầy đủ; 3) glyxin hoặc gốc liên kết glyxin/serin có chiều dài thay đổi; 4) trình tự mã hóa của vùng ngoại bào được biểu hiện của IL-2R α ; 5) vùng đệm glyxin gồm 2 axit amin; 6) vùng polyhistidin gồm 6 axit amin để tinh chế; và 7) hai bộ ba mã hóa kết thúc. Các trình tự protein được dự đoán từ các ADN bổ sung của người và chuột được thể hiện cho các protein dung hợp IL-2/(GlySer)/IL-2R α được thể hiện tương ứng trên Fig.2A và Fig.2B. Các ADN bổ sung này được tách dòng vào vector biểu hiện

pCIneo và sử dụng để biểu hiện các protein dung hợp này trong tế bào COS7. Kết quả phân tích dịch nổi nuôi cấy cho thấy rằng mỗi protein dung hợp của chuột có độ sinh khả dụng IL-2 *in vitro*, với hoạt tính tối ưu liên quan đến protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α (Fig.3A). Do đó, thể vùi kháng IL-2 trong thử nghiệm sinh học này đã ức chế hoàn toàn sự tăng sinh (Fig.3B). Lượng lớn của protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α và protein dung hợp IL-2/(Gly₄Ser)₄/IL-2R α được tạo ra sau khi biểu hiện trong tế bào CHO và tinh chế bằng phương pháp sắc ký ái lực nhờ gắn kết trình tự đánh dấu 6x-His của protein dung hợp này với niken cố định. Protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α của chuột có độ sinh khả dụng IL-2 mạnh hơn protein dung hợp IL-2/(Gly₄Ser)₄/IL-2R α (Fig.4A) mặc dù cả hai protein dung hợp đã ức chế tương đương gắn kết của hai kháng thể kháng IL-2R α (PC61 và 7D4) (Fig.4B) với tế bào biểu hiện IL-2R α , cho thấy hoạt tính IL-2 mạnh hơn là liên quan đến protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α . Hoạt tính ức chế gắn kết của PC61 và 7D4 cũng cho thấy rằng đoạn IL-2R α của protein dung hợp vẫn có cấu trúc bậc ba đủ để gắn kết các kháng thể này. Tuy nhiên, các protein dung hợp này không ức chế gắn kết của kháng thể đơn dòng (3C7) được định hướng đến vị trí gắn kết IL-2 của IL-2R α , với tế bào biểu hiện IL-2R α . Kết quả này cho thấy rằng IL-2 trong protein dung hợp IL-2/IL-2R α nằm gần vị trí gắn kết của IL-2R α (Fig.5). Phân tích thẩm tách Western trên các protein dung hợp này cho thấy rằng khối lượng phân tử của protein dung hợp IL-2/IL-2R α nằm trong khoảng từ 55 đến 65kDa, có tính di động tương đối nhanh hơn trong điều kiện không khử, và lớn hơn khối lượng phân tử của IL-2R α hòa tan khoảng 15kDa (Fig.6A). Tương tự, phân tích trực tiếp protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α tinh chế của chuột bằng SDS-PAGE cũng thu được protein monome không tương đồng có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 55 đến 65kDa (Fig.6B), là kích cỡ mong muốn của phân tử protein dung hợp chứa IL-2 (15 kDa) và IL-2R α (40-50kDa) (Fig.6), trong đó IL-2R α thể hiện kích thước không đồng nhất do quá trình glycosyl hóa thay đổi mạnh (Malek and Kerty, *J. Immunol.* 136:4092-4098, 1986). Hậu quả tức thì của quá trình truyền tín hiệu phụ thuộc IL-2 là quá trình phosphoryl hóa tyrosin của STAT5 (pSTAT5). Khi điều trị cho chuột nhất bằng protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α của chuột đã hoạt hóa rất mạnh và chọn lọc pSTAT5 trong Treg sau 30 phút điều trị (Fig.7). Nghiên cứu đáp ứng liều cho thấy rằng protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α của chuột ảnh hưởng đến mức độ hoạt tính của Treg *in vivo* (Fig.8). Các tác dụng này trên Treg bao gồm: làm tăng biểu hiện (Fig.8A) và số

lượng (không thể hiện) của Treg trong khoang tế bào T biểu hiện CD4; điều hòa kích thích biểu hiện CD25 phụ thuộc IL-2 (Fig.8B); kích thích tăng sinh như được đánh giá bởi mức độ biểu hiện gen chỉ thị tăng sinh Ki67 (Fig.8C); và làm tăng số lượng phân nhóm Treg biểu hiện KIrg1 biệt hóa cuối cùng phụ thuộc IL-2 (Fig.8D). Các tác dụng này là mạnh nhất đối với Treg trong lá lách và tụy bị viêm của chuột nhất bị đái tháo đường thể không béo phì (NOD). Hoạt tính IL-2 (1000 đơn vị), như được đo trong thử nghiệm sinh học tiêu chuẩn CTLL IL-2, liên quan đến IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α có tác dụng thấp trên Treg nhưng các tác dụng có thể đánh giá nhanh hơn (Fig.8). Chuột nhất C57/BL6 được điều trị bằng protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α (2000 đơn vị hoạt tính IL-2) được so sánh với chuột nhất được điều trị bằng IL-2 tái tổ hợp (25000 đơn vị) hoặc phức hợp chủ vận chứa IL-2/kháng thể kháng IL-2 (IL2/IC) (10000 đơn vị hoạt tính IL-2) (Fig.9). Protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α là hữu hiệu hơn nhiều IL-2 tái tổ hợp và tương đối hữu hiệu hơn IL2/IC trong việc cảm ứng tăng sinh ổn định của Treg và các đặc tính liên quan (Fig.9). Protein dung hợp này làm tăng Treg dung nạp xuất hiện ở mức độ hoạt tính IL-2 thấp hơn tương ứng 5-lần và 12,5-lần so với IL2/IC và IL-2 tái tổ hợp. Khi xem xét sự hoạt hóa phụ thuộc IL-2 của pSTAT5 trong Treg ngay trong điều kiện ex vivo (Fig.9), các dữ liệu này cho thấy IL-2/IL-2R α có thời gian bán thải khoảng 72 giờ. Các chuột nhất NOD bị tiền đái tháo đường được điều trị ngăn ngày bằng lượng thấp của IL-2/IL-2R α (Fig.10). Tần suất khởi phát chậm của bệnh đái tháo đường được quan sát ở các chuột nhất được điều trị bằng 800 U hoạt tính IL-2 liên quan đến IL-2/IL-2R α . Liên quan đến độ miễn dịch, việc sử dụng đơn liều cao của IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α (12000 U hoạt tính IL-2) cũng kích thích đáng kể đáp ứng tế bào T biểu hiện CD8, đặc biệt là tế bào ghi nhớ có tuổi thọ cao (Fig.11). Sau 28 ngày gây miễn dịch, tế bào ghi nhớ tác động CD44^{hi} CD62L^{lo} CD127^{hi} kiểm soát vùng ghi nhớ; tuy nhiên theo thời gian tế bào ghi nhớ trung tâm CD44^{hi} CD62L^{hi} CD127^{hi} gia tăng, và tế bào ghi nhớ trung tâm kiểm soát vùng ghi nhớ sau 202 ngày gây miễn dịch (Fig.12). Do đó, protein dung hợp IL-2/(Gly₃Ser)₃/IL-2R α có chức năng tương tự như IL-2 tái tổ hợp để kích thích Treg dung nạp và ức chế miễn dịch và khả năng miễn dịch thông qua việc làm tăng đáp ứng tác động/ghi nhớ T, nhưng nó có đặc tính dược động học được cải thiện bằng cách tạo ra các đáp ứng sau: 1) ở mức độ hiệu quả hoạt tính IL-2 thấp hơn; 2) với đáp ứng sinh học ổn định hơn; và 3) vẫn giữ lại hệ thống phân cấp với đáp ứng Treg ở mức độ liều thấp hơn mức độ tế bào ghi nhớ/tác động T. Các phát hiện này cho thấy rằng protein dung hợp

IL-2/IL-2R α là được chất thể hệ mới được cải thiện để tạo ra hoạt tính IL-2 để kích thích chọn lọc độ dung nạp miễn dịch hoặc ghi nhớ miễn dịch khi được sử dụng ở liều và chế độ thích hợp.

Protein dung hợp IL-2/IL-2R α chứa IL-2 của người và IL-2R α của người cũng được điều chế (Fig.1, Fig.2B). Các ADN bổ sung này được biểu hiện trong tế bào CHO và các protein dung hợp bài tiết được tinh chế bằng phương pháp sắc ký ái lực sử dụng niken dựa trên trình tự đánh dấu 6x-His. Các protein dung hợp varied in the length of the gốc liên kết glyxin/serin tương tự như gốc liên kết glyxin/serin được sử dụng cho protein dung hợp IL-2/IL-2R α của chuột. Toàn bộ 4 protein dung hợp IL-2/IL-2R α của người thu được có độ sinh khả dụng IL-2 bằng cách sử dụng thử nghiệm CTLL trên chuột (Fig.13A). Phân tích thẩm tách Western cho thấy rằng protein dung hợp IL-2/IL-2R α của người cũng thể hiện bằng không tương đồng có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 55 đến 60kDa (Fig.13B), trùng hợp với các phân tử được glycosyl hóa cao được mong muốn cho IL-2 được liên kết với IL-2R α . Protein dung hợp IL-2/IL-2R α chứa (G₃S)₃ và đặc biệt là gốc liên kết (G₄S)₄ có thể có hoạt tính mạnh hơn do ít protein dung hợp quan sát được mặc dù lượng hoạt tính IL-2 tương đương được nạp trên mỗi lần (Fig.13B). Khả năng của protein dung hợp này để ức chế gắn kết của kháng thể đơn dòng kháng IL-2R α , M-A257 và BC96, với tế bào mang IL-2R α của người cho thấy rằng IL-2R α của protein dung hợp này vẫn có cấu trúc bậc ba đủ để gắn kết các kháng thể này (Fig.14). Tuy nhiên, các protein dung hợp này chỉ ức chế một phần gắn kết của kháng thể đơn dòng (BC96) được định hướng đến vị trí gắn kết IL-2 của IL-2R α , cho thấy rằng IL-2 trong protein dung hợp IL-2/IL-2R α là nằm gần vị trí gắn kết của IL-2R α . Hơn nữa, hoạt tính riêng của protein dung hợp IL-2/IL-2R α của chuột và protein dung hợp IL-2/IL-2R α của người chứa gốc liên kết (G₃S)₃ tương ứng bằng 80pM và 2000pM, tương ứng với 1 đơn vị/mL hoạt tính sinh khả dụng IL-2. Các trị số này cao hơn nhiều so với hoạt tính của IL-2 tái tổ hợp (10pM tương ứng với 1 đơn vị/mL). Hoạt tính khác biệt giữa protein dung hợp IL-2/IL-2R α của người và protein dung hợp IL-2/IL-2R α của chuột ít nhất một phần là do độ không hiệu quả tương đối của protein dung hợp của người để hỗ trợ sự tăng sinh của tế bào CTLL ở chuột trong thử nghiệm sinh học so với protein dung hợp của chuột hoặc IL-2 tái tổ hợp của chuột và IL-2 của người tái tổ hợp (không thể hiện). Các hoạt tính riêng tương đối thấp này và kết quả phong bế kháng thể (Fig.5 và Fig.12) cho thấy có thể có tương tác nội phân tử đặc hiệu giữa IL-2 và IL-2R α trong mạch của protein

dung hợp này mà hạn chế lượng IL-2 trong protein dung hợp này để kích thích tế bào mang IL-2R. Kết quả thử nghiệm này cho thấy rằng hai gốc arginin nằm ở vị trí gắn kết IL-2 của IL-2R α của người (xem Robb *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:5654-5658, 1988) được đột biến thành Threonin và Serin. Các tác giả sáng chế đã phát hiện được phát hiện hoạt tính sinh học mạnh hơn nhiều liên quan đến các protein dung hợp đột biến IL-2R này (Fig.15); hoạt tính riêng của protein dung hợp IL-2/IL-2R α đột biến được xác định bằng khoảng 5pM tương đương với 1 đơn vị/mL hoạt tính IL-2, trị số rất giống với IL-2 tái tổ hợp. Do đó, các dữ liệu này cho thấy rằng protein IL-2/IL-2R α của người là có hoạt tính sinh học và cơ chế tác dụng đặc hiệu tạo ra hoạt tính IL-2 kéo dài trong các protein dung hợp này là nhờ tương tác cạnh tranh giữa gốc IL-2 với vùng gắn kết IL-2 của IL-2R α của protein dung hợp này và với tế bào biểu hiện IL-2R.

Bảng 1. Các trình tự

SEQ ID NO	Axit amin/ Nucleotit	Nguồn	Mô tả	
1	Axit amin	Người	Dạng tiền chất của IL-2	Mã truy cập Ngân hàng gen số.AAB46883 IL-2 myrmqlsci alsalvtns aptssstkt qlqlehlld lqmilnginn yknpkltmrmtfkfypmkka telkhlqcle eelkpleevl nlaqsknfhrl rprdlisin vivlelkgsettfmcevae tativeflnr witfcasiis tlt
2	Axit amin	Người	Dạng hoàn thiện của IL-2	Mã truy cập Ngân hàng gen số AAB46883 với 20 axit amin đầu tiên được loại bỏ aptssstkt qlqlehlld lqmilnginn yknpkltmrmtfkfypmkka telkhlqcle eelkpleevl nlaqsknfhrl rprdlisin vivlelkgse ttfmccevae tativeflnr witfcasiis tlt
3	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng tiền chất của IL-2	Mã truy cập Ngân hàng gen số P04351 MYSMQLASCV TLTLVLLVNS APTSSSTSSS TAEAQQQQQQ QQQQQQHLEQ LLMDLQELLS RMENYRNKL PRMLTFKFYL PKQATELKDL QCLEDELGPL RHVLDLTQSK SFQLEDAENF ISNIRVTVVK LKGSNTFEC QFDDSATV DFLRRWIAFC QSIISTSPQ
4	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng hoàn thiện của IL-2	Dạng hoàn thiện của Mã truy cập Ngân hàng gen số P04351 MYSMQLASCV TLTLVLLVNS APTSSSTSSS TAEAQQQQQQ QQQQQQHLEQ LLMDLQELLS RMENYRNKL PRMLTFKFYL PKQATELKDL QCLEDELGPL RHVLDLTQSK SFQLEDAENF ISNIRVTVVK LKGSNTFEC QFDDSATV DFLRRWIAFC QSIISTSP
5	Axit amin	Người	Dạng tiền chất của IL-2R α	Mã truy cập Ngân hàng gen số NP_000408.1 mdsyllmwgl ltfimvpgcq aelcdddppe iphatfkama ykegtmlnce ckrgfrrikslymctgn sshsswdnqc qctssatrn tkqvtpqpee qkerkttemq spmqpvdqaslpghcreppp weneateriy hfvgqmvyv qcvqgyralh rgpaesvckm thgktrwtqpqlctgemet sqfpgeekpq aspegrpese tscvlvtttdf qiqtemaatm etsiftteyqvavagcvfll isvlllsg wqrrqrksrr ti

6	Axit amin	Người	Dạng hoàn thiện của IL-2R α	Axit amin 1-21 đầu tiên được loại bỏ khỏi NP_000408.1 elcdddppe iphatfkama ykegtmlnce ckrgrfriksgslymlctgn sshsswdnqc qctssatrn tkqvtppqee qkerkttemq spmqpvdqa lpghcreppp weneateriy hfvgqmvyv qcvqgyralh rgpaesvckm thgktrwtqpqltgemet sqfpgeekpq aspegrpese tscvlvtttdf qiqtemaatm etsiftteyqvavagcvfl isvllsglt wqrrqrksrr ti
7	Axit amin	Người	Dạng hoàn thiện của vùng ngoại bào IL-2R α	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTG SSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPV QASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGP ESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEKQPQASPEGRPESET CLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
8	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng tiền chất của IL-2R α	Mã truy cập Ngân hàng gen số NP_032393.3 meprrlmlgf lsitvpscr aelclydppe vpmatfkals ykngtilnce ckrgfrlkelvymrcngns wssncqctsn shdkrskvqt aqlehqkeqq tttdmqkptq smhqenltghcrepppwkhe dskriyhfe gqsvhyecip gykalqrgpa isickmkcgk tgwtqpqltcvderehhrfl aseesqgsrn sspesetscp ittdfppqt ettamtetfv ltmeysvavasclflisil llsgltwqh wrksrtri
9	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng hoàn thiện của IL-2R α	Axit amin 1-21 đầu tiên được loại bỏ khỏi Mã truy cập Ngân hàng gen số NP_032393.3 elclydppe vpmatfkals ykngtilnce ckrgrfrike lymrcngns wssncqcts shdkrskvqt aqlehqkeqq tttdmqkptq smhqenltgh crepppwkhe dskriyhfe gqsvhyecip gykalqrgpa isickmkcgk tgwtqpqltc vderehhrfl aseesqgsrn sspesetscp ittdfppqt ettamtetfv ltmeysvava sclflisil llsgltwqhr wrksrtri
10	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng hoàn thiện của vùng ngoại bào IL-2R α	elclydppe vpmatfkals ykngtilnce ckrgrfrike lymrcngns wssncqcts shdkrskvqt aqlehqkeqq tttdmqkptq smhqenltgh crepppwkhe dskriyhfe gqsvhyecip gykalqrgpa isickmkcgk tgwtqpqltc vderehhrfl aseesqgsrn sspesetscp ittdfppqt ettamtetfv ltmeysk
11	Axit amin		Gốc liên kết (Gly ₃ Ser) ₄	GGGSGGGSGGGSGGGG
12	Axit amin		Gốc liên kết (Gly ₃ Ser) ₂	GGGSGGGG
13	Axit amin		Gốc liên kết (Gly ₃ Ser) ₃	GGGSGGGSGGGG
14	Axit amin		(Gly ₃ Ser) ₅	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGG
15	Axit amin		Gốc liên kết Gly ₃	GGG
16	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng hoàn thiện của IL-2-(Gly ₄ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	APTSSSTSSSTAEAAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRMENYRN LKLPRMLTFKYLKQATELKDLCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAE NFISNIRVTVVKLGSDNTFECQFDDDESATVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNC ECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQK EQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSV HYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTPQLTCVDEREHRFLASE ESQGSRNSSPESETSCPIITTTDFPQPTETTAMTETFEVLTMEYK MDSMQLASCVTTLTLVLLVNSAPTSSSTSSSTAEAAQQQQQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRMLTFKYLKQATELKDLCLEDEL GPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLGSDNTFECQFDDESA TVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELCLYDP PEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCT SNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCRE PPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTG WTQPQLTCVDEREHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPIITTTDFPQPTET TAMTETFEVLTMEYK
17	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng tiền chất của IL-2-(Gly ₄ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	

