(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) **1-0047790**

(51)[7] **A61K 35/17**; A61K 39/00; A61K 9/00; G01N 33/50; C07K 14/47; C07K 14/55; C07K 14/74; A61K 38/00; C07K 14/005

(13) **B**

(21) 1-2019-03975
(22) 20/12/2017
(86) PCT/US2017/067663 20/12/2017
(87) WO 2018/119114 28/06/2018
(30) 62/438,272 22/12/2016 US; 62/470,774 13/03/2017 US; 62/555,435 07/09/2017 US; 62/582,132 06/11/2017 US
(45) 25/06/2025 447
(43) 25/03/2020 384A
(73) CUE BIOPHARMA, INC. (US)
21 Erie Street, Cambridge, Massachusetts 02139, United States of America
(72) SEIDEL, III, Ronald D. (US); CHAPARRO, Rodolfo (US).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HETERODIME CHỨA POLYPEPTIT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HETERODIME NÀY ĐỂ ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

(21) 1-2019-03975

(57) Sáng chế đề xuất polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi, và polypeptit dung hợp chứa peptit điều hòa miễn dịch biến đổi này. Sáng chế đề xuất polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T, và chế phẩm chứa polypeptit này, trong đó polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T này chứa polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi theo sáng chế. Sáng chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T, và tế bào chủ chứa axit nucleic này. Sáng chế đề xuất phương pháp điều hòa hoạt tính của tế bào T; phương pháp này bao gồm cho tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào t và dược phẩm chứa polypeptit này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đáp ứng miễn dịch thu được liên quan đến sự gắn kết của thụ thể tế bào T (TCR), có mặt trên bề mặt của tế bào T, với kháng nguyên peptit nhỏ được trình diện không cộng hóa trị trên bề mặt của tế bào trình diện kháng nguyên (APC) bởi phức hợp tương thích mô chính (MHC; còn được gọi ở người là phức hợp kháng nguyên bạch cầu người (HLA)). Sự gắn kết này thể hiện cơ chế gắn đích của hệ miễn dịch và là tương tác phân tử cần thiết để điều hòa tế bào T (hoạt hóa hoặc ức chế) và chức năng hiệu ứng. Sau khi gắn đích tế bào đặc hiệu epitop, các tế bào T đã được gắn đích được hoạt hóa nhờ sự gắn kết của các protein đồng kích thích được tìm thấy trên APC với các protein đồng kích thích tương ứng trên tế bào T. Cả hai tín hiệu – sự liên kết epitop/TCR và sự gắn kết của các protein đồng kích thích của APC với các protein đồng kích thích của tế bào T– là cần thiết để kích thích tính đặc hiệu và sự hoạt hóa hoặc ức chế tế bào T. TCR là đặc hiệu đối với epitop đã cho; tuy nhiên, protein đồng kích thích không đặc hiệu epitop và thay vào đó thường được trình diện trên tất cả các tế bào T hoặc trên các nhóm phụ tế bào T lớn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi, và polypeptit dung hợp chứa peptit điều hòa miễn dịch biến đổi này. Sáng chế đề xuất polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T, và chế phẩm chứa polypeptit này, trong đó polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T này chứa polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi theo sáng chế. Sáng chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T, và tế bào chủ chứa axit nucleic này. Sáng chế đề xuất phương pháp điều hòa hoạt tính của tế bào T; phương pháp này bao gồm cho tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1A-1D mô tả bằng đồ thị nhiều phương án khác nhau của polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế. Trong các phương án này, các liên kết disulfua được tạo ra giữa các polypeptit MHC (ví dụ, HLA) có mặt trong các polypeptit riêng biệt.

Fig.2A-2Q cung cấp trình tự axit amin của IL-2 người kiểu hoang (Fig.2A); và các trình tự axit amin của các polypeptit IL-2 biến đổi (Fig.2B-2Q).

Fig.3A-3C cung cấp các trình tự axit amin của chuỗi alpha (Fig.3A), chuỗi beta (Fig.3B), và chuỗi gama (Fig.3C) của thụ thể IL-2.

Fig.4A-4C cung cấp các trình tự axit amin của polypeptit Fc globulin miễn dịch.

Fig.5A-5C cung cấp các trình tự axit amin của các polypeptit chuỗi nặng lớp I của kháng nguyên bạch cầu người (HLA). Các trình tự tín hiệu được gạch chân.

Fig.6 cung cấp sự sắp xếp thẳng hàng nhiều trình tự axit amin của các tiền chất vi globulin beta-2 (β2M) (nghĩa là, bao gồm trình tự dẫn đầu) từ người hiện đại (NP_004039.1; SEQ ID NO:95), Pan troglodytes (NP_001009066.1; SEQ ID NO:96), Macaca mulatta (NP_001040602.1; SEQ ID NO:97), Bos Taurus (NP_776318.1; SEQ ID NO:98) và Mus musculus (NP_033865.2; SEQ ID NO:99). Các axit amin 1-20 là peptit tín hiệu.

Fig.7A-7B mô tả sự sản sinh IL-2/synTac ("Cue-IL-2-a" và Cue-IL-2-b") theo sáng chế sau khi chuyển nhiễm tạm thời. Fig.7A mô tả sản phẩm không được tinh chế; Fig.7B mô tả sản phẩm đã tinh chế.

Fig.8A-8B mô tả sự sản sinh IL-2/synTac theo sáng chế, trong đó polypeptit IL-2 có mặt trên chuỗi nhẹ (chuỗi polypeptit với chuỗi nhẹ (ví dụ, β2M) của phân tử MHC lớp I) hoặc trên chuỗi nặng (chuỗi polypeptit với chuỗi nặng của phân tử MHC lớp I).

Fig.9 mô tả mức biểu hiện của IL-2/syn-Tac, trong đó IL-2 là kiểu hoang (wt), hoặc chứa các tổ hợp khác nhau của F42A, D20K, Q126A, E15A, Y45A, và H16A.

Fig.10 mô tả sự biểu hiện của IL-2/synTac theo sáng chế, trong đó IL-2 có mặt trong một bản sao (1X), hai bản sao (2X) hoặc ba bản sao (3X) trong synTac.

Fig.11 mô tả tác dụng kích thích in vitro tế bào T $CD8^+$đặc hiệu kháng nguyên và tế bào T $CD8^+$ không đặc hiệu bởi IL-2/synTac theo sáng chế, trong đó biến thể IL-2 chứa các đột biến thế F42A và H16A có mặt trong synTac trong hai bản sao.

Fig.12 mô tả IL-2/synTac liên kết với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu (virut gây bệnh viêm màng não đám rối màng mạch lympho bào; LCMV) hoặc không đặc hiệu (OT1; nhận biết ovalbumin).

Fig.13 mô tả sự truyền tín hiệu qua trung gian IL-2/synTac trong tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu kháng nguyên (LCMV) hoặc không đặc hiệu (BL6).

Fig.14A-14F mô tả tỷ lệ phần trăm tế bào dương tính với chất hoạt hóa và chất chuyển tín hiệu phospho của bản sao 5 (pSTAT5) sau khi kích thích tế bào đặc hiệu kháng nguyên $CD8^+$ (LCMV) hoặc không đặc hiệu (BL6) bằng IL-2/synTac theo sáng chế ở các nồng độ IL-2/synTac khác nhau.

Fig.15 mô tả hoạt tính in vivo của IL-2/synTac theo sáng chế. Ô bên trái mô tả số lần thay đổi về số lượng tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu kháng nguyên sau khi sử dụng nước muối đệm phosphat (PBS), IL-2 tái tổ hợp (rIL-2), hoặc IL-2/synTac theo sáng chế. Ô bên phải mô tả đáp ứng đặc hiệu kháng nguyên và không đặc hiệu kháng nguyên sau khi sử dụng PBS, rIL-2, hoặc IL-2/synTac theo sáng chế.

Fig.16A-16B mô tả các hiệu quả của sự tăng dần liều (Fig.16A) và đường sử dụng (Fig.16B).

Fig.17A-17B mô tả tác dụng của số bản sao IL-2 trên hiệu quả kháng khối u *in vivo*.

Fig.18 mô tả thời gian bán thải trong huyết thanh của IL-2/synTac theo sáng chế, sau khi sử dụng trong màng bụng IL-2/synTac với lượng là 10 mg/kg.

Fig.19 mô tả độ ổn định của IL-2/synTac theo sáng chế 2 giờ sau khi sử dụng trong màng bụng IL-2/synTac với lượng là 10 mg/kg.

Fig.20 mô tả số liệu sắc ký loại cỡ đối với IL-2/synTac theo sáng chế sau khi giữ IL-2/synTac ở 4°C hoặc 37°C trong 5 ngày.

Fig.21 cung cấp trình tự axit amin của chuỗi nặng của IL-2/synTac theo sáng chế, với peptit dẫn đầu, trong đó chuỗi nặng IL-2/synTac chứa IgG1 Fc với đột biến thế N297A.

Fig.22 cung cấp trình tự axit amin của chuỗi nặng của IL-2/synTac theo sáng chế, không có peptit dẫn đầu, trong đó chuỗi nặng IL-2/synTac chứa IgG1 Fc với đột biến thế N297A.

Fig.23A-23B cung cấp trình tự nucleotit (Fig.23A) mã hóa chuỗi nặng IL-2/synTac được mô tả trên Fig.21; và chỉ dẫn (Fig.23B) đối với trình tự này.

Fig.24 cung cấp trình tự axit amin của chuỗi nặng của IL-2/synTac theo sáng chế, với peptit dẫn đầu, trong đó chuỗi nặng IL-2/synTac chứa IgG1 Fc với đột biến thế L234A và L235A.

Fig.25 cung cấp trình tự axit amin của chuỗi nặng của IL-2/synTac theo sáng chế, không có peptit dẫn đầu, trong đó chuỗi nặng IL-2/synTac chứa IgG1 Fc với đột biến thế L234A và L235A.

Fig.26A-26B cung cấp trình tự nucleotit (Fig.26A) mã hóa chuỗi nặng IL-2/synTac được mô tả trên Fig.24; và chỉ dẫn (Fig.26B) đối với trình tự này.

Fig.27 cung cấp trình tự axit amin của chuỗi nặng của IL-2/synTac theo sáng chế, với peptit dẫn đầu, trong đó chuỗi nặng IL-2/synTac chứa IgG1 Fc với đột biến thế L234F, L235E và P331S.

Fig.28 cung cấp trình tự axit amin của chuỗi nặng của IL-2/synTac theo sáng chế, không có peptit dẫn đầu, trong đó chuỗi nặng IL-2/synTac chứa IgG1 Fc với đột biến thế L234F, L235E và P331S.

Fig.29A-29B cung cấp trình tự nucleotit (Fig.29A) mã hóa chuỗi nặng IL-2/synTac được mô tả trên Fig.27; và chỉ dẫn (Fig.29B) đối với trình tự này.

Fig.30 cung cấp trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của IL-2/synTac theo sáng chế, với peptit dẫn đầu, trong đó chuỗi nhẹ IL-2/synTac chứa epitop E7 của virut gây u nhú ở người (HPV).

Fig.31 cung cấp trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của IL-2/synTac theo sáng chế, không có peptit dẫn đầu, trong đó chuỗi nhẹ IL-2/synTac chứa epitop E7 HPV.

Fig.32 cung cấp trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ IL-2/synTac được mô tả trên Fig.30.

Fig.33A-33D cung cấp các trình tự axit amin của IgG1 Fc người kiểu hoang (Fig.33A), IgG1 Fc với các đột biến thế L234F, L235E, và P331S (Fig.33B), IgG1 Fc với đột biến thế N297A (Fig.33C), và IgG1 Fc với các đột biến thế L234A và L235A (Fig.33D).

Fig.34A-34C cung cấp trình tự axit amin của polypeptit β2-microglobulin (R12C) (Fig.34A), polypeptit IL-2 biến đổi (H16A; F42A) (Fig.34B), và A0201 chuỗi H-MHC Lớp I (Y84A; A236C) (Fig.34C).

Fig.35 mô tả sự nhân rộng do IL-2/synTac của các tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu CMV người.

Fig.36 cung cấp số liệu biểu hiện và số liệu liên kết thụ thể cho synTac với các polypeptit IL-2 biến đổi.

Fig.37 mô tả sự liên kết của IL-2/synTac với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) sơ cấp ở người, như được phát hiện bởi phương pháp đo tế bào theo dòng.

Fig.38 mô tả tác dụng của sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu với HPV16 E7 (11-20) sơ cấp ở người đối với sự phosphoryl hóa của SLP76.

Fig.39 mô tả tác dụng của sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) sơ cấp ở người đối với sự sản sinh CD25, granzyme B, và CD107α.

Fig.40 mô tả tác dụng của sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) sơ cấp ở người đối với sự sản sinh IFN-γ.

Định nghĩa

Thuật ngữ "polynucleotit" hoặc "axit nucleic", được sử dụng thay thế lẫn nhau trong bản mô tả này để chỉ dạng polyme của nucleotit có độ dài bất kỳ, cả ribonucleotit hoặc deoxyribonucleotit. Do đó, thuật ngữ này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ARN hoặc ADN chuỗi đơn, chuỗi kép hoặc nhiều chuỗi, ADN bộ gen, cADN, thể lai ADN-ARN, hoặc polyme chứa bazơ purin và pyrimidin, hoặc các bazơ nucleotit tự

nhiên, được biến đổi hóa học hoặc hóa sinh, không tự nhiên, hoặc được tạo dẫn xuất khác.

Thuật ngữ "peptit", "polypeptit", và "protein" được sử dụng thay thế lẫn nhau trong bản mô tả này, và chỉ dạng polyme của các axit amin có độ dài bất kỳ, mà có thể bao gồm axit amin được mã hóa và không được mã hóa, các axit amin được tạo dẫn xuất hoặc được biến đổi hóa học hoặc hóa sinh, và các polypeptit có khung peptit biến đổi.

Polynucleotit hoặc polypeptit có tỷ lệ phần trăm "đồng nhất trình tự" nhất định với một polynucleotit hoặc polypeptit khác, có nghĩa là, khi được sắp xếp thẳng hàng, tỷ lệ phần trăm các bazơ hoặc axit amin đó là giống nhau, và ở cùng vị trí tương đối, khi so sánh hai trình tự này. Sự đồng nhất trình tự có thể được xác định theo nhiều cách khác nhau. Để xác định sự đồng nhất trình tự, các trình tự có thể được sắp xếp thẳng hàng bằng cách sử dụng nhiều phương pháp thuận tiện khác nhau và nhiều chương trình máy tính khác nhau (ví dụ, BLAST, T-COFFEE, MUSCLE, MAFFT, v.v.), sẵn có trên web (world wide web) ở các trang bao gồm ncbi.nlm.nili.gov/BLAST, ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/, ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/, mafft.cbrc.jp/alignment/ software/. Xem, ví dụ, Altschul và các đồng tác giả (1990), J. Mol. Bioi. 215:403-10.

Thuật ngữ "đột biến thế axit amin bảo toàn" chỉ khả năng thay thế lẫn nhau trong các protein của các gốc axit amin có chuỗi bên tương tự. Ví dụ, nhóm các axit amin có chuỗi bên béo bao gồm glyxin, alanin, valin, leuxin, và isoleuxin; nhóm các axit amin có chuỗi bên hydroxyl-béo bao gồm serin và threonin; nhóm các axit amin có chuỗi bên chứa amit bao gồm asparagin và glutamin; nhóm các axit amin có chuỗi bên thơm bao gồm phenylalanin, tyrosin, và tryptophan; nhóm các axit amin có chuỗi bên bazơ bao gồm lysin, arginin, và histidin; nhóm các axit amin có chuỗi bên axit bao gồm glutamat và aspartat; và nhóm các axit amin có chuỗi bên chứa lưu huỳnh bao gồm xystein và methionin. Các nhóm thế axit amin bảo toàn điển hình là: valin-leuxin-isoleuxin, phenylalanin-tyrosin, lysin-arginin, alanin-valin-glyxin, và asparagin-glutamin.

"Liên kết" như được sử dụng trong bản mô tả này (ví dụ, đề cập đến liên kết của polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế với một polypeptit (ví dụ,

thụ thể tế bào T) trên tế bào T) chỉ tương tác không cộng hóa trị giữa chúng. Các tương tác liên kết thường được đặc trưng bởi hằng số phân ly (K_D) nhỏ hơn 10^{-6} M, nhỏ hơn 10^{-7} M, nhỏ hơn 10^{-8} M, nhỏ hơn 10^{-9} M, nhỏ hơn 10^{-10} M, nhỏ hơn 10^{-11} M, nhỏ hơn 10^{-12} M, nhỏ hơn 10^{-13} M, nhỏ hơn 10^{-14} M, hoặc nhỏ hơn 10^{-15} M. "Ái lực" đề cập đến cường độ của liên kết, ái lực liên kết được gia tăng tương ứng với K_D thấp hơn.

Thuật ngữ "khớp thần kinh miễn dịch học" hoặc "khớp thần kinh miễn dịch" như được sử dụng ở đây đề cập chung đến bề mặt phân cách tự nhiên giữa hai tế bào miễn dịch đang tương tác của đáp ứng miễn dịch thu được bao gồm, ví dụ, bề mặt phân cách giữa tế bào trình diện kháng nguyên (APC) hoặc tế bào đích và tế bào hiệu ứng, ví dụ, tế bào lympho, tế bào T hiệu ứng, tế bào diệt tự nhiên, và tương tự. Khớp thần kinh miễn dịch học giữa APC và tế bào T thường được bắt đầu bằng tương tác của thụ thể kháng nguyên tế bào T và các phân tử phức hợp tương thích mô chính, ví dụ, như được mô tả trong Bromley và các đồng tác giả, Annu Rev Immunol. 2001;19:375-96; phần mô tả của tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

"Tế bào T" bao gồm toàn bộ các typ của tế bào miễn dịch trình diện CD3, bao gồm tế bào T trợ giúp (tế bào $CD4^+$), tế bào T gây độc tế bào (tế bào $CD8^+$), tế bào T điều hòa (Treg), và tế bào NK-T.

Thuật ngữ "polypeptit đồng kích thích", như được sử dụng trong bản mô tả này, bao gồm polypeptit trên tế bào trình diện kháng nguyên (APC) (ví dụ, tế bào tua, tế bào B, và tương tự) mà liên kết đặc hiệu với polypeptit đồng kích thích cùng nguồn gốc trên tế bào T, nhờ đó tạo ra tín hiệu, mà ngoài tín hiệu chính được cung cấp bởi, ví dụ, sự liên kết của phức hợp TCR/CD3 với polypeptit phức hợp tương thích mô chính (MHC) đã được tải peptit, gây ra đáp ứng tế bào T, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sự tăng sinh, hoạt hóa, biệt hóa và tương tự. Phối tử đồng kích thích có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, phối tử Fas (FasL), phối tử đồng kích thích cảm ứng được (ICOS-L), phân tử kết dính liên tế bào (ICAM), CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, thụ thể lymphotoxin beta, 3/TR6, ILT3, ILT4, HVEM, chất chủ vận hoặc kháng thể liên kết thụ thể phối tử Toll và phối tử liên kết đặc hiệu với B7-H3. Phối tử đồng kích thích cũng bao gồm, ngoài các phân tử khác, kháng thể liên kết đặc hiệu với

phân tử đồng kích thích có mặt trên tế bào T, như, nhưng không giới hạn ở, CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, kháng nguyên liên quan đến chức năng tế bào lympho-1 (LFA-1), CD2, LIGHT, NKG2C, B7-H3, và phối tử liên kết đặc hiệu với CD83.

"Miền điều hòa" ("MOD") của polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế chứa polypeptit đồng kích thích, ví dụ, polypeptit IL-2, như polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế.

"Khác loại", như được sử dụng ở đây, có nghĩa là nucleotit hoặc polypeptit không được tìm thấy trong axit nucleic hoặc protein tự nhiên, tương ứng.

"Tái tổ hợp" như được sử dụng ở đây, có nghĩa là axit nucleic cụ thể (ADN hoặc ARN) là sản phẩm của các tổ hợp khác nhau của các bước tách dòng, giới hạn, phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) và/hoặc nối tạo thành cấu trúc có trình tự mã hóa hoặc không mã hóa về cấu trúc khác biệt với các axit nucleic nội sinh được tìm thấy trong các hệ tự nhiên. Các trình tự ADN mã hóa polypeptit có thể được lắp ráp từ các đoạn cADN hoặc từ một loạt oligonucleotit tổng hợp, để tạo ra axit nucleic tổng hợp có khả năng được biểu hiện từ đơn vị phiên mã tái tổ hợp nằm trong tế bào hoặc trong hệ dịch mã và phiên mã không có tế bào.

Thuật ngữ "vectơ biểu hiện tái tổ hợp", hoặc "cấu trúc ADN" được sử dụng thay thế lẫn nhau trong bản mô tả này để chỉ phân tử ADN chứa vectơ và một gen gắn xen. Các vectơ biểu hiện tái tổ hợp thường được tạo ra nhằm mục đích biểu hiện và/hoặc nhân lên (các) gen gắn xen này, hoặc để xây dựng các trình tự nucleotit tái tổ hợp khác. (Các) gen gắn xen này có thể hoặc không thể được liên kết điều khiển được với gen khởi đầu và có thể hoặc không thể được liên kết điều khiển được với trình tự điều hòa ADN.

Tế bào "được biến đổi di truyền" hoặc "được biến nạp" hoặc "được chuyển nhiễm" bằng ADN ngoại sinh, ví dụ, vectơ biểu hiện tái tổ hợp, khi ADN này được đưa vào bên trong tế bào. Sự có mặt của ADN ngoại sinh gây ra sự thay đổi di truyền ổn định hoặc tạm thời. ADN biến nạp có thể hoặc không thể được tích hợp (liên kết cộng hóa trị) vào bộ gen của tế bào. Ở các tế bào tiền nhân, nấm men, và tế bào động vật có vú, ví dụ, ADN biến nạp có thể được duy trì trên yếu tố thuộc thể bổ sung như plasmit. Đối với các tế bào nhân chuẩn, tế bào đã biến nạp ổn định là tế bào trong đó

ADN biến nạp đã được tích hợp vào nhiễm sắc thể do đó nó được kế thừa bởi tế bào con cái nhờ sự sao chép nhiễm sắc thể.

"Tế bào chủ", như được sử dụng ở đây, là tế bào nhân chuẩn *in vivo* hoặc *in vitro* hoặc tế bào từ sinh vật đa bào (ví dụ, dòng tế bào) được nuôi cấy như thể đơn bào, tế bào nhân chuẩn này có thể được, hoặc đã được, sử dụng làm thể nhận đối với axit nucleic (ví dụ, vectơ biểu hiện chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo sáng chế), và bao gồm dòng con của tế bào ban đầu mà đã được biến đổi di truyền bởi axit nucleic này. Cần phải hiểu rằng dòng con của một tế bào có thể không nhất thiết giống hoàn toàn về hình thái hoặc về sợi bổ sung ADN bộ gen hoặc toàn phần với tế bào mẹ ban đầu, do đột biến tự nhiên, ngẫu nhiên, hoặc có chủ ý. "Tế bào chủ tái tổ hợp" (còn được gọi là "tế bào chủ được biến đổi di truyền") là tế bào chủ mà axit nucleic khác loại đã được đưa vào trong đó, ví dụ, vectơ biểu hiện. Ví dụ, tế bào chủ nhân chuẩn đã biến đổi di truyền được biến đổi di truyền bằng cách đưa vào tế bào chủ nhân chuẩn thích hợp axit nucleic khác loại, ví dụ, axit nucleic ngoại sinh mà là ngoại sinh đối với tế bào chủ nhân chuẩn này, hoặc axit nucleic tái tổ hợp mà bình thường không được tìm thấy ở tế bào chủ nhân chuẩn này.

Thuật ngữ "điều trị", "việc điều trị" và tương tự được sử dụng ở đây có nghĩa chung là thu được tác dụng dược lý và/hoặc sinh lý mong muốn. Tác dụng này có thể là phòng ngừa nghĩa là ngăn ngừa hoàn toàn hoặc một phần bệnh hoặc triệu chứng của nó và/hoặc có thể là điều trị nghĩa là chữa khỏi một phần hoặc hoàn toàn bệnh và/hoặc tác động bất lợi do bệnh này. "Điều trị" như được sử dụng ở đây bao gồm phương pháp điều trị bất kỳ cho bệnh hoặc triệu chứng ở động vật có vú, và bao gồm: (a) ngăn ngừa bệnh hoặc triệu chứng xảy ra ở đối tượng mà có thể có khả năng mắc bệnh hoặc triệu chứng nhưng vẫn chưa được chẩn đoán là mắc bệnh; (b) ức chế bệnh hoặc triệu chứng, nghĩa là, ngăn cản sự phát triển của nó, hoặc (c) làm thuyên giảm bệnh này, nghĩa là gây ra sự thoái lui của bệnh. Dược chất có thể được sử dụng trước, trong hoặc sau khi phát bệnh hoặc tổn thương. Phương pháp điều trị bệnh đang xảy ra, trong đó phương pháp điều trị này làm ổn định hoặc làm giảm các triệu chứng lâm sàng không mong muốn của bệnh nhân, cần được đặc biệt quan tâm. Phương pháp điều trị này được thực hiện như mong muốn trước khi mất hoàn toàn chức năng trong mô bị tác

động. Liệu pháp này sẽ được sử dụng như mong muốn trong giai đoạn triệu chứng của bệnh, và trong một số trường hợp sau giai đoạn triệu chứng của bệnh này.

Thuật ngữ "cá thể", "đối tượng", "vật chủ", và "bệnh nhân", được sử dụng thay thế lẫn nhau ở đây và đề cập đến đối tượng là động vật có vú bất kỳ mà việc chẩn đoán, điều trị, hoặc liệu pháp này được mong muốn cho chúng. Động vật có vú bao gồm, ví dụ, người, linh trưởng không phải người, động vật gặm nhấm (ví dụ, chuột cống; chuột nhắt), động vật thuộc bộ lagomorpha (ví dụ, thỏ), động vật móng guốc (ví dụ, bò, cừu, lợn, ngựa, dê, và tương tự), v.v..

Trước khi sáng chế được mô tả thêm, cần phải hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn ở các phương án cụ thể đã mô tả, mà tất nhiên có thể thay đổi. Cũng cần hiểu rằng thuật ngữ được sử dụng ở đây chỉ nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể, và không nhằm giới hạn, vì phạm vi của sáng chế sẽ chỉ giới hạn bởi bộ yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Nếu khoảng giá trị được đề xuất, cần hiểu rằng mỗi giá trị ở giữa, đến một phần mười đơn vị của giới hạn dưới trừ khi ngữ cảnh chỉ ra rõ ràng theo cách khác, nằm giữa giới hạn trên và giới hạn dưới của khoảng này và giá trị được đề cập hoặc nằm giữa khác bất kỳ trong khoảng đã đề cập này, được bao gồm trong phạm vi của sáng chế. Giới hạn trên và dưới của các khoảng nhỏ hơn này có thể độc lập được bao gồm trong các khoảng nhỏ hơn, và cũng được bao gồm trong sáng chế, tùy theo giới hạn bị loại trừ cụ thể bất kỳ trong khoảng được nêu này. Khi khoảng đã định bao gồm một hoặc cả hai giới hạn này, các khoảng loại trừ một trong hai hoặc cả hai giới hạn được bao gồm đó cũng được bao gồm trong sáng chế.

Trừ khi được định nghĩa theo cách khác, các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng ở đây có cùng ý nghĩa như được hiểu một cách thông thường bởi người có trình độ trung bình về lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế. Mặc dù các phương pháp và nguyên liệu bất kỳ tương tự hoặc tương đương với các phương pháp và vật liệu được mô tả ở đây cũng có thể được sử dụng trong thực tiễn hoặc thử nghiệm theo sáng chế, phương pháp và nguyên liệu được ưu tiên sẽ được mô tả sau đây. Tất cả các công bố được đề cập ở đây được đưa vào đây bằng cách viện dẫn để bộc lộ và mô tả phương pháp và/hoặc nguyên liệu liên quan đến các công bố được trích dẫn.

Cần lưu ý rằng như được sử dụng ở đây và trong các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo, dạng số ít "một" bao gồm các dạng đề cập đến số nhiều trừ khi ngữ cảnh quy định khác một cách rõ ràng. Do đó, ví dụ, việc đề cập đến "polypeptit IL-2 biến đổi" bao gồm nhiều polypeptit này và việc đề cập đến "polypeptit chuỗi nặng HLA Lớp I" bao gồm việc đề cập đến một hoặc nhiều polypeptit chuỗi nặng HLA Lớp I và các dạng tương đương của chúng đã được biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, và v.v.. Cần lưu ý thêm rằng bộ yêu cầu bảo hộ có thể được soạn để loại trừ yếu tố tùy chọn bất kỳ. Như vậy, tuyên bố này được dự định đóng vai trò là nền tảng tiền lệ để sử dụng thuật ngữ loại trừ như "duy nhất", "chỉ" và các thuật ngữ tương tự liên quan đến việc trích dẫn các yếu tố yêu cầu bảo hộ, hoặc sử dụng giới hạn "âm".

Cần hiểu rằng một số dấu hiệu của sáng chế, mà, để rõ ràng, được mô tả trong ngữ cảnh của các phương án riêng biệt, cũng có thể được đề xuất kết hợp thành một phương án duy nhất. Ngược lại, nhiều dấu hiệu khác nhau của sáng chế mà, để ngắn gọn, được mô tả trong ngữ cảnh của một phương án duy nhất, cũng có thể được đề xuất riêng hoặc trong tổ hợp con thích hợp bất kỳ. Tất cả các tổ hợp của các phương án liên quan đến sáng chế được bao gồm cụ thể bởi sáng chế và được mô tả ở đây như thể mỗi hoặc mọi tổ hợp được mô tả riêng biệt và rõ ràng. Thêm vào đó, tất cả các tổ hợp con của các phương án khác nhau và các phần tử của chúng cũng được bao gồm cụ thể bởi sáng chế này và được mô tả ở đây như thể mỗi và mọi tổ hợp con này được mô tả rõ ràng và riêng biệt ở đây.

Các công bố được thảo luận ở đây chỉ được cung cấp do việc bộc lộ chúng là trước ngày nộp đơn của sáng chế. Không có gì ở đây được hiểu là sự thừa nhận rằng sáng chế không được quyền lùi ngày của việc công bố này do sáng chế có trước. Ngoài ra, ngày công bố được cung cấp có thể khác với ngày công bố thực tế mà có thể cần được xác nhận độc lập.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi, và polypeptit dung hợp chứa peptit điều hòa miễn dịch biến đổi này. Sáng chế đề xuất polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T, và chế phẩm chứa polypeptit này, trong đó polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T này chứa polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi theo sáng chế. Sáng

chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T, và tế bào chủ chứa axit nucleic này. Sáng chế đề xuất phương pháp điều hòa hoạt tính của tế bào T; phương pháp này bao gồm cho tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế.

Trong các phương án được mô tả ở đây, polypeptit đa phân tử hoạt động như là APC thay thế, và bắt chước đáp ứng miễn dịch thu được. Polypeptit đa phân tử này hoạt động như vậy nhờ gắn kết với TCR có mặt trên bề mặt của tế bào T có peptit trình diện epitop được tạo phức với MHC có mặt trong polypeptit đa phân tử này. Sự gắn kết này tạo ra cho polypeptit đa phân tử này khả năng đạt được sự gắn đích tế bào đặc hiệu epitop. Trong các phương án được mô tả ở đây, polypeptit đa phân tử còn có ít nhất một protein điều hòa miễn dịch (còn được gọi ở đây là "miền điều hòa" hoặc "MOD") mà gắn kết với protein đồng kích thích tương ứng (còn được gọi ở đây là "polypeptit điều hòa miễn dịch", "polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc", hoặc "protein đồng kích thích cùng nguồn gốc" và tương tự) trên tế bào T. Sau đó, cả hai tín hiệu – epitop/MHC liên kết với TCR và polypeptit điều hòa miễn dịch liên kết với polypeptit đồng kích thích cùng nguồn gốc – điều khiển cả tính đặc hiệu tế bào T mong muốn và sự ức chế hoặc hoạt hóa/tăng sinh tế bào T mong muốn. Như được mô tả thêm ở đây, ít nhất một protein điều hòa miễn dịch này có thể là biến thể của protein điều hòa miễn dịch có trong tự nhiên (ví dụ, IL-2 có trong tự nhiên), biến thể này thể hiện ái lực giảm đối với protein đồng kích thích tương ứng của nó trên tế bào T (ví dụ, IL-2R) so với ái lực của protein điều hòa miễn dịch có trong tự nhiên đối với protein đồng kích thích tương ứng này.

Polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế còn được gọi là "polypeptit synTac". Polypeptit synTac theo sáng chế chứa miền điều hòa biến đổi, trong đó miền điều hòa biến đổi này thể hiện ái lực liên kết giảm đối với polypeptit điều hòa miễn dịch (polypeptit đồng kích thích cùng nguồn gốc, ví dụ, polypeptit đồng kích thích cùng nguồn gốc trên bề mặt của tế bào T), so với ái lực của miền điều hòa kiểu hoang đối với polypeptit điều hòa miễn dịch này. Polypeptit synTac theo sáng chế có thể điều hòa hoạt tính của tế bào T đích. Polypeptit synTac theo sáng chế cung cấp tính đặc hiệu tế bào đích tăng cường.

Polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi

Sáng chế đề xuất polypeptit điều hòa IL-2 biến đổi. Trình tự axit amin kiểu hoang của IL-2 người được cung cấp trên Fig.2A. Trình tự axit amin kiểu hoang của polypeptit IL-2 người có thể là như sau: APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:1).

IL-2 kiểu hoang liên kết với thụ thể IL-2 (IL-2R) trên bề mặt của tế bào. Thụ thể IL-2 trong một số trường hợp là polypeptit heterotrime chứa chuỗi alpha (IL-2Rα; còn được gọi là CD25), chuỗi beta (IL-2Rβ; còn được gọi là CD122: và chuỗi gama (IL-2Rγ; còn được gọi là CD132). Các trình tự axit amin của IL-2Rα, IL-2Rβ, và IL-2Rγ người được cung cấp trên Fig.3A-3C.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế thể hiện ái lực liên kết giảm đối với IL-2R, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL-2R. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế liên kết với IL-2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với polypeptit IL-2R chứa các chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin được mô tả trên Fig.3A-3C. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế liên kết với IL-2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, ít nhất là 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong các trường hợp này, ái lực liên kết được xác định bằng cách sử dụng quy trình được mô tả dưới đây.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ 100 nM đến 100 μM. Một ví dụ khác, trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R

chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin được mô tả trên Fig.3A-3C) là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong các trường hợp này, ái lực liên kết được xác định bằng cách sử dụng quy trình được mô tả dưới đây.

Polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có thể có một đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có từ 2 đến 10 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có 2 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có 3 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có 4 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có 5 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có 6 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có 7

đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có 8 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có 9 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có 10 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1).

Polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có thể có độ dài từ 120 axit amin đến 140 axit amin, ví dụ, từ 120 axit amin đến 125 axit amin, từ 125 axit amin đến 130 axit amin, từ 130 axit amin đến 135 axit amin, hoặc từ 135 axit amin đến 140 axit amin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế E15

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2D, trong đó axit amin 15 là axit amin khác với axit glutamic, ví dụ, trong đó axit amin 15 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Asp. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2D, trong đó axit amin 15 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2D, trong đó axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin

được mô tả trên Fig.2D, trong đó axit amin 15 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2D, trong đó axit amin 15 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2D, trong đó axit amin 15 là Leu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2D, trong đó axit amin 15 là Ile. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế E15 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL-2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế H16

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Leu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Asn. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Asp. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít

nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Cys. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Gln. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Met. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Phe. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Ser. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Thr. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Trp. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Tyr. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế H16 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến

khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL-2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế D20

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là Gly. Trong một số trường hợp,

polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là Leu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là Lys. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là Asn. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là Gln. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2C, trong đó axit amin 20 là His. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế D20 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ

khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL-2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình

tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Leu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Ile. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế Y45

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là axit amin khác với tyrosin, ví dụ, trong đó axit amin 45 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Leu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Ile. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế Y45 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM,

từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế Q126

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là axit amin khác với glutamin, ví dụ, trong đó axit amin 126 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Val.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Leu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Ile. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế Q126 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Các đột biến thế F42 và H16

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit

amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Val và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Leu, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Ile và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42/H16 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ

khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Các đột biến thế F42 và D20

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi

theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Val và axit amin 20 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Leu, và axit amin 20 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ile và axit amin 20 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Asn. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Gln. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Lys. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Arg. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất

là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là His. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42/D20 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, và E15

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; và trong đó axit amin 15 là axit amin khác với axit glutamic, ví dụ,

trong đó axit amin 15 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Asp. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 15 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; và trong đó axit amin 15 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, và axit amin 15 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, và axit amin 15 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, và axit amin 15 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn,

và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42/D20/E15 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự

axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, và H16

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; và trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình

tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42/D20/H16 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350

nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, và Q126

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; và trong đó axit amin 126 là axit amin khác với glutamin, ví dụ, trong đó axit amin 126 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó

axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; và trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, và axit amin 126 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, và axit amin 126 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, và axit amin 126 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp,

polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42/D20/Q126 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, và Y45

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; và trong đó axit amin 45 là axit amin khác với tyrosin, ví dụ, trong đó axit amin 45 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; và trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, và axit amin 45 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, và axit amin 45 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình

tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, và axit amin 45 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trong Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42/D20/Y45 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ

khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, Y45, và H16

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; trong đó axit amin 45 là axit amin khác với tyrosin, ví dụ, trong đó axit amin 45 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ

đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, axit amin 45 là Gly, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, và axit amin 16 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng

chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42/D20/Y45/H16 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, Y45, và Q126

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; trong đó axit amin 45 là axit amin khác với tyrosin, ví dụ, trong đó axit amin 45 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 126 là axit amin khác với glutamin, ví dụ, trong đó axit amin 126 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, axit amin 45 là Gly, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình

tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, và axit amin 126 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42/D20/Y45/Q126 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng

100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, Y45, H16, và Q126

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; trong đó axit amin 45 là axit amin khác với tyrosin, ví dụ, trong đó axit amin 45 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 126 là axit amin khác với glutamin, ví dụ, trong đó axit amin 126 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr,

Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, axit amin 45 là Gly, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, axit amin 126 là Val, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình

tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Gly, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42/D20/Y45/H16/Q126 được mô tả trên đây có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM

đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, Q126, và H16

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 126 là axit amin khác với glutamin, ví dụ, trong đó axit amin 126 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong

đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 126 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Gly, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Asn, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Lys, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit

amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Arg, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là His, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi có đột biến thế F42/Q126/H16 có ái lực liên kết đối với IL2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này liên kết với IL2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 5%, 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL2R (ví dụ, IL2R chứa chuỗi alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

POLYPEPTIT DUNG HỢP

Sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp IL-2. Polypeptit dung hợp theo sáng chế chứa: a) polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế; và b) đối tác dung hợp khác loại. Trong một số trường hợp, đối tác dung hợp khác loại được dung hợp với đầu cùng N

của polypeptit IL-2 biến đổi. Trong một số trường hợp, đối tác dung hợp khác loại này được dung hợp với đầu cùng C của polypeptit IL-2 biến đổi. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 dung hợp theo sáng chế chứa đối tác dung hợp khác loại thứ nhất được dung hợp với đầu cùng N của polypeptit IL-2 biến đổi, và đối tác dung hợp khác loại thứ hai được dung hợp với đầu cùng C của polypeptit IL-2 biến đổi.

Tổng chiều dài của polypeptit IL-2 dung hợp theo sáng chế có thể thay đổi từ 135 axit amin đến 2000 axit amin. Ví dụ, polypeptit IL-2 dung hợp theo sáng chế có thể thay đổi từ 135 axit amin đến 150 axit amin, từ 150 axit amin đến 175 axit amin, từ 175 axit amin đến 200 axit amin, từ 200 axit amin đến 225 axit amin, từ 225 axit amin đến 250 axit amin, từ 250 axit amin đến 275 axit amin, từ 275 axit amin đến 300 axit amin, từ 300 axit amin đến 350 axit amin, từ 350 axit amin, từ 350 axit amin đến 400 axit amin, từ 400 axit amin, từ 400 axit amin đến 450 axit amin, từ 450 axit amin đến 500 axit amin, từ 500 axit amin đến 600 axit amin, từ 600 axit amin đến 700 axit amin, từ 700 axit amin đến 800 axit amin, từ 800 axit amin đến 900 axit amin, từ 900 axit amin đến 1000 axit amin, từ 1000 axit amin đến 1250 axit amin, từ 1250 axit amin đến 1500 axit amin, từ 1500 axit amin đến 1750 axit amin, hoặc từ 1750 axit amin đến 2000 axit amin.

Các đối tác dung hợp thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, miền xuyên màng; vùng Fc kháng thể; vùng liên kết kháng nguyên của kháng thể; xytokin (khác IL-2); miền điều hòa miễn dịch; miền truyền tín hiệu nội bào; và tương tự.

POLYPEPTIT ĐA PHÂN TỬ ĐIỀU HÒA TẾ BÀO T

Sáng chế đề xuất các polypeptit đa phân tử (ví dụ, dime khác loại, trime khác loại). Các polypeptit đa phân tử là polypeptit điều hòa tế bào T, và còn được gọi ở đây là "polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T", hoặc "synTac" (ký hiệu của "khớp thần kinh miễn dịch để hoạt hóa tế bào T"). Fig.1A-1D cung cấp mô tả bằng sơ đồ về polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế. Polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế còn được gọi là "IL-2/synTac", "polypeptit synTac" hoặc "polypeptit đa phân tử."

Trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế chứa polypeptit IL-2 kiểu hoang. Trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế chứa một bản sao của polypeptit IL-2 kiểu hoang. Trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo

sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 kiểu hoang. Trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 kiểu hoang. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 kiểu hoang chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A.

Trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế chứa polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế. Như đã lưu ý trên đây, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế thể hiện ái lực liên kết giảm với IL-2R, so với ái lực liên kết của IL-2 kiểu hoang với IL-2R. Polypeptit đa phân tử theo sáng chế mà chứa polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế còn thể hiện ái lực liên kết giảm đối với IL-2R, so với polypeptit đa phân tử đối chứng chứa IL-2 kiểu hoang đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa polypeptit alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C).

Trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế thể hiện ái lực liên kết giảm với IL-2R, so với ái lực liên kết của polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL-2R. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế liên kết với IL-2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ái lực liên kết của polypeptit synTac đối chứng chứa polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL-2R chứa polypeptit alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế liên kết với IL-2R với ái lực liên kết nhỏ hơn ít nhất là 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, nhỏ hơn ít nhất là 50%, nhỏ hơn ít nhất là 55%, nhỏ hơn ít nhất là 60%, nhỏ hơn ít nhất là 65%, nhỏ hơn ít nhất là 70%, nhỏ hơn ít nhất là 75%, nhỏ hơn ít nhất là 80%, nhỏ hơn ít nhất là 85%, nhỏ hơn ít nhất là 90%, nhỏ hơn ít nhất là 95%, hoặc nhỏ hơn hơn 95%, so với ái lực liên kết của polypeptit synTac đối chứng chứa polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa polypeptit alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C).

Trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ 100 nm đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit

synTac theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 500 nM. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa polypeptit alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C) là từ khoảng 100 nM đến khoảng 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 450 nM, hoặc từ khoảng 450 nM đến khoảng 500 nM. Trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa polypeptit alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C) là từ khoảng 500 nM đến 1μM. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa polypeptit alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C) là từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, hoặc từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa polypeptit alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C) là từ khoảng 1 μM đến 10 μM. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa polypeptit alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C) là từ khoảng 1 μM đến 2 μM, từ khoảng 2 μM đến khoảng 3 μM, từ khoảng 3 μM đến khoảng 4 μM, từ khoảng 4 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 6 μM, từ khoảng 6 μM đến khoảng 7 μM, từ khoảng 7 μM đến khoảng 8 μM, từ khoảng 8 μM đến khoảng 9 μM, hoặc từ khoảng 9 μM đến khoảng 10 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa polypeptit alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C) là từ khoảng 10 μM đến 100 μM. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit synTac theo sáng chế có ái lực liên kết đối với IL-2R (ví dụ, IL-2R chứa polypeptit alpha, beta, và gama chứa các trình tự axit amin (dạng thành thục) được mô tả trên Fig.3A-3C) là từ khoảng 10 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 30 μM, từ khoảng 30 μM đến khoảng 40 μM, từ khoảng 40 μM đến

khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 60 μM, từ khoảng 60 μM đến khoảng 70 μM, từ khoảng 70 μM đến khoảng 80 μM, từ khoảng 80 μM đến khoảng 90 μM, hoặc từ khoảng 90 μM đến khoảng 100 μM.

Xác định ái lực liên kết

Ái lực liên kết giữa polypeptit điều hòa miễn dịch và đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc của nó có thể được xác định bằng phương pháp giao thoa lớp sinh học (BLI) sử dụng polypeptit điều hòa miễn dịch được tinh chế và đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc được tinh chế. Ái lực liên kết giữa synTac theo sáng chế và đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc của nó cũng có thể được xác định bằng BLI sử dụng synTac đã tinh chế và đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc này. Các phương pháp BLI đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Xem, ví dụ, Lad và các đồng tác giả (2015) *J. Biomol. Screen.* 20(4):498-507; và Shah and Duncan (2014) *J. Vis. Exp.* 18:e51383. Ái lực liên kết đặc hiệu và tương đối được mô tả trong sáng chế giữa polypeptit điều hòa miễn dịch và đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc của nó, hoặc giữa synTac và đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc của nó, có thể được xác định bằng cách sử dụng quy trình sau đây.

Để xác định ái lực liên kết giữa synTac theo sáng chế và đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc của nó, thử nghiệm BLI có thể được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị Octet RED 96 (Pal FortéBio), hoặc thiết bị tương tự, như sau đây. Để xác định ái lực liên kết của polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T (ví dụ, synTac theo sáng chế; hoặc polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T đối chứng (trong đó polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T đối chứng chứa polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang)), polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T được cố định lên giá đỡ không tan ("cảm biến sinh học"). Polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T đã cố định là "đích". Việc cố định có thể được thực hiện bằng cách cố định kháng thể bắt giữ lên giá đỡ không tan, tại đó kháng thể bắt giữ này cố định polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T. Ví dụ, việc cố định có thể được thực hiện bằng cách cố định các kháng thể kháng Fc (ví dụ, kháng Fc IgG người) lên giá đỡ không tan, tại đó các kháng thể kháng Fc đã cố định liên kết với và cố định polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T (trong đó polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T chứa polypeptit IgFc). Đồng polypeptit điều

hòa miễn dịch được sử dụng, ở một số nồng độ khác nhau, cho polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T đã được cố định, và phản ứng của thiết bị được ghi lại. Các thử nghiệm được thực hiện trong môi trường lỏng chứa HEPES 25mM độ pH=6,8, poly(etylen glycol) 6000 5%, KCl 50 mM, albumin huyết thanh bò 0,1%, và chất tẩy rửa không ion hóa Tween 20 0,02%. Sự liên kết của đồng polypeptit điều hòa miễn dịch với polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T đã cố định được thực hiện ở 30°C. Kháng thể đơn dòng kháng MHC Lớp I có thể được sử dụng làm đối chứng dương cho ái lực liên kết. Ví dụ, kháng thể đơn dòng kháng HLA lớp I W6/32 (Bộ sưu tập chủng nuôi cấy kiểu Mỹ số HB-95; Parham và các đồng tác giả (1979) *J. Immunol.* 123:342), có K_D là 7 nM, có thể được sử dụng. Đường cong chuẩn có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các dung dịch pha loãng từng bậc của kháng thể đơn dòng kháng MHC Lớp I. Đồng polypeptit điều hòa miễn dịch, hoặc mAb kháng MHC Lớp I, là "chất phân tích". BLI phân tích mẫu giao thoa của ánh sáng trắng được phản xạ từ hai mặt phẳng: i) từ polypeptit được cố định ("đích"); và ii) lớp tham chiếu nội. Sự thay đổi về số lượng phân tử ("chất phân tích"; ví dụ, đồng polypeptit điều hòa miễn dịch; kháng thể kháng HLA) liên kết với đầu cảm biến sinh học gây ra sự dịch chuyển trong mẫu giao thoa này; sự dịch chuyển trong mẫu giao thoa có thể được đo theo thời gian thực. Hai số hạng động học mô tả ái lực của tương tác đích/chất phân tích là hằng số kết hợp (k_a) và hằng số phân ly (k_d). Tỷ số của hai số hạng này ($k_d/_a$) tạo ra hằng số ái lực K_D.

Như được lưu ý trên đây, việc xác định ái lực liên kết giữa polypeptit điều hòa miễn dịch (ví dụ, IL-2 hoặc biến thể IL-2) và đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc của nó (ví dụ, IL-2R) cũng có thể được xác định bằng BLI. Thử nghiệm này là tương tự với thử nghiệm được mô tả trên đây cho polypeptit đa phân tử synTac. Thử nghiệm BLI có thể được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị Octet RED 96 (Pal FortéBio), hoặc thiết bị tương tự, như sau. Polypeptit điều hòa miễn dịch thành phần của synTac theo sáng chế (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế); và polypeptit điều hòa miễn dịch đối chứng (trong đó polypeptit điều hòa miễn dịch đối chứng chứa polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang, ví dụ IL-2 kiểu hoang)) được cố định lên giá đỡ không tan ("cảm biến sinh học"). Polypeptit điều hòa miễn dịch này là "đích". Việc cố định có thể được thực hiện bằng cách cố định kháng thể bắt giữ lên giá đỡ không tan, tại đó kháng thể bắt giữ này cố định polypeptit điều hòa miễn dịch. Ví dụ, nếu đích được dung hợp với nhãn ái lực miễn dịch (ví dụ FLAG, Fc của IgG người)

việc cố định có thể được thực hiện bằng cách cố định với kháng thể thích hợp cho nhãn ái lực miễn dịch này (ví dụ, kháng Fc IgG người) lên giá đỡ không tan, trong đó kháng thể đã cố định này liên kết với và cố định polypeptit điều hòa miễn dịch (trong đó polypeptit điều hòa miễn dịch chứa polypeptit IgFc). Đồng polypeptit điều hòa miễn dịch (hoặc các polypeptit) được sử dụng, ở một số nồng độ khác nhau, cho polypeptit điều hòa miễn dịch đã cố định, và phản ứng của thiết bị được ghi lại. Theo cách khác, đồng polypeptit (hoặc các polypeptit) điều hòa miễn dịch được cố định vào cảm biến sinh học (ví dụ, đối với trime khác loại thụ thể IL-2, dưới dạng tiểu đơn vị monome, phức hợp con dime khác loại, hoặc trime khác loại hoàn chỉnh) và polypeptit điều hòa miễn dịch được sử dụng, ở một số nồng độ khác nhau, cho (các) đồng polypeptit điều hòa miễn dịch đã cố định, và phản ứng của thiết bị được ghi lại. Các thử nghiệm được thực hiện trong môi trường lỏng chứa HEPES 25mM độ pH=6,8, poly(etylen glycol) 6000 5%, KCl 50 mM, albumin huyết thanh bò 0,1%, và chất tẩy rửa không ion hóa Tween 20 0,02%. Sự liên kết của đồng polypeptit điều hòa miễn dịch với polypeptit điều hòa miễn dịch đã cố định được thực hiện ở 30°C. Kháng thể đơn dòng kháng MHC Lớp I có thể được sử dụng làm đối chứng dương cho ái lực liên kết. Ví dụ, kháng thể đơn dòng kháng HLA Lớp I W6/32 (Bộ sưu tập chủng nuôi cấy kiểu Mỹ số HB-95; Parham và các đồng tác giả (1979) *J. Immunol.* 123:342), có K_D là 7 nM, có thể được sử dụng. Đường cong chuẩn có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các dung dịch pha loãng từng bậc của kháng thể đơn dòng kháng MHC Lớp I. Đồng polypeptit điều hòa miễn dịch này, hoặc mAb Lớp I kháng MHC, là "chất phân tích". BLI phân tích mẫu giao thoa của ánh sáng trắng được phản xạ từ hai mặt phẳng: i) từ polypeptit được cố định ("đích"); và ii) lớp tham chiếu nội. Sự thay đổi về số lượng phân tử ("chất phân tích"; ví dụ, đồng polypeptit điều hòa miễn dịch; kháng thể kháng HLA) liên kết với đầu cảm biến sinh học gây ra sự dịch chuyển trong mẫu giao thoa này; sự dịch chuyển trong mẫu giao thoa có thể được đo theo thời gian thực. Hai số hạng động học mô tả ái lực của tương tác đích/chất phân tích là hằng số kết hợp (k_a) và hằng số phân ly (k_d). Tỷ số của hai số hạng này ($k_d/_a$) tạo ra hằng số ái lực K_D. Việc xác định ái lực liên kết của cả polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang (ví dụ, IL-2) đối với thụ thể của nó (ví dụ, IL-2R) và polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi (ví dụ, biến thể IL-2 như được mô tả ở đây) đối với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc của nó (ví dụ, thụ thể của nó) (ví dụ, IL-2R) do đó cho phép xác định ái lực

liên kết tương đối của đồng polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi, so với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang, đối với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc. Nghĩa là, có thể xác định xem ái lực liên kết của polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi đối với thụ thể của nó (đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc của nó) có được giảm so với ái lực liên kết của polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang đối với cùng một đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc hay không, và, nếu có, tỷ lệ phần trăm giảm so với ái lực liên kết của đồng polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang là bao nhiêu.

Thử nghiệm BLI được thực hiện trong đĩa nhiều giếng. Để chạy thử nghiệm này, thiết kế đĩa được xác định, các bước thử nghiệm được xác định, và các cảm biến sinh học được chỉ định trong phần mềm Octet Data Acquisition. Cụm cảm biến sinh học được hydrat hóa. Cụm cảm biến sinh học đã hydrat hóa và đĩa thử nghiệm được cân bằng trong 10 phút trên thiết bị Octet. Khi thu được số liệu, số liệu thu được được nạp vào phần mềm Phân tích số liệu Octet. Số liệu này được xử lý trong cửa sổ Xử lý bằng cách xác định phương pháp trừ tham chiếu, xếp thẳng hàng trục y, hiệu chỉnh giữa các bước, và lọc Savitzky-Golay. Số liệu được phân tích trong cửa sổ Phân tích bằng cách xác định các bước để phân tích (Kết hợp và Phân ly), chọn mô hình khớp đường cong (curve fit model) (1:1), phương pháp khớp (toàn bộ), và cửa sổ quan tâm (theo giây). Chất lượng của việc khớp được đánh giá. Các giá trị K_D cho mỗi vạch số liệu (nồng độ chất phân tích) có thể được tính trung bình nếu nằm trong khoảng 3 lần. Các giá trị sai số K_D nên nằm trong một bậc biên độ của các giá trị hằng số ái lực; các giá trị R^2 nên cao hơn 0,95. Xem, ví dụ, Abdiche và các đồng tác giả (2008) *J. Anal. Biochem.* 377:209.

Trong một số trường hợp, tỷ số của: i) ái lực liên kết của polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T đối chứng (trong đó đối chứng này chứa polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang, ví dụ, IL-2 kiểu hoang) với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc (ví dụ, IL-2R) so với ii) ái lực liên kết của polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế chứa biến thể của polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang (ví dụ, IL-2 biến đổi) với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc (ví dụ, IL-2R), khi được đo bằng BLI (như được mô tả trên đây), ít nhất là 1,5:1, ít nhất là 2:1, ít nhất là 5:1, ít nhất là 10:1, ít nhất là 15:1, ít nhất là 20:1, ít nhất là 25:1, ít nhất là 50:1,

ít nhất là 100:1, ít nhất là 500:1, ít nhất là 10^2:1, ít nhất là 5 x 10^2:1, ít nhất là 10^3:1, ít nhất là 5 x 10^3:1, ít nhất là 10^4:1, ít nhất là 10^5:1, hoặc ít nhất là 10^6:1. Trong một số trường hợp, tỷ số của: i) ái lực liên kết của polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T đối chứng (trong đó đối chứng này chứa polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang) với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc so với ii) ái lực liên kết của polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế chứa biến thể của polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc, khi được đo bằng BLI, nằm trong khoảng từ 1,5:1 đến 10^6:1, ví dụ, từ 1,5:1 đến 10:1, từ 10:1 đến 50:1, từ 50:1 đến 10^2:1, từ 10^2:1 đến 10^3:1, từ 10^3:1 đến 10^4:1, từ 10^4:1 đến 10^5:1, hoặc từ 10^5:1 đến 10^6:1.

Trong một số trường hợp, tỷ số của: i) ái lực liên kết của polypeptit điều hòa miễn dịch đối chứng (trong đó đối chứng này chứa polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang, ví dụ, IL-2 kiểu hoang) với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc (ví dụ, IL-2R) so với ii) ái lực liên kết của polypeptit điều hòa miễn dịch theo sáng chế chứa biến thể của polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang (ví dụ, IL-2 biến đổi) với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc (ví dụ, IL-2R), khi được đo bằng BLI (như được mô tả trên đây), ít nhất là 1,5:1, ít nhất là 2:1, ít nhất là 5:1, ít nhất là 10:1, ít nhất là 15:1, ít nhất là 20:1, ít nhất là 25:1, ít nhất là 50:1, ít nhất là 100:1, ít nhất là 500:1, ít nhất là 10^2:1, ít nhất là 5 x 10^2:1, ít nhất là 10^3:1, ít nhất là 5 x 10^3:1, ít nhất là 10^4:1, ít nhất là 10^5:1, hoặc ít nhất là 10^6:1. Trong một số trường hợp, tỷ số của: i) ái lực liên kết của polypeptit điều hòa miễn dịch đối chứng (trong đó đối chứng này chứa polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang) với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc so với ii) ái lực liên kết của polypeptit điều hòa miễn dịch theo sáng chế chứa biến thể của polypeptit điều hòa miễn dịch kiểu hoang với đồng polypeptit điều hòa miễn dịch cùng nguồn gốc, khi được đo bằng BLI, nằm trong khoảng từ 1,5:1 đến 10^6:1, ví dụ, từ 1,5:1 đến 10:1, từ 10:1 đến 50:1, từ 50:1 đến 10^2:1, từ 10^2:1 đến 10^3:1, từ 10^3:1 đến 10^4:1, từ 10^4:1 đến 10^5:1, hoặc từ 10^5:1 đến 10^6:1.

Polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có thể có một đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1).

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có từ 2 đến 10 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có 2 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có 3 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có 4 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có 5 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có 6 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có 7 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có 8 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có 9 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit synTac theo sáng chế có 10 đột biến thế axit amin so với polypeptit IL-2 kiểu hoang (ví dụ, polypeptit IL-2 chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2A hoặc như nêu trong SEQ ID NO:1).

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai, trong đó polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng amino (đầu cùng N) đến đầu cùng carboxyl (đầu cùng C): a) epitop (ví dụ, epitop tế bào T); b) polypeptit phức hợp tương thích mô chính (MHC) thứ nhất và c) polypeptit điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế); và trong đó polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: a) polypeptit MHC thứ hai; và b) polypeptit Fc globulin miễn dịch (Ig). Trong các trường hợp khác, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai, trong đó polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: a) epitop (ví dụ, epitop tế bào T); và b) polypeptit MHC thứ nhất; và trong đó polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: a) polypeptit điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế); b) polypeptit MHC thứ hai; và c) polypeptit Ig Fc. Trong một số trường hợp, polypeptit MHC thứ nhất và thứ hai là polypeptit MHC lớp I; ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit β2-microglobulin MHC lớp I (B2M hoặc β2M), và polypeptit MHC thứ hai là chuỗi nặng MHC lớp I (chuỗi H); hoặc polypeptit MHC thứ nhất là chuỗi H MHC lớp I, và polypeptit MHC thứ hai là polypeptit β2M MHC lớp I). Trong các trường hợp khác, polypeptit MHC thứ nhất và thứ hai là các polypeptit MHC lớp II; ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit chuỗi α MHC lớp II, và polypeptit MHC thứ hai là polypeptit chuỗi β MHC lớp II. Trong các trường hợp khác, polypeptit thứ nhất là polypeptit chuỗi β MHC lớp II, và polypeptit MHC thứ hai là polypeptit chuỗi α MHC lớp II. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử bao gồm hai hoặc nhiều polypeptit điều hòa miễn dịch, trong đó ít nhất một trong số các polypeptit điều hòa miễn dịch này là polypeptit điều hòa miễn dịch IL-2 biến đổi theo sáng chế. Khi polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm hai hoặc nhiều polypeptit điều hòa miễn dịch, trong một số trường hợp, hai hoặc nhiều polypeptit điều hòa miễn dịch này có mặt trong cùng một chuỗi polypeptit, và có thể được bố trí nối tiếp. Khi polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm hai hoặc nhiều polypeptit điều hòa miễn dịch, trong một số trường hợp, hai hoặc nhiều polypeptit điều hòa miễn dịch này có mặt trong các polypeptit riêng biệt. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế là heterodime. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế là polypeptit trime.

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop; và ii) polypeptit MHC thứ nhất; và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) polypeptit MHC thứ hai; và ii) polypeptit Ig Fc; và iii) miền điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế). Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop; và ii) polypeptit MHC thứ nhất; và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) polypeptit MHC thứ hai; và ii) miền điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế). Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop; và ii) polypeptit MHC thứ nhất; và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) miền điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế); và ii) polypeptit MHC thứ hai. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop; ii) polypeptit MHC thứ nhất; và iii) miền điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế); và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) polypeptit MHC thứ hai. Trong một số trường hợp, trong đó polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa khung không phải Ig, khung không phải Ig này là peptit XTEN, polypeptit transferrin, polypeptit thụ thể Fc, polypeptit tương tự elastin, polypeptit tương tự tơ, hoặc polypeptit tương tự elastin-tơ.

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế là đơn hóa trị. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế là đa hóa trị. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử đa hóa trị theo sáng chế chứa polypeptit globulin miễn dịch Fc trên một trong số polypeptit thứ nhất hoặc thứ hai. Ví dụ, tùy theo polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế, polypeptit đa phân tử này có thể là homodime, trong đó hai phân tử của polypeptit đa phân tử này có mặt trong homodime, trong đó hai phân tử của polypeptit đa phân tử này có thể được liên kết disulfua với nhau, ví dụ, qua polypeptit Fc có mặt trong hai phân tử này. Một ví dụ khác, polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể chứa ba, bốn hoặc năm phân tử của polypeptit đa phân tử, trong đó các phân tử của polypeptit đa phân tử này có thể được liên kết disulfua với nhau, ví dụ, qua polypeptit Fc có mặt trong các phân tử này.

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop; ii) polypeptit β2M; và iii) polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế; và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) chuỗi nặng MHC lớp I; và ii) polypeptit Fc. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop; và ii) polypeptit β2M; và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế; ii) chuỗi nặng MHC lớp I; và iii) polypeptit Fc. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop; ii) polypeptit β2M; iii) polypeptit IL-2 biến đổi thứ nhất theo sáng chế; iv) polypeptit IL-2 biến đổi thứ hai theo sáng chế; và v) polypeptit IL-2 biến đổi thứ ba theo sáng chế; và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) chuỗi nặng MHC lớp I; và ii) polypeptit Fc. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi thứ nhất, thứ hai, và thứ ba có cùng trình tự axit amin. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi thứ nhất, thứ hai, và thứ ba khác nhau ở trình tự axit amin. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop; và ii) polypeptit β2M; và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) polypeptit IL-2 biến đổi thứ nhất theo sáng chế; ii) polypeptit IL-2 biến đổi thứ hai theo sáng chế; và iii) polypeptit IL-2 biến đổi thứ ba theo sáng chế; iv) chuỗi nặng MHC lớp I; và v) polypeptit Fc. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi thứ nhất, thứ hai, và thứ ba có cùng trình tự axit amin. Trong một số trường hợp, các polypeptit IL-2 biến đổi thứ nhất, thứ hai, và thứ ba khác nhau ở trình tự axit amin.

Cầu nối

Polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể bao gồm các peptit cầu nối nằm xen kẽ giữa, ví dụ, epitop và polypeptit MHC; giữa polypeptit MHC và polypeptit điều hòa miễn dịch; giữa polypeptit MHC và polypeptit Ig Fc; giữa polypeptit IL-2 biến đổi thứ nhất và polypeptit IL-2 biến đổi thứ hai; hoặc giữa polypeptit IL-2 biến đổi thứ hai và polypeptit IL-2 biến đổi thứ ba.

Các cầu nối thích hợp (còn được gọi là "các đoạn đệm") có thể được chọn dễ dàng và có thể có độ dài bất kỳ trong số nhiều độ dài thích hợp, như từ 1 axit amin đến 25 axit amin, từ 3 axit amin đến 20 axit amin, từ 2 axit amin đến 15 axit amin, từ 3 axit amin đến 12 axit amin, bao gồm 4 axit amin đến 10 axit amin, 5 axit amin đến 9 axit amin, 6 axit amin đến 8 axit amin, hoặc 7 axit amin đến 8 axit amin. Cầu nối thích hợp có thể có độ dài 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, hoặc 25 axit amin.

Các cầu nối điển hình bao gồm polyme glyxin $(G)_n$, polyme glyxin-serin (bao gồm, ví dụ, $(GS)_n$, $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO:89) và $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO:86), trong đó n là số nguyên ít nhất bằng một), polyme glyxin-alanin, polyme alanin-serin, và các cầu nối linh động khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Polyme glyxin và glyxin-serin có thể được sử dụng; cả Gly và Ser đều tương đối không có cấu trúc, và do đó có thể đóng vai trò là đoạn buộc trung gian giữa các thành phần. Polyme glyxin có thể được sử dụng; glyxin tiếp cận đoạn đệm phi-psi nhiều hơn đáng kể so với ngay cả alanin, và bị giới hạn ít hơn nhiều so với các gốc có chuỗi bên dài hơn (xem Scheraga, Rev. *Computational Chem.* 11173-142 (1992)). Các cầu nối điển hình có thể chứa các trình tự axit amin bao gồm, nhưng không giới hạn ở, GGSG (SEQ ID NO:2), GGSGG (SEQ ID NO:3), GSGSG (SEQ ID NO:4), GSGGG (SEQ ID NO:5), GGGSG (SEQ ID NO:6), GSSSG (SEQ ID NO:7), và tương tự. Các cầu nối điển hình có thể bao gồm, ví dụ, $Gly(Ser_4)n$, trong đó n bằng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, hoặc 10. Trong một số trường hợp, cầu nối chứa trình tự axit amin (GSSSS)n (SEQ ID NO:93), trong đó n bằng 4. Trong một số trường hợp, cầu nối chứa trình tự axit amin (GSSSS)n (SEQ ID NO:94), trong đó n bằng 5. Trong một số trường hợp, cầu nối chứa trình tự axit amin (GGGGS)n (SEQ ID NO:9), trong đó n bằng 1. Trong một số trường hợp, cầu nối chứa trình tự axit amin (GGGGS)n (SEQ ID NO:92), trong đó n bằng 2. Trong một số trường hợp, cầu nối chứa trình tự axit amin (GGGGS)n (SEQ ID NO:89), trong đó n bằng 3. Trong một số trường hợp, cầu nối chứa trình tự axit amin (GGGGS)n (SEQ ID NO:90), trong đó n bằng 4. Trong một số trường hợp, cầu nối chứa trình tự axit amin (GGGGS)n (SEQ ID NO:91), trong đó n bằng 5.

Trong một số trường hợp, polypeptit cầu nối, có mặt trong polypeptit thứ nhất của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, bao gồm gốc xystein mà có thể tạo thành liên

kết disulfua với gốc xystein có mặt trong polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, ví dụ, cầu nối thích hợp chứa trình tự axit amin GCGASGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:10).

Epitop

Epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể có độ dài từ khoảng 4 axit amin đến khoảng 25 axit amin, ví dụ, epitop có thể có độ dài từ 4 axit amin (aa) đến 10 aa, từ 10 aa đến 15 aa, từ 15 aa đến 20 aa, hoặc từ 20 aa đến 25 aa. Ví dụ, epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể có độ dài là 4 axit amin (aa), 5 aa, 6 aa, 7, aa, 8 aa, 9 aa, 10 aa, 11 aa, 12 aa, 13 aa, 14 aa, 15 aa, 16 aa, 17 aa, 18 aa, 19 aa, 20 aa, 21 aa, 22 aa, 23 aa, 24 aa, hoặc 25 aa. Trong một số trường hợp, epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài từ 5 axit amin đến 10 axit amin, ví dụ, 5 aa, 6 aa, 7 aa, 8 aa, 9 aa, hoặc 10 aa.

Epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế được liên kết đặc hiệu bởi tế bào T, nghĩa là, epitop này được liên kết đặc hiệu bởi tế bào T đặc hiệu epitop. Tế bào T đặc hiệu epitop liên kết với epitop có trình tự axit amin tham chiếu, nhưng gần như không liên kết với epitop khác với trình tự axit amin tham chiếu này. Ví dụ, tế bào T đặc hiệu epitop liên kết với epitop có trình tự axit amin tham chiếu, và liên kết với epitop khác với trình tự axit amin tham chiếu này, nếu có thể, với ái lực nhỏ hơn 10^{-6} M, nhỏ hơn 10^{-5} M, hoặc nhỏ hơn 10^{-4} M. Tế bào T đặc hiệu epitop có thể liên kết với epitop mà nó đặc hiệu với với ái lực ít nhất là 10^{-7} M, ít nhất là 10^{-8} M, ít nhất là 10^{-9} M, hoặc ít nhất là 10^{-10} M.