18	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng hoàn thiện của IL-2-(Gly ₄ Ser) ₅ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	APTSSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRMENYRN LKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAE NFISNIRVTVVKLGSDNTFECQFDDDESATVVDLRRWIAFCQSIISTSPQ GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELCLYDPPEVPNATFKALSYKN GTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSNHDKSRKQVTA QLEHQKEQQTITDDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYHF VEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTPQLTCVDEREH HRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETEVLTMEYK MDSMQLASCVTTLTVLLVNSAPTSSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQQQH
19	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng tiền chất của IL-2-(Gly ₄ Ser) ₅ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	LEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRLMTFKFYLPKQATELKDLCLEDEL GPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLGSDNTFECQFDDESA TVVDLRRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG LCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWS SNQCTSNHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDDMQKPTQSMHQENLT GHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKC GKTGWTPQLTCVDEREHHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQ PTETTAMTETEVLTMEYK
20	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng hoàn thiện của IL-2-(Gly ₃ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	APTSSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRMENYRN LKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAE NFISNIRVTVVKLGSDNTFECQFDDDESATVVDLRRWIAFCQSIISTSPQ GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG FRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSNHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTIT DDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIP GYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTPQLTCVDEREHHRFLASEESQGS RNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETEVLTMEYK
21	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng tiền chất của IL-2-(Gly ₃ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	MDSMQLASCVTTLTVLLVNSAPTSSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRLMTFKFYLPKQATELKDLCLEDEL GPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLGSDNTFECQFDDESA TVVDLRRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG NATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSN HDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPW KHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTP QLTCVDEREHHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTE TEVLTMEYK
22	Axit amin	Người	Dạng hoàn thiện IL-2-(Gly ₄ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGG SELDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTG NSSHSSWDNQCTSSATRNNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPV DQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGP AESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEKQPASPEGRPESET SCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
23	Axit amin	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₄ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	MDRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISININIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCTSSATRNNTTKQVT PQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFV VGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEME TSQFPGEKQPASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEY Q
24	Axit amin	Người	Dạng hoàn thiện IL-2-(Gly ₃ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGSD DDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTG SWDNQCTSSATRNNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQAS LPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVC KMTGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEKQPASPEGRPESETSCLVTT TDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
25	Axit amin	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₃ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	MDRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISININIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCTSSATRNNTTKQVTPQPEE QKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQ MVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQF PGEKQPASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ

[illegible]

30	Nucleotit	Chuột nhất	Dạng tiền chất của IL-2- (Gly ₃ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	ATGGACAGCATGCGATCGCATCCTGTGTACATTGACACTTGTGCTC CTTGTCAACAGCGCACCCACTTCAAGCTCTACTTCAAGCTCTACAGCG GAAGCACAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCACCTGG AGCAGCTGTTGATGGACCTACAGGAGCTCCTGAGCAGGATGGAGAA TTACAGGAACCTGAAACTCCCCAGGATGCTCACCTTCAAATTTTACTT GCCCCAAGCAGGCCACAGAATTGAAAGATCTTCAGTGCCTAGAAGATG AACTTGGACCTCTGCGGCATGTTCTGGATTTGACTCAAAGCAAAAGC TTTCAATTGGAAGATGCTGAGAATTTATCAGCAATATCAGAGTAACT GTTGTAAACTAAAGGGCTCTGACAACACATTTGAGTGCCAATTCGA TGATGAGTCAGCAACTGTGGTGGACTTTCTGAGGAGATGGATAGCCT TCTGTCAAAGCATCATCTCAACAAGCCCTCAAggtggagggttctggagggt tcagggtggagggttcgggtggagggttctGAACTGTGTCTGTATGACCCACCCGAG GTCCCCAATGCCACATTCAAAGCCCTCTCCTACAAGAACGGCACCATC CTAAACTGTGAATGCAAGAGAGGTTTCCGAAGACTAAAGGAATTGGT CTATATGCGTTGCTTAGGAAACTCCTGGAGCAGCAACTGCCAGTGCA CCAGCAACTCCCATGACAAATCGAGAAAGCAAGTTACAGCTCAACTT GAACACCAGAAAAGAGCAACAAACCACAACAGACATGCAGAAGCCAA CACAGTCTATGCACCAAGAGAACCTTACAGGTCACTGCAGGGAGCCA CCTCCTTGAAACATGAAGATTCCAAGAGAATCTATCATTTCGTGGA GGACAGAGTGTTCACTACGAGTGATTCCGGGATACAAGGCTCTACA GAGAGGTCTGCTATTAGCATCTGCAAGATGAAGTGTGGGAAACCG GGGTGGACTCAGCCCCAGCTCACATGTGTAGATGAAAGAGAACACC ACCGATTTCTGGCTAGTGAGGAATCTCAAGGAAGCAGAAATCTTCT CCCAGAGTGAGACTTCTGCCCATAAACCACACAGACTTCCCACAA CCCACAGAAACAACTGCAATGACGGAGACATTTGTGCTCACAATGGA GTATAAGGGTGGACATCACCATCACCATCACTAATAA
31	Nucleotit	Chuột nhất	Dạng tiền chất của IL-2- (Gly ₄ Ser) ₅ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	ATGGACAGCATGCGATCGCATCCTGTGTACATTGACACTTGTGCTC CTTGTCAACAGCGCACCCACTTCAAGCTCTACTTCAAGCTCTACAGCG GAAGCACAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCACCTGG AGCAGCTGTTGATGGACCTACAGGAGCTCCTGAGCAGGATGGAGAA TTACAGGAACCTGAAACTCCCCAGGATGCTCACCTTCAAATTTTACTT GCCCCAAGCAGGCCACAGAATTGAAAGATCTTCAGTGCCTAGAAGATG AACTTGGACCTCTGCGGCATGTTCTGGATTTGACTCAAAGCAAAAGC TTTCAATTGGAAGATGCTGAGAATTTATCAGCAATATCAGAGTAACT GTTGTAAACTAAAGGGCTCTGACAACACATTTGAGTGCCAATTCGA TGATGAGTCAGCAACTGTGGTGGACTTTCTGAGGAGATGGATAGCCT TCTGTCAAAGCATCATCTCAACAAGCCCTCAAggtggagggtggatcagggtg agggtggatctgggtggagggtggatcagggtggagggtggatccgggtggagggtggatctGAAC TGTGTCTGTATGACCCACCCGAGGTCCCCAATGCCACATTCAAAGCCC TCTCCTACAAGAACGGCACCATCCTAAACTGTGAATGCAAGAGAGGTT TTCCGAAGACTAAAGGAATTGGTCTATATGCGTTGCTTAGGAAACTC CTGGAGCAGCAACTGCCAGTGCAACAGCAACTCCCATGACAAATCGA GAAAGCAAGTTACAGCTCAACTTGAACACCAGAAAAGAGCAACAAACC ACAACAGACATGCAGAAGCCAACACAGTCTATGCACCAAGAGAACCT TACAGGTCACTGCAGGGAGCCACCTCCTTGAAACATGAAGATTCCA AGAGAATCTATCATTTCGTGGAAGGACAGAGTGTTCACTACGAGTGT ATTCCGGGATACAAGGCTCTACAGAGAGGTCTGCTATTAGCATCTG CAAGATGAAGTGTGGGAAAACGGGGTGGACTCAGCCCCAGCTCACA TGTGTAGATGAAAGAGAACACCACCGATTTCTGGCTAGTGAGGAATC TCAAGGAAGCAGAAATTTCTTCTCCCAGAGTGAGACTTCTGCCCA TAACCACCACAGACTTCCCACAACCCACAGAAACAACTGCAATGACG GAGACATTTGTGCTCACAATGGAGTATAAGGGTGGACATCAACATCA CCATCACTAATAA

32	Nucleotit	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₄ Ser) ₄ - vùng ngoại bào của IL-2 R α	ATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCAATTGCACTAAGTCTTGCACTT GTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCT ACAACTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAAT TAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACATTTAAGTT TTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAAGTAAACATCTTCAGTGTCTAG AAGAAGAAGTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGC AAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTA ATAGTTCTGGAAGTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATA TGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTA CCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTggtggaggtggatctggtgga ggtggatcaggtggaggtggatccggtggaggtggatct GAGCTCTGTGACGATGACCCGCCAGAGATCCCACACGCCACATTCAA AGCCATGGCCTACAAGGAAGGAACCATGTTGAAGTGTGAATGCAAG AGAGGTTTCCGCAGAATAAAAAGCGGGTCACTCTATATGCTCTGTAC AGGAAACTCTAGCCACTCGTCTGGGACAACCAATGTCAATGCACAA GCTCTGCCACTCGGAACACAACGAAACAAGTGACACCTCAACCTGAA GAACAGAAAGAAAGGAAACACAGAAATGCAAAGTCCAATGCAGC CAGTGGACCAAGCGAGCCTTCCAGGTCACTGCAGGGAACCTCCACCA TGGGAAAATGAAGCCACAGAGAGAATTTATCATTTCTGTTGGTGGGGC AGATGGTTTATTATCAGTGCGTCCAGGGATACAGGGCTCTACACAGA GGTCTGCTGAGAGCGTCTGCAAAATGACCCACGGGAAGACAAGGT GGACCCAGCCCCAGCTCATATGCACAGGTGAAATGGAGACCAGTCA GTTTCCAGGTGAAGAGAAGCCTCAGGCAAGCCCCGAAGGCCGTCT GAGAGTGAGACTTCTGCCTCGTCACAACAACAGATTTTCAAATACA GACAGAAATGGCTGCAACCATGGAGACGTCCATATTTACAACAGAGT ACCAGGGTGGACATCACCATCACCATCACTAATAA
33	Nucleotit	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₃ Ser) ₄ - vùng ngoại bào của IL-2 R α	ATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCAATTGCACTAAGTCTTGCACTT GTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCT ACAACTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAAT TAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACATTTAAGTT TTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAAGTAAACATCTTCAGTGTCTAG AAGAAGAAGTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGC AAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTA ATAGTTCTGGAAGTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATA TGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTA CCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTggtggaggttctggtggaggt tcaggtggaggttcggtggaggttctGAGCTCTGTGACGATGACCCGCCAGA GATCCCACACGCCACATTCAAAGCCATGGCCTACAAGGAAGGAACCA TGTTGAAGTGTGAATGCAAGAGAGGTTTCCGCAGAATAAAAAGCGG GTCACCTCTATATGCTCTGTACAGGAACTCTAGCCACTCGTCTGGGA CAACCAATGTCAATGCACAAGCTCTGCCACTCGGAACACAACGAAAC AAGTGACACCTCAACCTGAAGAACAGAAAGAAAGGAAAACACAGA AATGCAAAGTCCAATGCAGCCAGTGGACCAAGCGAGCCTTCCAGGTC ACTGCAGGGAACCTCCACCATGGGAAAATGAAGCCACAGAGAGAAT TTATCATTTCTGTTGGTGGGGCAGATGGTTTATTATCAGTGCGTCCAGG GATACAGGGCTCTACACAGAGGTCCTGCTGAGAGCGTCTGCAAAATG ACCCACGGGAAGACAAGGTGGACCCAGCCCCAGCTCATATGCACAG GTGAAATGGAGACCAGTCAGTTTCCAGGTGAAGAGAAGCCTCAGGC AAGCCCCGAAGGCCGTCTGAGAGTGAGACTTCTGCCTCGTCACAA CAACAGATTTTCAAATACAGACAGAAATGGCTGCAACCATGGAGACG TCCATATTTACAACAGAGTACCAGGGTGGACATCACCATCACCATCAC TAATAA

34	Nucleotit	Người	Dạng tiền chất của IL-2- (Gly ₃ Ser) ₃ - vùng ngoại bào của IL-2 R α	ATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGATTGCACTAAGTCTTGCACTT GTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCT ACAACTGGAGCATTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAAT TAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACATTTAAGTT TTACATGCCCCAAGAAGGCCACAGAAGTAAACATCTTCAGTGTCTAG AAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGC AAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTA ATAGTTCTGGAACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATA TGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTA CCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTgggtggaggttctggagggt tcagggtggaggttcgGAGCTCTGTGACGATGACCCGCCAGAGATCCCACA CGCCACATTCAAAGCCATGGCCTACAAGGAAGGAACCATGTTGAACT GTGAATGCAAGAGAGGTTTCCGCAGAATAAAAAGCGGGTCACTCTAT ATGCTCTGTACAGGAACTCTAGCCACTCGTCTGGGACAACCAATG TCAATGCACAAGCTCTGCCACTCGGAACACAACGAAACAAGTGACAC CTCAACCTGAAGAACAGAAAGAAAGGAAAACACAGAAATGCAAAG TCCAATGCAGCCAGTGGACCAAGCGAGCCTTCCAGGTCACTGCAGGG AACCTCCACCATGGGAAAATGAAGCCACAGAGAGAATTTATCATTTT GTGGTGGGGCAGATGGTTTATTATCAGTGCCTCCAGGGATACAGGG CTCTACACAGAGGTCTGCTGAGAGCGTCTGCAAAATGACCCACGGG AAGACAAGGTGGACCCAGCCCCAGCTCATATGCACAGGTGAAATGG AGACCAGTCAGTTTCCAGGTGAAGAGAAGCCTCAGGCAAGCCCCGA AGGCCGTCTGAGAGTGAGACTTCTGCCTCGTCAACAACAGATT TTCAAATACAGACAGAAATGGCTGCAACCATGGAGACGTCCATATTT ACAACAGAGTACCAGGGTGGACATCACCATCACCATCACTAATAA
35	Nucleotit		Trình tự bảo thủ Kozak	(gcc)gccRccAUGG
36	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng tiền chất của IL-2- (Gly ₃ Ser) ₃ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	MYSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRMLTFKFLPKQATELKDLCLEDEL GPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLGSDNTFECQFDESA TVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGSGGGSGGGSELCLYDPPEVPNATFK ALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSR KQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDS KRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISIC27KMKCGKTGWTQPOLTC VDREHHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPIITTDFFPQPTETTAMTETFVL TMEYK
37	Axit amin	Chuột nhắt	Dạng hoàn thiện của IL-2-(Gly ₃ Ser) ₃ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRMLTFKFLPKQATELKDLCLEDEL GPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLGSDNTFECQFDESA TVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGSGGGSGGGSELCLYDPPEVPNATFK ALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSR KQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDS KRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPOLTCV DEREHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPIITTDFFPQPTETTAMTETFVL MEYK
38	Axit amin	Người	Dạng tiền chất của IL-2- (Gly ₄ Ser) ₅ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	MDRMQLLSIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISINIVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELDDDPPEIPHATFKAMAYK EGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNT TKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATE RIYHFVVGQMVVYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPOLIC TGEMETSQFPGEKPKQASPEGRPESETSLVTTTDFQIQTEMAATMETS IFTTEYQ

39	Axit amin	Người	Dạng hoàn thiện của IL-2 của người- (Gly ₄ Ser) ₅ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSGGGG SGGGSGSELDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNLNCECKRGFRRIKSGSLY MLCTGNSSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPPEEQKERKTTEMQS PMQPVDAQSLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVVYQCVQGYR ALHRGPAESVCKMTHGKTRWTPQLICTGEMETSQFPGEKPKQASPEG RPESETSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
40	Axit amin		Gốc liên kết (Gly ₄ Ser) ₄	GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
41	Axit amin		Gốc liên kết (Gly ₄ Ser) ₅	GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
42	Nucleotit	Chuột nhắt	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₃ Ser) ₃ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	ATGGACAGCATGCAGCTCGCATCCTGTGTACATTGACACTTGTGCTC CTTGTC AACAGCGCACCCACTTCAAGCTCTACTTCAAGCTCTACAGCG GAAGCACAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCACCTGG AGCAGCTGTTGATGGACCTACAGGAGCTCCTGAGCAGGATGGAGAA TTACAGGAACCTGAAACTCCCCAGGATGCTCACCTTCAAATTTTACTT GCCCAAGCAGGCCACAGAATTGAAAGATCTTCAGTGCCTAGAAGATG AACTTGGACCTCTGCGGCATGTTCTGGATITGACTCAAAGCAAAAGC TTTCAATTGGAAGATGCTGAGAATTTATCAGCAATATCAGAGTAACT GTTGTAAACTAAAGGGCTCTGACAACACATTTGAGTGCCAATTCTGA TGATGAGTCAGCAACTGTGGTGGACTTTCTGAGGAGATGGATAGCCT TCTGTCAAAGCATCATCTCAACAAGCCCTCAAGGTGGAGGTTCTGGT GGAGGTTTCAGGTGGAGGTTCTGGAAGTGTGTCTGTATGACCCACCCGA GGTCCCCAATGCCACATTCAAAGCCCTCTCTACAAGAACGGCACCAT CCTAAACTGTGAATGCAAGAGAGGTTTCCGAAGACTAAAGGAATTGG TCTATATGCGTTGCTTAGGAACTCCTGGAGCAGCAACTGCCAGTGC ACCAGCAACTCCCATGACAAATCGAGAAAGCAAGTTACAGCTCAACT TGAACACCAGAAAGAGCAACAAACCACAACAGACATGCAGAAGCCA ACACAGTCTATGCACCAAGAGAACCTTACAGGTCACTGCAGGGAGCC ACCTCCTTGAAACATGAAGATTCCAAGAGAATCTATCATTTCTGTGA AGGACAGAGTGTTCACTACGAGTGTATTCCGGGATACAAGGCTCTAC AGAGAGGTCTGCTATTAGCATCTGCAAGATGAAGTGTGGGAAAAC GGGGTGGACTCAGCCCCAGCTCACATGTGTAGATGAAAGAGAACAC CACCGATTCTGGCTAGTGAGGAATCTCAAGGAAGCAGAAATTCTTC TCCCGAGAGTGAGACTTCTGCCCCATAACCACCACAGACTTCCCACA ACCCACAGAAACAACTGCAATGACGGAGACATTTGTGCTCACAATGG AGTATAAGGGTGGACATCACCATCACCATCACTAATAA
43	Axit amin	Người	Dạng hoàn thiện IL-2-(Gly ₃ Ser) ₂ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGELCDDDPPEIPHA TFKAMAYKEGTMNLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSSHSSWDNQCQC TSSATRNTTKQVTPQPPEEQKERKTTEMQSPMQPVDAQSLPGHCREPP WENEATERIYHFVVGQMVVYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEKPKQASPEGRPESETSLVTTTDFQIQTE MAATMETSIFTTEYQ
44	Axit amin	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₃ Ser) ₂ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	MDRMQLLSIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGSGGGSELDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPPEEQKERKTTEM QSPMQPVDAQSLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVVYQCVQG YRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTPQLICTGEMETSQFPGEKPKQASP EGRPESETSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ

45	Axit amin	Người	Dạng hoàn thiện IL-2-(Gly ₃)-vùng ngoại bào của IL-2 R α	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGELCDDDPPEIPHATFKA MAYKEGTMNLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSSHSSWDNQCQCTSSA TRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWEN EATERIYHFVVGQMVVYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEKPKQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAAT METSIFTTEYQ
46	Axit amin	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₃)- vùng ngoại bào của IL-2 R α	MDRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNLNCECKRGFRRIKSGSLYMLC TGNSSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQ PVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVVYQCVQGYRALHR GPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEKPKQASPEGRPES ETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ
47	Nucleotit	Người	Dạng tiền chất của IL-2- (Gly ₃ Ser) ₂ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	ATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCACTGCACTAAGTCTTGCACTT GTCACAAACAGTGACCTACTTCAAGTTCTACAAAAGAAAACACAGCT ACAACCTGGAGCATTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGGAAT TAATAATTACAAGAAATCCCAAACCTCACCAGGATGCTCACATTTAAGTT TTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAG AAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGC AAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTA ATAGTTCTGGAATAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATA TGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTA CCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTggtggagggttctggtggagg tcaGAGCTCTGTGACGATGACCCGCCAGAGATCCACACGCCACATTC AAAGCCATGGCCTACAAGGAAGGAACCATGTTGAACTGTGAATGCA AGAGAGGTTTCCGCAGAATAAAAAGCGGGTCACTCTATATGCTCTGT ACAGGAAACTCTAGCCACTCGTCCTGGGACAACCAATGTCAATGCAC AAGCTCTGCCACTCGGAACACAACGAAACAAGTGACACCTCAACCTG AAGAACAGAAAGAAAGGAAAACACAGAAATGCAAAGTCCAATGCA GCCAGTGGACCAAGCGAGCCTTCCAGGTCACTGCAGGGAACCTCCAC CATGGGAAAATGAAGCCACAGAGAGAATTTATCATTTCTGTGGTGGG GCAGATGGTTTATTATCAGTGCGTCCAGGGATACAGGGCTCTACACA GAGGTCTGCTGAGAGCGTCTGCAAAATGACCCACGGGAAGACAAG GTGGACCCAGCCCCAGCTCATATGCACAGGTGAAATGGAGACCAAGTC AGTTTCCAGGTGAAGAGAAGCCTCAGGCAAGCCCCGAAGGCCGTCC TGAGAGTGAGACTTCTGCCTCGTCACAACAACAGATTTTCAAATACA GACAGAAATGGCTGCAACCATGGAGACGTCCATATTACAACAGAGT ACCAGGGTGGACATCACCATCACCATCACTAATAA

48	Nucleotit	Người	Dạng tiền chất của IL-2-(Gly ₃)-vùng ngoại bào của IL-2 R α	ATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTT GTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCT ACAACTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAAT TAATAATTACAAGAATCCCAAACCTCACCAGGATGCTCACATTTAAGTT TTACATGCCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAG AAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGC AAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTA ATAGTTCTGGAATAAGGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATA TGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTA CCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTggtggaggtGAGCTCTGT GACGATGACCCGCCAGAGATCCCACACGCCACATTCAAAGCCATGGC CTACAAGGAAGGAACCATGTTGAAGTGTGAATGCAAGAGAGGTTTCC GCAGAATAAAAAGCGGGTCACTCTATATGCTCTGTACAGGAACTCT AGCCACTCGTCCTGGGACAACCAATGTCAATGCACAAGCTCTGCCAC TCGGAACACAACGAAACAAGTGACACCTCAACCTGAAGAACAGAAA GAAAGGAAAACACAGAAATGCAAGTCCAATGCAGCCAGTGGACC AAGCGAGCCTTCAGGTCACTGCAGGGAACCTCCACCATGGGAAAAT GAAGCCACAGAGAGAATTTATCATTTCTGTTGGGGCAGATGGTTTA TTATCAGTGCGTCCAGGGATACAGGGCTCTACACAGAGGTCTGCTG AGAGCGTCTGCAAAATGACCCACGGGAAGACAAGGTGGACCCAGCC CCAGCTCATATGCACAGGTGAAATGGAGACCAAGTCAGTTTCCAGGTG AAGAGAAGCCTCAGGCAAGCCCCGAAGGCCGTCTGAGAGTGAGAC TTCTGCCTCGTCACAACAACAGATTTTCAAATACAGACAGAAATGGC TGCAACCATGGAGACGTCCATATTTACAACAGAGTACCAGGGTGGAC ATCACCATCACCATCACTAATAA
49	Nucleotit	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₄ Ser) ₅ -vùng ngoại bào của IL-2 R α	ATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTT GTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCT ACAACTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAAT TAATAATTACAAGAATCCCAAACCTCACCAGGATGCTCACATTTAAGTT TTACATGCCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAG AAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGC AAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTA ATAGTTCTGGAATAAGGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATA TGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTA CCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTggtggaggtggatcaggtgga ggtggatctggtggaggtggatcaggtggaggtggatccggtggaggtggatctGAGCT CTGTGACGATGACCCGCCAGAGATCCCACACGCCACATTCAAAGCCA TGGCCTACAAGGAAGGAACCATGTTGAAGTGTGAATGCAAGAGAGG TTCCGCAGAATAAAAAGCGGGTCACTCTATATGCTCTGTACAGGAA ACTCTAGCCACTCGTCCTGGGACAACCAATGTCAATGCACAAGCTCTG CCACTCGGAACACAACGAAACAAGTGACACCTCAACCTGAAGAACAG AAAGAAAGGAAAACACAGAAATGCAAGTCCAATGCAGCCAGTGG ACCAAGCGAGCCTTCAGGTCACTGCAGGGAACCTCCACCATGGGAA AATGAAGCCACAGAGAGAATTTATCATTTCTGTTGGGGCAGATGGT TTATTATCAGTGCGTCCAGGGATACAGGGCTCTACACAGAGGTCTG CTGAGAGCGTCTGCAAAATGACCCACGGGAAGACAAGGTGGACCCA GCCCCAGCTCATATGCACAGGTGAAATGGAGACCAAGTCAGTTTCCAG GTGAAGAGAAGCCTCAGGCAAGCCCCGAAGGCCGTCTGAGAGTGA GACTTCCTGCCTCGTCACAACAACAGATTTTCAAATACAGACAGAAAT GGCTGCAACCATGGAGACGTCCATATTTACAACAGAGTACCAGGGTG GACATCACCATCACCATCACTAATAA
50	Axit amin		Gốc liên kết (Gly ₄ Ser) ₃	GGGGS GGGGS GGGGS
51	Axit amin		Gốc liên kết (Gly ₄ Ser) ₂	GGGGS GGGGS
52	Axit amin		Gốc liên kết (Gly ₄ Ser) ₁	GGGGS
53	Nucleotit		Trình tự kozak	gccaccATGG

54	Axit amin	Chuột nhất	Dạng tiền chất của IL-2- (Gly ₄ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α + vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLCLEDEL GPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSNDTFECQFDDESA TVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGSGGGGSGGGGSGGGGSELCLYDP PEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRLGNSWSSNCQC TSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCRE PPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTG WTQPQLTCVDEREHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTET TAMTETFVLTMKEYKGGHHHHHH
55	Axit amin	Chuột nhất	Dạng tiền chất của IL-2- (Gly ₄ Ser) ₅ -vùng ngoại bào của IL-2 R α + vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLCLEDEL GPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSNDTFECQFDDESA TVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSE LCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRLGNSWS SNCQCTSNHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLT GHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKC GKTGWTQPQLTCVDEREHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQ PTETTAMTETFVLTMKEYKGGHHHHHH
56	Axit amin	Chuột nhất	Dạng tiền chất của IL-2- (Gly ₃ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α + vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLCLEDEL GPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSNDTFECQFDDESA TVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGSGGGGSGGGGSGGGGSELCLYDPPEVP NATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRLGNSWSSNCQCTSN HDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPW KHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQP QLTCVDEREHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTE TFVLTMKEYKGGHHHHHH
57	Axit amin	Chuột nhất	Dạng hoàn thiện của IL-2-(Gly ₃ Ser) ₃ -vùng ngoại bào của IL-2 R α + vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin	MDSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQQQH LEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLCLEDEL GPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSNDTFECQFDDESA TVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQGGGSGGGGSGGGGSELCLYDPPEVPNATFK ALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRLGNSWSSNCQCTSNHDKSR KQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDS KRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCV DEREHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETFVL TMKEYKGGHHHHHH
58	Axit amin	Người	Dạng tiền chất của IL-2 - (Gly ₃ Ser) ₂ -vùng ngoại bào của IL-2 R α + vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin	MDRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLNAQSKNFHL RPRDLISNINIVILELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNLNCECKRGFRRIKSG LYMLCTGNSSHSSWDNQCCQTSSATRNNTTKQVTPQPEEQKERKTTEM QSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVVYQCVQG YRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQAS EGRPESETSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQGGHHHHHH
59	Axit amin	Người	Dạng tiền chất của IL-2- (Gly ₃ Ser) ₃ -vùng ngoại bào của IL-2 R α + vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin	MDRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVNLNAQSKNFHL RPRDLISNINIVILELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNLNCECKRGFR IKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCCQTSSATRNNTTKQVTPQPEEQKERKT TEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVVYQC VQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKP QASPEGRPESETSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQGGHHHHHH

60	Axit amin	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₃ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α + vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin	MDRMQLLSICALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISININIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGSGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECK RGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCCQTSSATRNTTKQVTPQPEE QKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQ MVMYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQF PGEEKPQASPEGRPESETSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQGGH HHHHH
61	Axit amin	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₄ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α + vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin	MDRMQLLSICALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINN YKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHL RPRDLISININIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT GGGSGGGSGGGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTML NCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCCQTSSATRNTTKQVT PQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFV VGQMVMYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEME TSQFPGEEKPQASPEGRPESETSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEY QGGHHHHHH
62	Axit amin	Người	Dạng hoàn thiện IL-2-(Gly ₃ Ser) ₃ -vùng ngoại bào của IL-2 R α đột biến	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSELCDDDPP EIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFTSIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDN QCCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGH REPPPWENEATERIYHFVVGQMVMYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTH GKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSLVTTTDFQIQ TEMAATMETSIFTTEYQ
63	Nucleotit	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₃ Ser) ₃ -vùng ngoại bào của IL-2 R α đột biến	ATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCACTGCACTAAGTCTTGCACTT GTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCT ACAACCTGGAGCATTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGGAAT TAATAATTACAAGAATCCCAAACCTCACCAGGATGCTCACATTTAAGTT TTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAG AAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGC AAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTA ATAGTTCTGGAATAAAGGGATCTGAAACAACATTATGTGTGAATA TGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTA CCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTggtggaggttctggtggaggt tcaggtggaggttcgGAGCTCTGTGACGATGACCCGCCAGAGATCCACA CGCCACATTCAAAGCCATGGCCTACAAGGAAGGAACCATGTTGAACT GTGAATGCAAGAGAGGTTTCACTCAATAAAAAGCGGGTCACTCTAT ATGCTCTGTACAGGAACTCTAGCCACTCGTCTGGGACAACCAATG TCAATGCACAAGCTCTGCCACTCGGAACACAACGAAACAAGTGACAC CTCAACCTGAAGAACAGAAAGAAAGGAAAACACAGAAATGCAAAG TCCAATGCAGCCAGTGGACCAAGCGAGCCTTCCAGGTCACTGCAGGG AACCTCCACCATGGGAAAATGAAGCCACAGAGAGAATTTATCATTTT GTGGTGGGGCAGATGGTTTATTATCAGTGCCTCCAGGGATACAGGG CTCTACACAGAGGTCTGCTGAGAGCGTCTGCAAAATGACCCACGGG AAGACAAGGTGGACCCAGCCCCAGCTCATATGCACAGGTGAAATGG AGACCAGTCAGTTTCCAGGTGAAGAGAAGCCTCAGGCAAGCCCCGA AGGCCGTCTGAGAGTGAGACTTCTGCCTCGTCACAACAACAGATT TTCAAATACAGACAGAAATGGCTGCAACCATGGAGACGTCCATATT ACAACAGAGTACCAGGGTGGACATCACCATCACCATCACTAATAA
64	Axit amin	Người	Dạng hoàn thiện IL-2-(Gly ₄ Ser) ₄ -vùng ngoại bào của IL-2 R α đột biến	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGSGGGSGGGSGGGG SELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFTSIKSGSLYMLCTG NSSHSSWDNQCCQTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPV DQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVMYYQCVQGYRALHRGP AESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESET SCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ

65	Nucleotit	Người	Dạng tiền chất IL-2-(Gly ₄ Ser) ₄ - vùng ngoại bào của IL-2 R α đột biến	ATGGACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCAATTGCACTAAGTCTTGCACTT GTCACAAACAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCT ACAACTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAAT TAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACATTTAAGTT TTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAAGTGAACATCTTCAGTGTCTAG AAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGC AAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTA ATAGTTCTGGAAGTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATA TGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTA CCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTggtggaggatctggtgga ggtggatcagggtggagggtggatccggtggagggtggatct GAGCTCTGTGACGATGACCCGCCAGAGATCCCACACGCCACATTCAA AGCCATGGCCTACAAGGAAGGAACCATGTTGAACTGTGAATGCAAG AGAGGTTTCACCTCAATAAAAAAGCGGGTCACTCTATATGCTCTGTACA GGAAACTCTAGCCACTCGTCTGGGACAACCAATGTCAATGCACAAG CTCTGCCACTCGGAACACAACGAAACAAGTGACACCTCAACCTGAAG AACAGAAAGAAAGGAAAACCAAGAAATGCAAAGTCCAATGCAGCC AGTGGACCAAGCGAGCCTTCCAGGTCACTGCAGGGAACTCCACCAT GGGAAAATGAAGCCACAGAGAGAATTTATCATTTCTGTTGGGGCA GATGGTTTATTATCAGTGCCTCCAGGGATACAGGGCTCTACACAGAG GTCCTGCTGAGAGCGTCTGCAAAATGACCCACGGGAAGACAAGGTG GACCCAGCCCCAGCTCATATGCACAGGTGAAATGGAGACCAGTCAGT TTCCAGGTGAAGAGAAGCCTCAGGCAAGCCCCGAAGGCCGTCCTGA GAGTGAGACTTCTGCCTCGTCACAACAACAGATTTTCAAATACAGAC AGAAATGGCTGCAACCATGGAGACGTCCATATTTACAACAGAGTACC AGGGTGGACATCACCATCACCATCACTAATAA
----	-----------	-------	--	---

Toàn bộ các đơn công bố và đơn patent được đề cập trong bản mô tả là tình trạng kỹ thuật liên quan đến sáng chế này. Toàn bộ các đơn công bố và đơn patent được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn.

Mặc dù sáng chế đã được mô tả chi tiết thông qua phần mô tả và ví dụ nêu trên, nhưng một số thay đổi và cải biến cũng nằm trong phạm vi của bộ yêu cầu bảo hộ kèm theo.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Protein dung hợp, chứa:

(a) polypeptit thứ nhất chứa interleukin-2 (IL-2), trong đó polypeptit thứ nhất này có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 70% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.2; và

(b) polypeptit thứ hai, được dung hợp trong khung với polypeptit thứ nhất, bằng gốc liên kết, trong đó gốc liên kết này có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.13 và polypeptit thứ hai này chứa vùng ngoại bào của thụ thể interleukin-2 alpha, có hoạt tính sinh học của vùng ngoại bào của thụ thể interleukin-2 alpha, và trong đó polypeptit thứ hai này có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 70% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, và

trong đó protein dung hợp này có (1) hoạt tính IL-2 cao hơn IL-2 tự nhiên hoặc (2) hoạt tính kích thích IL-2 ổn định ở lymphô bào mang IL-2R *in vivo* cao hơn IL-2 tự nhiên.

2. Protein dung hợp theo điểm 1, trong đó polypeptit thứ nhất chứa IL-2 có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 75%, ít nhất bằng 80%, ít nhất bằng 85%, ít nhất bằng 90%, ít nhất bằng 95%, ít nhất bằng 99%, hoặc 100% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.2.

3. Protein dung hợp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó polypeptit thứ hai chứa vùng ngoại bào của thụ thể interleukin-2 alpha có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 75%, ít nhất bằng 80%, ít nhất bằng 85%, ít nhất bằng 90%, ít nhất bằng 95%, ít nhất bằng 99%, hoặc 100% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7.

4. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, chứa

(a) trình tự axit amin như nêu trong trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO.26, 27, 36, 37, 57, hoặc 59; hoặc

(b) trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 70%, ít nhất bằng 75%, ít nhất bằng 80%, ít nhất bằng 85%, ít nhất bằng 90%, hoặc ít nhất bằng 95% so với trình tự như nêu trong trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO.26, 27, 36, 37, 57, hoặc 59.

5. Protein dung hợp theo điểm 4, trong đó protein dung hợp này chứa trình tự axit amin như nêu trong trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO.26, 27, 36, 37, 57, hoặc

59.

6. Protein dung hợp theo điểm 5, trong đó protein dung hợp này chứa trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.26.

7. Protein dung hợp theo điểm 1, trong đó protein dung hợp này chứa:

(a) trình tự axit amin như nêu trong trình tự SEQ ID NO.62; hoặc

(b) trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 70%, ít nhất bằng 75%, ít nhất bằng 80%, ít nhất bằng 85%, ít nhất bằng 90%, hoặc ít nhất bằng 95% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.62.

8. Protein dung hợp theo điểm 7, trong đó protein dung hợp này chứa trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.62.

9. Polynucleotit chứa trình tự nucleotit mã hóa protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8.

10. Tế bào vật chủ, chứa polynucleotit theo điểm 9.

11. Tế bào vật chủ theo điểm 10, trong đó tế bào vật chủ này bao gồm tế bào trứng chuột đồng Trung Quốc (tế bào CHO) hoặc tế bào thận khỉ mông xanh châu phi (tế bào COS).

12. Phương pháp sản xuất protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, bao gồm bước chèn polynucleotit mã hóa protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8 vào tế bào vật chủ và biểu hiện protein dung hợp này ở tế bào vật chủ.

13. Phương pháp theo điểm 12, trong đó polynucleotit mã hóa protein dung hợp này được liên kết điều khiển với vùng khởi đầu hoạt hóa ở tế bào vật chủ.