Các epitop thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, epitop có mặt ở kháng nguyên liên quan đến bệnh ung thư. Kháng nguyên liên quan đến bệnh ung thư bao gồm, nhưng không giới hạn ở, thụ thể α-folat; cacbonic anhydraza IX (CAIX); CD19; CD20; CD22; CD30; CD33; CD44v7/8; kháng nguyên ung thư biểu mô phôi (CEA); glycoprotein biểu mô-2 (EGP-2); glycoprotein biểu mô-40 (EGP-40); protein liên kết folat (FBP); thụ thể axetylcholin phôi; kháng nguyên gangliosit GD2; Her2/neu; IL-13R-a2; chuỗi nhẹ kappa; LeY; phân tử kết dính tế bào L1; kháng nguyên liên quan đến bệnh u hắc tố (MAGE); MAGE-A1; mesothelin; MUC1; phối tử NKG2D; kháng nguyên ung thư phôi (h5T4); kháng nguyên tế bào gốc tuyến tiền liệt (PSCA); kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA); glycoprotein liên quan đến khối u-72

(TAG-72); và thụ thể yếu tố sinh trưởng màng trong mạch-2 (VEGF-R2). Xem, ví dụ, Vigneron và các đồng tác giả (2013) *Cancer Immunity* 13:15; và Vigneron (2015) *BioMed Res. Int'l* Article ID 948501. Trong một số trường hợp, epitop này là epitop kháng nguyên E7 virut papilloma của người; xem, ví dụ, Ramos và các đồng tác giả (2013) *J. Immunother.* 36:66.

Trong một số trường hợp, epitop này là HPV16E7/82-90 (LLMGTLGIV; SEQ ID NO:11). Trong một số trường hợp, epitop này là HPV16E7/86-93 (TLGIVCPI; SEQ ID NO:12). Trong một số trường hợp, epitop này là HPV16E7/11-20 (YMLDLQPETT; SEQ ID NO:13). Trong một số trường hợp, epitop này là HPV16E7/11-19 (YMLDLQPET; SEQ ID NO:87). Xem, ví dụ, Ressing và các đồng tác giả ((1995) *J. Immunol.* 154:5934) về các epitop HPV thích hợp khác.

Các polypeptit MHC

Như đã lưu ý trên đây, polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm các polypeptit MHC. Với các mục đích của sáng chế, thuật ngữ "polypeptit phức hợp tương thích mô chính (MHC)" có nghĩa bao gồm các polypeptit MHC của nhiều loài khác nhau, bao gồm polypeptit MHC người (còn được gọi là kháng nguyên bạch cầu người (HLA)), polypeptit MHC của động vật gặm nhấm (ví dụ, chuột cống, chuột nhắt, v.v.), và các polypeptit MHC của loài động vật có vú khác (ví dụ, thỏ, linh trưởng không phải người, chó, mèo, động vật có móng guốc (ví dụ, ngựa, bò, cừu, dê, v.v.), và tương tự. Thuật ngữ "polypeptit MHC" có nghĩa bao gồm polypeptit MHC lớp I (ví dụ, microglobulin β-2 và chuỗi nặng MHC lớp I) và polypeptit MHC lớp II (ví dụ, polypeptit α MHC lớp II và polypeptit β MHC lớp II).

Như đã lưu ý trên đây, theo một số phương án của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, polypeptit MHC thứ nhất và thứ hai là polypeptit MHC lớp I; ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit β2-microglobulin (β2M) MHC lớp I, và polypeptit MHC thứ hai là chuỗi nặng MHC lớp I (chuỗi H). Trong các trường hợp khác, polypeptit MHC thứ nhất và thứ hai là các polypeptit MHC lớp II; ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit chuỗi α MHC lớp II, và polypeptit MHC thứ hai là polypeptit chuỗi β MHC lớp II. Trong các trường hợp khác, polypeptit thứ nhất là polypeptit chuỗi β MHC lớp II, và polypeptit MHC thứ hai là polypeptit chuỗi α MHC lớp II.

Trong một số trường hợp, polypeptit MHC của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là polypeptit MHC của người, trong đó polypeptit MHC của người còn được gọi là polypeptit "kháng nguyên bạch cầu người" ("HLA"). Trong một số trường hợp, polypeptit MHC của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là polypeptit HLA lớp I, ví dụ, polypeptit β2-microglobulin, hoặc polypeptit chuỗi nặng HLA lớp I. Polypeptit chuỗi nặng HLA lớp I bao gồm polypeptit chuỗi nặng HLA-A, polypeptit chuỗi nặng HLA-B, polypeptit chuỗi nặng HLA-C, polypeptit chuỗi nặng HLA-E, polypeptit chuỗi nặng HLA-F, và polypeptit chuỗi nặng HLA-G. Trong một số trường hợp, polypeptit MHC của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là polypeptit HLA lớp II, ví dụ, chuỗi α HLA lớp II hoặc chuỗi β HLA lớp II. Polypeptit MHC lớp II bao gồm polypeptit DP α và β, polypeptit DM α và β, polypeptit DOA α và β, polypeptit DOB α và β, polypeptit DQ α và β, và polypeptit DR α và β MCH lớp II.

Ví dụ, polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I của polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 75%, ít nhất là 80%, ít nhất là 85%, ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, hoặc 100% với axit amin 25-365 của trình tự axit amin của polypeptit chuỗi nặng HLA-A của người được mô tả trên Fig.5A.

Ví dụ, polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I của polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 75%, ít nhất là 80%, ít nhất là 85%, ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, hoặc 100% với axit amin 25-365 của trình tự axit amin của trình tự axit amin chuỗi nặng HLA-A của người sau đây:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPR
APWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMY
GCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWE
AAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEA
TLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPS
GQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:14).

Một ví dụ khác, polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I của polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 75%, ít nhất là 80%, ít nhất là 85%, ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, ít

nhất là 99%, hoặc 100% với axit amin 25-362 của trình tự axit amin của polypeptit chuỗi nặng HLA-B của người được mô tả trên Fig.5B.

Một ví dụ khác, polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I của polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 75%, ít nhất là 80%, ít nhất là 85%, ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, hoặc 100% với axit amin 25-362 của trình tự axit amin của polypeptit chuỗi nặng HLA-C của người được mô tả trên Fig.5C.

Một ví dụ khác, polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I của polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 75%, ít nhất là 80%, ít nhất là 85%, ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, hoặc 100% với trình tự axit amin sau đây:

GPHSLRYFVTAVSRPGLGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDADNPRFEPRA
PWMEQEGPEYWEEQTQRAKSDEQWFRVSLRTAQRYYNQSKGGSHTFQRMF
GCDVGSDWRLLRGYQQFAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALITRRKWEQA
GDAEYYRAYLEGECVEWLRRYLELGNETLLRTDSPKAHVTYHPRSQVDVTLR
CWALGFYPADITLTWQLNGEDLTQDMELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPLGK
EQNYTCHVHHKGLPEPLTLRW (SEQ ID NO:15).

Polypeptit microglobulin β2 (β2M) của polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể là polypeptit β2M của người, polypeptit β2M của động vật linh trưởng không phải người, polypeptit β2M của chuột, và polypeptit tương tự. Trong một số trường hợp, polypeptit β2M chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 75%, ít nhất là 80%, ít nhất là 85%, ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, hoặc 100% với trình tự axit amin β2M được mô tả trên Fig.6. Trong một số trường hợp, polypeptit β2M chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 75%, ít nhất là 80%, ít nhất là 85%, ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, hoặc 100% với axit amin 21 đến 119 của trình tự axit amin β2M được mô tả trên Fig.6.

Trong một số trường hợp, polypeptit MHC chứa một đột biến thế axit amin so với polypeptit MHC tham chiếu (trong đó polypeptit MHC tham chiếu có thể là polypeptit MHC kiểu hoang), trong đó một đột biến thế axit amin này thay thế một axit amin bằng gốc xystein (Cys). Gốc xystein này, khi có mặt trong polypeptit MHC

của polypeptit thứ nhất của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, có thể tạo thành liên kết disulfua với gốc xystein có mặt trong chuỗi polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế.

Trong một số trường hợp, polypeptit MHC thứ nhất trong polypeptit thứ nhất của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, và/hoặc polypeptit MHC thứ hai trong polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, bao gồm đột biến thế axit amin để thay thế một axit amin bằng xystein, trong đó xystein được thay thế trong polypeptit MHC thứ nhất tạo thành liên kết disulfua với xystein trong polypeptit MHC thứ hai, trong đó xystein trong polypeptit MHC thứ nhất tạo thành liên kết disulfua với xystein được thay thế trong polypeptit MHC thứ hai, hoặc trong đó xystein được thay thế trong polypeptit MHC thứ nhất tạo thành liên kết disulfua với xystein được thế trong polypeptit MHC thứ hai.

Ví dụ, trong một số trường hợp, một trong số các cặp sau đây của các gốc trong β2-microglobulin HLA và chuỗi nặng HLA Lớp I được thế bằng xystein (trong đó số của gốc là số của polypeptit thành thục): 1) gốc 12 của β2M, gốc 236 của chuỗi nặng HLA lớp I; 2) gốc 12 của β2M, gốc 237 của chuỗi nặng HLA Lớp I; 3) gốc 8 của β2M, gốc 234 của chuỗi nặng HLA lớp I; 4) gốc 10 của β2M, gốc 235 của chuỗi nặng HLA lớp I; 5) gốc 24 của β2M, gốc 236 của chuỗi nặng HLA lớp I; 6) gốc 28 của β2M, gốc 232 của chuỗi nặng HLA lớp I; 7) gốc 98 của β2M, gốc 192 của chuỗi nặng HLA lớp I; 8) gốc 99 của β2M, gốc 234 của chuỗi nặng HLA lớp I; 9) gốc 3 của β2M, gốc 120 của chuỗi nặng HLA lớp I; 10) gốc 31 của β2M, gốc 96 của chuỗi nặng HLA lớp I; 11) gốc 53 của β2M, gốc 35 của chuỗi nặng HLA lớp I; 12) gốc 60 của β2M, gốc 96 của chuỗi nặng HLA lớp I; 13) gốc 60 của β2M, gốc 122 của chuỗi nặng HLA lớp I; 14) gốc 63 của β2M, gốc 27 của chuỗi nặng HLA lớp I; 15) gốc Arg3 của β2M, gốc Gly120 của chuỗi nặng HLA lớp I; 16) gốc His31 của β2M, gốc Gln96 của chuỗi nặng HLA lớp I; 17) gốc Asp53 của β2M, gốc Arg35 của chuỗi nặng HLA lớp I; 18) gốc Trp60 của β2M, gốc Gln96 của chuỗi nặng HLA lớp I; 19) gốc Trp60 của β2M, gốc Asp122 của chuỗi nặng HLA lớp I; 20) gốc Tyr63 của β2M, gốc Tyr27 của chuỗi nặng HLA lớp I; 21) gốc Lys6 của β2M, gốc Glu232 của chuỗi nặng HLA lớp I; 22) gốc Gln8 của β2M, gốc Arg234 của chuỗi nặng HLA lớp I; 23) gốc Tyr10 của β2M, gốc Pro235 của chuỗi nặng HLA lớp I; 24) gốc Ser11 của β2M, gốc Gln242 của chuỗi

nặng HLA lớp I; 25) gốc Asn24 của β2M, gốc Ala236 của chuỗi nặng HLA lớp I; 26) gốc Ser28 của β2M, gốc Glu232 của chuỗi nặng HLA lớp I; 27) gốc Asp98 của β2M, gốc His192 của chuỗi nặng HLA lớp I; và 28) gốc Met99 của β2M, gốc Arg234 của chuỗi nặng HLA lớp I. Việc đánh số axit amin chuỗi nặng MHC/HLA lớp I là đề cập đến chuỗi nặng MHC/HLA lớp I thành thục, không có peptit tín hiệu. Ví dụ, trong trình tự axit amin được mô tả trên Fig.5A, mà bao gồm peptit tín hiệu, Gly120 là Gly144; Gln96 là Gln120; v.v.. Trong một số trường hợp, polypeptit β2M chứa đột biến thế R12C, và chuỗi nặng HLA lớp I chứa đột biến thế A236C; trong các trường hợp này, liên kết disulfua tạo ra giữa Cys-12 của polypeptit β2M và Cys-236 của chuỗi nặng HLA lớp I. Ví dụ, trong một số trường hợp, gốc 236 của trình tự axit amin HLA-A thành thục (nghĩa là, gốc 260 của trình tự axit amin được mô tả trên Fig.5A) được thế bằng Cys. Trong một số trường hợp, gốc 236 của trình tự axit amin HLA-B thành thục (nghĩa là, gốc 260 của trình tự axit amin được mô tả trên Fig.5B) được thế bằng Cys. Trong một số trường hợp, gốc 236 của trình tự axit amin HLA-C thành thục (nghĩa là, gốc 260 của trình tự axit amin được mô tả trên Fig.5C) được thế bằng Cys. Trong một số trường hợp, gốc 32 (tương ứng với Arg-12 của β2M thành thục) của trình tự axit amin được mô tả trên Fig.6 được thế bằng Cys.

Trong một số trường hợp, polypeptit β2M chứa trình tự axit amin: IQRTPKIQVY S**R**HPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSQP KIVKWDRDM (SEQ ID NO:16). Trong một số trường hợp, polypeptit β2M chứa trình tự axit amin: IQRTPKIQVY S**C**HPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSQP KIVKWDRDM (SEQ ID NO:17).

Trong một số trường hợp, polypeptit chuỗi nặng HLA lớp I chứa trình tự axit amin:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPR APWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMY GCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWE AAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEA

TLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPS GQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:14).

Trong một số trường hợp, polypeptit chuỗi nặng HLA lớp I chứa trình tự axit amin:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPR APWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMY GCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWE AAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEA TLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPS GQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:18).

Trong một số trường hợp, polypeptit chuỗi nặng HLA lớp I chứa trình tự axit amin:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPR APWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRMY GCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWE AAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEA TLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPS GQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:19).

Trong một số trường hợp, polypeptit β2M chứa trình tự axit amin sau đây:

IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSQP KIVKWDRDM (SEQ ID NO:17); và polypeptit chuỗi nặng HLA lớp I của polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin sau đây:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPR APWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMY GCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWE AAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEA TLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPS GQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:18), trong đó các gốc Cys mà được gạch chân và in đậm tạo ra liên kết disulfua với nhau trong polypeptit đa phân tử.

Trong một số trường hợp, polypeptit β2M chứa trình tự axit amin: IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDL SFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:17).

Polypeptit điều hòa miễn dịch

Polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế, như được mô tả trên đây, mà là biến thể của protein đồng kích thích có trong tự nhiên, biến thể này thể hiện ái lực giảm đối với protein đồng kích thích tương ứng (cùng nguồn gốc) của nó trên tế bào T (ví dụ, IL-2R) so với ái lực của polypeptit IL-2 có trong tự nhiên đối với protein đồng kích thích tương ứng này (IL-2R). Do đó, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với

trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Leu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Asn. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Asp. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Cys. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Gln. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Met. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự

axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Phe. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Ser. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Thr. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Trp. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2E, trong đó axit amin 16 là Tyr. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví

dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Leu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2B, trong đó axit amin 42 là Ile. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M,

(các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế Y45

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là axit amin khác với tyrosin, ví dụ, trong đó axit amin 45 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế

chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Leu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2F, trong đó axit amin 45 là Ile. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến

khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế Q126

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là axit amin khác với glutamin, ví dụ, trong đó axit amin 126 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Leu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-

2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2G, trong đó axit amin 126 là Ile. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Các đột biến thế F42 và H16

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít

nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Val và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Leu, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2H, trong đó axit amin 42 là Ile và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản

sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa 2 bản sao của biến thể IL-2 chứa các đột biến thế F42A và H16A, trong đó polypeptit đa phân tử này chứa polypeptit chuỗi nặng HLA lớp I và polypeptit β2M, và trong đó 2 bản sao của IL-2 (F42A, H16A) nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34B (chứa các đột biến thế H16A và F42A).

Các đột biến thế F42 và D20

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin

được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Val và axit amin 20 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Leu, và axit amin 20 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit

amin 42 là Ile và axit amin 20 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Asn. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Gln. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Lys. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là Arg. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala và axit amin 20 là His. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac

chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, và E15

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; và trong đó axit amin 15 là axit amin khác với axit glutamic, ví dụ, trong đó axit amin 15 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Asp. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 15 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala,

Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; và trong đó axit amin 15 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, và axit amin 15 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, và axit amin 15 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, và axit amin 15 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là

98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2J, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2I, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, và axit amin 15 là Ala. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM

đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, và H16

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; và trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, và axit amin

16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2K, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, và

axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, và Q126

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met,

Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; và trong đó axit amin 126 là axit amin khác với glutamin, ví dụ, trong đó axit amin 126 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; và trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, và axit amin 126 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, và axit amin 126 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, và axit amin 126 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit

đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2L, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M,

(các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, và Y45

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; và trong đó axit amin 45 là axit amin khác với tyrosin, ví dụ, trong đó axit amin 45 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val,

Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; và trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, và axit amin 45 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, và axit amin 45 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, và axit amin 45 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự

axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2M, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, và axit amin 45 là Ala. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến

khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, Y45, và H16

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; trong đó axit amin 45 là axit amin khác với tyrosin, ví dụ, trong đó axit amin 45 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin

16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, axit amin 45 là Gly, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, và axit amin 16 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng

nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trong Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2N, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, axit amin 45 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng

20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, Y45, và Q126

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; trong đó axit amin 45 là axit amin khác với tyrosin, ví dụ, trong đó axit amin 45 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 126 là axit amin khác với glutamin, ví dụ, trong đó axit amin 126 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là

98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, axit amin 45 là Gly, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, và axit amin 126 là Val. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2O, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, axit amin 45 là Ala, và axit amin 126 là Ala. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM

đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, D20, Y45, H16, và Q126

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 20 là axit amin khác với axit aspartic, ví dụ, trong đó axit amin 20 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, hoặc Glu; trong đó axit amin 45 là axit amin khác với tyrosin, ví dụ, trong đó axit amin 45 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 126 là axit amin khác với glutamin, ví dụ, trong đó axit amin 126 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 20 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; trong đó axit amin 45 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân

tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gly, axit amin 45 là Gly, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Gly, axit amin 126 là Val, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 20 là Ala, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Gly, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Asn, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Gln, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa

trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Lys, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là Arg, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2P, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 20 là His, axit amin 45 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit này, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM,

từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế có độ dài là 133 axit amin.

Đột biến thế F42, Q126, và H16

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là axit amin khác với phenylalanin, ví dụ, trong đó axit amin 42 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; trong đó axit amin 126 là axit amin khác với glutamin, ví dụ, trong đó axit amin 126 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp, hoặc Glu; và trong đó axit amin 16 là axit amin khác với histidin, ví dụ, trong đó axit amin 16 là Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp, hoặc Glu. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 126 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile; trong đó axit amin 126 là Asn, Gln, Lys, Arg, hoặc His; và trong đó axit amin 16 là Ala, Gly, Val, Leu, hoặc Ile. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa

phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Gly, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trong Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Val, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Leu, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Gly. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ile, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Asn, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Ala, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Lys, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là Arg, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong

polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.2Q, trong đó axit amin 42 là Ala, axit amin 126 là His, và axit amin 16 là Ala. Trong một số trường hợp, một bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó hai bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa hai bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa ba bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi, ví dụ, trong đó ba bản sao này được bố trí nối tiếp mà không có cầu nối giữa ba bản sao này, hoặc được bố trí nối tiếp và được ngăn cách bằng peptit cầu nối. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa chuỗi nặng HLA lớp I. Trong một số trường hợp, trong đó IL-2/synTac theo sáng chế chứa chuỗi nặng HLA lớp I và β2M, (các) polypeptit IL-2 nằm trên chuỗi polypeptit chứa polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi, hoặc synTac chứa polypeptit IL-2 biến đổi, có ái lực liên kết đối với IL-2R là từ khoảng 100 nM đến 150 nM, từ khoảng 150 nM đến khoảng 200 nM, từ khoảng 200 nM đến khoảng 250 nM, từ khoảng 250 nM đến khoảng 300 nM, từ khoảng 300 nM đến khoảng 350 nM, từ khoảng 350 nM đến khoảng 400 nM, từ khoảng 400 nM đến khoảng 500 nM, từ khoảng 500 nM đến khoảng 600 nM, từ khoảng 600 nM đến khoảng 700 nM, từ khoảng 700 nM đến khoảng 800 nM, từ khoảng 800 nM đến khoảng 900 nM, từ khoảng 900 nM đến khoảng 1 μM, từ khoảng 1 μM đến khoảng 5 μM, từ khoảng 5 μM đến khoảng 10 μM, từ khoảng 10 μM đến khoảng 15 μM, từ khoảng 15 μM đến khoảng 20 μM, từ khoảng 20 μM đến khoảng 25 μM, từ khoảng 25 μM đến khoảng 50 μM, từ khoảng 50 μM đến khoảng 75 μM, hoặc từ khoảng 75 μM đến khoảng 100 μM. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi này có độ dài là 133 axit amin.

Nhiều miền điều hòa miễn dịch

Như đề cập trên đây, trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai hoặc nhiều polypeptit điều hòa miễn dịch, trong đó ít nhất một trong số

hai hoặc nhiều polypeptit điều hòa miễn dịch này là polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế.

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa hai hoặc nhiều bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế. Trong một số trường hợp, hai hoặc nhiều polypeptit IL-2 biến đổi nằm trên cùng một chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, hai hoặc nhiều polypeptit IL-2 biến đổi nằm trên các chuỗi polypeptit riêng biệt của polypeptit đa phân tử theo sáng chế.

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa polypeptit điều hòa miễn dịch thứ nhất, và ít nhất là polypeptit điều hòa miễn dịch thứ hai, trong đó polypeptit điều hòa miễn dịch thứ nhất này là polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế, và polypeptit điều hòa miễn dịch thứ hai này không phải là polypeptit IL-2. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit điều hòa miễn dịch thứ hai là thành viên của siêu họ yếu tố hoại tử khối u (TNF); ví dụ, polypeptit FasL, polypeptit 4-1BBL, polypeptit CD40, polypeptit OX40L, polypeptit CD30L, polypeptit CD70, v.v.. Trong một số trường hợp, polypeptit điều hòa miễn dịch thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là polypeptit đồng kích thích tế bào T và là thành viên của siêu họ globulin miễn dịch (Ig); ví dụ, polypeptit CD7, polypeptit CD86, polypeptit ICAM, v.v.. Trong một số trường hợp, polypeptit điều hòa miễn dịch thứ hai này là 4-1BBL, OX40L, ICOS-L, ICAM, PD-L1, CD86, FasL, và PD-L2. Polypeptit điều hòa miễn dịch thích hợp của polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm, ví dụ, CD7, CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, thụ thể lymphotoxin beta, 3/TR6, ILT3, ILT4, hoặc HVEM. Trong một số trường hợp, polypeptit điều hòa miễn dịch thứ hai là biến thể (ví dụ, biến thể của 4-1BBL có trong tự nhiên) mà thể hiện ái lực (được xác định như được mô tả trên đây) đối với protein đồng kích thích tương ứng của nó được tìm thấy trên tế bào T là giảm so với ái lực của protein đồng kích thích (polypeptit điều hòa miễn dịch) có trong tự nhiên đối với protein đồng kích thích tương ứng (cùng nguồn gốc) của nó. Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa polypeptit điều hòa miễn dịch thứ nhất, và ít nhất là polypeptit điều hòa miễn dịch thứ hai, trong đó cả hai đều không phải là polypeptit IL-2 biến đổi. Cần phải hiểu rằng phần mô tả này đề cập chung đến việc sử dụng các polypeptit điều hòa miễn dịch mà

là các biến thể của polypeptit điều hòa miễn dịch có trong tự nhiên, các biến thể này thể hiện ái lực (được xác định như được mô tả trên đây) đối với các protein đồng kích thích tương ứng giảm so với ái lực của protein đồng kích thích (polypeptit điều hòa miễn dịch) có trong tự nhiên đối với protein đồng kích thích tương ứng (cùng nguồn gốc) này.

Miền điều hòa (MOD) tế bào T khác mà có thể nằm trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm sản phẩm gen (protein) người tự nhiên hoặc tổng hợp, chất phản ứng ái lực (ví dụ, kháng thể, đoạn kháng thể, Fv chuỗi đơn, aptame, kháng thể ở mức độ nano (nanobody)) gắn đích sản phẩm gen người, bao gồm, nhưng không giới hạn ở tất cả các protein được tiết ra sinh ra từ cơ chế tiết cổ điển và không cổ điển (ví dụ, FGF2, IL1, S100A4), và các miền ngoài của tất cả các protein bề mặt tế bào được neo bởi các đoạn protein được mã hóa di truyền có trong tự nhiên (một hoặc nhiều miền của màng) hoặc các biến đổi sau dịch mã như các liên kết GPI). Chất phản ứng ái lực có trong tự nhiên hoặc tổng hợp bất kỳ (ví dụ, kháng thể, đoạn kháng thể, Fv chuỗi đơn, aptame, kháng thể ở mức độ nano, lectin, v.v.) gắn đích glycan bề mặt tế bào hoặc biến đổi sau dịch mã khác (ví dụ, sulfat hóa). Ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các thành viên của họ TNF/TNFR (OX40L, ICOSL, FASL, LTA, LTB TRAIL, CD153, TNFSF9, RANKL, TWEAK, TNFSF13, TNFSF13b, TNFSF14, TNFSF15, TNFSF18, CD40LG, CD70) hoặc chất phản ứng ái lực hướng tới các thành viên của họ TNF/TNFR; các thành viên của siêu họ globulin miễn dịch (VISTA, PD1, PD-L1, PD-L2, B71, B72, CTLA4, CD28, TIM3, CD4, CD8, CD19, các chuỗi thụ thể tế bào T, ICOS, phối tử ICOS, HHLA2, butyrophilin, BTLA, B7-H3, B7-H4, CD3, CD79a, CD79b, IgSF CAMS (bao gồm CD2, CD58, CD48, CD150, CD229, CD244, ICAM-1), thụ thể tương tự globulin miễn dịch tế bào bạch cầu (LILR), thụ thể tương tự globulin miễn dịch tế bào diệt (KIR)), các thành viên siêu họ lectin, selectin, xytokin/chemokin và thụ thể xytokin/chemokin, yếu tố sinh trưởng và thụ thể yếu tố sinh trưởng), các phân tử kết dính (integrin, fibronectin, cadherin), hoặc các miền ngoài của protein màng tích hợp nhiều miền, hoặc chất phản ứng ái lực hướng tới siêu họ globulin miễn dịch và các sản phẩm gen được liệt kê. Ngoài ra, các thể tương đồng/gen trực giao hoạt động của các sản phẩm gen này, bao gồm nhưng không giới hạn ở, các trình tự virut (ví dụ, CMV, EBV), trình tự vi khuẩn, trình tự nấm, các mầm bệnh nhân chuẩn (ví dụ, *Schistosoma, Plasmodium, Babesia, Eimeria, Theileria,*

Toxoplasma, Entamoeba, Leishmania, và *Trypanosoma*), và các vùng mã hóa có nguồn gốc từ động vật có vú. Ngoài ra, MOD có thể chứa các dược chất phân tử nhỏ gắn đích sản phẩm gen người.

Polypeptit khung

Polypeptit đa phân tử điều hòa tế bào T theo sáng chế chứa polypeptit Fc, hoặc polypeptit khung thích hợp khác.

Các polypeptit khung thích hợp bao gồm các polypeptit khung dựa trên kháng thể và các khung không dựa trên kháng thể. Khung không dựa trên kháng thể bao gồm, ví dụ, albumin, polypeptit XTEN (tái tổ hợp kéo dài), transferrin, polypeptit thụ thể Fc, polypeptit tương tự elastin (xem, ví dụ, Hassouneh và các đồng tác giả (2012) Methods Enzymol. 502:215; ví dụ, polypeptit chứa đơn vị lặp pentapeptit là (Val-Pro-Gly-X-Gly; SEQ ID NO:100), trong đó X là axit amin bất kỳ khác prolin), polypeptit liên kết albumin, polypeptit tương tự tơ (xem, ví dụ, Valluzzi và các đồng tác giả (2002) *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 357:165), polypeptit tương tự elastin-tơ (SELP; xem, ví dụ, Megeed và các đồng tác giả (2002) *Adv Drug Deliv Rev.* 54:1075), và polypeptit tương tự. Các polypeptit XTEN thích hợp bao gồm, ví dụ, các polypeptit được mô tả trong WO 2009/023270, WO 2010/091122, WO 2007/103515, US 2010/0189682, và US 2009/0092582; cũng xem Schellenberger và các đồng tác giả (2009) *Nat Biotechnol.* 27:1186). Các polypeptit albumin thích hợp bao gồm, ví dụ, albumin huyết thanh người.

Các polypeptit khung thích hợp trong một số trường hợp sẽ là polypeptit kéo dài thời gian bán thải. Do đó, trong một số trường hợp, polypeptit khung thích hợp làm tăng thời gian bán thải in vivo (ví dụ, thời gian bán thải trong huyết thanh) của polypeptit đa phân tử, so với polypeptit đa phân tử đối chứng thiếu polypeptit khung này. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit khung làm tăng thời gian bán thải in vivo (ví dụ, thời gian bán thải trong huyết thanh) của polypeptit đa phân tử, so với polypeptit đa phân tử đối chứng thiếu polypeptit khung này, ít nhất là khoảng 10%, ít nhất là khoảng 15%, ít nhất là khoảng 20%, ít nhất là khoảng 25%, ít nhất là khoảng 50%, ít nhất là khoảng 2 lần, ít nhất là khoảng 2,5 lần, ít nhất là khoảng 5 lần, ít nhất là khoảng 10 lần, ít nhất là khoảng 25 lần, ít nhất là khoảng 50 lần, ít nhất là khoảng 100 lần, hoặc hơn 100 lần. Ví dụ, trong một số trường hợp, polypeptit Fc làm tăng thời

gian bán thải in vivo (ví dụ, thời gian bán thải trong huyết thanh) của polypeptit đa phân tử, so với polypeptit đa phân tử đối chứng thiếu polypeptit Fc này, ít nhất là khoảng 10%, ít nhất là khoảng 15%, ít nhất là khoảng 20%, ít nhất là khoảng 25%, ít nhất là khoảng 50%, ít nhất là khoảng 2 lần, ít nhất là khoảng 2,5 lần, ít nhất là khoảng 5 lần, ít nhất là khoảng 10 lần, ít nhất là khoảng 25 lần, ít nhất là khoảng 50 lần, ít nhất là khoảng 100 lần, hoặc hơn 100 lần.

Polypeptit Fc

Trong một số trường hợp, chuỗi polypeptit thứ nhất và/hoặc thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa polypeptit Fc. Polypeptit Fc của polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể là IgG1 Fc người, IgG2 Fc người, IgG3 Fc người, IgG4 Fc người, v.v.. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100% với trình tự axit amin của vùng Fc được mô tả trên Fig.4A-C. Trong một số trường hợp, vùng Fc này chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100%, với polypeptit IgG1 Fc người được mô tả trên Fig.4A. Trong một số trường hợp, vùng Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100% với polypeptit IgG1 Fc người được mô tả trên Fig.4A; và chứa đột biến thế N77; ví dụ, polypeptit Fc chứa đột biến thế N77A. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100% với polypeptit IgG2 Fc người được mô tả trên Fig.4A; ví dụ, polypeptit Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100% với axit amin

99-325 của polypeptit IgG2 Fc người được mô tả trên Fig.4A. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100% với polypeptit IgG3 Fc người được mô tả trên Fig.4A; ví dụ, polypeptit Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100% với axit amin 19-246 của polypeptit IgG3 Fc người được mô tả trên Fig.4A. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100% với polypeptit IgM Fc người được mô tả trên Fig.4B; ví dụ, polypeptit Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100% với axit amin 1-276 của polypeptit IgM Fc người được mô tả trên Fig.4B. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100% với polypeptit IgA Fc người được mô tả trên Fig.4C; ví dụ, polypeptit Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 98%, ít nhất là khoảng 99%, hoặc 100% với axit amin 1-234 của polypeptit IgA Fc người được mô tả trên Fig.4C.

Trong một số trường hợp, polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33A (IgG1 Fc người). Trong một số trường hợp, polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33A (IgG1 Fc người), ngoại trừ đột biến thế N297 với axit amin khác asparagin. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin được mô tả trên

Fig.33C (IgG1 Fc người chứa đột biến thế N297A). Trong một số trường hợp, polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33A (IgG1 Fc người), ngoại trừ đột biến thế L234 với axit amin khác leuxin. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33A (IgG1 Fc người), ngoại trừ đột biến thế L235 với axit amin khác leuxin. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33D (IgG1 Fc người chứa đột biến thế L234A và đột biến thế L235A). Trong một số trường hợp, polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33A (IgG1 Fc người), ngoại trừ đột biến thế P331 với axit amin khác prolin; trong một số trường hợp, đột biến thế này là đột biến thế P331S. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33A (IgG1 Fc người), ngoại trừ các đột biến thế ở L234 và L235 với axit amin khác leuxin. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33A (IgG1 Fc người), ngoại trừ các đột biến thế ở L234 và L235 với axit amin khác leuxin, và đột biến thế P331 với axit amin khác prolin. Trong một số trường hợp, polypeptit Fc có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33B (IgG1 Fc người chứa các đột biến thế L234F, L235E, và P331S).

Các polypeptit bổ sung

Chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể bao gồm một hoặc nhiều polypeptit ngoài các polypeptit được mô tả trên đây. Các polypeptit bổ sung thích hợp bao gồm các nhãn epitop và miền ái lực. Một hoặc nhiều polypeptit bổ sung này có thể nằm ở đầu cùng N của chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, ở đầu cùng C của chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, hoặc nằm bên trong chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử theo sáng chế.

Nhãn epitop

Các nhãn epitop thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hemagglutinin (HA; ví dụ, YPYDVPDYA (SEQ ID NO:20); FLAG (ví dụ, DYKDDDDK (SEQ ID NO:21); c-myc (ví dụ, EQKLISEEDL; SEQ ID NO:22), và các nhãn tương tự.

Miền ái lực

Miền ái lực bao gồm các trình tự peptit có thể tương tác với đối tác liên kết, ví dụ, như phân tử được cố định trên nền rắn, hữu ích để nhận diện hoặc tinh chế. Các trình tự ADN mã hóa nhiều axit amin đơn liên tiếp, như histidin, khi được dung hợp với protein đã biểu hiện, có thể được sử dụng cho quy trình tinh chế một bước của protein tái tổ hợp bằng cách liên kết ái lực cao với cột nhựa, như niken sepharoza. Miền ái lực điển hình bao gồm His5 (HHHHH) (SEQ ID NO:23), HisX6 (HHHHHH) (SEQ ID NO:24), C-myc (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO:22), Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID NO:21), StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO:25), hemagglutinin, ví dụ, nhãn HA (YPYDVPDYA) (SEQ ID NO:20), glutathion-S-transferaza (GST), thioredoxin, miền liên kết xenluloza, RYIRS (SEQ ID NO:26), Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO:88), miền liên kết chitin, S-peptit, peptit T7, miền SH2, nhãn ARN đầu C, WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO:27), miền liên kết kim loại, ví dụ, miền liên kết kẽm hoặc miền liên kết canxi như các miền từ protein liên kết canxi, ví dụ, calmodulin, troponin C, calcineurin B, chuỗi nhẹ myosin, recoverin, S-modulin, visinin, VILIP, neurocalcin, hippocalcin, frequenin, caltractin, tiểu đơn vị lớn calpain, protein S100, parvalbumin, calbindin D9K, calbindin D28K, và calretinin, intein, biotin, streptavidin, MyoD, Id, trình tự khóa kéo leuxin, và protein liên kết maltoza.