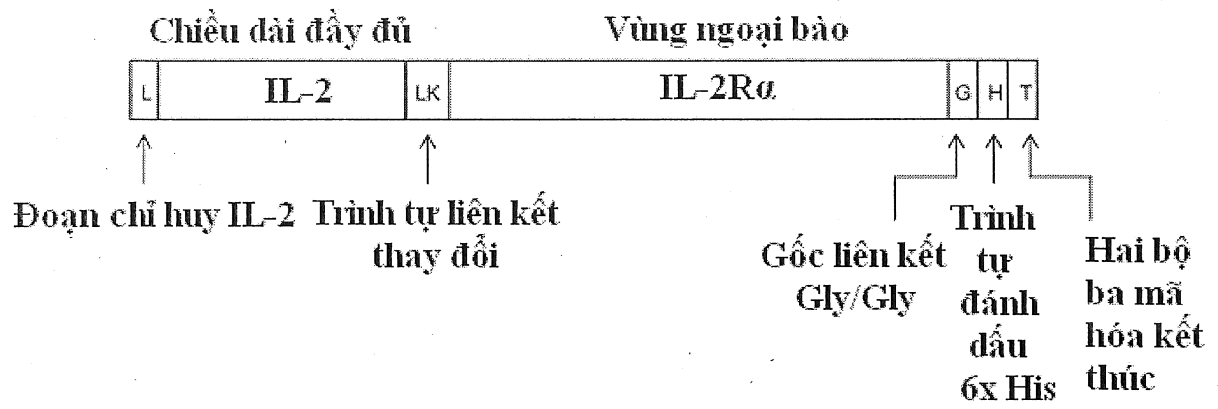


Fig.1

Trình tự protein suy luận	
Cấu trúc	
IL-2	MYSMQLASCVTLTIVLLVNSAFTSSSTSSSTAEAQCCQCCQCCQCCQHLQQLMDLQELLIS
IL-2-(G4S)4-IL-2R α	MDSMQLASCVTLTIVLLVNSAFTSSSTSSSTAEAQCCQ-CCQCCQCCQHLQQLMDLQELLIS
IL-2-(G4S)5-IL-2R α	MDSMQLASCVTLTIVLLVNSAFTSSSTSSSTAEAQCCQ-CCQCCQCCQHLQQLMDLQELLIS
IL-2-(G3S)4-IL-2R α	MDSMQLASCVTLTIVLLVNSAFTSSSTSSSTAEAQCCQ-CCQCCQCCQHLQQLMDLQELLIS
IL-2-(G3S)3-IL-2R α	MDSMQLASCVTLTIVLLVNSAFTSSSTSSSTAEAQCCQ-CCQCCQCCQHLQQLMDLQELLIS
IL-2R α	-----
IL-2	RMENYRNKLPRMLTFKFYLPKQATELKDQLQCLEDELGFLRHVLDLTQSKSFQLEDAENF
IL-2-(G4S)4-IL-2R α	RMENYRNKLPRMLTFKFYLPKQATELKDQLQCLEDELGFLRHVLDLTQSKSFQLEDAENF
IL-2-(G4S)5-IL-2R α	RMENYRNKLPRMLTFKFYLPKQATELKDQLQCLEDELGFLRHVLDLTQSKSFQLEDAENF
IL-2-(G3S)4-IL-2R α	RMENYRNKLPRMLTFKFYLPKQATELKDQLQCLEDELGFLRHVLDLTQSKSFQLEDAENF
IL-2-(G3S)3-IL-2R α	RMENYRNKLPRMLTFKFYLPKQATELKDQLQCLEDELGFLRHVLDLTQSKSFQLEDAENF
IL-2R α	-----
IL-2	ISNIRVTVVKLKGSNTTFECQFDDDESATVVDFLRWIAFCQSIISTSPQ-----
IL-2-(G4S)4-IL-2R α	ISNIRVTVVKLKGSNTTFECQFDDDESATVVDFLRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGGGGS-
IL-2-(G4S)5-IL-2R α	ISNIRVTVVKLKGSNTTFECQFDDDESATVVDFLRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGGGGS-
IL-2-(G3S)4-IL-2R α	ISNIRVTVVKLKGSNTTFECQFDDDESATVVDFLRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGGGGS---
IL-2-(G3S)3-IL-2R α	ISNIRVTVVKLKGSNTTFECQFDDDESATVVDFLRWIAFCQSIISTSPQGGGGSGG----
IL-2R α	-----
IL-2	-----
IL-2-(G4S)4-IL-2R α	----GGGGSGGGSELCLYDPPEVPNATFKALS YKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCL
IL-2-(G4S)5-IL-2R α	GGGGSGGGSGGGSELCLYDPPEVPNATFKALS YKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCL
IL-2-(G3S)4-IL-2R α	-----GGGGSGGGSELCLYDPPEVPNATFKALS YKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCL
IL-2-(G3S)3-IL-2R α	-----GGGGSELCLYDPPEVPNATFKALS YKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCL
IL-2R α	-----ELCLYDPPEVPNATFKALS YKNGTILNCECKRGFRRLKELVYMRCL
IL-2	-----
IL-2-(G4S)4-IL-2R α	GNSSSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCREEPPPW
IL-2-(G4S)5-IL-2R α	GNSSSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCREEPPPW
IL-2-(G3S)4-IL-2R α	GNSSSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCREEPPPW
IL-2-(G3S)3-IL-2R α	GNSSSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCREEPPPW
IL-2R α	GNSSSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTITDMQKPTQSMHQENLTGHCREEPPPW
IL-2	-----
IL-2-(G4S)4-IL-2R α	KHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHH
IL-2-(G4S)5-IL-2R α	KHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHH
IL-2-(G3S)4-IL-2R α	KHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHH
IL-2-(G3S)3-IL-2R α	KHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHH
IL-2R α	KHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDEREHH
IL-2	-----
IL-2-(G4S)4-IL-2R α	RFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTIDFPQPTETTAMTETTFVLTMEYKGGHHHHHHH
IL-2-(G4S)5-IL-2R α	RFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTIDFPQPTETTAMTETTFVLTMEYKGGHHHHHHH
IL-2-(G3S)4-IL-2R α	RFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTIDFPQPTETTAMTETTFVLTMEYKGGHHHHHHH
IL-2-(G3S)3-IL-2R α	RFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTIDFPQPTETTAMTETTFVLTMEYKGGHHHHHHH
IL-2R α	RFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTIDFPQPTETTAMTETTFVLTMEYK-----

Fig.2A

IL-2
IL-2-(G3S)2-IL-2Ra
IL-2-(G3S)3-IL-2Ra
IL-2-(G3S)4-IL-2Ra
IL-2-(G4S)4-IL-2Ra
IL-2Ra

MYRMQLLSCTIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLOLEHLLDLOMI LNGINNYKNPKLTRML
MDRMQLLSCTIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLOLEHLLDLOMI LNGINNYKNPKLTRML
MDRMQLLSCTIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLOLEHLLDLOMI LNGINNYKNPKLTRML
MDRMQLLSCTIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLOLEHLLDLOMI LNGINNYKNPKLTRML

IL-2
IL-2-(G3S)2-IL-2Ra
IL-2-(G3S)3-IL-2Ra
IL-2-(G3S)4-IL-2Ra
IL-2-(G4S)4-IL-2Ra
IL-2Ra

TFKFMPPKATTELKHLQCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSE
TFKFMPPKATTELKHLQCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSE
TFKFMPPKATTELKHLQCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSE
TFKFMPPKATTELKHLQCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSE
TFKFMPPKATTELKHLQCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSE

IL-2
IL-2-(G3S)2-IL-2Ra
IL-2-(G3S)3-IL-2Ra
IL-2-(G3S)4-IL-2Ra
IL-2-(G4S)4-IL-2Ra
IL-2Ra

TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT-----
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGS-----GGGSELCDODP
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGSGGG-----SGGGSGGGSELCDODP
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGSGGG-----SGGGSGGGSELCDODP
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGSGGGSGGGSGGGSGGGSELCDODP
-----ELCDDDP

IL-2
IL-2-(G3S)2-IL-2Ra
IL-2-(G3S)3-IL-2Ra
IL-2-(G3S)4-IL-2Ra
IL-2-(G4S)4-IL-2Ra
IL-2Ra

PEIPHATFKAMAYKEGTM LNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSSHSSWDNQCCTSSATR
PEIPHATFKAMAYKEGTM LNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSSHSSWDNQCCTSSATR
PEIPHATFKAMAYKEGTM LNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSSHSSWDNQCCTSSATR
PEIPHATFKAMAYKEGTM LNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSSHSSWDNQCCTSSATR
PEIPHATFKAMAYKEGTM LNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSSHSSWDNQCCTSSATR

IL-2
IL-2-(G3S)2-IL-2Ra
IL-2-(G3S)3-IL-2Ra
IL-2-(G3S)4-IL-2Ra
IL-2-(G4S)4-IL-2Ra
IL-2Ra

NITKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMV
NITKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMV
NITKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMV
NITKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMV
NITKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMV

IL-2
IL-2-(G3S)2-IL-2Ra
IL-2-(G3S)3-IL-2Ra
IL-2-(G3S)4-IL-2Ra
IL-2-(G4S)4-IL-2Ra
IL-2Ra

YYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRNTQPQLICTGEMETSQFPGEKPKQASPEGRPE
YYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRNTQPQLICTGEMETSQFPGEKPKQASPEGRPE
YYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRNTQPQLICTGEMETSQFPGEKPKQASPEGRPE
YYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRNTQPQLICTGEMETSQFPGEKPKQASPEGRPE
YYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRNTQPQLICTGEMETSQFPGEKPKQASPEGRPE

IL-2
IL-2-(G3S)2-IL-2Ra
IL-2-(G3S)3-IL-2Ra
IL-2-(G3S)4-IL-2Ra
IL-2-(G4S)4-IL-2Ra
IL-2Ra

SETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTEYQGGHHHHHH
SETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTEYQGGHHHHHH
SETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTEYQGGHHHHHH
SETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTEYQGGHHHHHH
SETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTEYQGGHHHHHH

Fig.2B

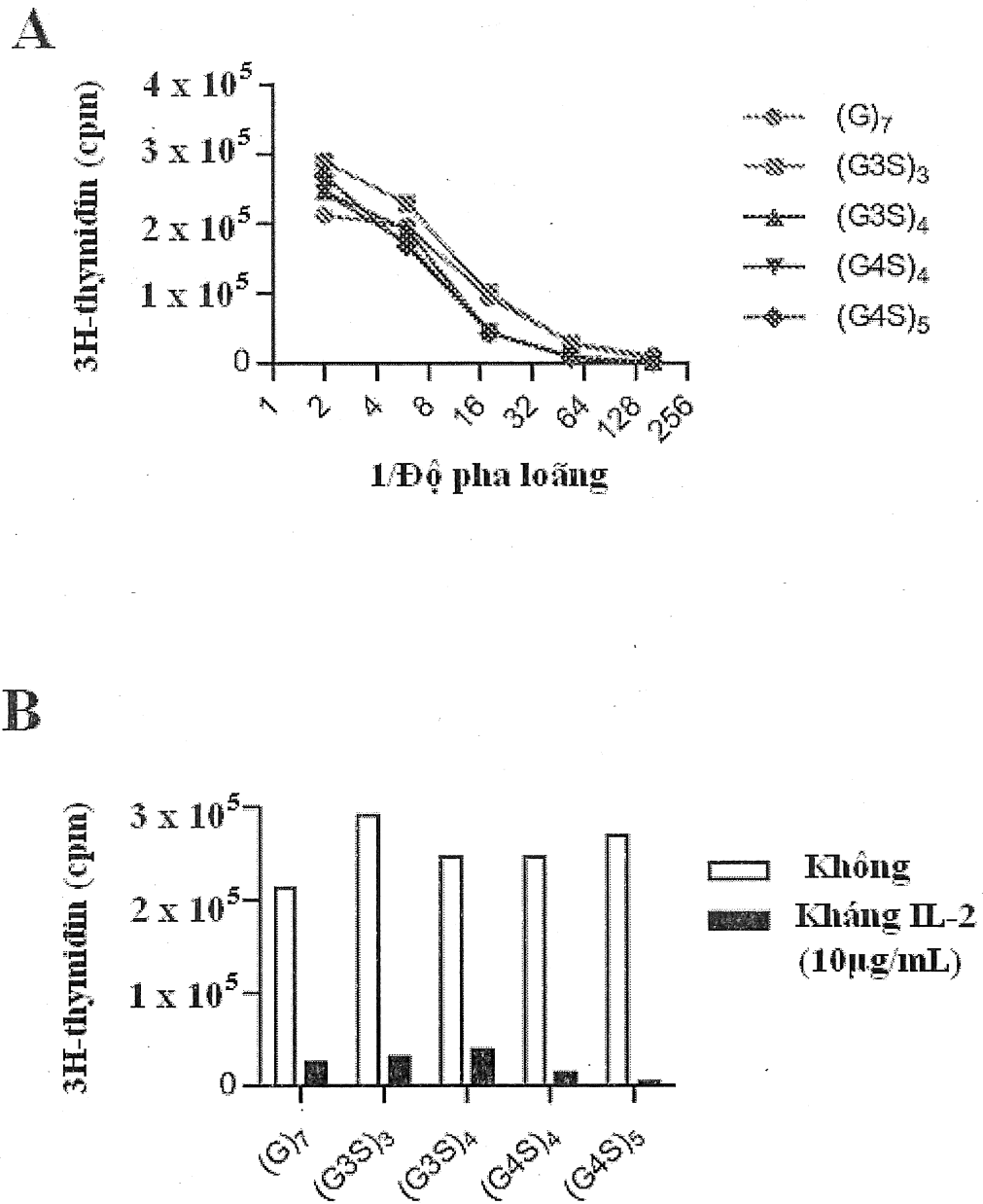
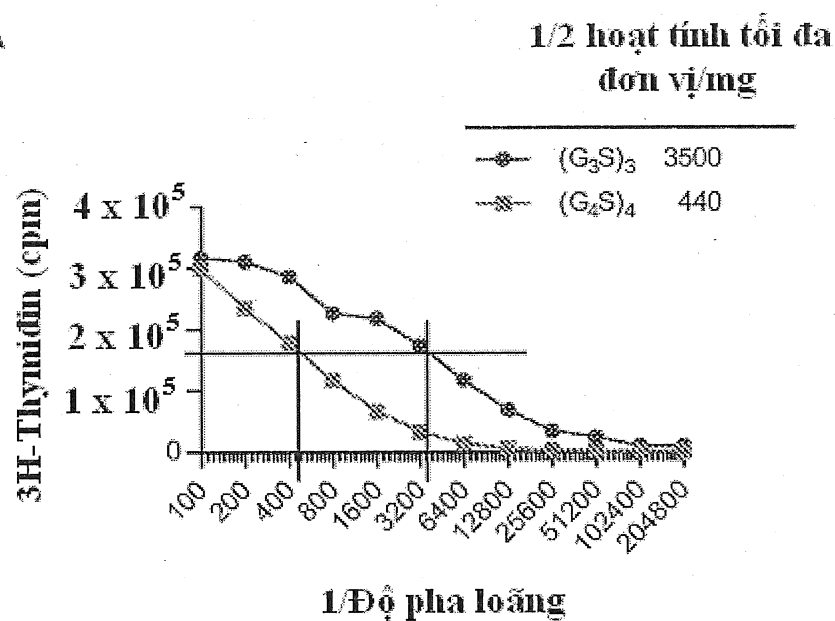