Ví dụ về polypeptit đa phân tử theo sáng chế

Sau đây là các phương án không giới hạn về polypeptit đa phân tử IL-2/synTac theo sáng chế.

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử IL-2/synTac theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop; ii) polypeptit β2-microglobulin (β2M) chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34A; và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế; ii) polypeptit chuỗi nặng phức hợp tương thích mô chính (MHC) chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34C; và iii) polypeptit IgG1 Fc chứa một hoặc nhiều đột biến thế axit amin được chọn từ N297A, L234A, L235A, L234F, L235E, và P331S. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 biến đổi chứa đột biến thế H16A và F42A. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế N297A. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế

L234A và đột biến thế L235A. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234F và đột biến thế L235E. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234F, đột biến thế L235E, và đột biến thế P331S. Trong một số trường hợp, polypeptit thứ hai chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi. Trong một số trường hợp, polypeptit thứ nhất chứa cầu nối peptit giữa epitop và polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit thứ hai chứa cầu nối peptit giữa một hoặc nhiều trong số: a) bản sao thứ nhất của polypeptit IL-2 biến đổi và bản sao thứ hai của polypeptit IL-2 biến đổi; b) polypeptit IL-2 biến đổi và polypeptit chuỗi nặng MHC; và c) giữa polypeptit chuỗi nặng MHC và polypeptit IgG1 Fc. Trong một số trường hợp, cầu nối peptit được chọn từ $(GGGGS)_3$ (SEQ ID NO:89), $(GGGGS)_4$ (SEQ ID NO:90), và AAAGG (SEQ ID NO:28). Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33B. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33C. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33D.

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop; ii) polypeptit β2-microglobulin chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34A; và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) polypeptit IL-2 biến đổi chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34B; ii) polypeptit chuỗi nặng phức hợp tương thích mô chính (MHC) chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34C; và iii) polypeptit IgG1 Fc chứa một hoặc nhiều đột biến thế axit amin được chọn từ N297A, L234A, L235A, L234F, L235E, và P331S. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế N297A. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234A và đột biến thế L235A. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234F và đột biến thế L235E. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234F, đột biến thế L235E, và đột biến thế P331S. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33B. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33C. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33D. Trong một số trường hợp, trong polypeptit thứ hai chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi. Trong một số trường hợp, polypeptit thứ nhất chứa cầu nối peptit giữa epitop và polypeptit β2M. Trong một số

trường hợp, polypeptit thứ hai chứa cầu nối peptit giữa một hoặc nhiều trong số: a) bản sao thứ nhất của polypeptit IL-2 biến đổi và bản sao thứ hai của polypeptit IL-2 biến đổi; b) polypeptit IL-2 biến đổi và polypeptit chuỗi nặng MHC; và c) giữa polypeptit chuỗi nặng MHC và polypeptit IgG1 Fc. Trong một số trường hợp, cầu nối peptit được chọn từ $(GGGGS)_3$ (SEQ ID NO:89), $(GGGGS)_4$ (SEQ ID NO:90), và AAAGG (SEQ ID NO:28).

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) epitop chứa trình tự axit amin YMLDLQPETT (SEQ ID NO:13); ii) polypeptit β2-microglobulin chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34A; và b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: i) polypeptit IL-2 biến đổi chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34B; ii) polypeptit chuỗi nặng phức hợp tương thích mô chính (MHC) chứa trình tự axit amin được mô tả trong Fig.34C; và iii) polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trong Fig.33A, 33B, 33C, hoặc 33D. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trong Fig.33B. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33C. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33D. Trong một số trường hợp, polypeptit thứ hai chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi. Trong một số trường hợp, polypeptit thứ nhất chứa cầu nối peptit giữa epitop và polypeptit β2M. Trong một số trường hợp, polypeptit thứ hai chứa cầu nối peptit giữa một hoặc nhiều trong số: a) bản sao thứ nhất của polypeptit IL-2 biến đổi và bản sao thứ hai của polypeptit IL-2 biến đổi; b) polypeptit IL-2 biến đổi và polypeptit chuỗi nặng MHC; và c) giữa polypeptit chuỗi nặng MHC và polypeptit IgG1 Fc. Trong một số trường hợp, cầu nối peptit được chọn từ $(GGGGS)_3$ (SEQ ID NO:89), $(GGGGS)_4$ (SEQ ID NO:90), và AAAGG (SEQ ID NO:28). Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33B. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33C. Trong một số trường hợp, polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33D.

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.31; và b) polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.22.

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.31; và b) polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.25.

Trong một số trường hợp, polypeptit đa phân tử theo sáng chế chứa: a) polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.31; và b) polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.28.

AXIT NUCLEIC

Sáng chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế. Sáng chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit IL-2 dung hợp theo sáng chế.

Sáng chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, mỗi chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử theo sáng chế được mã hóa trong các axit nucleic riêng. Trong một số trường hợp, tất cả các chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử theo sáng chế được mã hóa trong một axit nucleic duy nhất. Trong một số trường hợp, axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất của polypeptit đa phân tử theo sáng chế; và axit nucleic thứ hai chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, một axit nucleic duy nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất của polypeptit đa phân tử theo sáng chế và polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế.

Ví dụ không giới hạn về các axit nucleic theo sáng chế được mô tả trên Fig.23A, Fig.26A, Fig.29A, và Fig.32.

Các axit nucleic riêng biệt mã hóa mỗi chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử

Sáng chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Như đã lưu ý trên đây, trong một số trường hợp, mỗi chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử theo sáng chế được mã hóa trong các axit nucleic riêng.

Trong một số trường hợp, các trình tự nucleotit mã hóa các chuỗi polypeptit riêng biệt của polypeptit đa phân tử theo sáng chế được liên kết điều khiển được với các yếu tố điều khiển phiên mã, ví dụ, gen khởi đầu, như gen khởi đầu hoạt động ở tế bào nhân chuẩn, trong đó gen khởi đầu này có thể là gen khởi đầu cơ định hoặc gen khởi đầu cảm ứng được.

Sáng chế đề xuất axit nucleic thứ nhất và axit nucleic thứ hai, trong đó axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, trong đó polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: a) epitop (ví dụ, epitop tế bào T); b) polypeptit MHC thứ nhất; và c) polypeptit điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế); và trong đó axit nucleic thứ hai chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, trong đó polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: a) polypeptit MHC thứ hai; và b) polypeptit Ig Fc. Epitop tế bào T, polypeptit MHC, polypeptit điều hòa miễn dịch, và polypeptit Ig Fc thích hợp được mô tả trên đây. Trong một số trường hợp, trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất và thứ hai được liên kết điều khiển được với các yếu tố điều khiển phiên mã. Trong một số trường hợp, yếu tố điều khiển phiên mã là gen khởi đầu hoạt động trong tế bào nhân chuẩn Trong một số trường hợp, các axit nucleic này có mặt trong các vectơ biểu hiện riêng biệt.

Sáng chế đề xuất axit nucleic thứ nhất và axit nucleic thứ hai, trong đó axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, trong đó polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: a) epitop (ví dụ, epitop tế bào T); và b) polypeptit MHC thứ nhất; và trong đó axit nucleic thứ hai chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, trong đó polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: a) polypeptit điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế); b) polypeptit MHC thứ hai; và c) polypeptit Ig Fc. Epitop tế bào T, polypeptit MHC, polypeptit điều hòa miễn dịch, và polypeptit Ig Fc thích hợp được mô tả trên đây. Trong một số trường hợp, trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất và thứ hai được liên kết điều khiển được với các yếu tố điều khiển phiên mã. Trong một số trường hợp, yếu tố điều khiển phiên mã là gen khởi đầu hoạt động trong

tế bào nhân chuẩn. Trong một số trường hợp, các axit nucleic này có mặt trong các vectơ biểu hiện riêng biệt.

Axit nucleic mã hóa hai hoặc nhiều polypeptit có mặt trong polypeptit đa phân tử

Sáng chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa ít nhất là polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, trong đó polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm polypeptit thứ nhất, thứ hai, và thứ ba, axit nucleic này bao gồm trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất, thứ hai, và thứ ba này. Trong một số trường hợp, các trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein nằm xen giữa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất và trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai. Trong một số trường hợp, các trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm vị trí đi vào ribosom nội tại (internal ribosome entry site: IRES) nằm xen giữa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất và trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai. Trong một số trường hợp, các trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm tín hiệu bỏ qua ribosom (hoặc yếu tố hydrolaza tác động cis, CHYSEL) nằm xen giữa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất và trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai. Ví dụ về các axit nucleic được mô tả dưới đây, trong đó cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein được bố trí giữa các trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế; trong bất kỳ trong số các phương án này, IRES hoặc tín hiệu bỏ qua ribosom có thể được sử dụng thay cho trình tự nucleotit mã hóa cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein.

Trong một số trường hợp, axit nucleic thứ nhất (ví dụ, vectơ biểu hiện tái tổ hợp, mARN, ARN virut, v.v.) chứa trình tự nucleotit mã hóa chuỗi polypeptit thứ nhất của polypeptit đa phân tử theo sáng chế; và axit nucleic thứ hai (ví dụ, vectơ biểu hiện tái tổ hợp, mARN, ARN virut, v.v.) chứa trình tự nucleotit mã hóa chuỗi polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, mỗi trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất, và trình tự nucleotit thứ hai mã hóa polypeptit

thứ hai, được liên kết điều khiển được với các yếu tố điều khiển phiên mã, ví dụ, gen khởi đầu, như gen khởi đầu mà hoạt động trong tế bào nhân chuẩn, trong đó gen khởi đầu này có thể là gen khởi đầu cơ định hoặc gen khởi đầu cảm ứng được.

Sáng chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit tái tổ hợp, trong đó polypeptit tái tổ hợp này chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: a) epitop (ví dụ, epitop tế bào T); b) polypeptit MHC thứ nhất; c) polypeptit điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế); d) cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein; e) polypeptit MHC thứ hai; và f) polypeptit Fc globulin miễn dịch (Ig). Sáng chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit tái tổ hợp, trong đó polypeptit tái tổ hợp này chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: a) peptit dẫn đầu thứ nhất; b) epitop; c) polypeptit MHC thứ nhất; d) polypeptit điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế); e) cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein; f) peptit dẫn đầu thứ hai; g) polypeptit MHC thứ hai; và h) polypeptit Ig Fc. Sáng chế đề xuất axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit tái tổ hợp, trong đó polypeptit tái tổ hợp này chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C: a) epitop; b) polypeptit MHC thứ nhất; c) cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein; d) polypeptit điều hòa miễn dịch (ví dụ, polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế); e) polypeptit MHC thứ hai; và f) polypeptit Ig Fc. Trong một số trường hợp, peptit dẫn đầu thứ nhất và peptit dẫn đầu thứ hai là peptit dẫn đầu β2-M. Trong một số trường hợp, trình tự nucleotit được liên kết điều khiển được với yếu tố điều khiển phiên mã. Trong một số trường hợp, yếu tố điều khiển phiên mã là gen khởi đầu hoạt động trong tế bào nhân chuẩn

Polypeptit MHC thích hợp được mô tả trên đây. Trong một số trường hợp, polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit β2-microglobulin; và trong đó polypeptit MHC thứ hai là polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I. Trong một số trường hợp, polypeptit β2-microglobulin chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 85% với một trong số các trình tự axit amin được chỉ ra trên Fig.6. Trong một số trường hợp, polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I là chuỗi nặng HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-K, hoặc HLA-L. Trong một số trường hợp, polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 85% với trình tự axit amin được chỉ ra trong một trong số các Fig.5A-5C.

Trong một số trường hợp, polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit chuỗi alpha MHC lớp II; và trong đó polypeptit MHC thứ hai là polypeptit chuỗi beta MHC lớp II.

Các polypeptit Fc thích hợp được mô tả trên đây. Trong một số trường hợp, polypeptit Ig Fc là polypeptit IgG1 Fc, polypeptit IgG2 Fc, polypeptit IgG3 Fc, polypeptit IgG4 Fc, polypeptit IgA Fc, hoặc polypeptit IgM Fc. Trong một số trường hợp, polypeptit Ig Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 85% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig 4A-4C.

Polypeptit điều hòa miễn dịch thích hợp được mô tả trên đây.

Cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein thích hợp được mô tả trên đây. Trong một số trường hợp, cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein chứa trình tự axit amin được chọn từ: a) LEVLFQGP (SEQ ID NO:29); b) ENLYTQS (SEQ ID NO:30); c) DDDDK (SEQ ID NO:31); d) LVPR (SEQ ID NO:32); và e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:33).

Trong một số trường hợp, cầu nối giữa epitop và polypeptit MHC thứ nhất chứa gốc Cys thứ nhất, và polypeptit MHC thứ hai chứa đột biến thế axit amin để tạo ra gốc Cys thứ hai, sao cho các gốc Cys thứ nhất và thứ hai này tạo ra liên kết disulfua giữa cầu nối này và polypeptit MHC thứ hai. Trong một số trường hợp, polypeptit MHC thứ nhất chứa đột biến thế axit amin để tạo ra gốc Cys thứ nhất, và polypeptit MHC thứ hai chứa đột biến thế axit amin để tạo ra gốc Cys thứ hai, sao cho gốc Cys thứ nhất và gốc Cys thứ hai này tạo ra liên kết disulfua giữa polypeptit MHC thứ nhất và polypeptit MHC thứ hai.

Vectơ biểu hiện tái tổ hợp

Sáng chế đề xuất các vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa các axit nucleic theo sáng chế. Trong một số trường hợp, vectơ biểu hiện tái tổ hợp là vectơ không phải virut. Theo một số phương án, vectơ biểu hiện tái tổ hợp này là cấu trúc virut, ví dụ, cấu trúc virut liên hợp adeno tái tổ hợp (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 7,078,387), cấu trúc adenovirut tái tổ hợp, cấu trúc lentivirut tái tổ hợp, cấu trúc retrovirut tái tổ hợp, vectơ virut không tích hợp, v.v..

Các vectơ biểu hiện thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, vectơ virut (ví dụ vectơ virut dựa trên virut vaccinia; poliovirus; adenovirus (xem, ví dụ, Li và các

đồng tác giả, Invest Opthalmol Vis Sci 35:2543 2549, 1994; Borras và các đồng tác giả, Gene Ther 6:515 524, 1999; Li and Davidson, PNAS 92:7700 7704, 1995; Sakamoto và các đồng tác giả, H Gene Ther 5:1088 1097, 1999; WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 và WO 95/00655); virut liên hợp adeno (xem, ví dụ, Ali và các đồng tác giả, Hum Gene Ther 9:81 86, 1998, Flannery và các đồng tác giả, PNAS 94:6916 6921, 1997; Bennett và các đồng tác giả, Invest Opthalmol Vis Sci 38:2857 2863, 1997; Jomary và các đồng tác giả, Gene Ther 4:683 690, 1997, Rolling và các đồng tác giả, Hum Gene Ther 10:641 648, 1999; Ali và các đồng tác giả, Hum Mol Genet 5:591 594, 1996; Srivastava trong WO 93/09239, Samulski và các đồng tác giả, J. Vir. (1989) 63:3822 3828; Mendelson và các đồng tác giả, Virol. (1988) 166:154 165; và Flotte và các đồng tác giả, PNAS (1993) 90:10613 10617); SV40; virut herpes simplex; virut gây suy giảm miễn dịch ở người (xem, ví dụ, Miyoshi và các đồng tác giả, PNAS 94:10319 23, 1997; Takahashi và các đồng tác giả, J Virol 73:7812 7816, 1999); vectơ retrovirut (ví dụ, virut gây bệnh bạch cầu chuột, virut gây hoại tử lách, và các vectơ thu được từ retrovirut như virut Rous Sarcoma, virut Harvey Sarcoma, virut gây bệnh bạch cầu ở gia cầm, lentivirut, virut gây suy giảm miễn dịch ở người, virut gây bệnh sacôm tăng sinh tủy, và virut gây khối u ở động vật có vú); và tương tự.

Nhiều vectơ biểu hiện thích hợp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, và nhiều vectơ đã có trên thị trường. Các vectơ sau đây được cung cấp làm ví dụ; đối với tế bào chủ nhân chuẩn: pXT1, pSG5 (Stratagene), pSVK3, pBPV, pMSG, và pSVLSV40 (Pharmacia). Tuy nhiên, vectơ khác bất kỳ có thể được sử dụng miễn là nó phù hợp với tế bào chủ này.

Tùy theo hệ vật chủ/vectơ được sử dụng, bất kỳ trong số nhiều yếu tố điều khiển phiên mã và dịch mã thích hợp, bao gồm gen khởi đầu cơ định và cảm ứng, các yếu tố tăng cường phiên mã, yếu tố kết thúc phiên mã, v.v. có thể được sử dụng trong vectơ biểu hiện này (xem ví dụ, Bitter và các đồng tác giả (1987) *Methods in Enzymology*, 153:516-544).

Theo một số phương án, trình tự nucleotit mã hóa ARN gắn đích ADN và/hoặc polypeptit biến đổi định hướng vị trí được liên kết điều khiển được với yếu tố điều khiển, ví dụ, yếu tố điều khiển phiên mã, như gen khởi đầu. Yếu tố điều khiển phiên

mã này có thể hoạt động trong tế bào nhân chuẩn, ví dụ, tế bào động vật có vú; hoặc tế bào tiền nhân (ví dụ, tế bào vi khuẩn hoặc cổ khuẩn). Theo một số phương án, trình tự nucleotit mã hóa ARN gắn đích ADN và/hoặc polypeptit biến đổi định hướng vị trí được liên kết điều khiển được với nhiều yếu tố điều khiển cho phép biểu hiện trình tự nucleotit mã hóa ARN gắn đích ADN và/hoặc polypeptit biến đổi định hướng vị trí ở cả tế bào tiền nhân và tế bào nhân chuẩn.

Ví dụ không giới hạn về các gen khởi đầu nhân chuẩn thích hợp (các gen khởi đầu hoạt động trong tế bào nhân chuẩn) bao gồm các gen khởi đầu từ cytomegalovirus (CMV) sớm ngay tức thì, virut herpes simplex (HSV) thymidin kinaza, SV40 sớm và muộn, các chuỗi lặp đoạn cuối dài (LTR) từ retrovirus, và metallothionein-I của chuột. Việc lựa chọn vectơ và gen khởi đầu thích hợp nằm trong hiểu biết của người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Vectơ biểu hiện này cũng có thể chứa vị trí liên kết ribosom để khởi động dịch mã và yếu tố kết thúc phiên mã. Vectơ biểu hiện này cũng có thể bao gồm các trình tự thích hợp để khuếch đại sự biểu hiện.

TẾ BÀO CHỦ ĐƯỢC BIẾN ĐỔI DI TRUYỀN

Sáng chế đề xuất tế bào chủ được biến đổi di truyền, trong đó tế bào chủ này được biến đổi di truyền bằng axit nucleic theo sáng chế.

Tế bào chủ thích hợp bao gồm tế bào nhân chuẩn, như tế bào nấm men, tế bào côn trùng, và tế bào động vật có vú. Trong một số trường hợp, tế bào chủ này là tế bào thuộc dòng tế bào động vật có vú. Dòng tế bào động vật có vú thích hợp bao gồm dòng tế bào người, dòng tế bào động vật linh trưởng không phải người, dòng tế bào động vật gặm nhấm (ví dụ, chuột nhắt, chuột cống), và các dòng tế bào tương tự. Dòng tế bào động vật có vú thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tế bào HeLa (ví dụ, Bộ sưu tập chủng nuôi cấy kiểu Mỹ (ATCC) No. CCL-2), tế bào CHO (ví dụ, ATCC No. CRL9618, CCL61, CRL9096), tế bào 293 (ví dụ, ATCC No. CRL-1573), tế bào Vero, tế bào NIH 3T3 (ví dụ, ATCC No. CRL-1658), tế bào Huh-7, tế bào BHK (ví dụ, ATCC No. CCL10), tế bào PC12 (ATCC No. CRL1721), tế bào COS, tế bào COS-7 (ATCC No. CRL1651), tế bào RAT1, tế bào L chuột nhắt (ATCC No. CCLI.3), tế bào thận phôi người (HEK) (ATCC No. CRL1573), tế bào HLHepG2, và các tế bào tương tự.

Trong một số trường hợp, tế bào chủ này là tế bào động vật có vú đã được biến đổi di truyền sao cho nó không tổng hợp MHC β2-M nội sinh.

PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT POLYPEPTIT ĐA PHÂN TỬ

Sáng chế đề xuất các phương pháp sản xuất polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Các phương pháp này thường bao gồm nuôi cấy, trong môi trường nuôi cấy, tế bào chủ đã được biến đổi di truyền với vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử; và phân lập polypeptit đa phân tử này từ tế bào chủ đã biến đổi di truyền và/hoặc môi trường nuôi cấy. Tế bào chủ đã được biến đổi di truyền với vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử còn được gọi là "vật chủ biểu hiện". Như đã lưu ý trên đây, trong một số trường hợp, mỗi chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử theo sáng chế được mã hóa trong các vectơ biểu hiện tái tổ hợp riêng biệt. Trong một số trường hợp, tất cả các chuỗi polypeptit của polypeptit đa phân tử theo sáng chế được mã hóa trong cùng một vectơ biểu hiện tái tổ hợp.

Việc phân lập polypeptit đa phân tử từ tế bào chủ biểu hiện (ví dụ, từ dịch dung giải tế bào chủ biểu hiện) và/hoặc môi trường nuôi cấy trong đó tế bào chủ này được nuôi cấy, có thể được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp tinh chế protein chuẩn.

Ví dụ, dịch dung giải có thể được bào chế từ vật chủ biểu hiện và dịch dung giải này được tinh chế bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sắc ký loại cỡ, điện di gel, sắc ký ái lực, hoặc kỹ thuật tinh chế khác. Ngoài ra, khi polypeptit đa phân tử được tiết ra từ tế bào chủ biểu hiện vào môi trường nuôi cấy, polypeptit đa phân tử này có thể được tinh chế từ môi trường nuôi cấy bằng cách sử dụng HPLC, sắc ký loại cỡ, điện di gel, sắc ký ái lực, hoặc kỹ thuật tinh chế khác. Trong một số trường hợp, các chế phẩm được sử dụng sẽ chứa ít nhất là 80% theo khối lượng là sản phẩm mong muốn, ít nhất là khoảng 85% theo khối lượng, ít nhất là khoảng 95% theo khối lượng, hoặc ít nhất là khoảng 99,5% theo khối lượng, so với các tạp chất liên quan đến phương pháp bào chế sản phẩm này và quy trình tinh chế nó. Các tỷ lệ phần trăm có thể dựa trên protein toàn phần.

Trong một số trường hợp, ví dụ, trong đó polypeptit đa phân tử chứa nhãn ái lực, polypeptit đa phân tử này có thể được tinh chế bằng cách sử dụng đối tác liên kết đã được bất động của nhãn ái lực này.

CHẾ PHẨM

Sáng chế đề xuất các chế phẩm, bao gồm dược phẩm, chứa polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế. Sáng chế đề xuất các chế phẩm, bao gồm dược phẩm, chứa polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Sáng chế đề xuất các chế phẩm, bao gồm dược phẩm, chứa axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế.

Các chế phẩm chứa polypeptit đa phân tử

Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa, ngoài polypeptit đa phân tử theo sáng chế, một hoặc nhiều trong số: muối, ví dụ, NaCl, $MgCl_2$, KCl, $MgSO_4$, v.v.; chất đệm, ví dụ, đệm Tris, N-(2-Hydroxyetyl)piperazin-N'-(axit 2-etansulfonic) (HEPES), axit 2-(N-Morpholino)etansulfonic (MES), muối natri của axit 2-(N-Morpholino)etansulfonic (MES), axit 3-(N-Morpholino)propansulfonic (MOPS), axit N-tris[Hydroxymetyl]metyl-3-aminopropansulfonic (TAPS), v.v.; chất hòa tan; chất tẩy rửa, ví dụ, chất tẩy rửa không ion hóa như Tween-20, v.v.; chất ức chế proteaza; glyxerol; và các chất tương tự.

Chế phẩm này có thể chứa tá dược dược dụng, nhiều loại trong số chúng đã được biết trong lĩnh vực này và không cần được thảo luận chi tiết ở đây. Các tá dược dược dụng đã được mô tả đầy đủ trong nhiều tài liệu công bố, bao gồm, ví dụ, "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", tái bản lần thứ 19 (1995), hoặc xuất bản gần nhất, Mack Publishing Co; A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", tái bản lần thứ 20, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel và các đồng tác giả, eds tái bản lần thứ 7, Lippincott, Williams, & Wilkins; và Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A.H. Kibbe và các đồng tác giả, eds., tái bản lần thứ 3. Amer. Pharmaceutical Assoc.

Dược phẩm có thể chứa polypeptit đa phân tử theo sáng chế, và tá dược dược dụng. Trong một số trường hợp, dược phẩm này sẽ là thích hợp để sử dụng cho đối tượng, ví dụ, sẽ là vô khuẩn. Ví dụ, theo một số phương án, dược phẩm này sẽ là thích

hợp để sử dụng cho đối tượng là người, ví dụ, khi chế phẩm này là vô khuẩn và không chứa chất gây sốt phát hiện được và/hoặc các độc tố khác.

Các chế phẩm protein có thể chứa các thành phần khác, như loại được sử dụng trong dược phẩm của manitol, lactoza, tinh bột, magie stearat, natri sacarin, bột talc, xenluloza, glucoza, sucroza, magie, cacbonat, và các chất tương tự. Các chế phẩm này có thể chứa các chất phụ trợ dược dụng cần thiết để tạo ra các điều kiện gần như sinh lý như chất điều chỉnh độ pH và chất đệm, chất điều chỉnh tác dụng gây độc và các chất tương tự, ví dụ, natri axetat, natri clorua, kali clorua, canxi clorua, natri lactat, hydroclorua, các muối sulfat, solvat (ví dụ, hỗn hợp các muối ion, nước, các chất hữu cơ), hydrat (ví dụ, nước), và các chất tương tự.

Ví dụ, các chế phẩm có thể bao gồm dung dịch nước, dạng bột, hạt, viên nén, viên tròn, viên đạn, viên nang, huyền phù, dạng xịt, và các chế phẩm tương tự. Chế phẩm này có thể được bào chế tùy theo các đường sử dụng khác nhau được mô tả dưới đây.

Khi polypeptit đa phân tử theo sáng chế được sử dụng dưới dạng tiêm được (ví dụ dưới da, trong màng bụng, trong cơ, và/hoặc trong tĩnh mạch) trực tiếp vào mô, chế phẩm này có thể được cung cấp dưới dạng sử dụng được ngay, hoặc dưới dạng không chứa nước (ví dụ bột ổn định bảo quản có thể hoàn nguyên được) hoặc dạng chứa nước, như chất lỏng bao gồm các chất mang và tá dược dược dụng. Các chế phẩm chứa protein cũng có thể được tạo ra để làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh của protein này sau khi sử dụng. Ví dụ, protein này có thể được cung cấp trong chế phẩm liposom, được bào chế dưới dạng keo, hoặc các kỹ thuật thông thường khác để kéo dài thời gian bán thải trong huyết thanh. Nhiều phương pháp khác nhau là sẵn có để bào chế các liposom, như được mô tả trong, ví dụ, Szoka và các đồng tác giả 1980 Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9:467, Patent Mỹ số 4,235,871, 4,501,728 và 4,837,028. Các chế phẩm này cũng có thể được cung cấp ở dạng giải phóng chậm hoặc giải phóng kiểm soát.

Ví dụ khác về các chế phẩm thích hợp để sử dụng ngoài đường tiêu hóa bao gồm các dung dịch tiêm vô trùng đẳng trương, chất chống oxy hóa, chất kìm khuẩn và các chất tan làm cho chế phẩm đẳng trương với máu của người nhận dự kiến, chất tạo huyền phù, chất hòa tan, chất làm đặc, chất ổn định và chất bảo quản. Ví dụ, dược

phẩm có thể có mặt trong đồ bao gói, ví dụ, đồ bao gói vô trùng, như xylanh. Các chế phẩm này có thể được trình bày trong các đồ bao gói đơn liều hoặc đa liều đóng kín, như các ống tiêm và lọ thủy tinh, và có thể được bảo quản trong điều kiện làm lạnh khô (đông khô) chỉ cần bổ sung tá dược lỏng vô khuẩn, ví dụ, nước, để tiêm ngay trước khi sử dụng. Các dung dịch và huyền phù tiêm được ngay có thể được bào chế từ bột, hạt, và viên nén vô khuẩn.

Nồng độ của polypeptit đa phân tử theo sáng chế trong chế phẩm có thể thay đổi nhiều (ví dụ, từ nhỏ hơn khoảng 0,1%, thường là ở hoặc ít nhất là khoảng 2% đến 20% đến 50% hoặc nhiều hơn theo khối lượng) và sẽ thường được chọn chủ yếu trên cơ sở thể tích dung dịch, độ nhớt, và các yếu tố dựa vào bệnh nhân phù hợp với chế độ sử dụng cụ thể được chọn và nhu cầu của bệnh nhân.

Sáng chế đề xuất đồ bao gói chứa chế phẩm theo sáng chế, ví dụ, chế phẩm lỏng. Đồ bao gói này có thể là, ví dụ, xylanh, ống tiêm, và các đồ bao gói tương tự. Trong một số trường hợp, đồ bao gói này là vô khuẩn. Trong một số trường hợp, cả đồ bao gói và chế phẩm đều là vô khuẩn.

Sáng chế đề xuất các chế phẩm, bao gồm dược phẩm, chứa polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế. Chế phẩm có thể chứa: a) polypeptit IL-2 biến đổi theo sáng chế; và b) tá dược, như được mô tả trên đây cho polypeptit đa phân tử. Trong một số trường hợp, tá dược này là dược dụng.

Các chế phẩm chứa axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp

Sáng chế đề xuất các chế phẩm, ví dụ, dược phẩm, chứa axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế. Nhiều loại tá dược dược dụng khác nhau là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và không cần được thảo luận chi tiết ở đây. Các tá dược dược dụng đã được mô tả đầy đủ trong nhiều tài liệu công bố, bao gồm, ví dụ, A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", tái bản lần thứ 20, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel và các đồng tác giả, eds tái bản lần thứ 7, Lippincott, Williams, & Wilkins; và Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe và các đồng tác giả, eds., tái bản lần thứ 3. Amer. Pharmaceutical Assoc.

Chế phẩm theo sáng chế có thể bao gồm: a) axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp đã đề cập; và b) một hoặc nhiều trong số: chất đệm, chất hoạt động bề mặt, chất chống oxy hóa, polyme ưa nước, dextrin, chất tạo chelat, chất tạo huyền phù, chất hòa tan, chất làm đặc, chất ổn định, chất kìm khuẩn, chất làm ướt, và chất bảo quản. Chất đệm thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, (như axit N,N-bis(2-hydroxyetyl)-2-aminoetansulfonic (BES), bis(2-hydroxyetyl)amino-tris(hydroxymetyl)metan (BIS-Tris), axit N-(2-hydroxyetyl)piperazin-N'3-propansulfonic (EPPS hoặc HEPPS), glycylglyxin, axit N-2-hydroxyehtylpiperazin-N'-2-etansulfonic (HEPES), axit 3-(N-morpholino)propan sulfonic(MOPS), piperazin-N,N'-bis(axit 2-etan-sulfonic) (PIPES), natri bicacbonat, 3-(axit N-tris(hydroxymetyl)-metyl-amino)-2-hydroxy-propansulfonic) TAPSO, (axit N-tris(hydroxymetyl)metyl-2-aminoetansulfonic (TES), N-tris(hydroxymetyl)metyl-glyxin (Tricine), tris(hydroxymetyl)-aminometan (Tris), v.v.). Muối thích hợp bao gồm, ví dụ, NaCl, $MgCl_2$, KCl, $MgSO_4$, v.v.

Dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,001% đến khoảng 90% (khối lượng/khối lượng). Trong phần mô tả các chế phẩm, dưới đây, "axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp được đề cập" sẽ được hiểu là bao gồm axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế. Ví dụ, theo một số phương án, chế phẩm được đề cập chứa axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế.

Axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp được đề cập có thể được trộn, được bao nang, được liên hợp hoặc theo cách khác được kết hợp với các hợp chất khác hoặc các hỗn hợp của các hợp chất; các hợp chất này có thể bao gồm, ví dụ, liposom hoặc phân tử gắn đích thụ thể. Axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp được đề cập có thể được kết hợp trong chế phẩm với một hoặc nhiều thành phần hỗ trợ sự nuốt, phân bố và/hoặc hấp thu.

Chế phẩm chứa axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp được đề cập có thể được bào chế thành bất kỳ trong số nhiều dạng liều có thể như, nhưng không giới hạn ở, viên nén, viên nang, viên nang gel, xirô lỏng, gel mềm, thuốc đạn và dụng cụ thụt. Chế phẩm chứa axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp được đề cập cũng có thể được bào chế thành huyền phù trong môi trường nước, không có nước hoặc môi

trường hỗn hợp. Huyền phù chứa nước có thể chứa thêm các chất làm tăng độ nhớt của huyền phù bao gồm, ví dụ, natri carboxymetylxenluloza, sorbitol và/hoặc dextran. Huyền phù này cũng có thể chứa chất ổn định.

Chế phẩm chứa axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp được đề cập có thể là chế phẩm liposom. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "liposom" có nghĩa là túi tạo bởi các phân tử lipit lưỡng cực được sắp xếp trong một hoặc nhiều lớp kép hình cầu. Liposom là các túi một lớp hoặc nhiều lớp mà có màng được tạo thành từ nguyên liệu ưa chất béo và phần bên trong chứa nước chứa chế phẩm cần được phân phối. Các liposom cation là các liposom tích điện dương mà có thể tương tác với các phân tử ADN tích điện âm để tạo thành phức hợp bền vững. Các liposom mà nhạy với độ pH hoặc tích điện âm được cho là bắt giữ ADN hơn là tạo phức với nó. Cả liposom cation và không cation đều có thể được sử dụng để phân phối axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp được đề cập.

Liposom cũng bao gồm các liposom "ổn định về mặt không gian", thuật ngữ mà, như được sử dụng ở đây, đề cập đến các liposom chứa một hoặc nhiều lipit chuyên dụng mà, khi được kết hợp vào các liposom, dẫn đến tuổi thọ trong hệ tuần hoàn tăng so với liposom thiếu lipit chuyên dụng này. Ví dụ về liposom ổn định về mặt không gian là các liposom trong đó một phần của phần lipit tạo thành túi của liposom này chứa một hoặc nhiều glycolipit hoặc được tạo dẫn xuất với một hoặc nhiều polyme ưa nước, như gốc polyetylen glycol (PEG). Các liposom và ứng dụng của chúng được mô tả thêm trong Patent Mỹ số 6,287,860, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Các dạng bào chế và các chế phẩm theo sáng chế cũng có thể bao gồm các chất hoạt động bề mặt. Việc sử dụng các chất hoạt động bề mặt trong dược phẩm, dạng bào chế và trong nhũ tương đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các chất hoạt động bề mặt và ứng dụng của chúng được mô tả thêm trong Patent Mỹ số 6,287,860.

Trong một phương án, nhiều chất tăng cường tính thấm khác nhau được bao gồm, để gây ra sự phân phối hiệu quả các axit nucleic. Ngoài việc hỗ trợ sự khuếch tán của các dược chất không ưa chất béo qua màng tế bào, chất tăng cường tính thấm cũng làm tăng tính thấm của các dược chất ưa chất béo. Chất tăng cường tính thấm có thể được phân loại là thuộc một trong năm nhóm rộng, nghĩa là, chất hoạt động bề mặt,

axit béo, muối mật, chất tạo chelat, và chất không hoạt động bề mặt không tạo chelat. Chất tăng cường tính thấm và ứng dụng của chúng được mô tả thêm trong Patent Mỹ số 6,287,860, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Các chế phẩm và dạng bào chế để sử dụng bằng đường miệng bao gồm bột hoặc hạt, vi hạt, hạt có kích thước nano, huyền phù hoặc dung dịch trong nước hoặc môi trường không chứa nước, viên nang, viên nang gel, gói, viên nén, hoặc viên nén nhỏ. Chất làm đặc, chất tạo mùi thơm, chất pha loãng, chất nhũ hóa, chất hỗ trợ phân tán hoặc chất kết dính có thể được mong muốn. Các chế phẩm sử dụng bằng đường miệng thích hợp bao gồm các chế phẩm trong đó axit nucleic đối nghĩa được đề cập được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất tăng cường tính thấm chất hoạt động bề mặt và chất tạo chelat. Các chất hoạt động bề mặt thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, axit béo và/hoặc este hoặc muối của chúng, axit mật và/hoặc muối của chúng. Axit mật/muối mật và axit béo thích hợp và ứng dụng của chúng được mô tả thêm trong Patent Mỹ số 6,287,860. Cũng thích hợp là các hỗn hợp của chất tăng cường tính thấm, ví dụ, axit béo/muối kết hợp với axit mật/muối mật. Hỗn hợp thích hợp điển hình là muối natri của axit lauric, axit capric, và UDCA. Chất tăng cường tính thấm khác bao gồm, nhưng không giới hạn ở, polyoxyetylen-9-lauryl ete, và polyoxyetylen-20-xetyl ete. Chất tăng cường tính thấm thích hợp cũng bao gồm propylen glycol, dimetylsulfoxit, trietanoiamin, N,N-dimetylaxetamit, N,N-dimetylformamit, 2-pyrrolidon và các dẫn xuất của chúng, rượu tetrahydrofurfurylic, và AZONE™.

Phương pháp điều hòa hoạt tính tế bào T

Sáng chế đề xuất phương pháp điều hòa chọn lọc hoạt tính của tế bào T đặc hiệu epitop, phương pháp này bao gồm bước cho tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử theo sáng chế, trong đó việc cho tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử theo sáng chế điều hòa chọn lọc hoạt tính của tế bào T đặc hiệu epitop này. Trong một số trường hợp, bước tiếp xúc này xảy ra in vitro. Trong một số trường hợp, bước tiếp xúc này xảy ra in vivo. Trong một số trường hợp, bước tiếp xúc này xảy ra ex vivo.

Trong một số trường hợp, ví dụ, trong đó tế bào T đích là tế bào T $CD8^+$, polypeptit đa phân tử chứa polypeptit MHC lớp I (ví dụ, β2-microglobulin và chuỗi nặng MHC lớp I). Trong một số trường hợp, ví dụ, trong đó tế bào T đích là tế bào T

$CD4^+$, polypeptit đa phân tử chứa polypeptit MHC lớp II (ví dụ, chuỗi α MHC lớp II; chuỗi β MHC lớp II).

Khi polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm polypeptit điều hòa miễn dịch là polypeptit hoạt hóa, việc cho tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử sẽ hoạt hóa tế bào T đặc hiệu epitop. Trong một số trường hợp, tế bào T đặc hiệu epitop là tế bào T đặc hiệu với epitop có mặt trên tế bào ung thư, và việc cho tế bào T đặc hiệu epitop tiếp xúc với polypeptit đa phân tử này làm tăng tác dụng gây độc tế bào của tế bào T đối với tế bào ung thư. Trong một số trường hợp, tế bào T đặc hiệu epitop là tế bào T đặc hiệu với epitop có mặt trên tế bào ung thư, và việc cho tế bào T đặc hiệu epitop tiếp xúc với polypeptit đa phân tử làm tăng số lượng tế bào T đặc hiệu epitop.

Trong một số trường hợp, tế bào T đặc hiệu epitop là tế bào T đặc hiệu với epitop có mặt trên tế bào nhiễm virut, và việc cho tế bào T đặc hiệu epitop tiếp xúc với polypeptit đa phân tử làm tăng tác dụng gây độc tế bào của tế bào T với tế bào nhiễm virut này. Trong một số trường hợp, tế bào T đặc hiệu epitop là tế bào T đặc hiệu với epitop có mặt trên tế bào nhiễm virut, và việc cho tế bào T đặc hiệu epitop tiếp xúc với polypeptit đa phân tử làm tăng số lượng tế bào T đặc hiệu epitop.

Khi polypeptit đa phân tử theo sáng chế bao gồm polypeptit điều hòa miễn dịch là polypeptit ức chế, việc cho tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử sẽ ức chế tế bào T đặc hiệu epitop. Trong một số trường hợp, tế bào T đặc hiệu epitop là tế bào T tự phản ứng đặc hiệu với epitop có mặt trong tự kháng nguyên, và việc cho tiếp xúc như vậy làm giảm số lượng tế bào T tự phản ứng.

Phương pháp phân phối chọn lọc polypeptit đồng kích thích (ví dụ, IL-2)

Sáng chế đề xuất phương pháp phân phối polypeptit đồng kích thích như IL-2, hoặc biến thể có ái lực giảm của polypeptit đồng kích thích có trong tự nhiên như biến thể IL-2 được mô tả ở đây, cho tế bào T đã chọn hoặc quần thể tế bào T đã chọn, ví dụ, theo cách sao cho TCR đặc hiệu với epitop đã cho được gắn đích. Sáng chế đề xuất phương pháp phân phối chọn lọc polypeptit đồng kích thích như IL-2, hoặc biến thể có ái lực giảm của polypeptit đồng kích thích có trong tự nhiên như biến thể IL-2 được mô tả ở đây, đến tế bào T đích mang TCR đặc hiệu với epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Phương pháp này bao gồm bước cho quần thể tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Quần thể tế bào T có thể là quần thể hỗn

hợp chứa: i) tế bào T đích; và ii) tế bào T không phải đích mà không đặc hiệu với epitop này (ví dụ, tế bào T đặc hiệu với (các) epitop khác với epitop mà tế bào T đặc hiệu epitop liên kết với nó). Tế bào T đặc hiệu epitop này đặc hiệu với peptit trình diện epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử, và liên kết với phức hợp peptit HLA hoặc phức hợp peptit MHC được cung cấp bởi polypeptit đa phân tử này. Việc cho quần thể tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử phân phối chọn lọc polypeptit đồng kích thích (ví dụ, IL-2 hoặc biến thể có ái lực giảm của IL-2) có mặt trong polypeptit đa phân tử đến (các) tế bào T đặc hiệu với epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử này.

Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp phân phối chọn lọc polypeptit đồng kích thích như IL-2, hoặc biến thể có ái lực giảm của polypeptit đồng kích thích có trong tự nhiên như biến thể IL-2 được mô tả ở đây, hoặc hỗn hợp của cả hai, đến tế bào T đích, phương pháp này bao gồm bước cho quần thể tế bào T hỗn hợp tiếp xúc với polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Quần thể tế bào T hỗn hợp chứa tế bào T đích và tế bào T không phải đích. Tế bào T đích là đặc hiệu với epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử. Việc cho quần thể tế bào T hỗn hợp tiếp xúc với polypeptit đa phân tử theo sáng chế phân phối (các) polypeptit đồng kích thích có mặt trong polypeptit đa phân tử đến tế bào T đích.

Ví dụ, polypeptit đa phân tử theo sáng chế được tiếp xúc với quần thể tế bào T chứa: i) (các) tế bào T đích đặc hiệu với epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử; và ii) (các) tế bào T không phải đích, ví dụ, (các) tế bào T đặc hiệu với (các) epitop thứ hai mà không phải epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử. Việc cho quần thể này tiếp xúc gây ra sự phân phối chọn lọc (các) polypeptit đồng kích thích (ví dụ, polypeptit đồng kích thích có trong tự nhiên (ví dụ, IL-2 có trong tự nhiên) hoặc biến thể có ái lực giảm của polypeptit đồng kích thích có trong tự nhiên (ví dụ, biến thể IL-2 được mô tả ở đây)), mà có mặt trong polypeptit đa phân tử, đến tế bào T đích. Do đó, ví dụ, nhỏ hơn 50%, nhỏ hơn 40%, nhỏ hơn 30%, nhỏ hơn 25%, nhỏ hơn 20%, nhỏ hơn 15%, nhỏ hơn 10%, nhỏ hơn 5%, hoặc nhỏ hơn 4%, 3%, 2% hoặc 1%, các tế bào T không phải đích liên kết với polypeptit đa phân tử và, kết quả là, polypeptit đồng kích thích (ví dụ, IL-2 hoặc biến thể IL-2) không được phân phối đến tế bào T không phải đích.

Trong một số trường hợp, quần thể tế bào T này là in vitro. Trong một số trường hợp, quần thể tế bào T này là in vitro, và đáp ứng sinh học (ví dụ, sự hoạt hóa và/hoặc sự phát triển và/hoặc biệt hóa kiểu hình tế bào T) của quần thể tế bào T đích đối với polypeptit đa phân tử theo sáng chế được gây ra trong trường hợp nuôi cấy in vitro. Ví dụ, quần thể tế bào T hỗn hợp có thể thu được từ một cá thể, và có thể được cho tiếp xúc với polypeptit đa phân tử in vitro. Bước cho tiếp xúc này có thể bao gồm việc cho quần thể tế bào T tiếp xúc một lần hoặc nhiều lần với (các) liều và/hoặc (các) lịch tiếp xúc xác định. Trong một số trường hợp, bước cho tiếp xúc này gây ra sự liên kết/hoạt hóa chọn lọc và/hoặc phát triển chọn lọc các tế bào T đích trong quần thể tế bào T, và gây ra sự tạo thành quần thể tế bào T đích được hoạt hóa và/hoặc được nhân lên. Ví dụ, quần thể tế bào T hỗn hợp có thể là các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC). Ví dụ, PBMC từ bệnh nhân có thể thu được bằng các kỹ thuật lấy máu và làm giàu PBMC chuẩn trước khi được tiếp xúc với 0,1-1000 nM polypeptit đa phân tử theo sáng chế trong các điều kiện nuôi cấy tế bào lympho chuẩn. Ở các thời điểm trước, trong và sau khi cho quần thể tế bào T hỗn hợp tiếp xúc ở liều và lịch xác định, độ giàu tế bào T đích trong môi trường nuôi cấy in vitro có thể được theo dõi bằng các chất đa phân tử MHC peptit đặc hiệu và/hoặc các chất đánh dấu kiểu hình và/hoặc hoạt tính chức năng (ví dụ, thử nghiệm xytokin ELISpot). Trong một số trường hợp, khi đạt được độ giàu và/hoặc kiểu hình của tế bào đặc hiệu kháng nguyên tối ưu in vitro, toàn bộ hoặc một phần của quần thể các tế bào T đích được hoạt hóa và/hoặc phát triển được sử dụng cho cá thể này (cá thể mà quần thể tế bào T hỗn hợp thu được từ đó).

Trong một số trường hợp, quần thể tế bào T này là in vitro. Ví dụ, quần thể tế bào T hỗn hợp thu được từ cá thể, và được cho tiếp xúc với polypeptit đa phân tử theo sáng chế in vitro. Việc tiếp xúc này, có thể bao gồm việc cho tế bào T tiếp xúc một hoặc nhiều lần với (các) liều và/hoặc (các) lịch tiếp xúc xác định trong ngữ cảnh môi trường nuôi cấy tế bào in vitro, có thể được sử dụng để xác định xem quần thể tế bào T hỗn hợp có bao gồm các tế bào T mà đặc hiệu với epitop được trình diện bởi polypeptit đa phân tử hay không. Sự có mặt của các tế bào T đặc hiệu với epitop của polypeptit đa phân tử có thể được xác định bằng cách thử nghiệm mẫu chứa quần thể tế bào T hỗn hợp, quần thể tế bào T này chứa tế bào T không đặc hiệu với epitop (tế bào T không phải đích) và có thể chứa tế bào T đặc hiệu với epitop (tế bào T đích). Các thử nghiệm đã biết có thể được sử dụng để phát hiện sự hoạt hóa và/hoặc tăng

sinh của tế bào T đích, nhờ đó cung cấp thử nghiệm ex vivo mà có thể xác định xem polypeptit đa phân tử cụ thể (synTac) có epitop liên kết với tế bào T có mặt trong cá thể hay không và do đó xác định xem polypeptit đa phân tử này có khả năng sử dụng làm dược phẩm cho cá thể này hay không. Các thử nghiệm đã biết thích hợp để phát hiện sự hoạt hóa và/hoặc tăng sinh các tế bào T đích bao gồm, ví dụ, phương pháp phân tích đo tế bào theo dòng kiểu hình tế bào T và/hoặc tính đặc hiệu kháng nguyên và/hoặc sự tăng sinh. Thử nghiệm để phát hiện sự có mặt của tế bào T đặc hiệu epitop, ví dụ, chẩn đoán đồng hành, có thể còn bao gồm các thử nghiệm bổ sung (ví dụ, thử nghiệm xytokin ELISpot hiệu ứng) và/hoặc các đối chứng thích hợp (ví dụ, chất phản ứng nhuộm HLA-peptit đa phân tử đặc hiệu kháng nguyên và không đặc hiệu kháng nguyên) để xác định xem polypeptit đa phân tử này có liên kết/hoạt hóa chọn lọc và/hoặc phát triển chọn lọc tế bào T đích hay không. Do đó, ví dụ, sáng chế đề xuất phương pháp phát hiện, trong quần thể tế bào T hỗn hợp thu được từ cá thể, sự có mặt của tế bào T đích liên kết với epitop cần quan tâm, phương pháp này bao gồm: a) cho quần thể tế bào T hỗn hợp tiếp xúc in vitro với polypeptit đa phân tử theo sáng chế, trong đó polypeptit đa phân tử này chứa epitop cần quan tâm; và b) phát hiện sự hoạt hóa và/hoặc tăng sinh của tế bào T đáp ứng với sự tiếp xúc này, trong đó tế bào T đã hoạt hóa và/hoặc tăng sinh chỉ ra sự có mặt của tế bào T đích. Theo cách khác, và/hoặc thêm vào đó, nếu sự hoạt hóa và/hoặc phát triển (tăng sinh) của quần thể tế bào T mong muốn đạt được bằng cách sử dụng polypeptit đa phân tử, thì toàn bộ hoặc một phần của quần thể tế bào T chứa tế bào T đã hoạt hóa/phát triển có thể được sử dụng lại cho cá thể này làm liệu pháp điều trị.

Trong một số trường hợp, quần thể tế bào T này là in vivo ở cá thể. Trong các trường hợp này, phương pháp theo sáng chế để phân phối chọn lọc polypeptit đồng kích thích (ví dụ, IL-2 hoặc IL-2 ái lực giảm) đến tế bào T đặc hiệu epitop bao gồm bước sử dụng polypeptit đa phân tử cho cá thể này.

Tế bào T đặc hiệu epitop mà polypeptit đồng kích thích (ví dụ, IL-2 hoặc IL-2 ái lực giảm) được phân phối chọn lọc cho nó còn được gọi ở đây là "tế bào T đích". Trong một số trường hợp, tế bào T đích là tế bào T điều hòa (Treg). Trong một số trường hợp, Treg ức chế hoặc khử hoạt tính của tế bào T tự phản ứng.

Trong một số trường hợp, tế bào T đích là tế bào T gây độc tế bào. Ví dụ, tế bào T đích có thể là tế bào T gây độc tế bào đặc hiệu với epitop ung thư (ví dụ, epitop được trình diện bởi tế bào ung thư).

Phương pháp điều trị

Sáng chế đề xuất phương pháp điều hòa chọn lọc hoạt tính của tế bào T đặc hiệu epitop ở cá thể, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho cá thể này lượng polypeptit đa phân tử theo sáng chế, hoặc một hoặc nhiều axit nucleic mã hóa polypeptit đa phân tử, hữu hiệu để điều hòa chọn lọc hoạt tính của tế bào T đặc hiệu epitop ở cá thể. Trong một số trường hợp, phương pháp điều trị theo sáng chế bao gồm bước sử dụng cho cá thể cần điều trị một hoặc nhiều vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, phương pháp điều trị theo sáng chế bao gồm bước sử dụng cho cá thể cần điều trị một hoặc nhiều phân tử mARN chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo sáng chế. Trong một số trường hợp, phương pháp điều trị theo sáng chế bao gồm bước sử dụng cho cá thể cần điều trị polypeptit đa phân tử theo sáng chế.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều hòa chọn lọc hoạt tính của tế bào T đặc hiệu epitop ở cá thể, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho cá thể này lượng hữu hiệu của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, hoặc một hoặc nhiều axit nucleic (ví dụ, vectơ biểu hiện; mARN; v.v.) chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử, trong đó polypeptit đa phân tử này điều hòa chọn lọc hoạt tính của tế bào T đặc hiệu epitop ở cá thể này. Việc điều hòa chọn lọc hoạt tính của tế bào T đặc hiệu epitop có thể điều trị bệnh hoặc rối loạn ở cá thể này. Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bao gồm bước sử dụng cho cá thể cần điều trị lượng hữu hiệu của polypeptit đa phân tử theo sáng chế.

Trong một số trường hợp, polypeptit điều hòa miễn dịch là polypeptit hoạt hóa, và polypeptit đa phân tử này hoạt hóa tế bào T đặc hiệu epitop. Trong một số trường hợp, epitop này là epitop liên quan đến bệnh ung thư, và polypeptit đa phân tử này làm tăng hoạt tính của tế bào T đặc hiệu với epitop liên quan đến bệnh ung thư này.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho cá thể này lượng hữu hiệu của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, hoặc một hoặc nhiều axit nucleic (ví dụ, vectơ biểu hiện; mARN; v.v.) chứa

trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử, trong đó polypeptit đa phân tử này chứa epitop tế bào T mà là epitop ung thư, và trong đó polypeptit đa phân tử này chứa một hoặc nhiều polypeptit điều hòa miễn dịch kích thích, như được mô tả ở đây. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm số lượng tế bào ung thư ở cá thể này. Ví dụ, trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm số lượng tế bào ung thư ở cá thể này ít nhất là 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 40%, ít nhất là 50%, ít nhất là 60%, ít nhất là 70%, ít nhất là 80%, ít nhất là 90%, hoặc ít nhất là 95%, so với số lượng tế bào ung thư ở cá thể này trước khi sử dụng polypeptit đa phân tử này, hoặc khi không sử dụng polypeptit đa phân tử này. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm số lượng tế bào ung thư ở cá thể này đến mức không thể phát hiện được. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm khối lượng u ở cá thể này. Ví dụ, trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm khối lượng u ở cá thể này ít nhất là 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 40%, ít nhất là 50%, ít nhất là 60%, ít nhất là 70%, ít nhất là 80%, ít nhất là 90%, hoặc ít nhất là 95%, so với khối lượng u ở cá thể này trước khi sử dụng polypeptit đa phân tử này, hoặc khi không sử dụng polypeptit đa phân tử này. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm tăng thời gian sống sót của cá thể này. Ví dụ, trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm tăng thời gian sống sót của cá thể này ít nhất là 1 tháng, ít nhất là 2 tháng, ít nhất là 3 tháng, từ 3 tháng đến 6 tháng, từ 6 tháng đến 1 năm, từ 1 năm đến 2 năm, từ 2 năm đến 5 năm, từ 5 năm đến 10 năm, hoặc lâu hơn 10 năm, so với thời gian sống sót dự kiến của cá thể này khi không sử dụng polypeptit đa phân tử.

Trong một số trường hợp, tế bào T đặc hiệu epitop là tế bào T đặc hiệu với epitop có mặt trên tế bào nhiễm virut, và việc cho tế bào T đặc hiệu epitop tiếp xúc với polypeptit đa phân tử làm tăng tác dụng gây độc tế bào của tế bào T với tế bào nhiễm virut này. Trong một số trường hợp, tế bào T đặc hiệu epitop là tế bào T đặc hiệu với epitop có mặt trên tế bào nhiễm virut, và việc cho tế bào T đặc hiệu epitop tiếp xúc với polypeptit đa phân tử làm tăng số lượng tế bào T đặc hiệu epitop.

Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh nhiễm virut ở cá thể, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho cá thể này lượng hữu hiệu của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, hoặc một hoặc nhiều axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử này, trong đó polypeptit đa phân tử này chứa epitop tế bào T mà là epitop virut, và trong đó polypeptit đa phân tử này chứa một hoặc nhiều polypeptit điều hòa miễn dịch kích thích như được mô tả ở đây. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm số lượng tế bào nhiễm virut ở cá thể này. Ví dụ, trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm số lượng tế bào nhiễm virut ở cá thể này ít nhất là 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 40%, ít nhất là 50%, ít nhất là 60%, ít nhất là 70%, ít nhất là 80%, ít nhất là 90%, hoặc ít nhất là 95%, so với số lượng tế bào nhiễm virut ở cá thể này trước khi sử dụng polypeptit đa phân tử này, hoặc khi không sử dụng polypeptit đa phân tử này. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm số lượng tế bào nhiễm virut ở cá thể này đến mức không thể phát hiện được.

Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh nhiễm trùng ở cá thể, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho cá thể này lượng hữu hiệu của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, hoặc một hoặc nhiều axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử này, trong đó polypeptit đa phân tử này chứa epitop tế bào T mà là epitop liên quan đến mầm bệnh, và trong đó polypeptit đa phân tử này chứa một hoặc nhiều polypeptit điều hòa miễn dịch kích thích như được mô tả ở đây. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử là lượng mà, khi được sử

dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm số lượng mầm bệnh ở cá thể này. Ví dụ, trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm số lượng mầm bệnh ở cá thể này ít nhất là 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 40%, ít nhất là 50%, ít nhất là 60%, ít nhất là 70%, ít nhất là 80%, ít nhất là 90%, hoặc ít nhất là 95%, so với số lượng mầm bệnh ở cá thể này trước khi sử dụng polypeptit đa phân tử này, hoặc khi không sử dụng polypeptit đa phân tử này. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm số lượng mầm bệnh ở cá thể này đến mức không thể phát hiện được. Mầm bệnh bao gồm virut, vi khuẩn, động vật nguyên sinh, và các mầm bệnh tương tự.

Trong một số trường hợp, polypeptit điều hòa miễn dịch này là polypeptit ức chế, và polypeptit đa phân tử này ức chế hoạt tính của tế bào T đặc hiệu epitop. Trong một số trường hợp, epitop này là epitop tự thân, và polypeptit đa phân tử này ức chế chọn lọc hoạt tính của tế bào T đặc hiệu với epitop tự thân này.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị rối loạn tự miễn ở cá thể, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho cá thể này lượng hữu hiệu của polypeptit đa phân tử theo sáng chế, hoặc một hoặc nhiều axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử này, trong đó polypeptit đa phân tử chứa epitop tế bào T mà là epitop tự thân, và trong đó polypeptit đa phân tử này chứa polypeptit điều hòa miễn dịch ức chế. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm số lượng tế bào T tự phản ứng ít nhất là 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 40%, ít nhất là 50%, ít nhất là 60%, ít nhất là 70%, ít nhất là 80%, ít nhất là 90%, hoặc ít nhất là 95%, so với số lượng tế bào T tự phản ứng ở cá thể này trước khi sử dụng polypeptit đa phân tử này, hoặc khi không sử dụng polypeptit đa phân tử này. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho cá thể cần điều trị, làm giảm sự sản sinh xytokin Th2 ở cá thể này. Trong một số trường hợp, "lượng hữu hiệu" của polypeptit đa phân tử là lượng mà, khi được sử dụng ở một hoặc nhiều

liều cho cá thể cần điều trị, cải thiện một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến bệnh tự miễn ở cá thể này.

Như đã lưu ý trên đây, trong một số trường hợp, khi thực hiện phương pháp điều trị được đề cập, polypeptit đa phân tử theo sáng chế được sử dụng cho cá thể cần điều trị, dưới dạng chính polypeptit này. Trong các trường hợp khác, khi thực hiện phương pháp điều trị được đề cập, một hoặc nhiều axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo sáng chế được sử dụng cho cá thể cần điều trị. Do đó, trong các trường hợp khác, một hoặc nhiều axit nucleic theo sáng chế, ví dụ, một hoặc nhiều vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế, được sử dụng cho cá thể cần điều trị.

Chế phẩm

Các chế phẩm thích hợp được mô tả trên đây, trong đó các chế phẩm thích hợp bao gồm tá dược dược dụng. Trong một số trường hợp, chế phẩm thích hợp chứa: a) polypeptit đa phân tử theo sáng chế; và b) tá dược dược dụng. Trong một số trường hợp, chế phẩm thích hợp chứa: a) axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo sáng chế; và b) tá dược dược dụng; trong một số trường hợp, axit nucleic này là mARN. Trong một số trường hợp, chế phẩm thích hợp chứa: a) axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất của polypeptit đa phân tử theo sáng chế; b) axit nucleic thứ hai chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế; và c) tá dược dược dụng. Trong một số trường hợp, chế phẩm thích hợp chứa: a) vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo sáng chế; và b) tá dược dược dụng. Trong một số trường hợp, chế phẩm thích hợp chứa: a) vectơ biểu hiện tái tổ hợp thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất của polypeptit đa phân tử theo sáng chế; b) vectơ biểu hiện tái tổ hợp thứ hai chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai của polypeptit đa phân tử theo sáng chế; và c) tá dược dược dụng.

Các tá dược dược dụng thích hợp được mô tả trên đây.

Liều

Liều thích hợp có thể được xác định bởi bác sỹ điều trị hoặc nhân viên y tế đạt tiêu chuẩn khác, dựa vào nhiều yếu tố lâm sàng khác nhau. Như đã biết rõ trong lĩnh

vực y tế, các liều cho một bệnh nhân bất kỳ phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm kích thước của bệnh nhân, diện tích bề mặt cơ thể, tuổi, polypeptit hoặc axit nucleic cụ thể được sử dụng, giới tính của bệnh nhân, thời gian và đường sử dụng, tình trạng sức khỏe chung, và các thuốc khác được sử dụng đồng thời. Polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 1 ng/kg thể trọng đến 20 mg/kg thể trọng mỗi liều, ví dụ, từ 0,1 mg/kg thể trọng đến 10 mg/kg thể trọng, ví dụ từ 0,5 mg/kg thể trọng đến 5 mg/kg thể trọng; tuy nhiên, các liều thấp hơn hoặc cao hơn khoảng được lấy ví dụ này được dự kiến, đặc biệt là khi xem xét các yếu tố đã đề cập trên đây. Nếu phác đồ này là truyền liên tục, nó cũng có thể nằm trong khoảng từ 1 µg đến 10 mg mỗi kilogram thể trọng mỗi phút. Polypeptit đa phân tử theo sáng chế có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 1 mg/kg thể trọng đến 50 mg/kg thể trọng, ví dụ, từ khoảng 1 mg/kg thể trọng đến khoảng 5 mg/kg thể trọng, từ khoảng 5 mg/kg thể trọng đến khoảng 10 mg/kg thể trọng, từ khoảng 10 mg/kg thể trọng đến khoảng 15 mg/kg thể trọng, từ khoảng 15 mg/kg thể trọng đến khoảng 20 mg/kg thể trọng, từ khoảng 20 mg/kg thể trọng đến khoảng 25 mg/kg thể trọng, từ khoảng 25 mg/kg thể trọng đến khoảng 30 mg/kg thể trọng, từ khoảng 30 mg/kg thể trọng đến khoảng 35 mg/kg thể trọng, từ khoảng 35 mg/kg thể trọng đến khoảng 40 mg/kg thể trọng, hoặc từ khoảng 40 mg/kg thể trọng đến khoảng 50 mg/kg thể trọng.

Trong một số trường hợp, liều thích hợp của polypeptit đa phân tử theo sáng chế là từ 0,01 µg đến 100 g mỗi kg thể trọng, từ 0,1 µg đến 10 g mỗi kg thể trọng, từ 1 µg đến 1 g mỗi kg thể trọng, từ 10 µg đến 100 mg mỗi kg thể trọng, từ 100 µg đến 10 mg mỗi kg thể trọng, hoặc từ 100 µg đến 1 mg mỗi kg thể trọng. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể dễ dàng dự đoán tần số lặp lại để sử dụng liều dựa vào thời gian lưu đo được và các nồng độ của chất được sử dụng trong dịch hoặc mô cơ thể. Sau khi điều trị thành công, có thể mong muốn cho bệnh nhân sử dụng liệu pháp duy trì để phòng ngừa sự tái phát của tình trạng bệnh, trong đó polypeptit đa phân tử theo sáng chế được sử dụng ở liều duy trì, nằm trong khoảng từ 0,01 µg đến 100 g mỗi kg thể trọng, từ 0,1 µg đến 10 g mỗi kg thể trọng, từ 1 µg đến 1 g mỗi kg thể trọng, từ 10 µg đến 100 mg mỗi kg thể trọng, từ 100 µg đến 10 mg mỗi kg thể trọng, hoặc từ 100 µg đến 1 mg mỗi kg thể trọng.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ dễ dàng hiểu rõ là các mức liều có thể thay đổi dưới dạng hàm của polypeptit đa phân tử đặc hiệu, mức độ nghiêm trọng của triệu chứng và khả năng dễ bị tác dụng phụ của đối tượng. Các liều được ưu tiên đối với hợp chất đã cho có thể được xác định dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này bằng nhiều cách khác nhau.

Theo một số phương án, nhiều liều polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế được sử dụng. Tần số sử dụng polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế có thể thay đổi phụ thuộc vào bất kỳ trong số nhiều yếu tố khác nhau, ví dụ, mức độ nghiêm trọng của triệu chứng, v.v.. Ví dụ, theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế, được sử dụng một lần mỗi tháng, hai lần mỗi tháng, ba lần mỗi tháng, mỗi hai tuần một lần (qow), một lần mỗi tuần (qw), hai lần mỗi tuần (biw), ba lần mỗi tuần (tiw), bốn lần mỗi tuần, năm lần mỗi tuần, sáu lần mỗi tuần, mỗi hai ngày một lần (qod), hàng ngày (qd), hai lần một ngày (qid), hoặc ba lần một ngày (tid).

Thời gian sử dụng polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế, ví dụ, khoảng thời gian mà polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế được sử dụng, có thể thay đổi, phụ thuộc vào yếu tố bất kỳ trong số nhiều yếu tố khác nhau, ví dụ, đáp ứng của bệnh nhân, v.v.. Ví dụ, polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế có thể được sử dụng trong khoảng thời gian từ khoảng một ngày đến khoảng một tuần, từ khoảng hai tuần đến khoảng bốn tuần, từ khoảng một tháng đến khoảng hai tháng, từ khoảng hai tháng đến khoảng bốn tháng, từ khoảng bốn tháng đến khoảng sáu tháng, từ khoảng sáu tháng đến khoảng tám tháng, từ khoảng tám tháng đến khoảng 1 năm, từ khoảng 1 năm đến khoảng 2 năm, hoặc từ khoảng 2 năm đến khoảng 4 năm, hoặc lâu hơn.

Đường sử dụng

Hoạt chất (polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế) được sử dụng cho cá thể bằng cách sử dụng

phương pháp sẵn có bất kỳ và đường thích hợp để phân phối thuốc, bao gồm các phương pháp in vivo và ex vivo, cũng như các đường sử dụng toàn thân và khu trú.

Đường sử dụng thông thường và dược dụng bao gồm đường sử dụng trong khối u, quanh khối u, trong cơ, nội khí quản, trong sọ, dưới da, trong da, bôi khu trú, trong tĩnh mạch, trong động mạch, trực tràng, mũi, miệng, và các đường sử dụng qua đường tiêu hóa và ngoài đường tiêu hóa khác. Các đường sử dụng có thể được kết hợp, nếu muốn, hoặc được điều chỉnh tùy theo polypeptit đa phân tử và/hoặc tác dụng mong muốn. Polypeptit đa phân tử theo sáng chế, hoặc axit nucleic hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế, có thể được sử dụng ở liều đơn hoặc nhiều liều.

Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế được sử dụng trong tĩnh mạch. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế được sử dụng trong cơ. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế được sử dụng khu trú. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế được sử dụng trong khối u. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế được sử dụng quanh khối u. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế được sử dụng trong sọ. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế được sử dụng dưới da.

Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế được sử dụng trong tĩnh mạch. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế được sử dụng trong cơ. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế được sử dụng khu trú. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế được sử dụng trong khối u. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế được sử dụng quanh khối u. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử theo sáng chế được sử dụng trong sọ. Theo một số phương án, polypeptit đa phân tử được sử dụng dưới da.

Polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế có thể được sử dụng cho vật chủ bằng cách sử dụng phương pháp thông thường sẵn có bất kỳ và các đường thích hợp để phân phối thuốc thông thường, bao gồm đường toàn thân hoặc khu trú. Nói chung, các đường sử dụng được đề xuất để sử dụng trong phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không nhất thiết bị giới hạn ở, qua đường tiêu hóa, ngoài đường tiêu hóa, và đường xông.

Các đường sử dụng ngoài đường tiêu hóa khác với sử dụng bằng cách xông bao gồm, nhưng không nhất thiết giới hạn ở, đường khu trú, qua da, dưới da, trong cơ, trong mắt, trong nang, trong tủy sống, trong xương ức, trong khối u, quanh khối u, và trong tĩnh mạch, nghĩa là, đường sử dụng bất kỳ khác với đường qua ống tiêu hóa. Sử dụng ngoài đường tiêu hóa có thể được thực hiện để gây tác dụng toàn thân hoặc phân phối khu trú polypeptit đa phân tử theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế. Khi mong muốn phân phối toàn thân, việc sử dụng thường bao gồm sử dụng các dược phẩm xâm lấn hoặc sử dụng ở niêm mạc hoặc khu trú được hấp thu toàn thân.