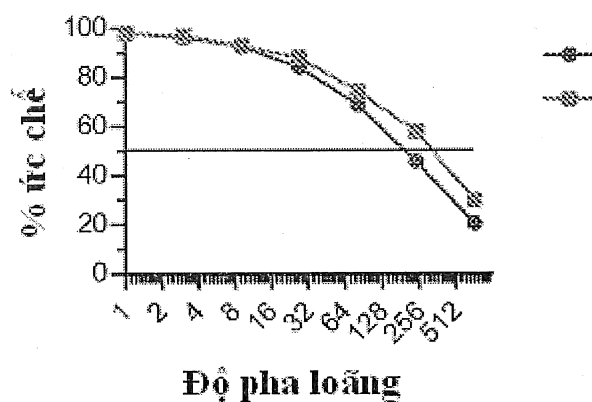
Fig.3

A



B

Kháng thể đơn dòng 7D4 kháng IL-2R α



Kháng thể đơn dòng PC61 kháng IL-2R α

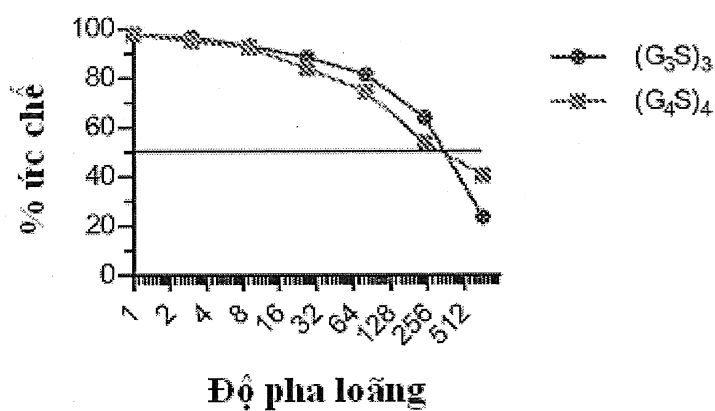


Fig.4

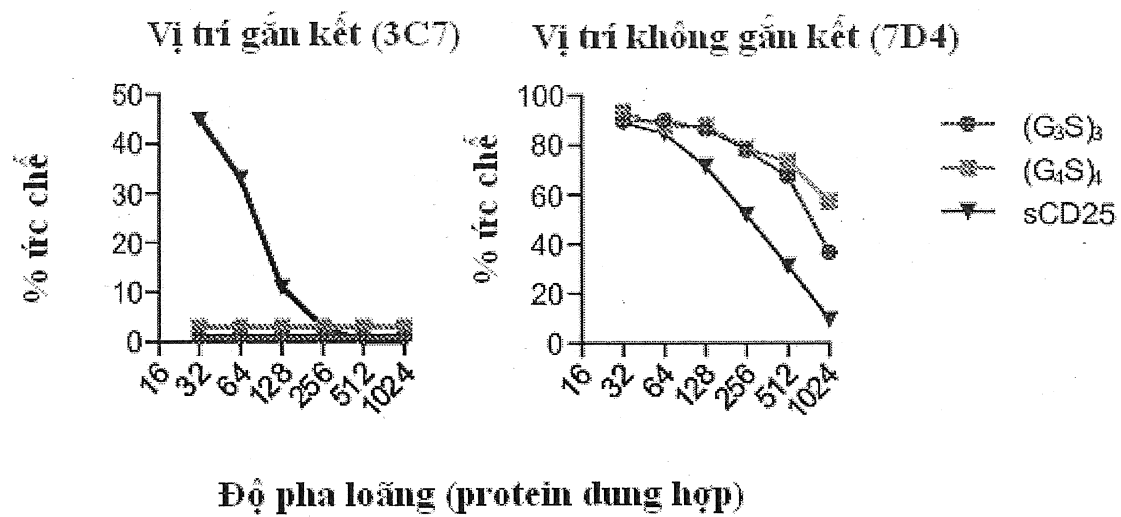


Fig.5

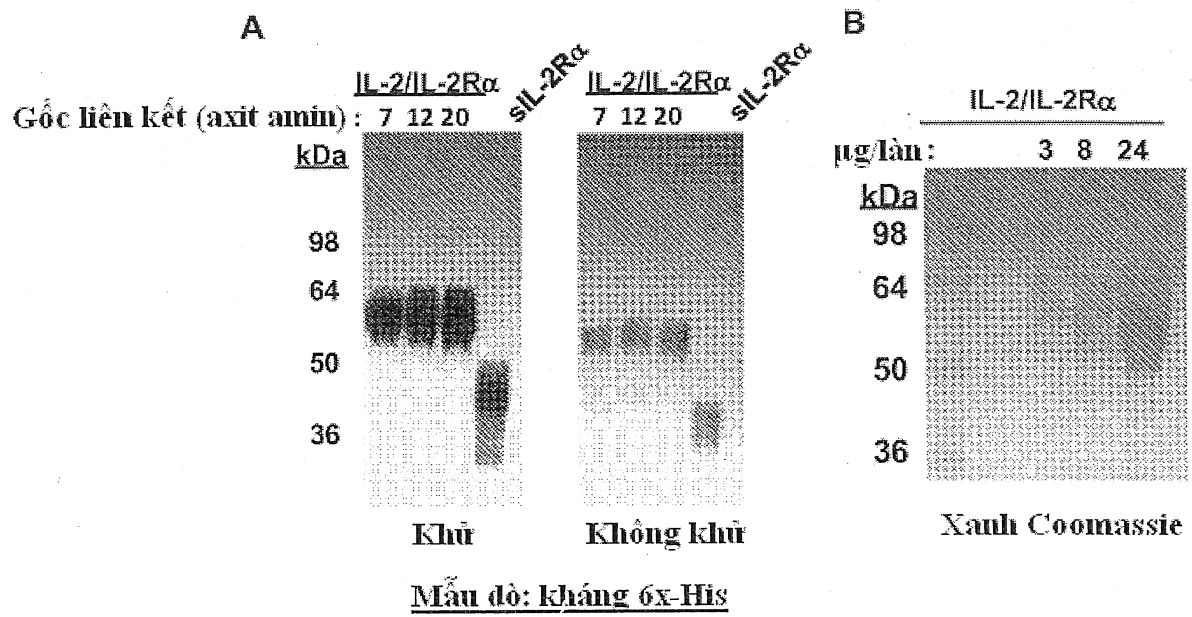
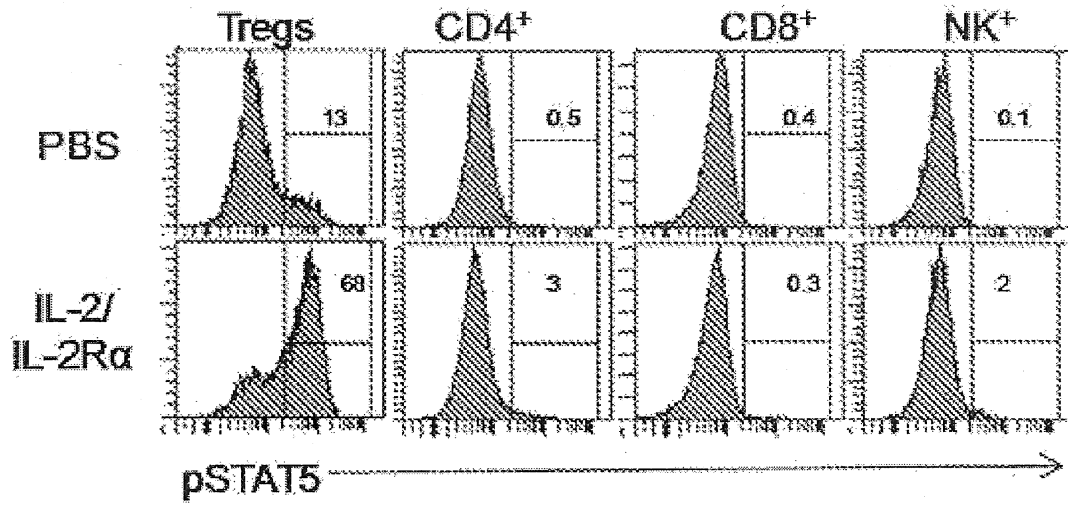


Fig.6

30 phút**Fig.7**

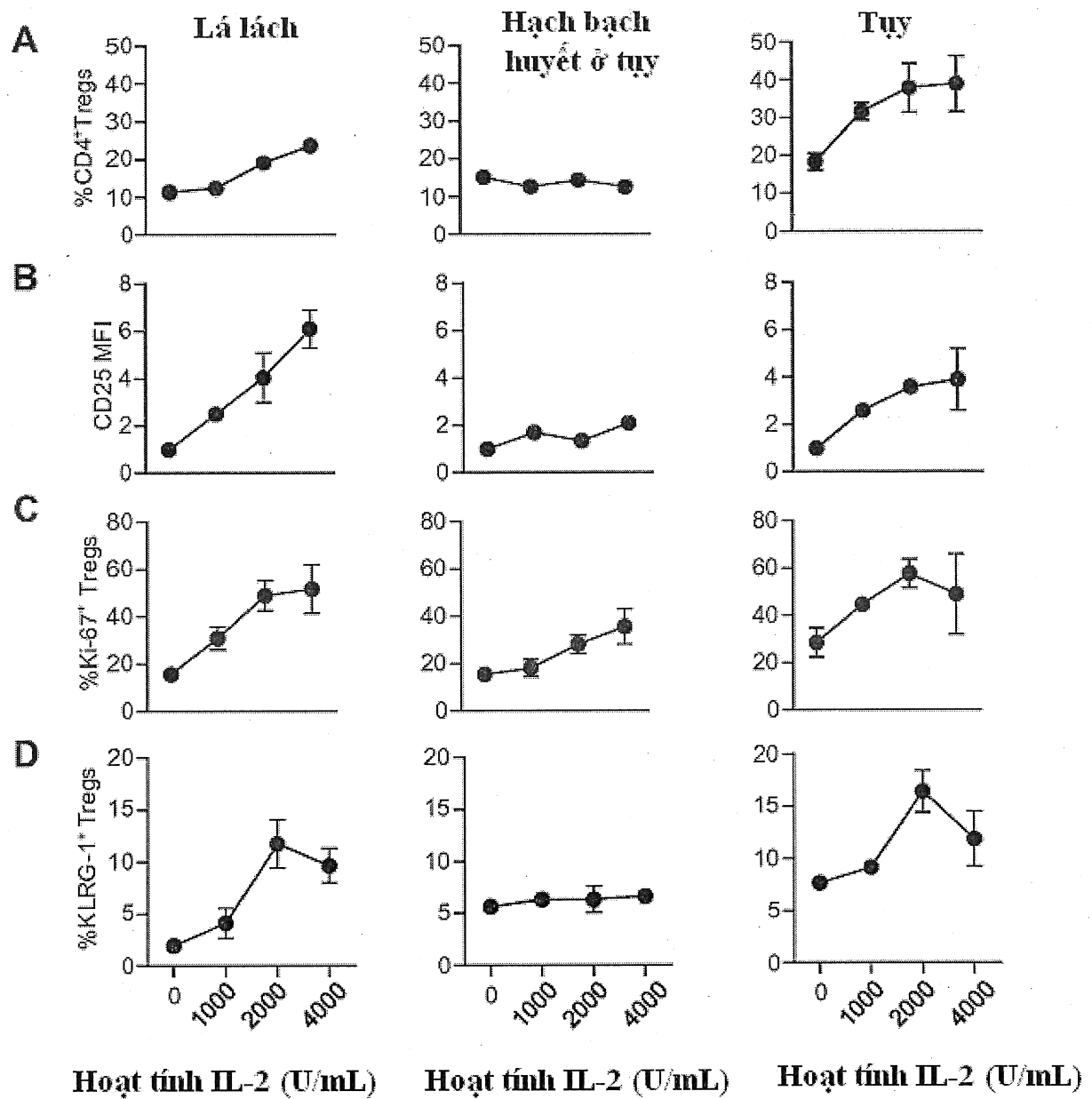
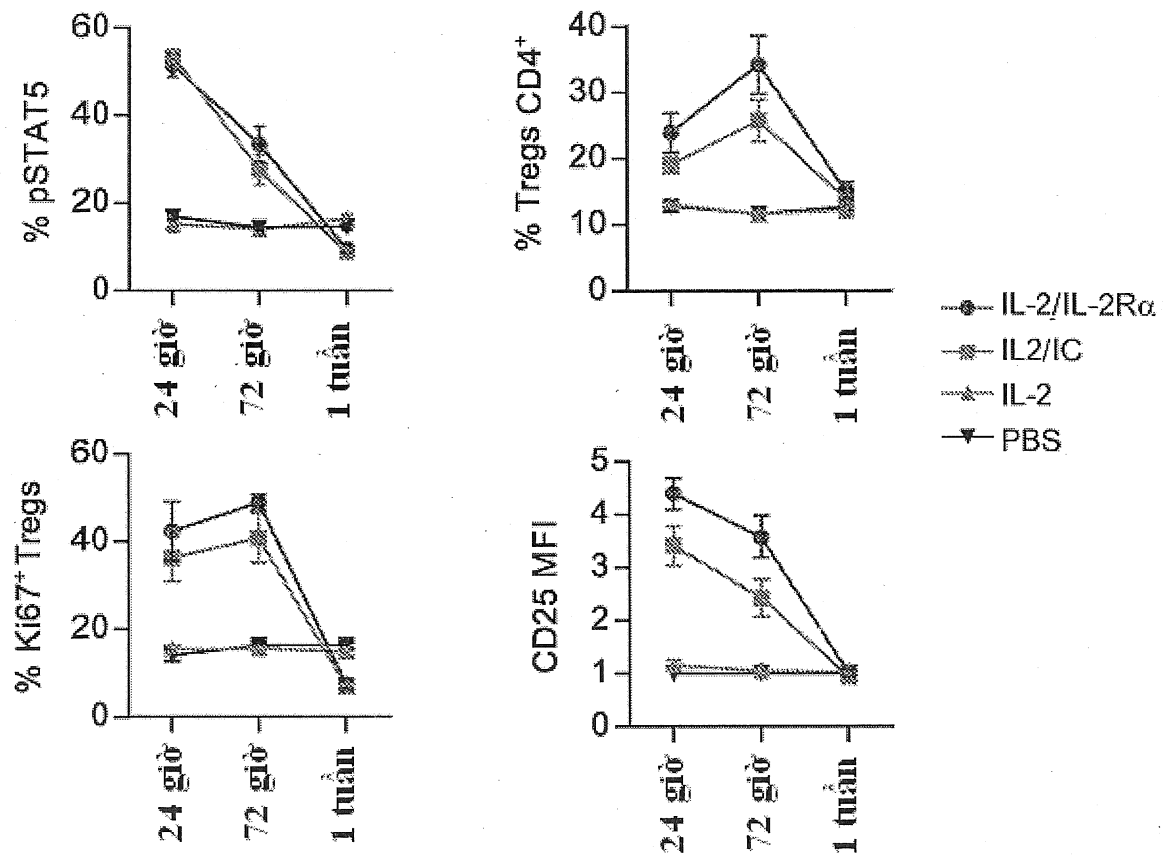