Đối tượng thích hợp để điều trị

Các đối tượng thích hợp để điều trị bằng phương pháp theo sáng chế bao gồm các cá thể mắc bệnh ung thư, bao gồm các cá thể đã được chẩn đoán là mắc bệnh ung thư, các cá thể đã được điều trị bệnh ung thư nhưng không đáp ứng với việc điều trị, và các cá thể đã được điều trị bệnh ung thư và lúc đầu có đáp ứng nhưng sau đó trở nên kháng với việc điều trị. Các đối tượng thích hợp để điều trị bằng phương pháp theo sáng chế bao gồm các cá thể mắc bệnh nhiễm trùng (ví dụ, bệnh nhiễm trùng với mầm bệnh như vi khuẩn, virut, động vật nguyên sinh, v.v.), bao gồm các cá thể đã được chẩn đoán là mắc bệnh nhiễm trùng, và các cá thể đã được điều trị bệnh nhiễm trùng nhưng không đáp ứng với việc điều trị này. Các đối tượng thích hợp để điều trị bằng phương pháp theo sáng chế bao gồm các cá thể mắc bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn, bao gồm các cá thể đã được chẩn đoán là mắc bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn, và các cá thể đã được điều trị bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn nhưng không đáp ứng với việc điều trị này. Các đối tượng thích hợp để điều trị bằng phương pháp theo sáng chế bao gồm các cá thể mắc bệnh nhiễm trùng do virut, bao gồm các cá thể đã được chẩn đoán là mắc bệnh nhiễm trùng do virut, và các cá thể đã được điều trị bệnh nhiễm trùng do

virut nhưng không đáp ứng với việc điều trị này. Các đối tượng thích hợp để điều trị bằng phương pháp theo sáng chế bao gồm các cá thể mắc bệnh tự miễn, bao gồm các cá thể đã được chẩn đoán là mắc bệnh tự miễn, và các cá thể đã được điều trị bệnh tự miễn nhưng không đáp ứng với việc điều trị này.

Trong một số trường hợp, ví dụ, trong đó epitop này là epitop HPV, đối tượng thích hợp để điều trị bằng phương pháp theo sáng chế là cá thể đã được chẩn đoán là mắc bệnh ung thư do HPV hoặc bệnh ung thư có thể do HPV. Bệnh ung thư do HPV và có thể do HPV bao gồm, ví dụ, bệnh ung thư đầu và cổ; bệnh ung thư cổ tử cung; và bệnh ung thư sinh dục hậu môn.

Ví dụ về các khía cạnh không giới hạn của sáng chế

Các khía cạnh, bao gồm các phương án, của đối tượng được mô tả trên đây có thể là có lợi khi một mình hoặc kết hợp với một hoặc nhiều khía cạnh hoặc phương án khác. Không làm giới hạn phần mô tả trên đây, một số khía cạnh không giới hạn của sáng chế được đánh số từ 1 đến 132 được cung cấp dưới đây. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này khi đọc bản mô tả này sẽ hiểu rằng mỗi khía cạnh được đánh số riêng này có thể được sử dụng hoặc được kết hợp với khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh được đánh số riêng trước đó hoặc sau đó. Điều này được dự định nhằm bộc lộ tất cả các tổ hợp của các khía cạnh và không bị giới hạn vào các tổ hợp của các khía cạnh được cung cấp dưới đây:

Khía cạnh 1. Polypeptit IL-2 biến đổi chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 85% với trình tự được nêu trong SEQ ID NO:1, trong đó polypeptit IL-2 biến đổi này có một hoặc nhiều đột biến thế axit amin so với trình tự được nêu trong SEQ ID NO:1, và trong đó polypeptit IL-2 biến đổi này thể hiện ái lực liên kết giảm với thụ thể IL-2 (IL-2R) chứa polypeptit alpha, beta, và gama có các trình tự axit amin được mô tả trên Fig.3A-3C, so với ái lực liên kết của trình tự axit amin IL-2 được nêu trong một trong số SEQ ID NO:1 đối với IL-2R.

Khía cạnh 2. Polypeptit IL-2 biến đổi theo khía cạnh 1, trong đó biến thể này chứa đột biến thế của một hoặc nhiều trong số E15, H16, D20, F42, Y45, và Q126.

Khía cạnh 3. Polypeptit IL-2 biến đổi theo khía cạnh 1 hoặc khía cạnh 2, trong đó polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi thể hiện ái lực liên kết từ nhỏ hơn 10% đến

nhỏ hơn 50% ái lực liên kết được thể hiện bởi trình tự axit amin IL-2 được nêu trong SEQ ID NO:1 cho IL-2R.

Khía cạnh 4. Polypeptit IL-2 biến đổi theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 1 đến 3, trong đó biến thể này chứa các đột biến thế của F42 với Ala, Gly, Val, Ile, hoặc Leu.

Khía cạnh 5. Polypeptit IL-2 biến đổi theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 1 đến 3, trong đó biến thể này chứa các đột biến thế của F42 và D20 hoặc các đột biến thế của F42 và H16.

Khía cạnh 6. Polypeptit IL-2 biến đổi theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 1 đến 3, trong đó biến thể này chứa các đột biến thế của F42, D20, và Y45; hoặc trong đó biến thể này chứa các đột biến thế của F42, H16, và Q126.

Khía cạnh 7. Polypeptit đa phân tử chứa:

a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop;

ii) polypeptit phức hợp tương thích mô chính (MHC) thứ nhất; và

b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) polypeptit MHC thứ hai; và

ii) tùy ý polypeptit Fc globulin miễn dịch (Ig) hoặc khung không phải Ig,

trong đó polypeptit đa phân tử này chứa một hoặc nhiều miền điều hòa miễn dịch, trong đó một hoặc nhiều miền điều hòa miễn dịch này:

A) ở đầu cùng C của polypeptit thứ nhất;

B) ở đầu cùng N của polypeptit thứ hai;

C) ở đầu cùng C của polypeptit thứ hai; hoặc

D) ở đầu cùng C của polypeptit thứ nhất và ở đầu cùng N của polypeptit thứ hai, và

trong đó ít nhất một trong số các miền điều hòa miễn dịch là biến thể của protein đồng kích thích có trong tự nhiên, và trong đó biến thể này thể hiện ái lực giảm

đối với protein đồng kích thích tương ứng của nó so với ái lực của protein đồng kích thích có trong tự nhiên đối với protein đồng kích thích tương ứng này.

Khía cạnh 8. Polypeptit đa phân tử chứa:

a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop;

ii) polypeptit phức hợp tương thích mô chính (MHC) thứ nhất; và

b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) polypeptit MHC thứ hai; và

ii) tùy ý polypeptit Fc globulin miễn dịch (Ig) hoặc khung không phải Ig,

trong đó polypeptit đa phân tử này chứa một hoặc nhiều miền điều hòa miễn dịch, trong đó một hoặc nhiều miền điều hòa miễn dịch này:

A) ở đầu cùng C của polypeptit thứ nhất;

B) ở đầu cùng N của polypeptit thứ hai;

C) ở đầu cùng C của polypeptit thứ hai; hoặc

D) ở đầu cùng C của polypeptit thứ nhất và ở đầu cùng N của polypeptit thứ hai,

trong đó ít nhất một trong số một hoặc nhiều miền điều hòa miễn dịch là polypeptit IL-2 biến đổi theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 1 đến 6, và

trong đó polypeptit đa phân tử này thể hiện ái lực liên kết giảm đối với thụ thể IL-2 (IL-2R) chứa polypeptit alpha, beta, và gama có các trình tự axit amin được mô tả trên Fig.3A-3C, so với ái lực liên kết của polypeptit đa phân tử đối chứng chứa trình tự axit amin IL-2 được nêu trong SEQ ID NO:1 cho polypeptit IL-2R này.

Khía cạnh 9. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 8, trong đó:

a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop;

ii) polypeptit MHC thứ nhất; và

iii) polypeptit IL-2 biến đổi; và

b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) polypeptit MHC thứ hai; và

ii) polypeptit Ig Fc.

Khía cạnh 10. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 8, trong đó:

a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop; và

ii) polypeptit MHC thứ nhất; và

b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) polypeptit IL-2 biến đổi;

ii) polypeptit MHC thứ hai; và

iii) polypeptit Ig Fc.

Khía cạnh 11. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 8, trong đó:

a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop; và

ii) polypeptit MHC thứ nhất; và

b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) polypeptit MHC thứ hai; và

ii) polypeptit IL-2 biến đổi.

Khía cạnh 12. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 8, trong đó:

a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop; và

ii) polypeptit MHC thứ nhất; và

b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) polypeptit IL-2 biến đổi; và

ii) polypeptit MHC thứ hai.

Khía cạnh 13. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 8, trong đó:

a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop;

ii) polypeptit MHC thứ nhất; và

iii) polypeptit IL-2 biến đổi; và

b) polypeptit thứ hai chứa polypeptit MHC thứ hai.

Khía cạnh 14. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 7 hoặc 8, trong đó khung không phải Ig là polypeptit XTEN, polypeptit transferrin, polypeptit tương tự elastin, polypeptit tương tự tơ, hoặc polypeptit tương tự elastin-tơ.

Khía cạnh 15. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 14, trong đó polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit β2-microglobulin; và trong đó polypeptit MHC thứ hai là polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I.

Khía cạnh 16. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 15, trong đó polypeptit β2-microglobulin chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 85% với một trong số các trình tự axit amin được chỉ ra trên Fig.6.

Khía cạnh 17. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 15, trong đó polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I là chuỗi nặng HLA-A, HLA-B, hoặc HLA-C.

Khía cạnh 18. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 15, trong đó polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 85% với trình tự axit amin được chỉ ra trong một trong số các Fig.5A-5C.

Khía cạnh 19. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 14, trong đó polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit chuỗi alpha MHC lớp II; và trong đó polypeptit MHC thứ hai là polypeptit chuỗi beta MHC lớp II.

Khía cạnh 20. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 19, trong đó epitop này là epitop tế bào T.

Khía cạnh 21. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 13 và 15 đến 20, trong đó polypeptit đa phân tử này chứa polypeptit Fc,

và trong đó polypeptit Ig Fc là polypeptit IgG1 Fc, polypeptit IgG2 Fc, polypeptit IgG3 Fc, polypeptit IgG4 Fc, polypeptit IgA Fc, hoặc polypeptit IgM Fc.

Khía cạnh 22. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 21, trong đó polypeptit Ig Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 85% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.4A-4C.

Khía cạnh 23. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 22, trong đó polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai được liên kết không cộng hóa trị.

Khía cạnh 24. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 22, trong đó polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai được liên kết cộng hóa trị với nhau.

Khía cạnh 25. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 24, trong đó liên kết cộng hóa trị này là qua liên kết disulfua.

Khía cạnh 26. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 25, trong đó polypeptit MHC thứ nhất hoặc cầu nối giữa epitop và polypeptit MHC thứ nhất chứa đột biến thế axit amin để tạo ra gốc Cys thứ nhất, và polypeptit MHC thứ hai chứa đột biến thế axit amin để tạo ra gốc Cys thứ hai, và trong đó liên kết disulfua nằm giữa gốc Cys thứ nhất và thứ hai này.

Khía cạnh 27. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 26, chứa cầu nối nằm xen giữa epitop và polypeptit MHC thứ nhất.

Khía cạnh 28. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 26, chứa cầu nối nằm xen giữa polypeptit MHC và polypeptit điều hòa miễn dịch.

Khía cạnh 29. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 28, chứa 2 polypeptit IL-2 biến đổi.

Khía cạnh 30. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 8 đến 28, chứa 3 polypeptit IL-2 biến đổi.

Khía cạnh 31. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 29 hoặc khía cạnh 30, trong đó 2 hoặc 3 polypeptit IL-2 biến đổi được bố trí trước sau, và trong đó polypeptit đa phân tử này chứa cầu nối giữa các polypeptit IL-2 biến đổi.

Khía cạnh 32. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 8 đến 31, trong đó IL-2 biến đổi này chứa đột biến thế của một hoặc nhiều trong số E15, H16, D20, F42, Y45, và Q126.

Khía cạnh 33. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 8 đến 32, trong đó IL-2 biến đổi này chứa đột biến thế của F42 với Ala, Gly, Val, Ile, hoặc Leu.

Khía cạnh 34. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 33, trong đó IL-2 biến đổi chứa các đột biến thế của F42 và D20, hoặc các đột biến thế của F42 và H16.

Khía cạnh 35. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 33, trong đó IL-2 biến đổi chứa các đột biến thế của F42, D20, và Y45; hoặc trong đó IL-2 biến đổi chứa các đột biến thế của F42, H16, và Q126.

Khía cạnh 36. Axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit tái tổ hợp,

i) trong đó polypeptit tái tổ hợp này chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

a) epitop;

b) polypeptit phức hợp tương thích mô chính (MHC) thứ nhất;

c) polypeptit điều hòa miễn dịch;

d) cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein hoặc tín hiệu bỏ qua ribosom;

e) polypeptit MHC thứ hai; và

f) polypeptit Fc globulin miễn dịch (Ig);

trong đó polypeptit điều hòa miễn dịch là biến thể của protein đồng kích thích có trong tự nhiên, và trong đó biến thể này thể hiện ái lực giảm đối với protein đồng kích thích tương ứng của nó so với ái lực của protein đồng kích thích có trong tự nhiên đối với protein đồng kích thích tương ứng này; hoặc

ii) trong đó polypeptit tái tổ hợp này chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

a) epitop;

b) polypeptit MHC thứ nhất;

c) cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein hoặc tín hiệu bỏ qua ribosom;

d) polypeptit điều hòa miễn dịch

e) polypeptit MHC thứ hai; và

f) polypeptit Ig Fc,

trong đó polypeptit điều hòa miễn dịch là biến thể của protein đồng kích thích có trong tự nhiên, và trong đó biến thể này thể hiện ái lực giảm đối với protein đồng kích thích tương ứng của nó so với ái lực của protein đồng kích thích có trong tự nhiên đối với protein đồng kích thích tương ứng này.

Khía cạnh 37. Axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit tái tổ hợp,

i) trong đó polypeptit tái tổ hợp này chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

a) epitop;

b) polypeptit phức hợp tương thích mô chính (MHC) thứ nhất;

c) polypeptit điều hòa miễn dịch;

d) cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein hoặc tín hiệu bỏ qua ribosom;

e) polypeptit MHC thứ hai; và

f) polypeptit Fc globulin miễn dịch (Ig);

trong đó polypeptit điều hòa miễn dịch này là polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 1 đến 6; hoặc

ii) trong đó polypeptit tái tổ hợp này chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

a) epitop;

b) polypeptit MHC thứ nhất;

c) cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein hoặc tín hiệu bỏ qua ribosom;

d) polypeptit điều hòa miễn dịch

e) polypeptit MHC thứ hai; và

f) polypeptit Ig Fc,

trong đó polypeptit điều hòa miễn dịch này là polypeptit điều hòa miễn dịch biến đổi theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 1 đến 6.

Khía cạnh 38. Axit nucleic theo khía cạnh 36 hoặc 37, trong đó polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit β2-microglobulin; và trong đó polypeptit MHC thứ hai là polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I.

Khía cạnh 39. Axit nucleic theo khía cạnh 38, trong đó polypeptit β2-microglobulin chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 85% với một trong số các trình tự axit amin được chỉ ra trên Fig.6.

Khía cạnh 40. Axit nucleic theo khía cạnh 38, trong đó polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I là chuỗi nặng HLA-A, HLA-B, hoặc HLA-C.

Khía cạnh 41. Axit nucleic theo khía cạnh 40, trong đó polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 85% với trình tự axit amin được chỉ ra trong bất kỳ một trong số các Fig.5A-5C.

Khía cạnh 42. Axit nucleic theo khía cạnh 36 hoặc 37, trong đó polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit chuỗi alpha MHC lớp II; và trong đó polypeptit MHC thứ hai là polypeptit chuỗi beta MHC lớp II.

Khía cạnh 43. Axit nucleic theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 36 đến 42, trong đó epitop này là epitop tế bào T.

Khía cạnh 44. Axit nucleic theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 36 đến 43, trong đó polypeptit Ig Fc là polypeptit IgG1 Fc, polypeptit IgG2 Fc, polypeptit IgG3 Fc, polypeptit IgG4 Fc, polypeptit IgA Fc, hoặc polypeptit IgM Fc.

Khía cạnh 45. Axit nucleic theo khía cạnh 44, trong đó polypeptit Ig Fc chứa trình tự axit amin có tỷ lệ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất là 85% với trình tự axit amin được mô tả trên Fig.4A-4C.

Khía cạnh 46. Axit nucleic theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 37 đến 45, trong đó polypeptit điều hòa miễn dịch IL-2 biến đổi chứa đột biến thế của một hoặc nhiều trong số E15, H16, D20, F42, Y45, và Q126.

Khía cạnh 47. Axit nucleic theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 36 đến 46, trong đó polypeptit đa phân tử chứa polypeptit điều hòa miễn dịch thứ hai được chọn từ CD7, CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, thụ thể lymphotoxin beta, 3/TR6, ILT3, ILT4, và HVEM.

Khía cạnh 48. Axit nucleic theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 36 đến 47, trong đó cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein hoặc tín hiệu bỏ qua ribosom chứa trình tự axit amin được chọn từ:

a) LEVLFQGP (SEQ ID NO:29);

b) ENLYTQS (SEQ ID NO:30);

c) vị trí cắt furin;

d) LVPR (SEQ ID NO:32);

e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:33);

f) GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO:34);

g) GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:35); và

h) GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:36).

Khía cạnh 49. Axit nucleic theo khía cạnh từ 36 đến 48, trong đó polypeptit tái tổ hợp chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

a) peptit dẫn đầu thứ nhất;

b) epitop;

c) polypeptit MHC thứ nhất;

d) polypeptit điều hòa miễn dịch;

e) cầu nối cắt được bằng cách phân giải protein hoặc tín hiệu bỏ qua ribosom;

f) peptit dẫn đầu thứ hai;

g) polypeptit MHC thứ hai; và

h) polypeptit Fc globulin miễn dịch (Ig).

Khía cạnh 50. Axit nucleic theo khía cạnh 49, trong đó peptit dẫn đầu thứ nhất và peptit dẫn đầu thứ hai là peptit dẫn đầu β2-M.

Khía cạnh 51. Axit nucleic theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 36 đến 50, trong đó trình tự nucleotit được liên kết điều khiển được với yếu tố điều khiển phiên mã.

Khía cạnh 52. Axit nucleic theo khía cạnh 51, trong đó yếu tố điều khiển phiên mã là gen khởi đầu hoạt động trong tế bào nhân chuẩn.

Khía cạnh 53. Axit nucleic theo khía cạnh bất kỳ trong các khía cạnh từ 36 đến 52, trong đó polypeptit MHC thứ nhất hoặc cầu nối giữa epitop và polypeptit MHC thứ nhất chứa đột biến thế axit amin để tạo ra gốc Cys thứ nhất, và polypeptit MHC thứ hai chứa đột biến thế axit amin để tạo ra gốc Cys thứ hai, và trong đó gốc Cys thứ nhất và thứ hai này tạo ra liên kết disulfua nằm giữa polypeptit MHC thứ nhất và polypeptit MHC thứ hai này.

Khía cạnh 54. Vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa axit nucleic theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 36 đến 52, và trong đó vectơ này tùy ý là vectơ virut hoặc vectơ không phải virut.

Khía cạnh 55. Tế bào chủ được biến đổi di truyền với vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo khía cạnh 54.

Khía cạnh 56. Tế bào chủ theo khía cạnh 55, trong đó tế bào chủ này là in vitro, và trong đó tế bào chủ này tùy ý được biến đổi di truyền sao cho tế bào này không sản sinh polypeptit MHC β2-microglobulin nội sinh.

Khía cạnh 57. Chế phẩm chứa:

a) axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop;

ii) polypeptit MHC thứ nhất; và

iii) miền điều hòa miễn dịch,

trong đó polypeptit điều hòa miễn dịch là biến thể của protein đồng kích thích có trong tự nhiên, và trong đó biến thể này thể hiện ái lực giảm đối với protein đồng kích thích tương ứng của nó so với ái lực của protein đồng kích thích có trong tự nhiên đối với protein đồng kích thích tương ứng này; và

b) axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) polypeptit MHC thứ hai; và

ii) polypeptit Ig Fc.

Khía cạnh 58. Chế phẩm chứa:

a) axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop; và

ii) polypeptit MHC thứ nhất; và

b) axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) miền điều hòa miễn dịch, trong đó miền điều hòa miễn dịch này là biến thể của protein đồng kích thích có trong tự nhiên, và trong đó biến thể này thể hiện ái lực giảm đối với protein đồng kích thích tương ứng của nó so với ái lực của protein đồng kích thích có trong tự nhiên đối với protein đồng kích thích tương ứng này;

ii) polypeptit MHC thứ hai; và

iii) polypeptit Ig Fc.

Khía cạnh 59. Chế phẩm chứa:

a) axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop;

ii) polypeptit MHC thứ nhất; và

iii) miền điều hòa miễn dịch,

trong đó miền điều hòa miễn dịch này là polypeptit IL-2 biến đổi theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 1 đến 6; và

b) axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) polypeptit MHC thứ hai; và

ii) polypeptit Ig Fc.

Khía cạnh 60. Chế phẩm chứa:

a) axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop; và

ii) polypeptit MHC thứ nhất; và

b) axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) miền điều hòa miễn dịch, trong đó miền điều hòa miễn dịch này là polypeptit IL-2 biến đổi theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 1 đến 6;

ii) polypeptit MHC thứ hai; và

iii) polypeptit Ig Fc.

Khía cạnh 61. Chế phẩm theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 57 đến 60, trong đó axit nucleic thứ nhất và/hoặc thứ hai có mặt trong vectơ biểu hiện tái tổ hợp.

Khía cạnh 62. Tế bào chủ được biến đổi di truyền với chế phẩm theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 57 đến 61.

Khía cạnh 63. Phương pháp sản xuất polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 36, phương pháp này bao gồm:

a) nuôi cấy tế bào chủ theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh 55, 56, và 62 in vitro trong môi trường nuôi cấy trong các điều kiện sao cho tế bào chủ này tổng hợp polypeptit đa phân tử; và

b) phân lập polypeptit đa phân tử từ tế bào chủ và/hoặc từ môi trường nuôi cấy.

Khía cạnh 64. Phương pháp theo khía cạnh 63, trong đó polypeptit thứ hai chứa nhãn ái lực, và trong đó bước phân lập này bao gồm cho polypeptit đa phân tử được sản sinh bởi tế bào tiếp xúc với đối tác liên kết đối với nhãn ái lực này, trong đó đối tác liên kết này được cố định, nhờ đó cố định polypeptit đa phân tử này.

Khía cạnh 65. Phương pháp theo khía cạnh 64, bao gồm bước rửa giải polypeptit đa phân tử đã được cố định này.

Khía cạnh 66. Phương pháp hoạt hóa chọn lọc tế bào T đặc hiệu epitop, phương pháp này bao gồm bước cho tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 35, trong đó bước cho tiếp xúc này hoạt hóa chọn lọc tế bào T đặc hiệu epitop.

Khía cạnh 67. Phương pháp theo khía cạnh 66, trong đó bước cho tiếp xúc này là in vitro.

Khía cạnh 68. Phương pháp theo khía cạnh 66, trong đó bước cho tiếp xúc này là in vivo.

Khía cạnh 69. Phương pháp theo khía cạnh 66, trong đó epitop này là epitop liên quan đến bệnh ung thư, và trong đó bước sử dụng này tăng cường chọn lọc hoạt tính của tế bào T đặc hiệu với epitop liên quan đến bệnh ung thư này.

Khía cạnh 70. Phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho cá thể này lượng hữu hiệu của:

a) polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 35; hoặc

b) một hoặc nhiều vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 35; hoặc

c) một hoặc nhiều mARN chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 35,

trong đó epitop này là epitop liên quan đến bệnh ung thư, và trong đó bước sử dụng này hữu hiệu để hoạt hóa chọn lọc tế bào T đặc hiệu epitop ung thư ở cá thể.

Khía cạnh 71. Phương pháp theo khía cạnh 70, trong đó bước sử dụng này là dưới da.

Khía cạnh 72. Phương pháp theo khía cạnh 70, trong đó bước sử dụng này là trong tĩnh mạch.

Khía cạnh 73. Phương pháp theo khía cạnh 70, trong đó bước sử dụng này là quanh khối u.

Khía cạnh 74. Phương pháp theo khía cạnh 70, trong đó bước sử dụng này là toàn thân.

Khía cạnh 75. Phương pháp theo khía cạnh 70, trong đó bước sử dụng này là ở xa vị trí điều trị.

Khía cạnh 76. Phương pháp theo khía cạnh 70, trong đó bước sử dụng này là khu trú.

Khía cạnh 77. Phương pháp theo khía cạnh 70, trong đó bước sử dụng này là tại hoặc gần vị trí điều trị.

Khía cạnh 78. Chế phẩm chứa:

a) polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 35; và

b) tá dược dược dụng.

Khía cạnh 79. Chế phẩm chứa:

a) axit nucleic theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 36 đến 53 hoặc vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo khía cạnh 54; và

b) tá dược dược dụng.

Khía cạnh 80. Polypeptit đa phân tử chứa:

a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop;

ii) polypeptit β2-microglobulin (β2M) chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34A; và

b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) biến thể của protein đồng kích thích có trong tự nhiên, và trong đó biến thể này thể hiện ái lực giảm đối với protein đồng kích thích tương ứng của nó so với ái lực của protein đồng kích thích có trong tự nhiên đối với protein đồng kích thích tương ứng này, biến thể này tùy ý có thể là polypeptit IL-2 biến đổi theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 1 đến 6;

ii) polypeptit chuỗi nặng phức hợp tương thích mô chính (MHC) chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34C; và

iii) polypeptit IgG1 Fc chứa một hoặc nhiều đột biến thế axit amin được chọn từ N297A, L234A, L235A, L234F, L235E, và P331S (N77A, L14A, L15A, L14F, L15E, và P111S, tương ứng, dựa trên cách đánh số axit amin được mô tả trên Fig.33A).

Khía cạnh 81. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 80, trong đó polypeptit IgG1 Fc này chứa đột biến thế N297A (N77A dựa trên cách đánh số axit amin được mô tả trên Fig.33A).

Khía cạnh 82. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 80, trong đó polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234A và đột biến thế L235A (L14A và L15A dựa vào cách đánh số axit amin được mô tả trên Fig.33A).

Khía cạnh 83. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 80, trong đó polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234F và đột biến thế L235E (L14F và L15E dựa vào cách đánh số axit amin được mô tả trên Fig.33A).

Khía cạnh 84. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 80, trong đó polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234F, đột biến thế L235E, và P331S (các đột biến thế L14F, L15E, và P111S dựa vào cách đánh số axit amin được mô tả trên Fig.33A).

Khía cạnh 85. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 80 đến 84, trong đó polypeptit thứ hai chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi.

Khía cạnh 86. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 80 đến 85, trong đó polypeptit thứ nhất chứa cầu nối peptit giữa epitop và polypeptit β2M.

Khía cạnh 87. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 80 đến 86, trong đó polypeptit thứ hai chứa cầu nối peptit giữa một hoặc nhiều trong số:

a) bản sao thứ nhất của polypeptit IL-2 biến đổi và bản sao thứ hai của polypeptit IL-2 biến đổi;

b) polypeptit IL-2 biến đổi và polypeptit chuỗi nặng MHC; và

c) giữa polypeptit chuỗi nặng MHC và polypeptit IgG1 Fc.

Khía cạnh 88. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 86 hoặc khía cạnh 87, trong đó cầu nối peptit được chọn từ $(GGGGS)_3$, $(GGGGS)_4$, và AAAGG.

Khía cạnh 89. Polypeptit đa phân tử chứa:

a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop;

ii) polypeptit β2-microglobulin chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34A; và

b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) polypeptit IL-2 biến đổi chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34B;

ii) polypeptit chuỗi nặng phức hợp tương thích mô chính (MHC) chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34C; và

iii) polypeptit IgG1 Fc chứa một hoặc nhiều đột biến thế axit amin được chọn từ N297A, L234A, L235A, L234F, L235E, và P331S (N77A, L14A, L15A, L14F, L15E, và P111S, tương ứng, dựa trên cách đánh số axit amin được mô tả trên Fig.33A).

Khía cạnh 90. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 89, trong đó polypeptit IgG1 Fc này chứa đột biến thế N297A (N77A dựa trên cách đánh số axit amin được mô tả trên Fig.33A).

Khía cạnh 91. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 89, trong đó polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234A và đột biến thế L235A (L14A và L15A dựa vào cách đánh số axit amin được mô tả trên Fig.33A).

Khía cạnh 92. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 89, trong đó polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234F và đột biến thế L235E (L14F và L15E dựa vào cách đánh số axit amin được mô tả trên Fig.33A).

Khía cạnh 93. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 89, trong đó polypeptit IgG1 Fc chứa đột biến thế L234F, đột biến thế L235E, và đột biến thế P331S (L14F, L15E, và P111S dựa vào cách đánh số axit amin được mô tả trên Fig.33A).

Khía cạnh 94. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 89 đến 93, trong đó polypeptit thứ hai chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi.

Khía cạnh 95. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 89 đến 94, trong đó polypeptit thứ nhất chứa cầu nối peptit giữa epitop và polypeptit β2M.

Khía cạnh 96. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 89 đến 95, trong đó polypeptit thứ hai chứa cầu nối peptit giữa một hoặc nhiều trong số:

a) bản sao thứ nhất của polypeptit IL-2 biến đổi và bản sao thứ hai của polypeptit IL-2 biến đổi;

b) polypeptit IL-2 biến đổi và polypeptit chuỗi nặng MHC; và

c) polypeptit chuỗi nặng MHC và polypeptit IgG1 Fc.

Khía cạnh 97. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 95 hoặc khía cạnh 96, trong đó cầu nối peptit được chọn từ $(GGGGS)_3$, $(GGGGS)_4$, và AAAGG.

Khía cạnh 98. Polypeptit đa phân tử chứa:

a) polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) epitop chứa trình tự axit amin YMLDLQPETT (SEQ ID NO:13);

ii) polypeptit β2-microglobulin chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34A; và

b) polypeptit thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu cùng N đến đầu cùng C:

i) polypeptit IL-2 biến đổi chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34B;

ii) polypeptit chuỗi nặng phức hợp tương thích mô chính (MHC) chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.34C; và

iii) polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33A, 33B, 33C, hoặc 33D.

Khía cạnh 99. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 98, trong đó polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33B.

Khía cạnh 100. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 98, trong đó polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33C.

Khía cạnh 101. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 98, trong đó polypeptit IgG1 Fc chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.33D.

Khía cạnh 102. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 98 đến 101, trong đó polypeptit thứ hai chứa hai bản sao của polypeptit IL-2 biến đổi.

Khía cạnh 103. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 98 đến 102, trong đó polypeptit thứ nhất chứa cầu nối peptit giữa epitop và polypeptit β2M.

Khía cạnh 104. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 98 đến 103, trong đó polypeptit thứ hai chứa cầu nối peptit giữa một hoặc nhiều trong số:

a) bản sao thứ nhất của polypeptit IL-2 biến đổi và bản sao thứ hai của polypeptit IL-2 biến đổi;

b) polypeptit IL-2 biến đổi và polypeptit chuỗi nặng MHC; và

c) polypeptit chuỗi nặng MHC và polypeptit IgG1 Fc.

Khía cạnh 105. Polypeptit đa phân tử theo khía cạnh 103 hoặc khía cạnh 104, trong đó cầu nối peptit được chọn từ $(GGGGS)_3$, $(GGGGS)_4$, và AAAGG.

Khía cạnh 106. Polypeptit đa phân tử chứa:

a) polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.31;

b) polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.22.

Khía cạnh 107. Polypeptit đa phân tử chứa:

a) polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.31;

b) polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.25.

Khía cạnh 108. Polypeptit đa phân tử chứa:

a) polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.31;

b) polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin được mô tả trên Fig.28.

Khía cạnh 109. Dược phẩm chứa:

a) polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 80 đến 108; và

b) tá dược dược dụng.

Khía cạnh 110. Một hoặc nhiều axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit thứ nhất và/hoặc thứ hai của polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 80 đến 108.

Khía cạnh 111. Một hoặc nhiều axit nucleic theo khía cạnh 110, trong đó (các) axit nucleic này có mặt trong các vectơ biểu hiện tái tổ hợp.

Khía cạnh 112. Phương pháp hoạt hóa chọn lọc tế bào T đặc hiệu epitop, phương pháp này bao gồm bước cho tế bào T tiếp xúc với polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 80 đến 108, trong đó bước cho tiếp xúc này hoạt hóa chọn lọc tế bào T đặc hiệu epitop.

Khía cạnh 113. Phương pháp theo khía cạnh 112, trong đó bước cho tiếp xúc này là in vitro.

Khía cạnh 114. Phương pháp theo khía cạnh 112, trong đó bước cho tiếp xúc này là in vivo.

Khía cạnh 115. Phương pháp bao gồm bước sử dụng cho cá thể lượng hữu hiệu của:

a) polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 80 đến 108; hoặc

b) một hoặc nhiều vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 80 đến 108; hoặc

c) một hoặc nhiều mARN chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 80 đến 108, trong đó bước sử dụng này gây ra đáp ứng tế bào T với epitop ở cá thể.

Khía cạnh 116. Phương pháp theo khía cạnh 115, trong đó bước sử dụng này là dưới da.

Khía cạnh 117. Phương pháp theo khía cạnh 115, trong đó bước sử dụng này là trong tĩnh mạch.

Khía cạnh 118. Phương pháp theo khía cạnh 115, trong đó bước sử dụng này là toàn thân.

Khía cạnh 119. Phương pháp theo khía cạnh 115, trong đó bước sử dụng này là trong cơ.

Khía cạnh 120. Phương pháp theo khía cạnh 115, trong đó bước sử dụng này là ở xa vị trí điều trị.

Khía cạnh 121. Phương pháp theo khía cạnh 115, trong đó bước sử dụng này là khu trú.

Khía cạnh 122. Phương pháp theo khía cạnh 115, trong đó bước sử dụng này là tại hoặc gần vị trí điều trị.

Khía cạnh 123. Phương pháp phân phối chọn lọc polypeptit đồng kích thích đến tế bào T đích, phương pháp này bao gồm cho quần thể tế bào T hỗn hợp tiếp xúc với polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 7 đến 35 và 80 đến 108, trong đó quần thể tế bào T hỗn hợp này chứa tế bào T đích và tế bào T không

phải đích, trong đó tế bào T đích đặc hiệu với epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử, và trong đó bước cho tiếp xúc này phân phối polypeptit đồng kích thích có mặt trong polypeptit đa phân tử đến tế bào T đích.