Fig.8

**Fig.9**

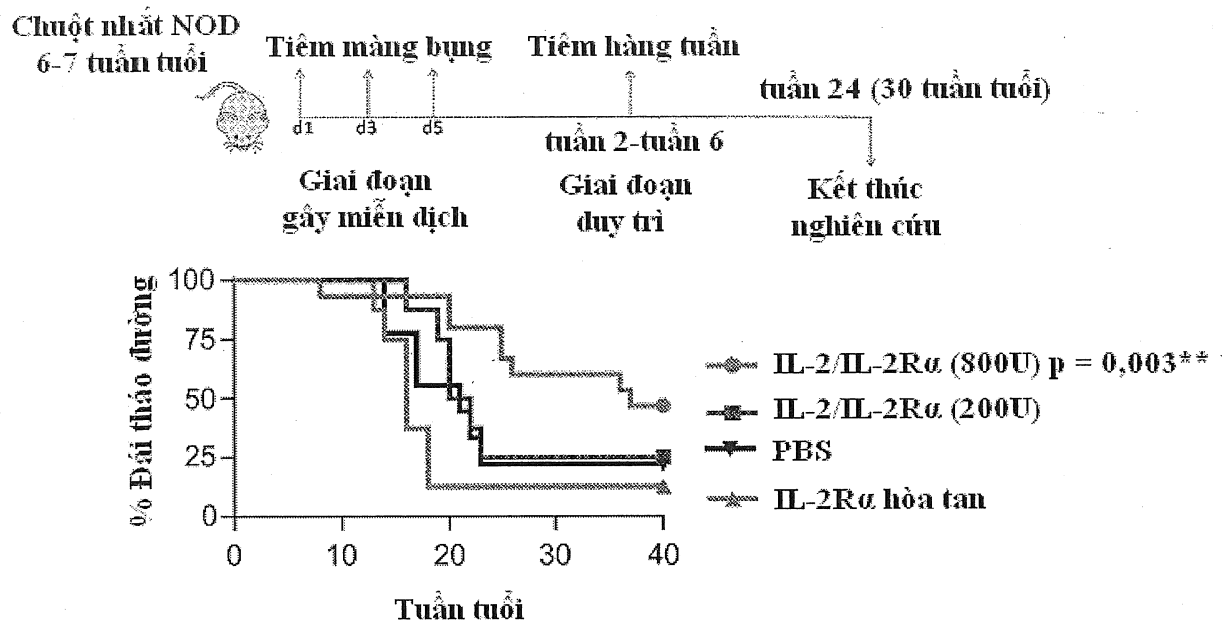


Fig.10

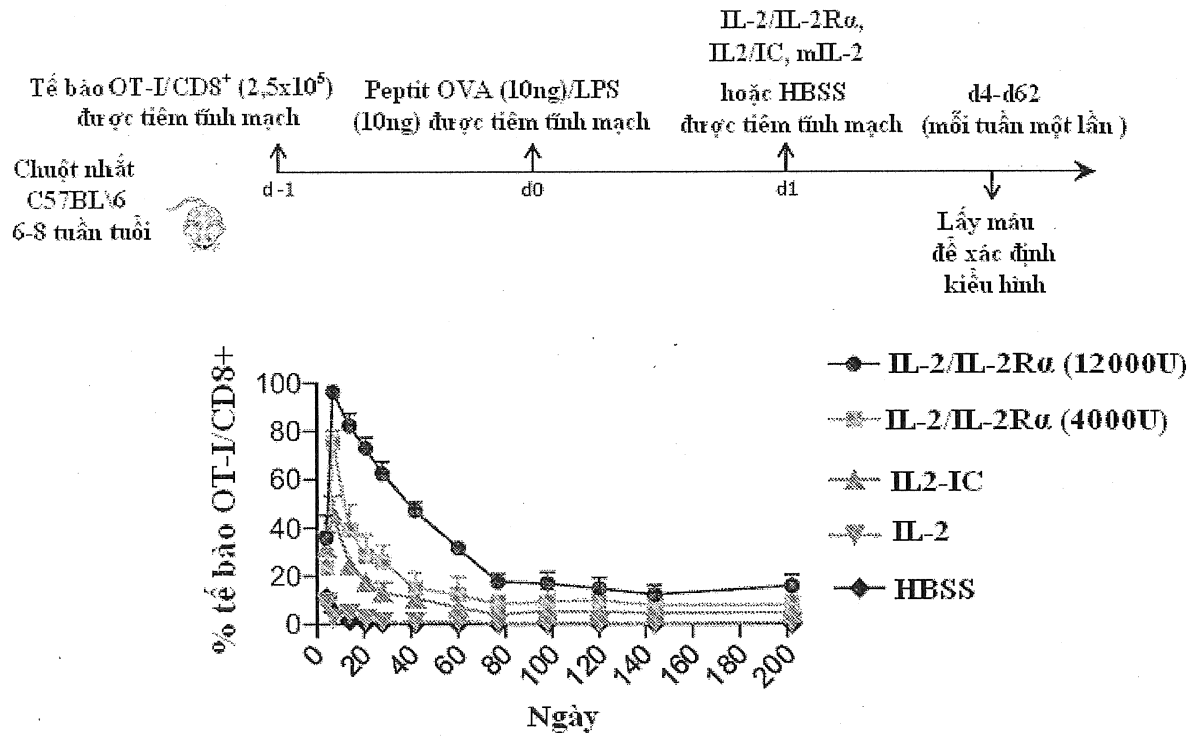


Fig.11

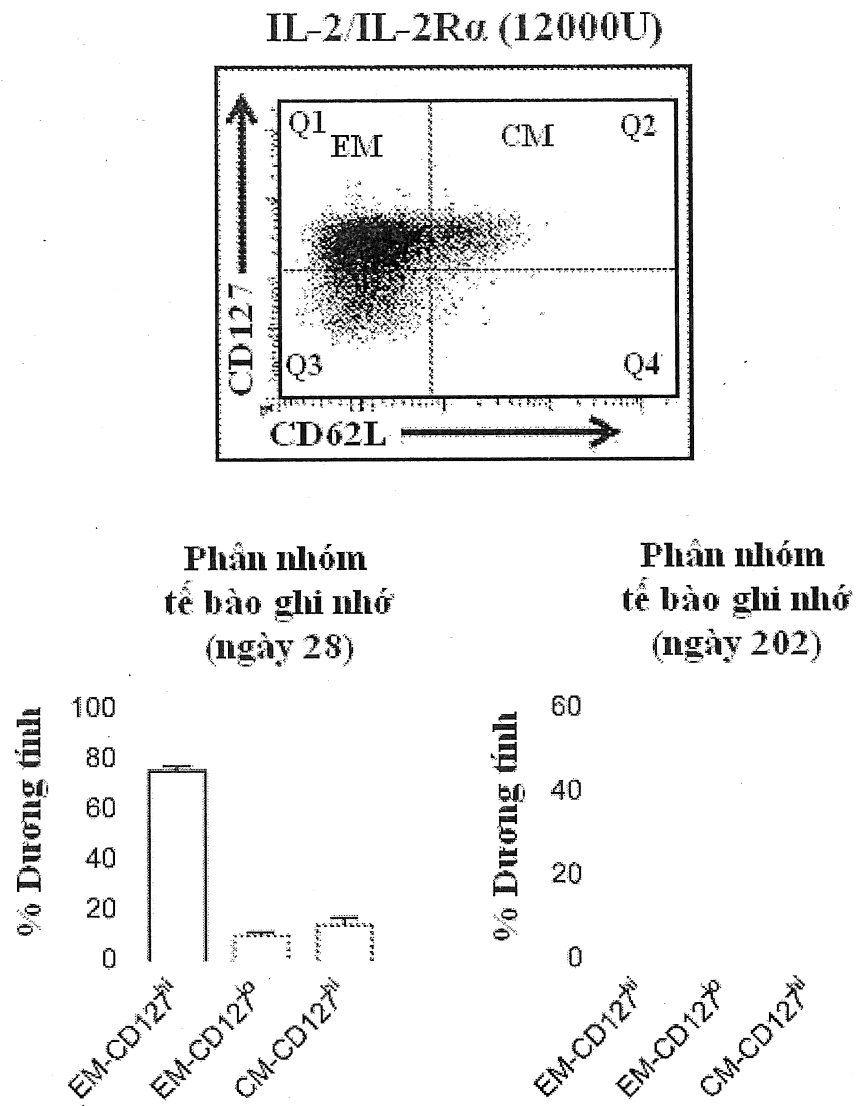
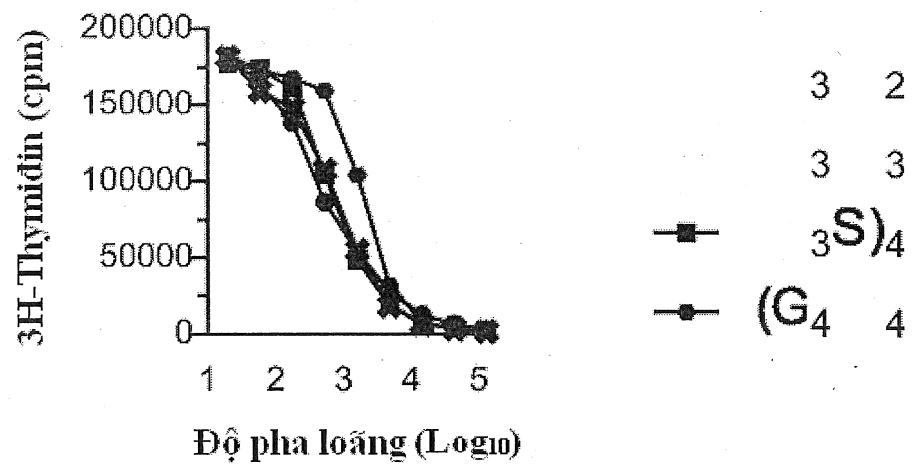
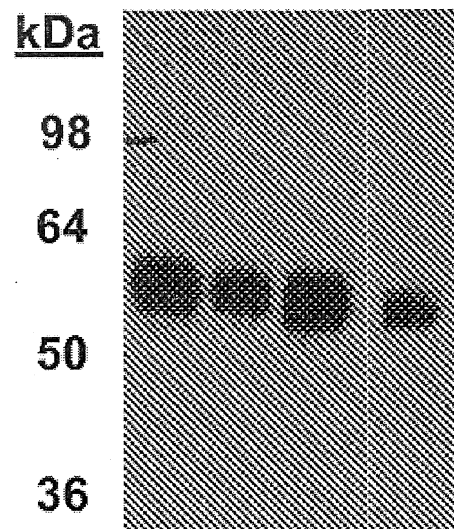


Fig.12

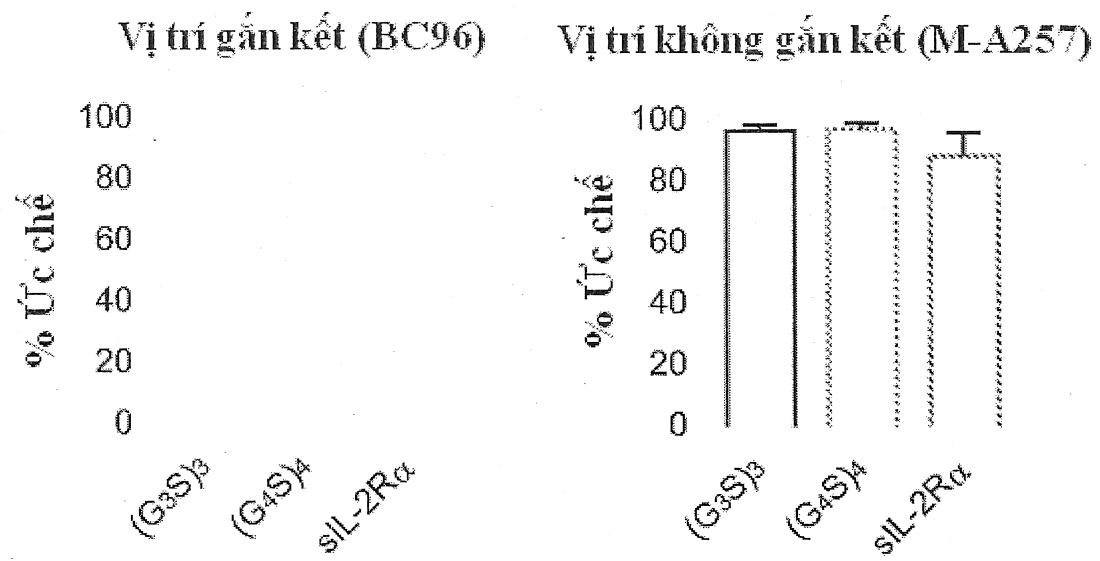


IL-2/IL-2R α
 Gốc liên kết (axit amin): 8 12 16 20



Mẫu dò: kháng 6x-His

Fig.13

**Fig.14**

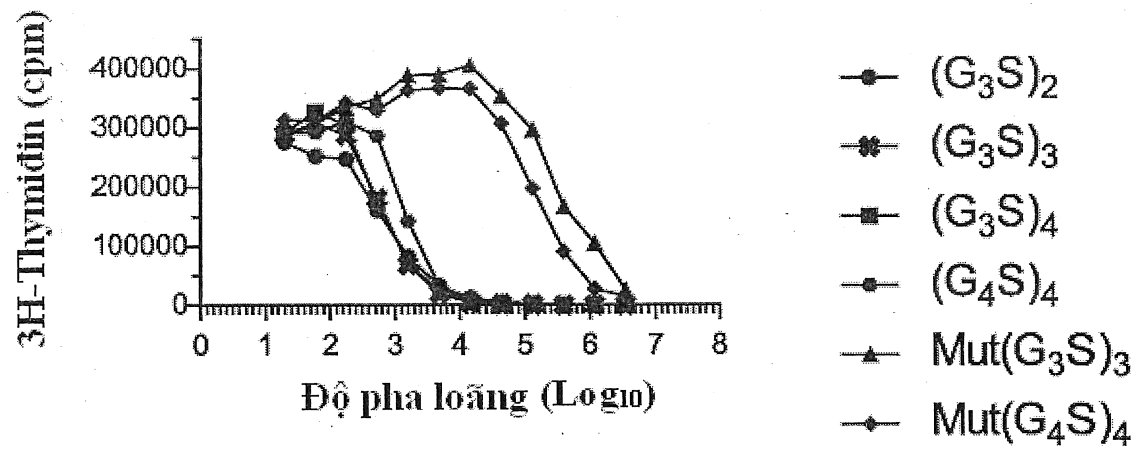


Fig.15

DANH MỤC TRÌNH TỰ

```

<110> UNIVERSITY OF MIAMI
<120> PROTEIN DUNG HỢP VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT PROTEIN NÀY
<130> 060569-464173
<150> US 62/033,726
<151> 2014-08-06
<160> 65
<170> FastSEQ for Windows Version 4.0
<210> 1
<211> 153
<212> PRT
<213> Homo sapeins
<400> 1
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1          5          10          15
Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
20          25          30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
35          40          45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
50          55          60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65          70          75          80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
85          90          95
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
100         105         110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115         120         125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130         135         140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
145         150
<210> 2
<211> 133
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 2
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1          5          10          15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20          25          30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35          40          45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50          55          60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65          70          75          80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85          90          95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100         105         110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115         120         125
Ile Ser Thr Leu Thr
130
<210> 3
<211> 169
<212> PRT
<213> Mus musculus
<400> 3
Met Tyr Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu
1          5          10          15
Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala
20          25          30
Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu
35          40          45
Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
50          55          60
Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
65          70          75          80
Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
85          90          95
Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
100         105         110
Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
115         120         125
Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp

```

130 135 140
 Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
 145 150 155 160
 Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln
 165
 <210> 4
 <211> 169
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 4
 Met Tyr Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu
 1 5 10 15
 Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala
 20 25 30
 Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu
 35 40 45
 Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
 50 55 60
 Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
 65 70 75 80
 Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
 85 90 95
 Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
 100 105 110
 Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
 115 120 125
 Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
 130 135 140
 Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
 145 150 155 160
 Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln
 165
 <210> 5
 <211> 272
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 5
 Met Asp Ser Tyr Leu Leu Met Trp Gly Leu Leu Thr Phe Ile Met Val
 1 5 10 15
 Pro Gly Cys Gln Ala Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro
 20 25 30
 His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn
 35 40 45
 Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr
 50 55 60
 Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys
 65 70 75 80
 Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro
 85 90 95
 Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro
 100 105 110
 Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro
 115 120 125
 Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val
 130 135 140
 Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His
 145 150 155 160
 Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg
 165 170 175
 Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln
 180 185 190
 Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu
 195 200 205
 Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr
 210 215 220
 Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
 225 230 235 240
 Val Ala Val Ala Gly Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Leu
 245 250 255
 Ser Gly Leu Thr Trp Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
 260 265 270
 <210> 6
 <211> 251
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 6
 Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
 1 5 10 15
 Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
 20 25 30

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
 35 40 45
 Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
 50 55 60
 Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
 65 70 75 80
 Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
 85 90 95
 Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
 100 105 110
 Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
 115 120 125
 Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
 130 135 140
 Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
 145 150 155 160
 Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
 165 170 175
 Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
 180 185 190
 Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr
 195 200 205
 Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln Val Ala Val Ala Gly
 210 215 220
 Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Leu Ser Gly Leu Thr Trp
 225 230 235 240
 Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
 245 250

<210> 7

<211> 219

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

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

<210> 8

<211> 268

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

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

His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys
 115 120 125
 His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val
 130 135 140
 His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala
 145 150 155 160
 Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro
 165 170 175
 Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser
 180 185 190
 Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser
 195 200 205
 Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala
 210 215 220
 Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Val Ala Val Ala
 225 230 235 240
 Ser Cys Leu Phe Leu Ile Ser Ile Leu Leu Ser Gly Leu Thr
 245 250 255
 Trp Gln His Arg Trp Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
 260 265

<210> 9

<211> 247

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys
 1 5 10 15
 Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
 20 25 30
 Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn
 35 40 45
 Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser
 50 55 60
 Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr
 65 70 75 80
 Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu
 85 90 95
 Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys
 100 105 110
 Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile
 115 120 125
 Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys
 130 135 140
 Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val
 145 150 155 160
 Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly
 165 170 175
 Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr
 180 185 190
 Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe
 195 200 205
 Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Val Ala Val Ala Ser Cys Leu Phe Leu
 210 215 220
 Leu Ile Ser Ile Leu Leu Ser Gly Leu Thr Trp Gln His Arg Trp
 225 230 235 240
 Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
 245

<210> 10

<211> 215

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

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

```

Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val
145                      150                      155                      160
Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly
                      165                      170                      175
Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr
                      180                      185                      190
Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe
                      195                      200                      205
Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys
                      210                      215
<210> 11
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Gốc liên kết (Gly3Ser)4
<400> 11
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1                      5                      10                      15
<210> 12
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Gốc liên kết (Gly3Ser)2
<400> 12
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1                      5
<210> 13
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Gốc liên kết (Gly3Ser)3
<400> 13
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1                      5                      10
<210> 14
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Gốc liên kết (Gly3Ser)5
<400> 14
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1                      5                      10                      15
Gly Gly Gly Ser
20
<210> 15
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Gốc liên kết Gly3
<400> 15
Gly Gly Gly
1
<210> 16
<211> 384
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R
<400> 16
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala Glu Ala Gln Gln
1                      5                      10                      15
Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu Glu Gln Leu Leu
20                      25                      30
Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn Tyr Arg Asn Leu
35                      40                      45
Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu Pro Lys Gln Ala
50                      55                      60
Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu Leu Gly Pro Leu
65                      70                      75                      80
Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe Gln Leu Glu Asp
85                      90                      95
Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val Val Lys Leu Lys
100                      105                      110
Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp Glu Ser Ala Thr
115                      120                      125

```

Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys Gln Ser Ile Ile
 130 135 140
 Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 145 150 155 160
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro
 165 170 175
 Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly
 180 185 190
 Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu
 195 200 205
 Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln
 210 215 220
 Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln
 225 230 235 240
 Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro
 245 250 255
 Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro
 260 265 270
 Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu
 275 280 285
 Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln
 290 295 300
 Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly
 305 310 315 320
 Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg
 325 330 335
 Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu
 340 345 350
 Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr
 355 360 365
 Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys
 370 375 380

<210> 17

<211> 404

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 17

Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu
 1 5 10 15
 Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala
 20 25 30
 Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu
 35 40 45
 Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
 50 55 60
 Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
 65 70 75 80
 Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
 85 90 95
 Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
 100 105 110
 Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
 115 120 125
 Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
 130 135 140
 Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
 145 150 155 160
 Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 165 170 175
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys
 180 185 190
 Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser
 195 200 205
 Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg
 210 215 220
 Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser
 225 230 235 240
 Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln
 245 250 255
 Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp
 260 265 270
 Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His
 275 280 285
 Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr
 290 295 300
 His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr
 305 310 315 320
 Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys


```

          325          330          335
Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg
          340          345          350
Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn
          355          360          365
Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe
          370          375          380
Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr
385          390          395          400
Met Glu Tyr Lys

```

<210> 18

<211> 389

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)5-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 18

```

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala Glu Ala Gln Gln
 1          5          10          15
Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu Glu Gln Leu Leu
          20          25          30
Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn Tyr Arg Asn Leu
          35          40          45
Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu Pro Lys Gln Ala
          50          55          60
Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu Leu Gly Pro Leu
65          70          75          80
Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe Gln Leu Glu Asp
          85          90          95
Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val Val Lys Leu Lys
          100          105          110
Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp Glu Ser Ala Thr
          115          120          125
Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys Gln Ser Ile Ile
          130          135          140
Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
145          150          155          160
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu
          165          170          175
Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu
          180          185          190
Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe
          195          200          205
Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp
          210          215          220
Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys
225          230          235          240
Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr
          245          250          255
Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly
          260          265          270
His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile
          275          280          285
Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly
          290          295          300
Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys
305          310          315          320
Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu
          325          330          335
Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg
          340          345          350
Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp
          355          360          365
Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu
          370          375          380
Thr Met Glu Tyr Lys
385

```

<210> 19

<211> 409

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)5-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 19

```

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

```

```

      35              40              45
Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
  50              55              60
Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
  65              70              75              80
Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
      85              90              95
Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
      100              105              110
Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
      115              120              125
Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
      130              135              140
Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
      145              150              155              160
Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
      165              170              175
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
      180              185              190
Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr
      195              200              205
Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys
      210              215              220
Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu
      225              230              235              240
Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp
      245              250              255
Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln
      260              265              270
Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu
      275              280              285
Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu Asp
      290              295              300
Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu
      305              310              315              320
Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile
      325              330              335
Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr
      340              345              350
Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser
      355              360              365
Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile
      370              375              380
Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu
      385              390              395              400
Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys
      405

```

<210> 20

<211> 380

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 20

```

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

```

```

Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn
210 215 220
Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln
225 230 235 240
Lys Glu Gln Gln Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met
245 250 255
His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys
260 265 270
His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val
275 280 285
His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala
290 295 300
Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro
305 310 315 320
Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser
325 330 335
Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser
340 345 350
Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala
355 360 365
Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys
370 375 380
<210> 21
<211> 400
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2 (Gly3Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R
<400> 21
Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu
1 5 10 15
Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala
20 25 30
Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu
35 40 45
Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
50 55 60
Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
65 70 75 80
Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
85 90 95
Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
100 105 110
Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
115 120 125
Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
130 135 140
Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
145 150 155 160
Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Ser Gly Gly Gly
165 170 175
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro
180 185 190
Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly
195 200 205
Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu
210 215 220
Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln
225 230 235 240
Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln
245 250 255
Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro
260 265 270
Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro
275 280 285
Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu
290 295 300
Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln
305 310 315 320
Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly
325 330 335
Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg
340 345 350
Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu
355 360 365
Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr
370 375 380
Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys
385 390 395 400

```

<210> 22
 <211> 372
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R
 <400> 22
 Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro
 145 150 155 160
 Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly
 165 170 175
 Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser
 180 185 190
 Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp
 195 200 205
 Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys
 210 215 220
 Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu
 225 230 235 240
 Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His
 245 250 255
 Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr
 260 265 270
 His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr
 275 280 285
 Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His
 290 295 300
 Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met
 305 310 315 320
 Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu
 325 330 335
 Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe
 340 345 350
 Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr
 355 360 365
 Thr Glu Tyr Gln
 370

<210> 23
 <211> 392
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R
 <400> 23
 Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30
 Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95
 Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
 100 105 110
 Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 115 120 125
 Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe

```

130      135      140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly
145      150      155      160
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys
165      170      175
Asp Asp Asp Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala
180      185      190
Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg
195      200      205
Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser
210      215      220
His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg
225      230      235      240
Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg
245      250      255
Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser
260      265      270
Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr
275      280      285
Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys
290      295      300
Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys
305      310      315      320
Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys
325      330      335
Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln
340      345      350
Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr
355      360      365
Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr
370      375      380
Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
385      390
<210> 24
<211> 368
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R
<400> 24
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1      5      10      15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20      25      30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35      40      45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50      55      60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65      70      75      80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85      90      95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100      105      110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115      120      125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130      135      140
Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro
145      150      155      160
His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn
165      170      175
Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr
180      185      190
Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys
195      200      205
Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro
210      215      220
Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro
225      230      235      240
Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro
245      250      255
Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val
260      265      270
Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His
275      280      285
Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg
290      295      300
Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln
305      310      315      320

```

Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu
 325 330 335
 Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr
 340 345 350
 Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
 355 360 365

<210> 25

<211> 388

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 25

Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30
 Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95
 Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
 100 105 110
 Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 115 120 125
 Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
 130 135 140
 Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro
 165 170 175
 Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly
 180 185 190
 Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser
 195 200 205
 Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp
 210 215 220
 Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys
 225 230 235 240
 Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu
 245 250 255
 Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His
 260 265 270
 Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr
 275 280 285
 His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr
 290 295 300
 Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His
 305 310 315 320
 Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met
 325 330 335
 Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu
 340 345 350
 Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Asp Phe
 355 360 365
 Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr
 370 375 380
 Thr Glu Tyr Gln

385

<210> 26

<211> 364

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)3-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 26

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
 145 150 155 160
 Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
 165 170 175
 Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
 180 185 190
 Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
 195 200 205
 Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
 210 215 220
 Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
 225 230 235 240
 Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
 245 250 255
 Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
 260 265 270
 Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
 275 280 285
 Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
 290 295 300
 Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
 305 310 315 320
 Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
 325 330 335
 Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
 340 345 350
 Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
 355 360

<210> 27

<211> 384

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)3-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 27

Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30
 Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95
 Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
 100 105 110
 Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 115 120 125
 Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
 130 135 140
 Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro
 165 170 175
 His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn
 180 185 190
 Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr
 195 200 205
 Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys
 210 215 220
 Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro
 225 230 235 240
 Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro
 245 250 255
 Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro
 260 265 270
 Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val
 275 280 285
 Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His