Khía cạnh 124. Phương pháp phân phối chọn lọc IL-2 hoặc biến thể IL-2 đến tế bào T đích, phương pháp này bao gồm bước cho quần thể tế bào T hỗn hợp tiếp xúc với polypeptit đa phân tử theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 8 đến 35 và từ 80 đến 108, trong đó quần thể tế bào T hỗn hợp chứa tế bào T đích và tế bào T không phải đích, trong đó tế bào T đích là đặc hiệu với epitop có mặt trong polypeptit đa phân tử, và trong đó bước cho tiếp xúc này phân phối IL-2 hoặc biến thể IL-2 có mặt trong polypeptit đa phân tử đến tế bào T đích.

Khía cạnh 125. Phương pháp theo khía cạnh 123 hoặc 124, trong đó quần thể tế bào T là in vitro.

Khía cạnh 126. Phương pháp theo khía cạnh 123 hoặc 124, trong đó quần thể tế bào T là in vivo ở cá thể.

Khía cạnh 127. Phương pháp theo khía cạnh 126, bao gồm bước sử dụng polypeptit đa phân tử cho cá thể này.

Khía cạnh 128. Phương pháp theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 123 đến 127, trong đó tế bào T đích là tế bào T điều hòa.

Khía cạnh 129. Phương pháp theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 123 đến 127, trong đó tế bào T đích là tế bào T gây độc tế bào.

Khía cạnh 130. Phương pháp theo khía cạnh 123 hoặc 124, trong đó quần thể tế bào T hỗn hợp là quần thể tế bào T hỗn hợp in vitro thu được từ cá thể, và trong đó bước cho tiếp xúc này gây ra sự hoạt hóa và/hoặc tăng sinh của tế bào T đích, tạo ra quần thể tế bào T đích được hoạt hóa và/hoặc tăng sinh.

Khía cạnh 131. Phương pháp theo điểm 130, bao gồm thêm bước sử dụng quần thể tế bào T đích đã hoạt hóa và/hoặc tăng sinh cho cá thể.

Khía cạnh 132. Phương pháp phát hiện, trong quần thể tế bào T hỗn hợp thu được từ cá thể, sự có mặt của tế bào T đích liên kết với epitop cần quan tâm, phương pháp này bao gồm: a) cho quần thể tế bào T hỗn hợp này tiếp xúc in vitro với

polypeptit đa phân tử theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 7 đến 35 và 80 đến 108, trong đó polypeptit đa phân tử này chứa epitop cần quan tâm; và b) phát hiện sự hoạt hóa và/hoặc tăng sinh của tế bào T đáp ứng với sự tiếp xúc này, trong đó tế bào T đã hoạt hóa và/hoặc tăng sinh chỉ ra sự có mặt của tế bào T đích.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được đưa ra để cung cấp cho người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sự bộc lộ và mô tả hoàn chỉnh về cách tạo ra và sử dụng sáng chế, và không được dự định làm giới hạn phạm vi của sáng chế cũng như không dự định thể hiện là các thử nghiệm dưới đây là toàn bộ các thử nghiệm hoặc là các thử nghiệm duy nhất được thực hiện. Các nỗ lực được thực hiện để đảm bảo độ chính xác của các giá trị số được sử dụng (ví dụ, lượng, nhiệt độ, v.v.) nhưng một số sai số thử nghiệm và độ lệch nên được tính đến. Trừ khi có quy định khác, các phần là các phần theo khối lượng, khối lượng phân tử là khối lượng phân tử trung bình khối, nhiệt độ là ở độ Celsius, và áp suất là ở hoặc gần áp suất khí quyển. Các từ viết tắt chuẩn có thể được sử dụng, ví dụ, bp, (nhiều) cặp bazơ; kb, (nhiều) kilobazơ; pl, (nhiều) picolit; s hoặc sec, (nhiều) giây; min, (nhiều) phút; h hoặc hr, (nhiều) giờ; aa, (các) axit amin; kb, (nhiều) kilobazơ; bp, (nhiều) cặp bazơ; nt, (nhiều) nucleotit; (nhiều) kiloDalton, kDa; i.m., trong cơ; i.p., trong màng bụng; s.c., dưới da; và các thuật ngữ tương tự.

Ví dụ 1: Sản sinh IL-2/synTac

Sự sản sinh IL-2/synTac bởi tế bào động vật có vú được chuyển nhiễm tạm thời được phân tích. Như được thể hiện trên Fig.7A, các mức sản sinh (theo mg/L môi trường nuôi cấy) của hai IL-2/synTac khác nhau, 6-7 ngày sau khi chuyển nhiễm tạm thời các tế bào này, là lớn hơn 90 mg/L.

Các IL-2/synTac được sản sinh bởi các tế bào động vật có vú được tinh chế, và được đưa vào điện di gel polyacrylamit khử và không khử. Các kết quả được mô tả trên Fig.7B. Các kích thước được đưa ra theo kDa.

Các IL-2/synTac được tạo ra, trong đó polypeptit IL-2 nằm trong "chuỗi nhẹ" (nghĩa là, polypeptit chứa chuỗi nhẹ MHC lớp I; ví dụ, β2M) hoặc trong "chuỗi nặng" (nghĩa là, polypeptit chứa chuỗi nặng MHC lớp I). Mức biểu hiện và độ ổn định của IL-2/synTac được phân tích.

Các synTac được sản sinh ở các tế bào động vật có vú. Như được thể hiện trên Fig.8A, IL-2/synTac chứa IL-2 trên chuỗi nặng được sản sinh ở các mức cao hơn khoảng 25 lần so với mức của IL-2/synTac chứa IL-2 trên chuỗi nhẹ.

IL-2/synTac được sản sinh bởi các tế bào động vật có vú được đưa vào kỹ thuật điện di gel polyacrylamit khử và không khử; và các gel được nhuộm bằng xanh Coomassie. Như được thể hiện trên Fig.8B, IL-2/synTac chứa IL-2 trên chuỗi nặng là ổn định hơn so với IL-2/synTac chứa IL-2 trên chuỗi nhẹ. Các kích thước được đưa ra theo kDa.

Các mức biểu hiện của IL-2/synTac chứa biến thể IL-2 được đánh giá. Fig.9 mô tả mức biểu hiện của IL-2/syn-Tacs, trong đó IL-2 là kiểu hoang (wt), hoặc chứa các tổ hợp khác nhau của F42A, D20K, Q126A, E15A, Y45A, và H16A. Các mức biểu hiện được thể hiện bằng tỷ lệ phần trăm thay đổi so với các mức biểu hiện của synTac với IL-2 kiểu hoang.

Tác động của số lượng bản sao của IL-2 trong IL-2/synTac đối với mức biểu hiện được đánh giá. IL-2/synTac chứa một bản sao (1X), hai bản sao (2X) hoặc ba bản sao (3X) trong synTac. Các IL-2/synTac khác nhau được sản sinh trong các tế bào động vật có vú, và các mức biểu hiện được phân tích. Số liệu được mô tả trên Fig.10. IL-2/synTac với một hoặc hai bản sao của IL-2 thể hiện các mức biểu hiện tương tự, trong khi IL-2/synTac với ba bản sao của IL-2 thể hiện các mức biểu hiện thấp hơn. Các mức biểu hiện được thể hiện bằng số lần thay đổi so với mức biểu hiện của IL-2/synTac với một bản sao của IL-2.

Ví dụ 2: Hoạt tính in vitro của IL-2/synTac

Để đạt được tính đặc hiệu tối đa của việc gắn đích qua thụ thể tế bào T, ái lực của polypeptit đồng kích thích đối với phối tử của nó nên thấp hơn so với ái lực của MHC đối với TCR. Ái lực peptit/MHC với TCR có thể là khoảng 10 μM.

IL-2/synTac được tạo ra, chứa hai bản sao của IL-2 biến đổi chứa đột biến thế F42A và H16A. Sự truyền tín hiệu đồng kích thích được gây ra bởi IL-2/synTac được kiểm tra trên tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu kháng nguyên và tế bào T $CD8^+$ không đặc hiệu. Các tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu kháng nguyên và tế bào T $CD8^+$ không đặc hiệu được cho tiếp xúc với nhiều nồng độ khác nhau của IL-2/synTac.

Như được thể hiện trên Fig.11, IL-2/synTac gây ra sự truyền tín hiệu đồng kích thích ở tế bào T CD8$^+$ đặc hiệu kháng nguyên ở nồng độ thấp hơn nhiều so với ở tế bào T CD8$^+$ không đặc hiệu.

Tính chọn lọc của liên kết IL-2/synTac được kiểm tra. Tế bào T CD8+ được phân lập từ lách của chuột LCMV hoặc OT1. Các tế bào T CD8$^+$ được ủ với IL-2/synTac ở các nồng độ khác nhau, và được để cho liên kết trong 20 phút. IL-2/synTac chứa IgG2a Fc. Sự liên kết của IL-2/synTac với tế bào T CD8$^+$ được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể kháng IgG2a được gắn nhãn phycoerythrin (PE). Sự phát huỳnh quang PE được phát hiện bằng cách sử dụng phương pháp đo tế bào theo dòng để xác định tỷ lệ phần trăm các tế bào liên kết với IL-2/synTac.

Như được thể hiện trên Fig.12, IL-2/synTac liên kết theo cách đặc hiệu kháng nguyên với tế bào T CD8$^+$ LCMV, nhưng không thể hiện khả năng liên kết đáng kể với tế bào T CD8$^+$ OT1. Do đó, IL-2/synTac liên kết chọn lọc với tế bào T CD8$^+$ đặc hiệu với epitop có mặt trong IL-2/synTac.

Xác định được là IL-2/synTac có hoạt hóa chọn lọc các tế bào T đích hay không. Tế bào T CD8$^+$ được phân lập từ lách của chuột LCMV hoặc OT1. IL-2/synTac được sử dụng bao gồm đột biến thế một axit amin F42A, hoặc đột biến thế F42A và H16A. Tế bào T CD8$^+$ được kích thích với IL-2/synTac ở các nồng độ khác nhau trong 20 phút. Sau đó, các tế bào được nhuộm với kháng thể kháng phospho STAT5 được gắn nhãn PE. Sự phát huỳnh quang PE được phát hiện bằng cách sử dụng phương pháp đo tế bào theo dòng để xác định tỷ lệ phần trăm tế bào dương tính với phospho-STAT5, trong đó phospho-STAT5 là chất đánh dấu sự hoạt hóa.

Như được thể hiện trên Fig.13, IL-2/synTac gây ra tác dụng kích thích CD8$^+$ (như được thể hiện bằng % tế bào dương tính với phospho-STAT5) ở tế bào T CD8$^+$ (LCMV) đặc hiệu kháng nguyên ở các nồng độ thấp hơn nhiều so với ở tế bào T CD8$^+$ (BL6) không đặc hiệu.

Hoạt tính đặc hiệu của các IL-2/synTac khác nhau được phân tích. Các IL-2/synTac chứa một bản sao của IL-2, hai bản sao của IL-2, hoặc ba bản sao của IL-2, trong đó IL-2 chứa nhiều tổ hợp khác nhau của các đột biến thế F42A, D20K, Q126A, E15A, H16A, và Y45A, được kiểm tra ở nhiều nồng độ khác nhau về tác dụng kích thích tế bào CD8$^+$ đặc hiệu kháng nguyên (LCMV) hoặc không đặc hiệu (BL6). Tỷ lệ

phần trăm chất hoạt hóa và chất chuyển đổi phospho-tín hiệu dương tính với sự phiên mã 5 (pSTAT5) được xác định. Số liệu được mô tả trên Fig.14A-14F.

Ví dụ 3: Hoạt tính in vivo của IL-2/synTac

Hoạt tính in vivo của IL-2/synTac được kiểm tra. Số lần thay đổi in vivo ở tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu kháng nguyên được kiểm tra, sau khi sử dụng nước muối đệm phosphat (PBS), IL-2 tái tổ hợp (rIL-2), hoặc IL-2/synTac theo sáng chế. Số liệu được thể hiện trên Fig.15, ô bên trái. Số liệu chỉ ra rằng IL-2/synTac hiệu lực gấp 10 lần so với rIL-2.

Tính đặc hiệu in vivo của IL-2/synTac được kiểm tra. Đáp ứng đặc hiệu kháng nguyên và không đặc hiệu kháng nguyên sau khi sử dụng PBS, rIL-2, hoặc IL-2/synTac được đánh giá. Số liệu được thể hiện bằng tỷ lệ phần trăm tế bào hạch lympho đặc hiệu kháng nguyên hoặc không đặc hiệu kháng nguyên sau khi sử dụng PBS, rIL-2, hoặc IL-2/synTac. Như được mô tả trên Fig.15, ô bên phải, IL-2/synTac gây ra đáp ứng đặc hiệu kháng nguyên (được thể hiện bằng % độ pha loãng tối đa của carboxyfluorescein suxinimidyl este (CFSE), chỉ số tăng sinh tế bào T). Ngược lại, đáp ứng được gây ra bởi rIL-2 không đặc hiệu kháng nguyên.

Thử nghiệm đáp ứng liều được thực hiện. IL-2/synTac (F42A, H16A) được sử dụng trong màng bụng ở các nồng độ là 4 mg/kg, 8 mg/kg, và 16 mg/kg. Các kết quả được thể hiện trên Fig.16A. Như được thể hiện trên Fig.16A, IL-2/synTac được sử dụng ở nồng độ 4 mg/kg hoặc 8 mg/kg cho kết quả tương tự; IL-2/synTac được sử dụng ở nồng độ 16 mg/kg gây ra hoạt tính kích thích miễn dịch hiệu quả nhất.

Tác động của đường sử dụng IL-2/synTac được kiểm tra. IL-2/synTac (F42A, H16A) được sử dụng ở nồng độ 4 mg/kg, dưới da (SubQ) hoặc trong màng bụng (IP). Như được thể hiện trên Fig.16B, việc sử dụng dưới da gây ra hoạt tính kích thích miễn dịch hiệu quả hơn so với việc sử dụng trong màng bụng.

Tác động của số lượng bản sao IL-2 đối với hiệu quả được xác định. IL-2/synTac chứa một bản sao của IL-2 (F42A, H16A) hoặc hai bản sao của IL-2 (F42A, H16A) được tiêm vào chuột có khối u mang epitop HPV E7. Epitop nằm trong IL-2/synTac là epitop HPV E7. Như được thể hiện trên Fig.17A và 17B, IL-2/synTac

chứa hai bản sao của IL-2(F42A, H16A) là hiệu quả hơn trong việc làm giảm kích thước khối u so với IL-2/synTac chỉ chứa một bản sao của IL-2(F42A, H16A).

Ví dụ 4: Nghiên cứu PK/PD và nghiên cứu về độ ổn định của IL-2/synTac

Phân tích dược động học (PK) của IL-2/synTac được thực hiện. IL-2/synTac (F42A, D20K, H16A) được sử dụng bằng đường IP ở nồng độ 10 mg/kg. Ở nhiều thời điểm khác nhau sau khi sử dụng, các mẫu huyết thanh được lấy và mức nồng độ IL-2/synTac được đo trong các mẫu huyết thanh này. Như được thể hiện trên Fig.18, thời gian bán thải trong huyết thanh của IL-2/synTac là khoảng 4 giờ.

IL-2/synTac được tiêm bằng đường IP vào chuột C57BL/6 ở nồng độ 10 mg/kg, và huyết thanh được lấy hai giờ sau khi tiêm. IL-2/synTac bao gồm nhãn His_6. 100 ng protein đầu vào, hoặc lượng tương đương là 40 µl huyết thanh, được đưa vào điện di gel natri dodexyl sulfat-polyacrylamit (SDS-PAGE), và được dò bằng kháng thể kháng $(His)_6$ hoặc kháng thể kháng β-2M. Các kết quả, được mô tả trên Fig.19, cho thấy rằng IL-2/synTac vẫn ổn định và nguyên vẹn trong ít nhất là 2 giờ in vivo.

IL-2/synTac được giữ ở 4°C hoặc 37°C trong 5 ngày. 0,5 mg mỗi mẫu (ở 10 mg/ml) được phân tích bằng sắc ký loại cỡ. Như được thể hiện trên Fig.20, IL-2/synTac là ổn định và nguyên vẹn trong ít nhất là 5 ngày ở 4°C hoặc 37°C.

Ví dụ 5: Sự nhân rộng tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu CMV người do IL-2/synTac

Tế bào bạch cầu đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) từ người hiến tặng được sàng lọc về khả năng phản ứng với nguồn cytomegalovirut (CMV)-peptit bằng cách sử dụng thử nghiệm vết miễn dịch liên kết enzym (ELISPOT) IFN-gama. Các PBMC được phân loại theo số vết tạo thành (SFC) thành các nhóm tiền chất CMV cao, trung bình, thấp hoặc không có tiền chất CMV. PBMC từ mỗi nhóm được kích thích với các liều IL-2/synTac ("CUE:IL-2"; synTac chứa 2 bản sao của IL-2 MOD biến đổi chứa đột biến thế H16A và F42A) trong khoảng từ 30 nM đến 2nM. Năm mươi phần trăm môi trường có điều kiện được thay bằng môi trường mới vào ngày thứ 5. Vào ngày 7, các mẫu được nhuộm bằng panen kháng thể và được phân tích bằng phương pháp đo tế bào theo dòng. Kỹ thuật nhuộm pentamer gắn đích peptit CMV NLVPMVATV (SEQ ID NO:37) được sử dụng để xác định tần số của tế bào $CD8^+$ đặc hiệu kháng nguyên. Số liệu được thể hiện trên Fig.35. EC_{50} của IL-2/synTac được xác định là nằm

trong khoảng từ khoảng 1 nM đến khoảng 5 nM. Fig.35 thể hiện số lần nhân rộng của tế bào $CD8^+$ đặc hiệu kháng nguyên so với đối chứng không được điều trị. Giá trị bằng số trên trục X thể hiện số SFC của mỗi PBMC hiến tặng. Các thanh sai số thể hiện các giá trị trung bình +/-SD từ các bản sao kỹ thuật của mỗi điểm số liệu.

Số liệu được thể hiện trên Fig.35 chỉ ra là IL-2/synTac là hữu hiệu để phát triển số lượng các tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu epitop, trong đó có quần thể tiền chất đo được (ví dụ, bằng cách nhuộm pentamer hoặc bằng SFC) của các tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu epitop này.

Ví dụ 6: IL-2/synTac có đột biến thế axit amin ở H16.

Các biến thể IL-2/synTac được tạo ra với các đột biến thế ở H16. Mức biểu hiện và ái lực đối với IL-2R được xác định. Ái lực với IL-2 R được xác định bằng cách sử dụng BLI. Số liệu được thể hiện trên Fig.36.

Ví dụ 7: IL-2/synTac tác động lên tế bào T CD8+ đặc hiệu kháng nguyên người sơ cấp.

IL-2/synTac biến đổi được cho tiếp xúc với tế bào T $CD8^+$ sơ cấp từ đối tượng người. IL-2/synTac biến đổi bao gồm: i) HPV16 E7 (11-20) (YMLDLQPETT; SEQ ID NO:13) là peptit trình diện epitop; và ii) 2 bản sao của IL-2 MOD biến đổi chứa đột biến thế H16A và F42A). Sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu với HPV16 E7 (11-20), hoặc với tế bào T $CD8^+$ kích thước lớn được đánh giá. Số liệu được thể hiện trên Fig.37.

Fig.37 mô tả sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi theo sáng chế với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) sơ cấp ở người, như được phát hiện bởi phương pháp đo tế bào theo dòng. EC_{50} đối với liên kết với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu với HPV16 E7 (11-20) là 2,6 nM. Do đó, IL-2/synTac biến đổi thể hiện tương tác ái lực cao với tế bào T người sơ cấp đặc hiệu kháng nguyên khối u. Sự liên kết có tính chọn lọc cao với tế bào T đặc hiệu kháng nguyên, so với sự liên kết với tế bào T $CD8^+$ không phải đích (kích thước lớn).

Tác động của sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) người sơ cấp đối với sự phosphoryl hóa chất đánh dấu SLP76 gần thụ thể tế bào T (TCR) được đánh giá. Số liệu được thể hiện trên Fig.38.

Fig.38 mô tả tác dụng của sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu với HPV16 E7 (11-20) sơ cấp ở người đối với sự phosphoryl hóa của SLP76. Sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) sơ cấp của người làm tăng mạnh sự phosphoryl hóa của SLP76. Tác dụng này là hiệu quả (EC_{50} = 65 nM). Tác dụng này cũng là chọn lọc, vì IL-2/synTac đối chứng chứa peptit CMV thay vì HPV16 E7 (11-20) chỉ gây ra các mức phosphoryl hóa SLP76 thấp.

Các chất đánh dấu chính của sự hoạt hóa tế bào T và hoạt tính phân giải tế bào được đánh giá. Tế bào T đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) người sơ cấp được ủ trong 2 ngày với 0 nM hoặc 100 nM IL-2/synTac biến đổi. IL-2/synTac biến đổi bao gồm: i) HPV16 E7 (11-20) là peptit trình diện epitop; và ii) 2 bản sao của IL-2 MOD biến đổi chứa các đột biến thế H16A và F42A). Đánh giá sự sản sinh: i) CD25, chất đánh dấu sự hoạt hóa tế bào T $CD8^+$; ii) granzyme B, chất trung gian chính của sự chết tế bào đích bằng con đường qua trung gian hạt; và iii) CD107α, chất đánh dấu sự mất hạt trên tế bào T $CD8^+$. Số liệu được thể hiện trên Fig.39.

Fig.39 mô tả tác dụng của sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) sơ cấp ở người đối với sự sản sinh CD25, granzyme B, và CD107α. Số liệu chỉ ra rằng sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) người sơ cấp gây ra sự biệt hóa của tế bào T thành tế bào hiệu ứng gây phân giải tế bào, như được chứng minh bằng sự biểu hiện tăng của CD25, granzyme B, và CD107α.

Tác dụng của sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) sơ cấp ở người đối với sự sản sinh IFN-γ được đánh giá. Thử nghiệm ELISpot được sử dụng để phát hiện sự sản sinh IFN-γ. Số liệu được thể hiện trên Fig.40.

Fig.40 mô tả tác dụng của sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) sơ cấp ở người đối với sự sản sinh IFN-γ. Số liệu chỉ ra rằng sự liên kết của IL-2/synTac biến đổi với tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu HPV16 E7 (11-20) người sơ cấp gây ra sự tiết IFN-γ phụ thuộc liều. Không quan sát thấy sự sản sinh IFN-γ với IL-2/synTac đối chứng chứa peptit CMV thay vì HPV16 E7 (11-20).

Mặc dù sáng chế đã được mô tả cùng với các phương án cụ thể của nó, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này cần phải hiểu rằng nhiều thay đổi khác nhau có thể được tạo ra và các phương án tương đương có thể được thay thế mà không vượt ra khỏi tinh thần và phạm vi thực sự của sáng chế. Ngoài ra, nhiều biến đổi có thể được tạo ra để làm cho tình huống, nguyên liệu, thành phần của đối tượng, quy trình, một hoặc nhiều bước của quy trình thích hợp với mục đích, tinh thần và phạm vi của sáng chế. Tất cả các biến đổi này được dự định nằm trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ kèm theo đây.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Heterodime chứa:

a) polypeptit thứ nhất chứa:

i) epitop của virut papilloma người, trong đó epitop này chứa trình tự axit amin YMLDLQPETT (SEQ ID NO:13); và

ii) polypeptit phức hợp tương thích mô chính thứ nhất (MHC), trong đó polypeptit MHC thứ nhất là polypeptit β2-microglobulin (β2M) chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:17, và

b) polypeptit thứ hai chứa:

i) hai bản sao của polypeptit IL-2, mỗi bản sao chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:84;

iii) polypeptit MHC thứ hai, trong đó polypeptit MHC thứ hai này là polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:19; và

iv) polypeptit Fc globulin miễn dịch (Ig),

trong đó polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai được liên kết cộng hóa trị với nhau thông qua liên kết disulfua.

2. Heterodime theo điểm 1,

trong đó polypeptit Ig Fc chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất trình tự axit amin ít nhất khoảng 95% với SEQ ID NO:57, trong đó phần trăm độ đồng nhất trình tự có thể xác định được bằng cách sắp hàng trình tự được thực hiện bằng cách sử dụng BLAST, và trong đó polypeptit Ig Fc chứa đột biến thế L14A và đột biến thế L15A dựa trên cách đánh số axit amin được mô tả trong SEQ ID NO:57,

trong đó polypeptit thứ nhất và thứ hai được liên kết cộng hóa trị với nhau thông qua liên kết disulfua giữa gốc Cys ở axit amin 12 của polypeptit β2M và gốc Cys ở axit amin 236 của polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I,

trong đó polypeptit thứ nhất chứa cầu nối peptit giữa epitop và polypeptit β2M, và

trong đó polypeptit thứ hai chứa cầu nối peptit giữa một hoặc nhiều trong số:

a) bản sao thứ nhất của polypeptit IL-2 và bản sao thứ hai của polypeptit IL-2;

b) một trong số hai bản sao của polypeptit IL-2 và polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I; và

c) polypeptit chuỗi nặng MHC lớp I và polypeptit Ig Fc.

3. Homodime chứa hai heterodime theo điểm 1, trong đó hai heterodime này được nối với nhau bởi một hoặc nhiều liên kết disulfua mà nối polypeptit Ig Fc của một heterodime với polypeptit Ig Fc của heterodime kia.

4. Homodime chứa hai heterodime theo điểm 2, trong đó hai heterodime này được nối với nhau bởi một hoặc nhiều liên kết disulfua mà nối polypeptit Ig Fc của một heterodime với polypeptit Ig Fc của heterodime kia.

5. Dược phẩm chứa heterodime theo điểm 1.

6. Dược phẩm chứa heterodime theo điểm 2.

7. Dược phẩm chứa homodime theo điểm 3.

8. Dược phẩm chứa homodime theo điểm 4.

9. Dược phẩm chứa heterodime theo điểm 1 để điều trị ung thư.

10. Dược phẩm chứa heterodime theo điểm 2 để điều trị ung thư.

11. Dược phẩm chứa homodime theo điểm 3 để điều trị ung thư.

12. Dược phẩm chứa homodime theo điểm 4 để điều trị ung thư.

13. Axit nucleic mã hóa polypeptit thứ nhất và thứ hai theo điểm 1 hoặc 2.

14. Vectơ biểu hiện chứa axit nucleic theo điểm 13.

15. Nhiều tế bào được biến đổi di truyền với vectơ biểu hiện theo điểm 14.

16. Phương pháp tổng hợp polypeptit thứ nhất và thứ hai bao gồm nuôi cấy nhiều tế bào được biến đổi di truyền theo điểm 15 trong môi trường nuôi cấy trong các điều kiện sao cho tế bào này tổng hợp polypeptit thứ nhất và thứ hai.

17. Axit nucleic thứ nhất và thứ hai, trong đó axit nucleic thứ nhất và thứ hai này mã hóa polypeptit thứ nhất và thứ hai theo điểm 1 hoặc 2.

18. Một hoặc nhiều vectơ biểu hiện chứa axit nucleic theo điểm 17.

19. Nhiều tế bào được biến đổi di truyền với một hoặc nhiều vectơ biểu hiện theo điểm 18.

20. Phương pháp tổng hợp polypeptit thứ nhất và thứ hai bao gồm nuôi cấy nhiều tế bào được biến đổi di truyền theo điểm 19 trong môi trường nuôi cấy trong các điều kiện sao cho tế bào này tổng hợp polypeptit thứ nhất và thứ hai.

FIG. 1A

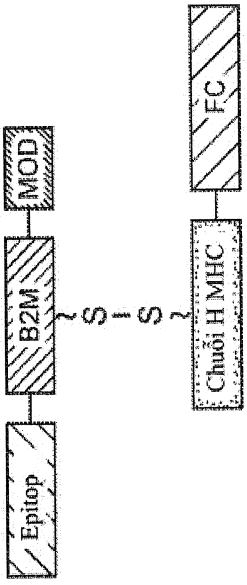


FIG. 1B

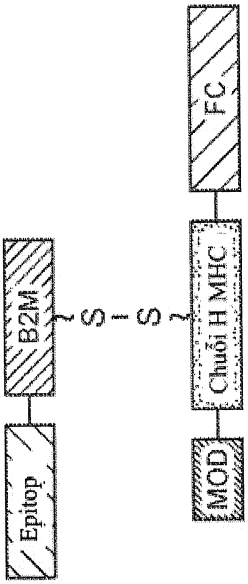


FIG. 1C

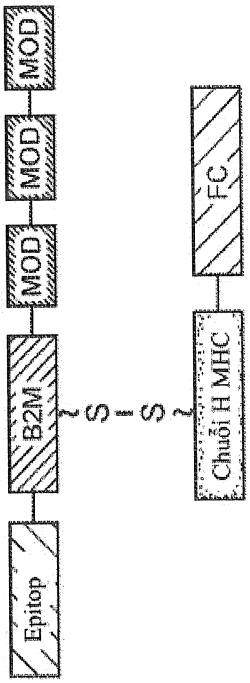


FIG. 1D

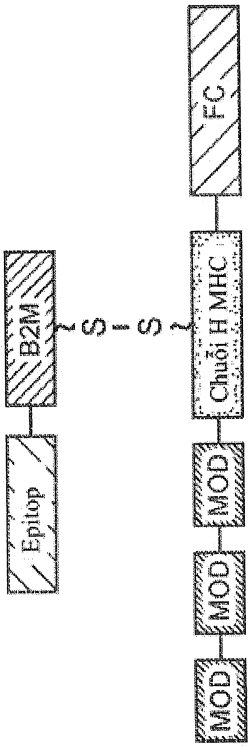


FIG. 2A

IL2 - *Người hiện đại*

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:1)

FIG. 2B

IL2 (F42X) (SEQ ID NO:38)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2C

IL2 (D20X) (SEQ ID NO:39)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2D

IL2 (E15X) (SEQ ID NO:40)

APTSSSTKKT QLQLXHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2E

IL2 (H16X) (SEQ ID NO:41)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2F

IL2 (Y45X) (SEQ ID NO:42)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFXMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2G

IL2 (Q126X) (SEQ ID NO:43)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCXSIIS TLT

FIG. 2H

IL2 (F42X; H16X) (SEQ ID NO:44)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2I

IL2 (F42X; D20X) (SEQ ID NO:45)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2J

IL2 (F42X; D20X; E15X) (SEQ ID NO:46)

APTSSSTKKT QLQLXHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2K

IL2 (F42X; D20X; H16X) (SEQ ID NO:47)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2L

IL2 (F42X; D20X; Q126X) (SEQ ID NO:48)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCXSIIS TLT

FIG. 2M

IL2 (F42X; D20X; Y45X) (SEQ ID NO:49)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2N

IL2 (F42X; D20X; Y45X; H16X) (SEQ ID NO:50)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCQSIIS TLT

FIG. 2O

IL2 (F42X; D20X; Y45X; Q126X) (SEQ ID NO:51)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCXSIIS TLT

FIG. 2P

IL2 (F42X; D20X; Y45X; H16X; Q126X) (SEQ ID NO:52)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCXSIIS TLT

FIG. 2Q

IL2 – (F42X, H16X, Q126X) (SEQ ID NO:53)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE

EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR

WITFCXSIIS TLT

FIG. 3A
Chuỗi IL2R-alpha (SEQ ID NO:54)
Người hiện đại

```
  1 MDSYLLMWGL LTFIMVPGCQ AELCDDDPPE IPHATFKAMA YKEGTMLNCE CKRGFRRIKS
 61 GSLYMLCTGN SSHSSWDNQC QCTSSATRNT TKQVTPQPEE QKERKTTEMQ SPMQPVDQAS
121 LPGHCREPPP WENEATERIY HFVVGQMVYY QCVQGYRALH RGPAESVCKM THGKTRWTQP
181 QLICTGEMET SQFPGEEKPQ ASPEGRPESE TSCLVTTTDF QIQTEMAATM ETSIFTTEYQ
241 VAVAGCVFLL ISVLLLSGLT WQRRQRKSRR TI
```

Trưởng thành = axit amin 22-272

FIG. 3B
Chuỗi IL2R-beta (SEQ ID NO:55)
Người hiện đại

```
  1 MAAPALSWRL PLLILLLPLA TSWASAAVNG TSQFTCFYNS RANISCVWSQ DGALQDTSCQ
 61 VHAWPDRRRW NQTCELLPVS QASWACNLIL GAPDSQKLTT VDIVTLRVLC REGVRWRVMA
121 IQDFKPFENL RLMAPISLQV VHVETHRCNI SWEISQASHY FERHLEFEAR TLSPGHTWEE
181 APLLTLKQKQ EWICLETLTP DTQYEFQVRV KPLQGEFTTW SPWSQPLAFR TKPAALGKDT
241 IPWLGHLLVG LSGAFGFIIL VYLLINCRNT GPWLKKVLKC NTPDPSKFFS QLSSEHGGDV
301 QKWLSSPFPS SSFSPGGLAP EISPLEVLER DKVTQLLLQQ DKVPEPASLS SNHSLTSCFT
361 NQGYFFFHLP DALEIEACQV YFTYDPYSEE DPDEGVAGAP TGSSPQPLQP LSGEDDAYCT
421 FPSRDDLLLF SPSLLGGPSP PSTAPGGSGA GEERMPPSLQ ERVPRDWDPQ PLGPPTPGVP
481 DLVDFQPPPE LVLREAGEEV PDAGPREGVS FPWSRPPGQG EFRALNARLP LNTDAYLSLQ
541 ELQGQDPTHL V
```

Trưởng thành = axit amin 27-551

FIG. 3C
Chuỗi IL2R-gamma (SEQ ID NO:56)
Người hiện đại

```
  1 MLKPSLPFTS LLFLQLPLLG VGLNTTILTP NGNEDTTADF FLTTMPTDSL SVSTLPLPEV
 61 QCFVFNVEYM NCTWNSSSEP QPTNLTLHYW YKNSDNDKVQ KCSHYLFSEE ITSGCQLQKK
121 EIHLYQTFVV QLQDPREPRR QATQMLKLQN LVIPWAPENL TLHKLSESQL ELNWNNRFLN
181 HCLEHLVQYR TDWDHSWTEQ SVDYRHKFSL PSVDGQKRYT FRVRSRFNPL CGSAQHWSEW
241 SHPIHWGSNT SKENPFLFAL EAVVISVGSM GLIISLLCVY FWLERTMPRI PTLKNLEDLV
301 TEYHGNFSAW SGVSKGLAES LQPDYSERLC LVSEIPPKGG ALGEGPGASP CNQHSPYWAP
361 PCYTLKPET
```

Trưởng thành = axit amin 23-369

Fig. 4A

Ngân hàng gen 3S7G_A (SEQ ID NO:57)

IgG1 Fc *người hiện đại*

227 aa

```
  1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvshed pevkfnwyvd
 61 gvevhnaktk preeqynsty rvvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkalpa piektiskak
121 gqprepqvyt lppsrdeltk nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdksrwqqg nvfscsvmhe alhnhytqks lslspgk
```