290 295 300
 Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg
 305 310 315 320
 Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln
 325 330 335
 Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu
 340 345 350
 Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr
 355 360 365
 Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
 370 375 380
 <210> 28
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự kozak được tối ưu đoạn chỉ huy IL-2
 <400> 28
 gccaccatgg acaggatgca actcctgtct tgcattgacac taagtcttgc acttgtcaca 60
 aacagt 66
 <210> 29
 <211> 1239
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R
 <400> 29
 atggacagca tgcagctcgc atcctgtgtc acattgacac ttgtgctcct tgtcaacagc 60
 gcaccacatt caagctctac ttcaagctct acagcggaag cacagcagca gcagcagcag 120
 cagcagcagc agcagcacct ggagcagctg ttgatggacc tacaggagct cctgagcagc 180
 atggagaatt acaggaacct gaaactcccc aggatgctca ccttcaaatt ttacttgccc 240
 aagcaggcca cagaattgaa agatcttcag tgcctagaag atgaacttgg acctctgcgc 300
 catgttcttg atttgactca aagcaaaaagc tttcaattgg aagatgctga gaatttcac 360
 agcaatatca gagtaactgt tgtaaaacta aagggtctctg acaacacatt tgagtgc 420
 ttctgatgat agtcagcaac tgtggtggac tttctgagga gatggatagc cttctgtcaa 480
 agcatcatct caacaagccc tcaaggtgga ggtggatctg gtggaggtgg atcaggtgga 540
 ggtggatccg gtggaggtgg atctgaactg tgtctgtatg acccaccgga ggtcccaat 600
 gccacattca aagcctctct ctacaagaac ggacccatcc taaactgtga atgcaagaga 660
 ggtttccgaa gactaaagga attggtctat atgcgttgc taggaaactc ctggagcagc 720
 aactgccagt gcaccagcaa ctccatgac aaatcgagaa agcaagttac agctcaact 780
 gaacaccaga aagagcaaca aaccacaaca gacatgcaga agccaacaca gtctatgcac 840
 caagagaacc ttacaggtca ctgcaggag ccacctcctt ggaaacatga agattccaag 900
 agaactatc atttcgtgga aggacagagt gttcactacg agtgatttcc gggatacaag 960
 gctctacaga gaggtcctgc tattagcatc tgcaagatga agtggtggaa aacgggtgg 1020
 actcagcccc agctcacatg ttagatgaa agagaacacc accgatttct ggctagttag 1080
 gaatctcaag gaagcagaaa ttcttctccc gagagtgaga cttcctgccc cataaccacc 1140
 acagacttcc cacaacccac agaaacaact gcaatgacgg agacatttgt gctcacaatg 1200
 gagtataagg gtggacatca ccatcaccat cactaataa 1239
 <210> 30
 <211> 1227
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R
 <400> 30
 atggacagca tgcagctcgc atcctgtgtc acattgacac ttgtgctcct tgtcaacagc 60
 gcaccacatt caagctctac ttcaagctct acagcggaag cacagcagca gcagcagcag 120
 cagcagcagc agcagcacct ggagcagctg ttgatggacc tacaggagct cctgagcagc 180
 atggagaatt acaggaacct gaaactcccc aggatgctca ccttcaaatt ttacttgccc 240
 aagcaggcca cagaattgaa agatcttcag tgcctagaag atgaacttgg acctctgcgc 300
 catgttcttg atttgactca aagcaaaaagc tttcaattgg aagatgctga gaatttcac 360
 agcaatatca gagtaactgt tgtaaaacta aagggtctctg acaacacatt tgagtgc 420
 ttctgatgat agtcagcaac tgtggtggac tttctgagga gatggatagc cttctgtcaa 480
 agcatcatct caacaagccc tcaaggtgga ggttctggtg gaggttcagg tggaggttcg 540
 ggtggaggtt ctgaactgtg tctgtatgac ccaccgagg tcccaatgc cacattcaaa 600
 gccctctcct acaagaacgg caccatccta aactgtgaat gcaagagagg tttccgaaga 660
 ctaaaggaat tggctctatg cggttgctta ggaaactcct ggagcagcaa ctgccagtgc 720
 accagcaact cccatgacaa atcgagaaag caagttacag ctcaacttga acaccagaaa 780
 gagcaacaaa ccacaacaga catgcagaag ccaacacagt ctatgcacca agagaacctt 840
 acaggtcact gcaggagacc acctccttgg aaacatgaag attccaagag aatctatcat 900
 ttctgtggaag gacagagtgt tcactacgag tgtattccgg gatacaaggc tctacagaga 960
 ggtcctgcta ttagcatctg caagatgaag tgtgggaaaa cggggtggac tcagccccag 1020
 ctacatgtg tagatgaaag agaaccacac cgatttctgg ctagttagga atctcaagga 1080
 agcagaaatt cttctcccga gagtgagact tctgccccca taaccaccac agacttccca 1140
 caaccacag aaacaactgc aatgacggag acatttgtgc tcacaatgga gtataagggt 1200
 ggacatcacc atcaccatca ctaataa 1227
 <210> 31
 <211> 1254
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2 (Gly4Ser)5-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 31

```

atggacagca tgcagctcgc atcctgtgtc acattgacac ttgtgctcct tgtcaacagc 60
gcaccacttc caagctctac ttcaagctct acagcggaag cacagcagca gcagcagcag 120
cagcagcagc agcagcacct ggagcagctg ttgatggacc tacaggagct cctgagcagg 180
atggagaatt acaggaacct gaaactcccc aggatgtctca ccttcaaatt ttacttgccc 240
aagcaggcca cagaattgaa agatcttcag tgcctagaag atgaacttgg acctctgcgg 300
catgttctgg atttgactca aagcaaaagc ttccaattgg aagatgtctga gaatttcatc 360
agcaatatca gagtaactgt tgtaaaacta aagggtctctg acaacacatt tgagtgtcaa 420
ttcgatgatg agtcagcaac tgtgtgtggac ttcttgagga gatggatagc cttctgtcaa 480
agcatcatct caacaagccc tcaaggttga ggtggatcag gtggaggtgg atctgtgtga 540
ggtggatcag gtggaggtgg atccggttga ggtggatctg aactgtgtct gtatgacca 600
cccgaggtcc ccaatgccac attcaaaagg ctctcctaca agaacggcac catcctaaac 660
tgtgaatgca agagaggttt ccgaagacta aaggaattgg tctatatgctg ttgcttagga 720
aactcctgga gcagcaactg ccagtgcacc agcaactccc atgacaaatc gagaaagcaa 780
gttacagctc aacttgaaca ccagaaagag caacaaacca caacagacat gcagaagcca 840
acacagctca tgcaccaaga gaaccttaca ggtcactgca gggagccacc tccttgga 900
catgaagatt ccaagagaat ctatcatttc gtggaaggac agagtgttca ctacgagtgt 960
attccgggat acaaggctct acagagaggt cctgctatta gcactctcaa gatgaagtgt 1020
gggaaacagg ggtggactca gcccagctc acatgtgtag atgaaagaga acaccaccga 1080
tttctgggcta gtgaggaatc tcaaggaagc agaaattctt ctcccagag tgagacttcc 1140
tgcccataa ccaccacaga cttcccaca cccacagaaa caactgcaat gacggagaca 1200
tttgtgtctc caatggagta taagggttga catcaccatc accatcacta ataa 1254

```

<210> 32

<211> 1206

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2 (Gly4Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 32

```

atggacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagtc 60
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaaactcac caggatgtct 180
acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
gaagaactca aacctctgga ggaagtgtca aatttagctc aaagcaaaaa ctttacttta 300
agaccagggt acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaaactaaa gggatctgaa 360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420
tggtattacct tttgtcaaag catcatctca aactgactg ttggaggtgg atctgtgtga 480
ggttgatcag gtgaggttgg atccggttga ggtggatctg agctctgtga cgtatgcccc 540
ccagagatcc cacacgccac attcaaaagg atggcctaca aggaaggaa catgttgaac 600
tgtgaatgca agagagttt ccgcagaata aaaagcgggt cactctatat gctctgtaca 660
ggaaactcta gccactcgtc ctgggacaac caatgtcaat gcacaagctc tgccactcgg 720
aacacaacga aacaagtgc acctcaacct gaagaacaga aagaaaggaa aaccacagaa 780
atgcaaaagg caatgcagcc agtggacca gcgagccttc caggtcactg cagggaaact 840
ccaccatggt aaaatgaagg cacagagaga atttatcatt tctgtgtggg gcagatggtt 900
tattatcagt gcgtccagg atacagggct ctacacagag gtctgtctga gagcgtctgc 960
aaaatgaccc acgggaagac aaggttgacc cagccccagc tcatatgcac aggtgaaatg 1020
gagaccagtc agtttccagg tgaagagaag cctcaggcaa gcccgaagg ccgtcctgag 1080
agtggagctt cctgcctcgt cacaacaaca gattttcaaa tacagacaga aatggctgca 1140
accatggaga cgtccatatt tacaacagag taccaggttg gacatcacca tcaccatcac 1200
taataa 1206

```

<210> 33

<211> 1194

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2 (Gly3Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 33

```

atggacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagtc 60
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaaactcac caggatgtct 180
acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
gaagaactca aacctctgga ggaagtgtca aatttagctc aaagcaaaaa ctttacttta 300
agaccagggt acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaaactaaa gggatctgaa 360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420
tggtattacct tttgtcaaag catcatctca aactgactg ttggaggttc tgggtggagt 480
tcagggtggg gttcgggttg aggttctgag ctctgtgacg atgacccgcc agagatccca 540
cacgccacat tcaaaagccat ggcctacaag gaaggaaacca tgttgaaactg tgaatgcaag 600
agagggtttc gcagaataaa aagcgggtca ctctatatgc tctgtacagg aaactctagc 660
cactcgtcct gggacaacca atgtcaatgc acaagctctg ccactcggaa cacaacgaaa 720
caagtgcac ctcaacctga agaacagaaa gaaaggaaaa ccacagaaat gcaaagtcca 780
atgcagccag tggaccaagc gagccttcca ggtcactgca gggaaactcc accatgggaa 840
aatgaagcca cacagagaat ttatcatttc gtggtggggc agatggttta ttatcagtgc 900
gtccagggat acagggctct acacagaggt cctgctgaga gcgtctgcaa aatgaccac 960
gggaagacaa ggtggacca gcccagctc atatgcacag gtgaaatgga gaccagtgc 1020
tttccagggt aagagaagcc tcaggcaagc cccgaaggcc gtctgtgag tgagacttcc 1080
tgctcgtgca caacaacaga ttttcaaata cagacagaaa tggctgcaac catggagacg 1140
tccattttaa caacagagta ccagggttga catcaccatc accatcacta ataa 1194

```

<210> 34
 <211> 1182
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)3-vùng ngoại bào của IL-2R
 <400> 34
 atggacagga tgcaactcct gtcttgacatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacacagt 60
 gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180
 acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcata aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 300
 agaccagggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360
 acaacattca tgtgtgaata gtctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420
 tggattacct tttgtcaaag catcatctca aacttgactg gtggagggtt tgggtggagg 480
 tcaggtggag gttcggagct ctgtgacgat gacccgccag agatcccaca cgccacattc 540
 aaagccatgg cctacaagga aggaaccatg ttgaactgtg aatgcaagag aggtttccgc 600
 agaataaaaa gcgggtcact ctatatgctc tgtacaggaa actctagcca ctcgtcctgg 660
 gacaaccaat gtcaatgcac aagctctgcc actcggaaca caacgaaaca agtgacacct 720
 caacctgaag aacagaaaga aaggaaaacc acagaaatgc aaagtccaat gcagccagtg 780
 gaccaagcga gccttcagg tcaactgcagg gaacctccac catgggaaaa tgaagccaca 840
 gagagaattt atcatttcgt ggtggggcag atgggtttatt atcagtgctc ccagggtatc 900
 agggctctac acagagggtc gtctgagagc gtctgcaaaa tgacccacgg gaagacaagg 960
 tggacccagc cccagctcat atgcacaggt gaaatggaga ccagtcagtt tccaggtgaa 1020
 gagaagcctc aggcaagccc cgaaggccgt cctgagagtg agacttcctg cctcgtcaca 1080
 acaacagatt ttcaaatata cacagaaatg gctgcaacca tggagacgtc catatttaca 1140
 acagagtacc aggggtggaca tcaccatcac catcactaat aa 1182
 <210> 35
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự kozak bảo thủ
 <400> 35
 gccgccrcca ugg 13
 <210> 36
 <211> 396
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)3-vùng ngoại bào của IL-2R
 <400> 36
 Met Tyr Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu
 1 5 10 15
 Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala
 20 25 30
 Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu
 35 40 45
 Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
 50 55 60
 Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
 65 70 75 80
 Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
 85 90 95
 Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
 100 105 110
 Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
 115 120 125
 Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
 130 135 140
 Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
 145 150 155 160
 Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 165 170 175
 Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro
 180 185 190
 Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn
 195 200 205
 Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met
 210 215 220
 Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn
 225 230 235 240
 Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln
 245 250 255
 Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met
 260 265 270
 His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys
 275 280 285
 His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val
 290 295 300

His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala
 305 310 315 320
 Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro
 325 330 335
 Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser
 340 345 350
 Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser
 355 360 365
 Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala
 370 375 380
 Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys
 385 390 395
 <210> 37
 <211> 396
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)3-vùng ngoại bào của IL-2R
 <400> 37
 Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu
 1 5 10 15
 Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala
 20 25 30
 Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu
 35 40 45
 Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
 50 55 60
 Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
 65 70 75 80
 Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
 85 90 95
 Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
 100 105 110
 Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
 115 120 125
 Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
 130 135 140
 Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
 145 150 155 160
 Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 165 170 175
 Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro
 180 185 190
 Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn
 195 200 205
 Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met
 210 215 220
 Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn
 225 230 235 240
 Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln
 245 250 255
 Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met
 260 265 270
 His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys
 275 280 285
 His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val
 290 295 300
 His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala
 305 310 315 320
 Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro
 325 330 335
 Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser
 340 345 350
 Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser
 355 360 365
 Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala
 370 375 380
 Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys
 385 390 395
 <210> 38
 <211> 397
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)5-vùng ngoại bào của IL-2R
 <400> 38
 Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95
 Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
 100 105 110
 Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 115 120 125
 Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
 130 135 140
 Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 145 150 155 160
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 165 170 175
 Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr
 180 185 190
 Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys
 195 200 205
 Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys
 210 215 220
 Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr
 225 230 235 240
 Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu
 245 250 255
 Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro
 260 265 270
 Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp
 275 280 285
 Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met
 290 295 300
 Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro
 305 310 315 320
 Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln
 325 330 335
 Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly
 340 345 350
 Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr
 355 360 365
 Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala
 370 375 380
 Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
 385 390 395

<210> 39

<211> 377

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2 của người(Gly4Ser)5-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 39

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

```

      210              215              220
Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu
225              230              235              240
Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala
      245              250              255
Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala
      260              265              270
Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln
      275              280              285
Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val
      290              295              300
Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile
305              310              315              320
Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro
      325              330              335
Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val
      340              345              350
Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu
      355              360              365
Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
      370              375

```

<210> 40

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Gốc liên kết (Gly4Ser)4

<400> 40

```

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1              5              10              15
Gly Gly Gly Ser
      20

```

<210> 41

<211> 25

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Gốc liên kết (Gly4Ser)5

<400> 41

```

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1              5              10              15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
      20              25

```

<210> 42

<211> 1215

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)3-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 42

```

atggacagca tgcagctcgc atcctgtgtc acattgacac ttgtgtctcct tgtcaacagc 60
gcacccactt caagctctac ttcaagctct acagcgggaag cacagcagca gcagcagcag 120
cagcagcagc agcagcacct ggagcagctg ttgatggacc tacaggagct cctgagcagg 180
atggagaatt acaggaacct gaaactccc aggatgctca ccttcaaatt ttacttgccc 240
aagcaggcca cagaattgaa agatcttcag tgcctagaag atgaacttgg acctctgcgg 300
catgttctgg atttgactca aagcaaaagc tttcaattgg aagatgctga gaatttcac 360
agcaatatca gagtaactgt tgtaaaaacta aagggtctcg acaacacatt tgagtgccea 420
ttcgtatgat agtcagcaac tgtggtggac tttctgagga gatggatagc cttctgtcaa 480
agcatcatct caacaagccc tcaaggtgga ggttctggtg gaggttcagg tggaggttcg 540
gaactgtgtc tgtatgaccc acccgaggtc cccaatgcca cattcaaagc cctctcctac 600
aagaacggca ccatcctaaa ctgtgaatgc aagagaggtt tccgaagact aaaggaattg 660
gtctatatgc gttgcttagg aaactcctgg agcagcaact gccagtgcac cagcaactcc 720
catgacaaat cgagaaagca agttacagct caacttgaac accagaaaga gcaacaaacc 780
acaacagaca tgcagaagcc aacacagtct atgcaccaag agaaccctac aggtcactgc 840
agggagccac ctcccttgga acatgaagat tccaagagaa tctatcattt cgtggaagga 900
cagagtgttc actacgagtg tattccggga tacaaggctc tacagagagg tcctgctatt 960
agcatctgca agatgaagtg tgggaaaacg ggttggaact agccccagct cacatgtgta 1020
gatgaaagag aacaccaccg atttctggct agtgaggaat ctcaaggaag cagaaattct 1080
tctcccgaga gtgagacttc ctgccccata accaccacag acttcccaca acccacagaa 1140
acaactgcaa tgacggagac atttgtgtc acaatggagt ataagggttg acatcaccat 1200
caccatcact aataa
      1215

```

<210> 43

<211> 360

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)2-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 43

```

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

```

```

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
  20                      25                      30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
  35                      40                      45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys
  50                      55                      60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
  65                      70                      75                      80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
  85                      90                      95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
  100                     105                     110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
  115                     120                     125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys
  130                     135                     140
Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala
  145                     150                     155                     160
Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg
  165                     170                     175
Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser
  180                     185                     190
His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg
  195                     200                     205
Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg
  210                     215                     220
Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser
  225                     230                     235                     240
Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr
  245                     250                     255
Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys
  260                     265                     270
Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys
  275                     280                     285
Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys
  290                     295                     300
Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln
  305                     310                     315                     320
Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr
  325                     330                     335
Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr
  340                     345                     350
Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
  355                     360

```

<210> 44

<211> 380

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)2-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 44

```

Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
  1                      5                      10                      15
Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
  20                      25                      30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
  35                      40                      45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
  50                      55                      60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
  65                      70                      75                      80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
  85                      90                      95
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
  100                     105                     110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
  115                     120                     125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
  130                     135                     140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
  145                     150                     155                     160
Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
  165                     170                     175
Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
  180                     185                     190
Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
  195                     200                     205
Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
  210                     215                     220
Ser Ala Thr Arg Asn Thr Lys Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu

```

```

225          230          235          240
Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
          245          250          255
Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
          260          265          270
Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
          275          280          285
Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
          290          295          300
Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
305          310          315          320
Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
          325          330          335
Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
          340          345          350
Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
          355          360          365
Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
          370          375          380
<210> 45
<211> 355
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly3)-vùng ngoại bào của IL-2R
<400> 45
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1          5          10          15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
          20          25          30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
          35          40          45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys
          50          55          60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65          70          75          80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
          85          90          95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
          100          105          110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
          115          120          125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro
          130          135          140
Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr
145          150          155          160
Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly
          165          170          175
Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp
          180          185          190
Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln
          195          200          205
Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met
          210          215          220
Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys
225          230          235          240
Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His
          245          250          255
Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg
          260          265          270
Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly
          275          280          285
Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu
          290          295          300
Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly
305          310          315          320
Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln
          325          330          335
Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr
          340          345          350
Glu Tyr Gln
          355
<210> 46
<211> 375
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3)-vùng ngoại bào của IL-2R
<400> 46

```

```

Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1          5          10          15
Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
          20          25          30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
          35          40          45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
          50          55          60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
          65          70          75          80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
          85          90          95
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
          100          105          110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
          115          120          125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
          130          135          140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Glu Leu Cys Asp
          145          150          155          160
Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr
          165          170          175
Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg
          180          185          190
Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His
          195          200          205
Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn
          210          215          220
Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys
          225          230          235          240
Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu
          245          250          255
Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu
          260          265          270
Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val
          275          280          285
Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys
          290          295          300
Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr
          305          310          315          320
Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala
          325          330          335
Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr
          340          345          350
Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser
          355          360          365
Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
          370          375

```

<210> 47

<211> 1170

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)2-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 47

```

atggacagga tgcaactcct gtcttgcatc gcactaagtc ttgcacttgt cacaacacagt 60
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaacctcac caggatgctc 180
acatttaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcata aatttagctc aaagcaaaaa ctttacttta 300
agaccagggt acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420
tggtattacct ttgtcaaag catcatctca aactgactg gtggagggtt tggtggagggt 480
tcagagctct gtgacgatga cccgccagag atcccacacg ccacattcaa agccatggcc 540
tacaaggaag gaaccatggt gaactgtgaa tgcaagagag gtttccgcag aataaaaagc 600
gggtcactct atatgctctg tacaggaac tctagccact cgtcctggga caaccaatgt 660
caatgcacaa gctctgccac tcggaacaca acgaaacaag tgacacctca acctgaagaa 720
cagaaagaaa ggaaaccac agaaatgcaa agtccaatgc agccagtgga ccaagcgagc 780
cttccagggt actgcaggga acctccacca tgggaaaatg aagccacaga gagaatttat 840
catttcgtgg ttgggcagat ggtttattat cagtgcgtcc agggatacag ggctctacac 900
agaggtcctg ctgagagcgt ctgcaaaatg acccagggga agacaagggt gaccagccc 960
cagctcatat gcacagggtg aatggagacc agtcagtttc cagggtgaaga gaagcctcag 1020
gcaagccccg aaggcgtcc tgagagttag acttctctgc tcgtcacaaac aacagatttt 1080
caaatacaga cagaaatggc tgcaaccatg gagacgtcca tatttacaac agagtaccag 1140
ggtggacatc accatcacca tcactaataa
1170

```

<210> 48

<211> 1155

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3)-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 48

```

atggacagga tgcaactcct gtcttgcat gactaagtc ttgcaacttgt cacaacacagt 60
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaaactcac caggatgctc 180
acattttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcga aatttagctc aaagcaaaaa ctttcaactta 300
agaccacaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420
tggtattacct tttgtcaaag catcatctca aactgactg gtggaggtga gctctgtgac 480
gatgacccgc cagagatccc acacgccaca ttcaaagcca tggcctacaa ggaaggaacc 540
atgttgaact gtgaatgcaa gagagggttc cgcagaataa aaagcgggtc actctatatg 600
ctctgtacag gaaactctag ccactcgtcc tgggacaacc aatgtcaatg cacaagctct 660
gccactcgga acacaacgaa acaagtgaca cctcaacctg aagaacagaa agaaaggaaa 720
accacagaaa tgcaaatgcc aatgcagcca gtggaccaag cgagccttcc aggtcactgc 780
agggaaacct caccatggga aaatgaagcc acagagagaa tttatcattt cgtggtgggg 840
cagatgggtt attatcagt cgtccaggga tacagggtcc tacacagagg tctgtctgag 900
agcgtctgca aaatgaccca cgggaagaca aggtggaccc agccccagct catatgcaca 960
ggtgaaatgg agaccagtca gtttcaggt gaagagaagc ctccaggcaag ccccgaggc 1020
cgtctcgaga gtgagacttc ctgcctcgtc acaacaacag attttcaa atacagacaga 1080
atggctgcaa ccatggagac gtccatattt acaacagagt accagggtgg acatcaccat 1140
caccatcact aataa 1155

```

<210> 49

<211> 1221

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)5-vùng ngoại bào của IL-2R

<400> 49

```

atggacagga tgcaactcct gtcttgcat gactaagtc ttgcaacttgt cacaacacagt 60
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaaactcac caggatgctc 180
acattttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcga aatttagctc aaagcaaaaa ctttcaactta 300
agaccacaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420
tggtattacct tttgtcaaag catcatctca aactgactg gtggaggtgg atcaggtgga 480
ggtggatctg gtggaggtgg atcaggtgga ggtggatcgg gtggaggtgg atctgagctc 540
tgtgacgatg acccgccaga gatcccacac gccacattca aagccatggc ctacaaggaa 600
ggaacatgt tgaactgtga atgcaagaga ggtttccgca gaataaaaag cgggtcactc 660
tatatgctct gtacagga aa ctctagccac tcgtcctggg acaaccaatg tcaatgcaca 720
agctctgcca ctccggaac aacgaaacaa gtgacaccto aacctgaaga acagaaagaa 780
aggaaaacca cagaaatgca aagtccaatg cagccagtgg accaagcgag ccttccaggt 840
cactgcaggg aacctccacc atgggaaaat gaagccacag agagaattta tcatttcgtg 900
gtggggcaga tgggttatta tcagtgcgtc cagggataca gggctctaca cagaggtcct 960
gctgagagcg tctgcaaaat gacccacggg aagacaaggt ggacccagcc ccagctcata 1020
tgcacaggtg aaatggagac cagtcagttt ccagggtgaag agaagcctca ggcaagcccc 1080
gaagccgctc ctgagagtga gacttcctgc ctctgcacaa caacagattt tcaaatcacg 1140
acagaaatgg ctgcaacat ggagacgtcc atatttacaa cagagtacca ggtggacat 1200
caccatcacc atcactaata a 1221

```

<210> 50

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Gốc liên kết (Gly4Ser)3

<400> 50

```

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1           5           10           15

```

<210> 51

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Gốc liên kết (Gly4Ser)2

<400> 51

```

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1           5           10

```

<210> 52

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Gốc liên kết (Gly4Ser)1

<400> 52

```

Gly Gly Gly Gly Ser
1           5

```

<210> 53

<211> 10
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự kozak
 <400> 53
 gccacccatgg 10
 <210> 54
 <211> 412
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R+vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin
 <400> 54
 Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu
 1 5 10 15
 Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala
 20 25 30
 Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu
 35 40 45
 Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
 50 55 60
 Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
 65 70 75 80
 Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
 85 90 95
 Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
 100 105 110
 Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
 115 120 125
 Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
 130 135 140
 Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
 145 150 155 160
 Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 165 170 175
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys
 180 185 190
 Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser
 195 200 205
 Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg
 210 215 220
 Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser
 225 230 235 240
 Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln
 245 250 255
 Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp
 260 265 270
 Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His
 275 280 285
 Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr
 290 295 300
 His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr
 305 310 315 320
 Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys
 325 330 335
 Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg
 340 345 350
 Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn
 355 360 365
 Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe
 370 375 380
 Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr
 385 390 395 400
 Met Glu Tyr Lys Gly Gly His His His His His His
 405 410
 <210> 55
 <211> 417
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)5-vùng ngoại bào của IL-2R+vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin
 <400> 55
 Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu
 1 5 10 15
 Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala
 20 25 30

Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu
 35 40 45
 Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
 50 55 60
 Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
 65 70 75 80
 Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
 85 90 95
 Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
 100 105 110
 Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
 115 120 125
 Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
 130 135 140
 Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
 145 150 155 160
 Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 165 170 175
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 180 185 190
 Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr
 195 200 205
 Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys
 210 215 220
 Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu
 225 230 235 240
 Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His Asp
 245 250 255
 Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu Gln
 260 265 270
 Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln Glu
 275 280 285
 Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu Asp
 290 295 300
 Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr Glu
 305 310 315 320
 Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile
 325 330 335
 Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr
 340 345 350
 Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser
 355 360 365
 Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile
 370 375 380
 Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu
 385 390 395 400
 Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Gly Gly His His His His His
 405 410 415

His

<210> 56

<211> 408

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2 (Gly3Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R+vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin

<400> 56

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

```

      180      185      190
Pro Glu Val Pro Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly
      195      200      205
Thr Ile Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Leu Lys Glu
      210      215      220
Leu Val Tyr Met Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln
      225      230      235      240
Cys Thr Ser Asn Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln
      245      250      255
Leu Glu His Gln Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro
      260      265      270
Thr Gln Ser Met His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro
      275      280      285
Pro Pro Trp Lys His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu
      290      295      300
Gly Gln Ser Val His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln
      305      310      315      320
Arg Gly Pro Ala Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly
      325      330      335
Trp Thr Gln Pro Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg
      340      345      350
Phe Leu Ala Ser Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu
      355      360      365
Ser Glu Thr Ser Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr
      370      375      380
Glu Thr Thr Ala Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys
      385      390      395      400
Gly Gly His His His His His His
      405

```

<210> 57

<211> 404

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)3-vùng ngoại bào của IL-2R+vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin

<400> 57

```

Met Asp Ser Met Gln Leu Ala Ser Cys Val Thr Leu Thr Leu Val Leu
  1          5          10          15
Leu Val Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala
      20          25          30
Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln His Leu
      35          40          45
Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn
      50          55          60
Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Leu
      65          70          75          80
Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu
      85          90          95
Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Leu Thr Gln Ser Lys Ser Phe
      100          105          110
Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg Val Thr Val
      115          120          125
Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp
      130          135          140
Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile Ala Phe Cys
      145          150          155          160
Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln Gly Gly Ser Gly Gly Gly
      165          170          175
Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro
      180          185          190
Asn Ala Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn
      195          200          205
Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met
      210          215          220
Arg Cys Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn
      225          230          235          240
Ser His Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln
      245          250          255
Lys Glu Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met
      260          265          270
His Gln Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys
      275          280          285
His Glu Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val
      290          295          300
His Tyr Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala
      305          310          315          320
Ile Ser Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro
      325          330          335
Gln Leu Thr Cys Val Asp Glu Arg Glu His His Arg Phe Leu Ala Ser

```

```

      340      345      350
Glu Glu Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ser Ser Pro Glu Ser Glu Thr Ser
      355      360      365
Cys Pro Ile Thr Thr Thr Asp Phe Pro Gln Pro Thr Glu Thr Thr Ala
      370      375      380
Met Thr Glu Thr Phe Val Leu Thr Met Glu Tyr Lys Gly Gly His His
385      390      395      400
His His His His
<210> 58
<211> 388
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)2-vùng ngoại bào của IL-2R+vùng đệm glyxin
và vùng polyhistidin
<400> 58
Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1      5      10      15
Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
      20      25      30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
      35      40      45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
      50      55      60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65      70      75      80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
      85      90      95
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
      100      105      110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
      115      120      125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
      130      135      140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145      150      155      160
Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
      165      170      175
Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
      180      185      190
Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
      195      200      205
Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
      210      215      220
Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
225      230      235      240
Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
      245      250      255
Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
      260      265      270
Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
      275      280      285
Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
      290      295      300
Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
305      310      315      320
Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
      325      330      335
Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
      340      345      350
Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
      355      360      365
Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln Gly Gly His His
      370      375      380
His His His His
385
<210> 59
<211> 392
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)3-vùng ngoại bào của IL-2R+vùng đệm glyxin
và vùng polyhistidin
<400> 59
Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1      5      10      15
Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
      20      25      30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
      35      40      45

```

```

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50          55          60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65          70          75          80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
          85          90          95
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
          100          105          110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
          115          120          125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
          130          135          140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Gly Gly Gly
          145          150          155          160
Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro
          165          170          175
His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn
          180          185          190
Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr
          195          200          205
Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys
          210          215          220
Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro
          225          230          235          240
Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro
          245          250          255
Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro
          260          265          270
Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val
          275          280          285
Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His
          290          295          300
Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg
          305          310          315          320
Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln
          325          330          335
Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu
          340          345          350
Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr
          355          360          365
Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
          370          375          380
Gly Gly His His His His His His
          385          390

```

<210> 60

<211> 396

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly3Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R+vùng đệm glyxin và vùng polyhistidin

<400> 60

```

Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1          5          10          15
Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
          20          25          30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
          35          40          45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
          50          55          60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
          65          70          75          80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
          85          90          95
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
          100          105          110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
          115          120          125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
          130          135          140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Gly Gly Gly
          145          150          155          160
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro
          165          170          175
Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly
          180          185          190
Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser
          195          200          205
Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp
          210          215          220

```

```

Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys
225                230                235                240
Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu
                245                250                255
Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His
                260                265                270
Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr
                275                280                285
His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr
                290                295                300
Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His
305                310                315                320
Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met
                325                330                335
Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu
                340                345                350
Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe
                355                360                365
Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr
                370                375                380
Thr Glu Tyr Gln Gly Gly His His His His His His
385                390                395
<210> 61
<211> 400
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R+vùng đệm glyxin
và vùng polyhistidin
<400> 61
Met Asp Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1                5                10                15
Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
                20                25                30
Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
                35                40                45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
50                55                60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65                70                75                80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
                85                90                95
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
100                105                110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115                120                125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130                135                140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly
145                150                155                160
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys
165                170                175
Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala
180                185                190
Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg
195                200                205
Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser
210                215                220
His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg
225                230                235                240
Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg
                245                250                255
Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser
260                265                270
Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr
275                280                285
Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys
290                295                300
Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys
305                310                315                320
Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys
                325                330                335
Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln
340                345                350
Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr
355                360                365
Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr
370                375                380
Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln Gly Gly His His His His His
385                390                395                400

```

<210> 62
 <211> 364
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2 (Gly3Ser)3-vùng ngoại bào của IL-2R đột biến
 <400> 62

```

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1           5           10           15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
           20           25           30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
           35           40           45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
           50           55           60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65           70           75           80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
           85           90           95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
           100          105          110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
           115          120          125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130          135          140
Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe
145          150          155          160
Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys
           165          170          175
Arg Gly Phe Thr Ser Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr
           180          185          190
Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser
           195          200          205
Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu
210          215          220
Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val
225          230          235          240
Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu
           245          250          255
Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val
           260          265          270
Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala
           275          280          285
Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro
290          295          300
Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu
305          310          315          320
Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser
           325          330          335
Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala
           340          345          350
Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
           355          360

```

<210> 63
 <211> 1182
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2 (Gly3Ser)3-vùng ngoại bào của IL-2R đột biến
 <400> 63

```

atggacagga tgcaactcct gtcttgacatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagct 60
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180
acattttaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcaactta 300
agaccagggg accttaacag caatatcaac gtaatagtgc tggaactaaa gggatctgaa 360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420
tggtattacct ttgtcaaaag catcatctca aactgactgt gtggagggtc tgggtggagg 480
tcagggtggag gttcggagct ctgtgacgat gacccgccag agatcccaca cgccacattc 540
aaagccatgg ccttccagg tcaactgagg ttgaactgtg aatgcaagag aggtttcacc 600
tcaataaaaa gcggtgctac ctatatgtct tgtacaggaa actctagcca ctgcctctgg 660
gacaaccaat gtcaatgcac aagctctgcc actcggaaca caacgaaaca agtgacacct 720
caacctgaag aacagaaaga aaggaaaacc acagaaatgc aaagtccaat gcagccagt 780
gaccaagcga gccttcagg tcaactgagg gaacctccac catgggaaaa tgaagccaca 840
gagagaattt atcatttcgt ggtggggcag atggtttatt atcagtgcgt ccagggatac 900
agggtcttac acagaggtcc tgctgagagc gtctgcaaaa tgaccacagc gaagacaagg 960
tggaaccagc cccagctcat atgcacaggt gaaatggaga ccagtcagtt tccaggtgaa 1020
gagaagctc aggcaagccc cgaaggccgt cctgagagtg agacttctg cctcgtcaca 1080
acaacagatt ttcaaataca gacagaaatg gctgcaacca tggagacgtc catatttaca 1140

```


acagagtacc aggggtggaca tcaccatcac catcactaat aa 1182

<210> 64
 <211> 372
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng hoàn thiện tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R đột biến
 <400> 64

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125
 Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro
 145 150 155 160
 Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly
 165 170 175
 Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Thr Ser Ile Lys Ser
 180 185 190
 Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp
 195 200 205
 Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys
 210 215 220
 Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu
 225 230 235 240
 Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His
 245 250 255
 Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr
 260 265 270
 His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr
 275 280 285
 Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His
 290 295 300
 Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met
 305 310 315 320
 Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu
 325 330 335
 Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe
 340 345 350
 Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr
 355 360 365
 Thr Glu Tyr Gln
 370

<210> 65
 <211> 1206
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dạng tiền chất tổng hợp của IL-2(Gly4Ser)4-vùng ngoại bào của IL-2R đột biến
 <400> 65

atggacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaaacagt 60
 gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 120
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaaactcac caggatgctc 180
 acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttacttta 300
 agaccagggt acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360
 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420
 tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgactg gtggagggtg atctggtgga 480
 ggtggatcag gtggagggtg atccgggtgga ggtggatctg agctctgtga cgatgaccgg 540
 ccagagatcc cacacgccac attcaaagcc atggcctaca aggaaggaac catgttgaac 600
 tgtgaatgca agagaggttt cacctcaata aaaagcgggt cactctatat gctctgtaca 660
 ggaactcta gccactcgtc ctgggacaac caatgtcaat gcacaagctc tgccactcgg 720
 aacacaacga aacaagtgc acctcaacct gaagaacaga aagaaaggaa aaccacagaa 780
 atgcaaagtc caatgcagcc agtggaccaa gcgagccttc caggtcactg caggaacact 840
 ccaccatggg aaaatgaagc cacagagaga atttatcatt tcgtgggtggg gcagatgggt 900
 tattatcagt gcgtccaggg atacagggtc ctacacagag gtcctgctga gagcgtctgc 960
 aaaatgaccc acgggaagac aaggtggacc cagccccagc tcatatgcac aggtgaaatg 1020

```
gagaccagtc agtttccagg tgaagagaag cctcaggcaa gccccgaagg ccgtcctgag 1080
agtgagactt cctgcctcgt cacaacaaca gatatttcaa tacagacaga aatggctgca 1140
accatggaga cgtccatatt tacaacagag taccaggggtg gacatcacca tcaccatcac 1200
taataa 1206
```