Ngân hàng gen AAN76044 (SEQ ID NO:58)

IgG2 Fc *người hiện đại* (axit amin 99-325)

227 aa

```
  1 stkgpsvfpl apcsrstses taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
 61 lyslssvvtv pssnfgtqty tcnvdhkpsn tkvdktverk ccvecppcpa ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vvdvshedpe vqfnwyvdgv evhnaktkpr eeqfnstfrv
181 vsvltvvhqd wlngkeykck vsnkglpapi ektisktkgq prepqvytlp psreemtknq
241 vsltclvkgf ypsdiavewe sngqpennyk ttppmldsdg sfflyskltv dksrwqqgnv
301 fscsvmheal hnhytqksls lspgk
```

Ngân hàng gen AAW65947 (SEO ID NO:59)

IgG3 Fc *người hiện đại* (axit amin 19-246)

238 aa

```
  1 hkpsntkvdk rvelktplgd tthtcppcpa pellggpsvf lfppkpkdtl misrtpevtc
 61 vvvdvshedp evkfnwyvdg vevhnaktkp reeqynstyr vvsvltvlhq dwlngkeykc
121 kvsnkalpap iektiskakg qprepqvytl ppsrdeltkn qvsltclvkg fypsdiavew
181 esngqpenny kttppvldsd gsfflysklt vdksrwqqgn vfscsvmhea lhnhytqksl
241 slspgk
```

Fig. 4B

Ngân hàng gen AAA52770 (SEQ ID NO:60)
IgD Fc *người hiện đại* (axit amin 162-383)
222 aa

```
  1 ptkapdvfpi isgcrhpkdn spvvlaclit qyhptsvtvt wymgtqsqpq rtfpeiqrrd
 61 syymtssqls tplqqwrqge ykcvvqhtas kskkeifrwp espkaqassv ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkkekekeeq eeretktpec pshtqplgvy lltpavqdlw
181 lrdkatftcf vvgsdlkdah ltwevagkvp tggveeglle rhsngsqsqh srltlprslw
241 nagtsvtctl nhpslppqrl malrepaaqa pvklslnlla ssdppeaasw llcevsgfsp
301 pnillmwled qrevntsgfa parpppqprs ttfwawsvlr vpappspqpa tytcvvshed
361 srtllnasrs levsyvtdhg pmk
```

Ngân hàng gen 0308221A (SEQ ID NO:61)
IgM Fc *người hiện đại*
276 aa

```
  1 vtstltikzs dwlqesmftc rvdhrgltfq qnassmcvpd qdtairvfai ppsfasiflt
 61 kstkltclvt dlttybsvti swtreengav kthtnisesh pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpsplkqt isrpkgvalh rpbvyllppa rzzlnlresa titclvtgfs
181 padvfvewmq rgeplspqky vtsapmpepq apgryfahsi ltvseeewnt ggtytcvvah
241 ealpnrvter tvdkstgkpt lynvslvmsd tagtcy
```

Fig. 4C

Ngân hàng gen P01876 (SEQ ID NO:62)
IgA Fc *người hiện đại* (axit amin 120-353)
234 aa

```
  1 asptspkvfp lslcstqpdg nvviaclvqg ffpqeplsvt wsesgqgvta rnfppsqdas
 61 gdlyttssql tlpatqclag ksvtchvkhy tnpsqdvtvp cpvpstpptp spstpptpsp
121 scchprlslh rpaledlllg seanltctlt glrdasgvtf twtpssgksa vqgpperdlc
181 gcysvssvlp gcaepwnhgk tftctaaype sktpltatls ksgntfrpev hllpppseel
241 alnelvtltc largfspkdv lvrwlqgsqe lprekyltwa srqepsqgtt tfavtsilrv
301 aaedwkkgdt fscmvgheal plaftqktid rlagkpthvn vsvvmaevdg tcy
```

Ngân hàng gen 1F6A_B (SEQ ID NO:63)
IgE Fc *người hiện đại* (axit amin 6-222)
212 aa

```
  1 adpcdsnprg vsaylsrpsp fdlfirkspt itclvvdlap skgtvnltws rasgkpvnhs
 61 trkeekqrng tltvtstlpv gtrdwieget yqcrvthphl pralmrsttk tsgpraapev
121 yafatpewpg srdkrtlacl iqnfmpedis vqwlhnevql pdarhsttqp rktkgsgffv
181 fsrlevtrae weqkdeficr avheaaspsq tvqravsvnp gk
```

Ngân hàng gen P01861 (SEO ID NO:64)
IgG4 Fc *người hiện đại* (axit amin 100-327)
228 aa

```
  1 astkgpsvfp lapcsrstse staalgclvk dyfpepvtvs wnsgaltsgv htfpavlqss
 61 glyslssvvt vpssslgtkt ytcnvdhkps ntkvdkrves kygppcpscp apeflggpsv
121 flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvsqed pevqfnwyvd gvevhnaktk preeqfnsty
181 rvvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkglps siektiskak gqprepqvyt lppsqeemtk
241 nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds dgsfflysrl tvdksrwqeg
301 nvfscsvmhe alhnhytqks lslslgk
```

Fig. 5A

Người hiện đại (SEQ ID NO:65)

Ngân hàng gen NP_001229687

HLA-A

Axit amin 25-365

```
  1 mavmaprtll lllsgalalt qtwagshsmr yfftsvsrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf
 61 dsdaasqkme prapwieqeg peywdqetrn mkahsqtdra nlgtlrgyyn qsedgshtiq
121 imygcdvgpd grflrgyrqd aydgkdyial nedlrswtaa dmaaqitkrk weavhaaeqr
181 rvylegrcvd glrrylengk etlqrtdppk thmthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdgtfqkwaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwel
301 ssqptipivg iiaglvllga vitgavvaav mwrrkssdrk ggsytqaass dsaqgsdvsl
361 tackv
```

Fig. 5B

Người hiện đại

Ngân hàng gen NP_005505 (SEQ ID NO:66)

HLA-B

Axit amin 25-362

```
  1 mlvmaprtvl lllsaalalt etwagshsmr yfytsvsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
 61 dsdaaspree prapwieqeg peywdrntqi ykaqaqtdre slrnlrgyyn qseagshtlq
121 smygcdvgpd grllrghdqy aydgkdyial nedlrswtaa dtaaqitqrk weaareaeqr
181 raylegecve wlrrylengk dkleradppk thvthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdrtfqkwaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwep
301 ssqstvpivg ivaglavlav vvigavvaav mcrrkssggk ggsysqaacs dsaqgsdvsl
361 ta
```

Fig. 5C

Người hiện đại

Ngân hàng gen NP_001229971 (SEQ ID NO:67)

HLA-C

Axit amin 25-366

```
  1 mrvmaprall lllsgglalt etwacshsmr yfdtavsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
 61 dsdaasprge prapwveqeg peywdretqn ykrqaqadrv slrnlrgyyn qsedgshtlq
121 rmygcdlgpd grllrgydqs aydgkdyial nedlrswtaa dtaaqitqrk leaaraaeql
181 raylegtcve wlrrylengk etlqraeppk thvthhplsd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdgtfqkwaa vvvpsgqeqr ytchmqhegl qepltlswep
301 ssqptipimg ivaglavlvv lavlgavvta mmcrrkssgg kggscsqaac snsaqgsdes
361 litcka
```

FIG. 6

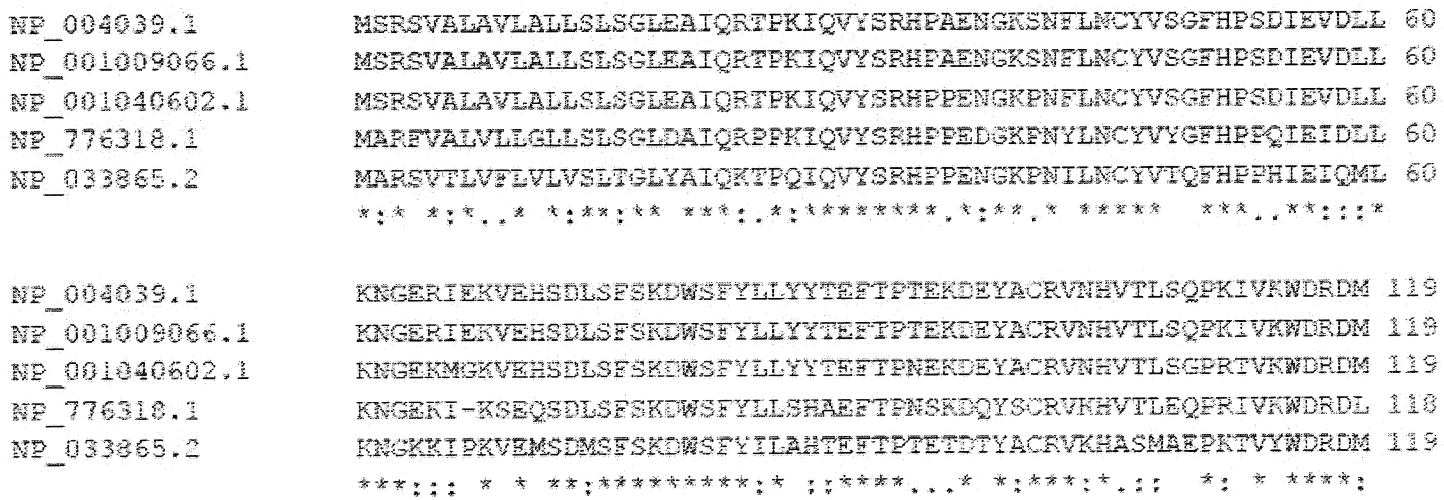

NP_004039.1 MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_001009066.1 MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_001040602.1 MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPPENGKPNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_776318.1 MARFVALVLLGLLSLSGLDAIQRPPKIQVYSRHPPEDGKPNYLNCYVYGFHPPQIEIDLL 60
NP_033865.2 MARSVTLVFLVLVSLTGLYAIQKTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCYVTQFHPPHIEIQML 60
NP_004039.1 KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM 119
NP_001009066.1 KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM 119
NP_001040602.1 KNGEKMGKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPNEKDEYACRVNHVTLSGPRTVKWDRDM 119
NP_776318.1 KNGEKI-KSEQSDLSFSKDWSFYLLSHAEFTPNSKDQYSCRVKHVTLEQPRIVKWDRDL 118
NP_033865.2 KNGKKIPKVEMSDMSFSKDWSFYILAHTEFTPTETDTYACRVKHASMAEPKTVYWDRDM 119

FIG. 7A

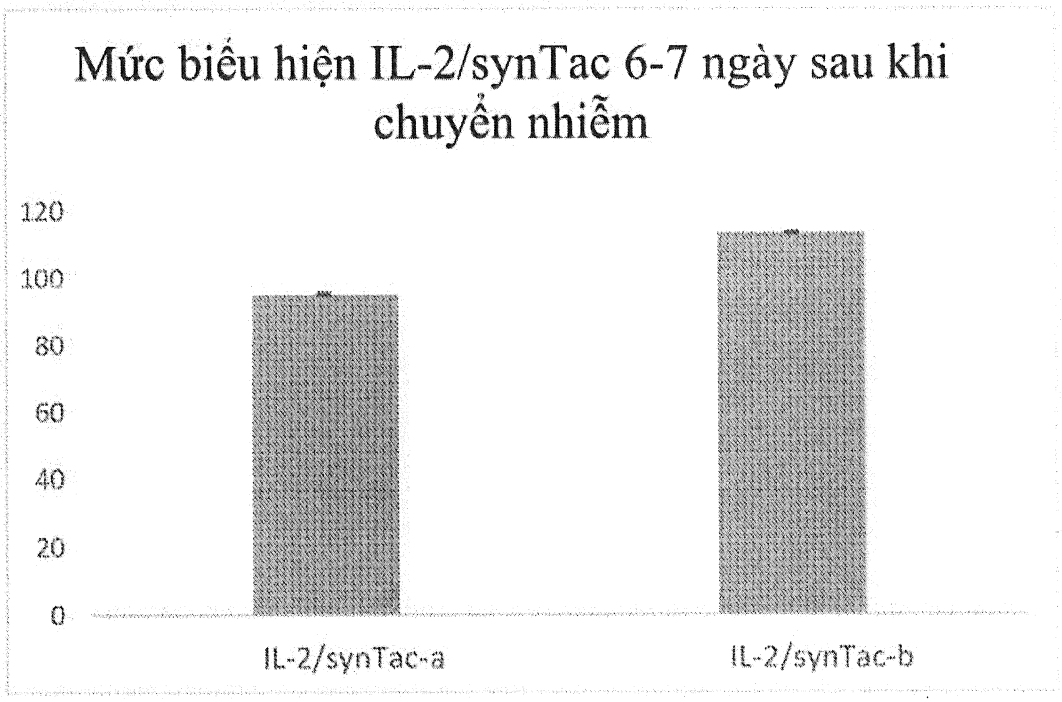

Mức biểu hiện IL-2/synTac 6-7 ngày sau khi chuyển nhiễm
120
100
80
60
40
20
0
IL-2/synTac-a
IL-2/synTac-b

FIG. 7B

Sản phẩm đã tinh chế

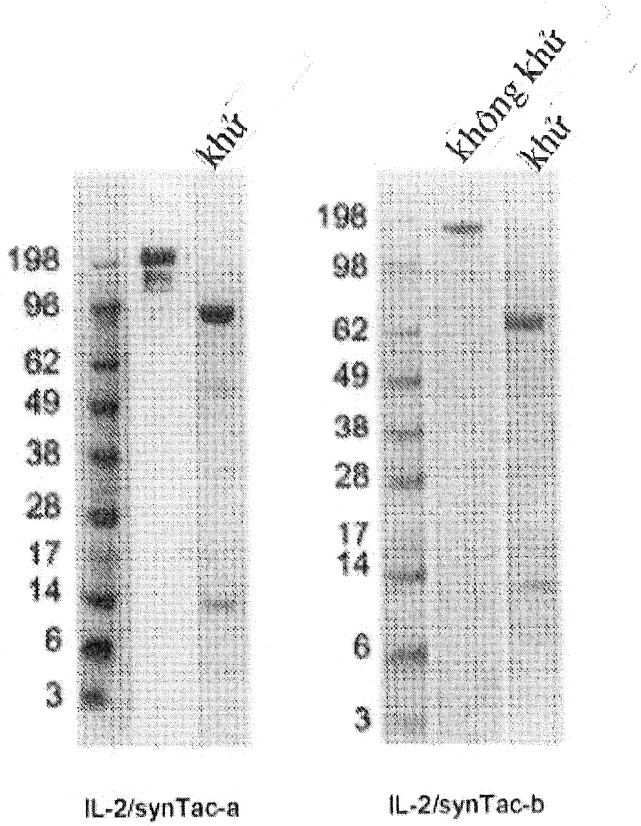


FIG. 8A

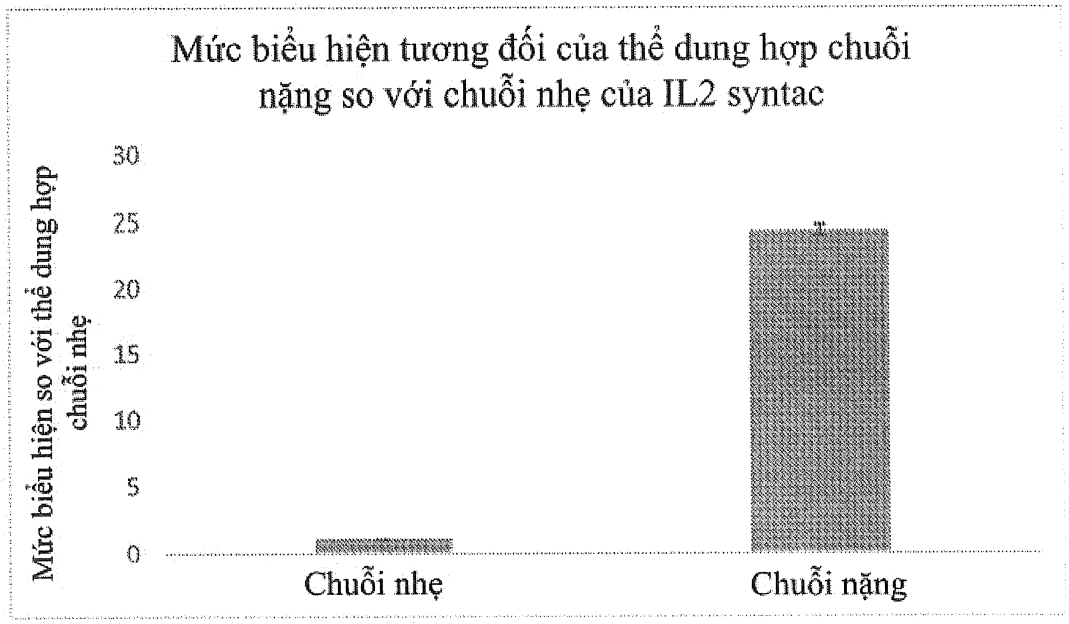
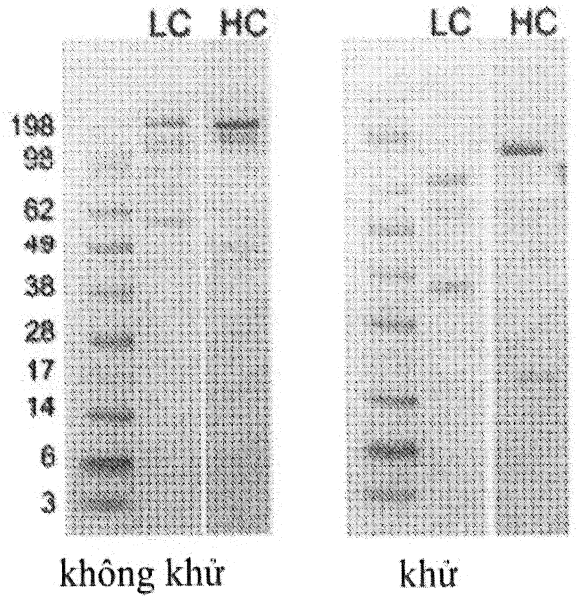

Mức biểu hiện tương đối của thể dung hợp chuỗi nặng so với chuỗi nhẹ của IL2 syntac
Mức biểu hiện so với thể dung hợp chuỗi nhẹ
30
25
20
15
10
5
0
Chuỗi nhẹ
Chuỗi nặng

FIG. 8B

Độ ổn định tăng với thể dung hợp chuỗi nặng



Gel phân tích nhuộm Coomassie

FIG. 9

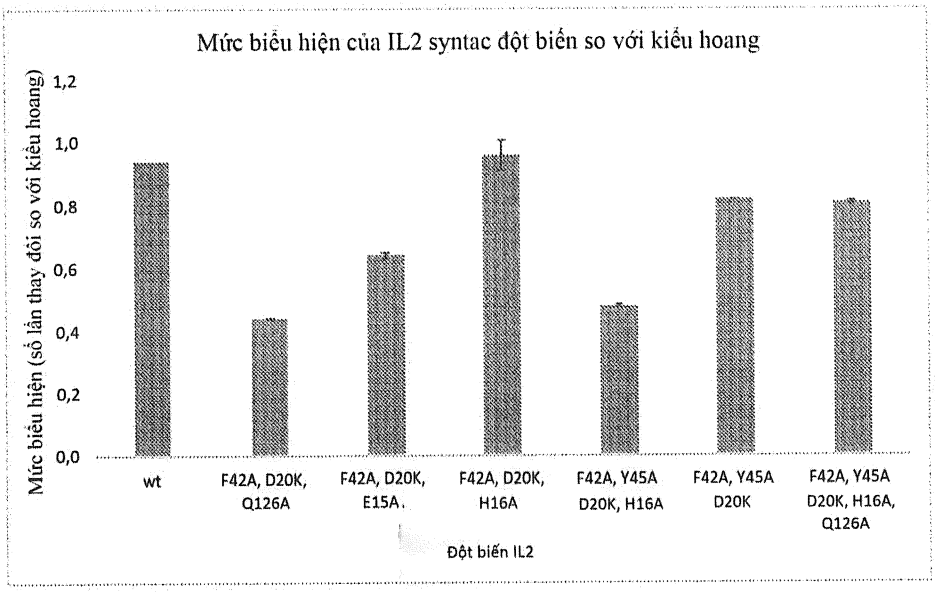

Mức biểu hiện của IL2 syntac đột biến so với kiểu hoang
Mức biểu hiện (số lần thay đổi so với kiểu hoang)
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
wt
F42A, D20K, Q126A
F42A, D20K, E15A
F42A, D20K, H16A
F42A, Y45A D20K, H16A
F42A, Y45A D20K
F42A, Y45A D20K, H16A, Q126A
Đột biến IL2

FIG. 10

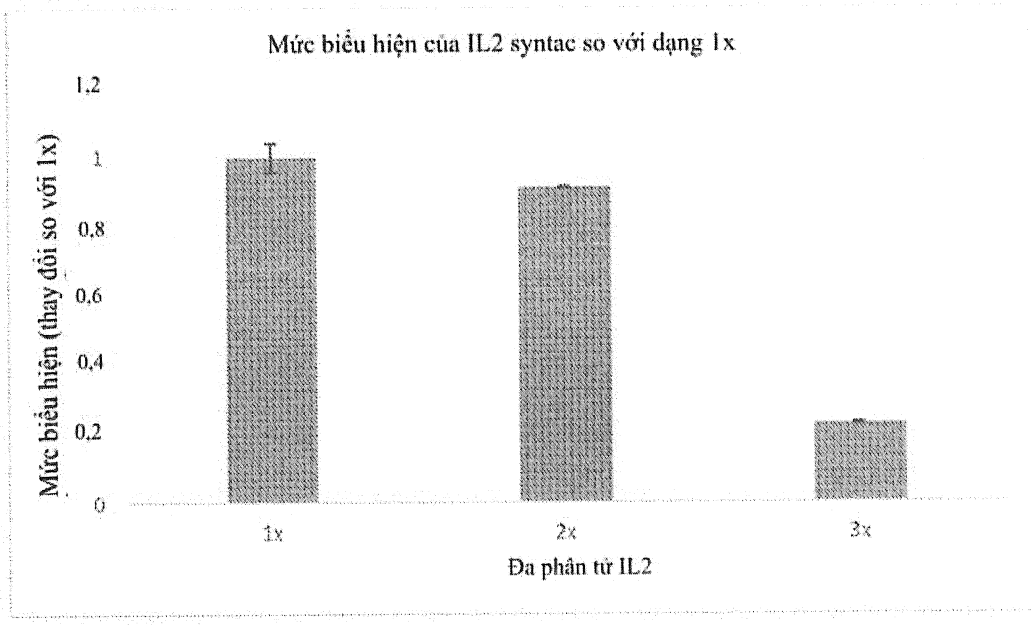

Mức biểu hiện của IL2 syntac so với dạng 1x
Mức biểu hiện (thay đổi so với 1x)
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
1x
2x
3x
Đa phân tử IL2

FIG. 11

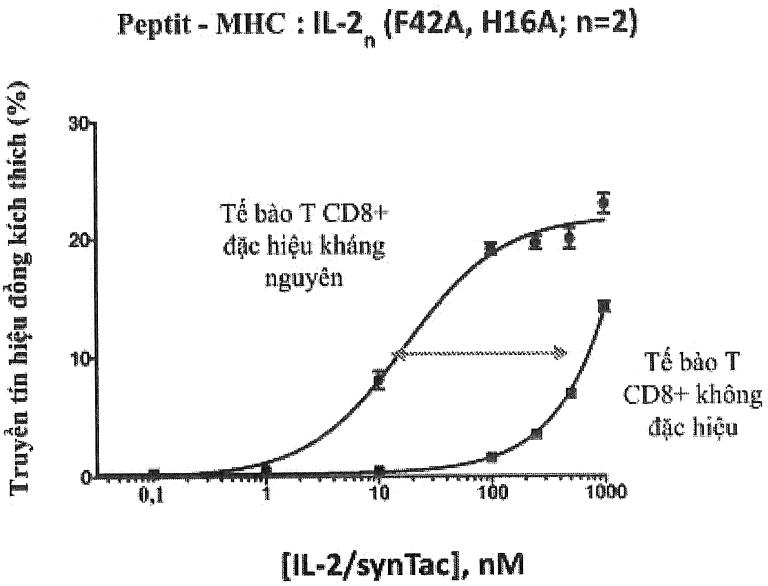

Peptit - MHC : IL-2n (F42A, H16A; n=2)
Truyền tín hiệu đồng kích thích (%)
30
20
10
0
0,1
1
10
100
1000
Tế bào T CD8+ đặc hiệu kháng nguyên
Tế bào T CD8+ không đặc hiệu
[IL-2/synTac], nM

FIG. 12

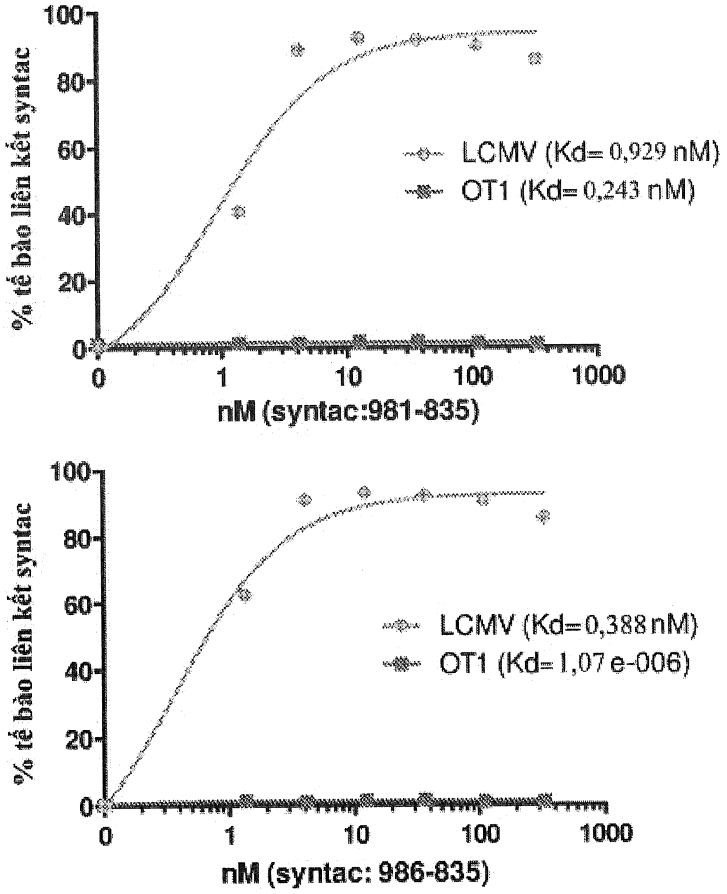

% tế bào liên kết syntac
100
80
60
40
20
0
0
1
10
100
1000
nM (syntac:981-835)
LCMV (Kd= 0,929 nM)
OT1 (Kd= 0,243 nM)
% tế bào liên kết syntac
100
80
60
40
20
0
0
1
10
100
1000
nM (syntac: 986-835)
LCMV (Kd= 0,388 nM)
OT1 (Kd= 1,07 e-006)

FIG. 13

Số lượng đoạn lặp IL-2 so với các đột biến

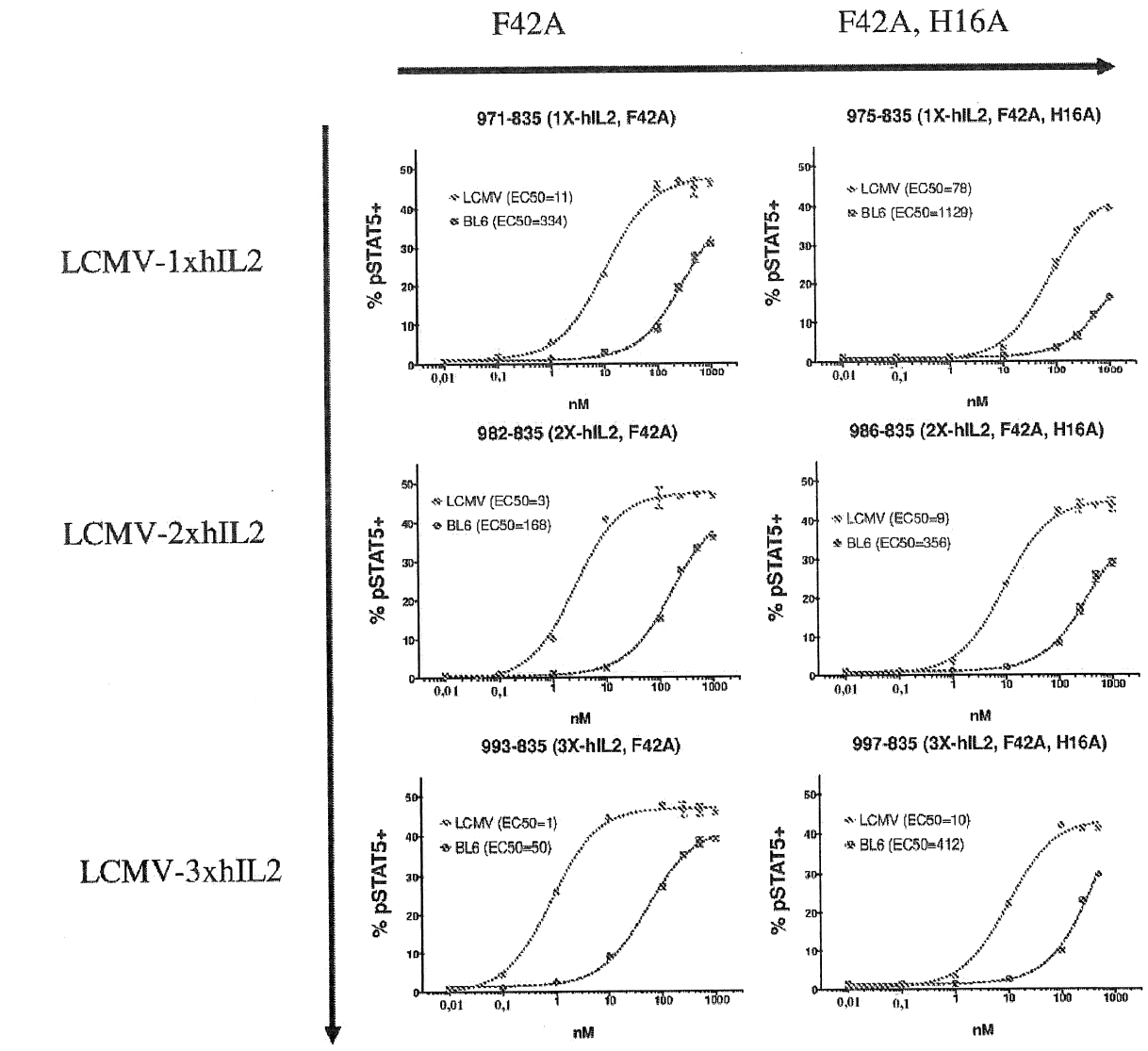
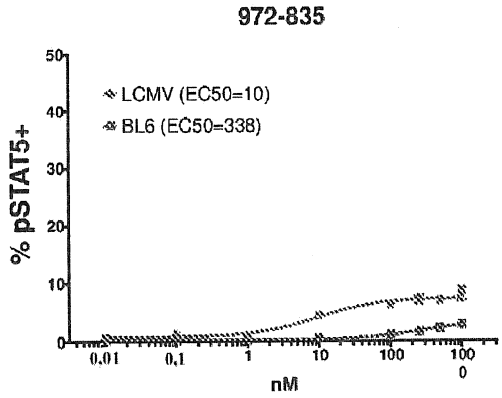


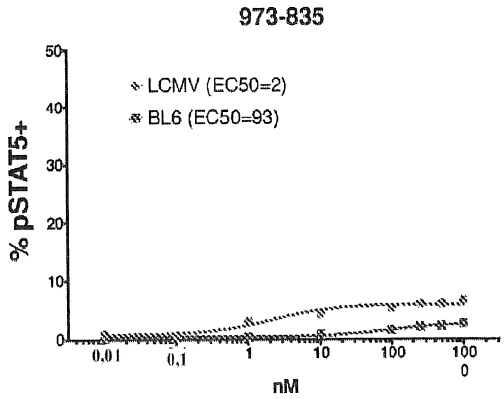
FIG. 14A

Một bản sao của IL-2

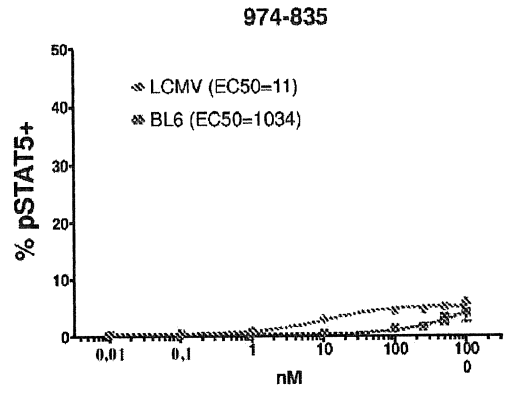
Đột biến: F42A, D20K



Đột biến: F42A, D20K, Q126A



Đột biến: F42A, D20K, E15A



Đột biến: F42A, D20K, H16A

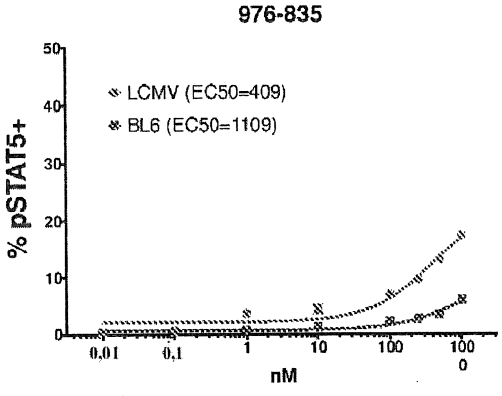
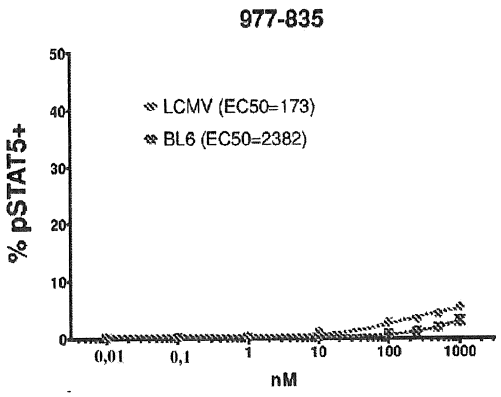


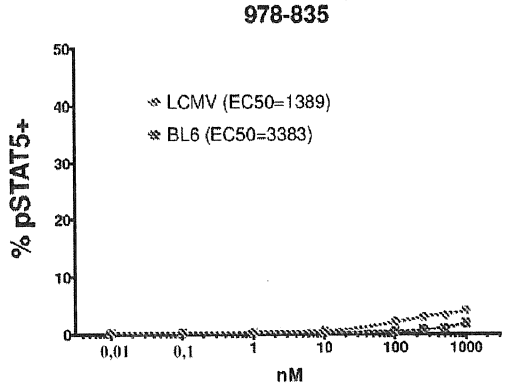
FIG. 14B

Một bản sao của IL-2

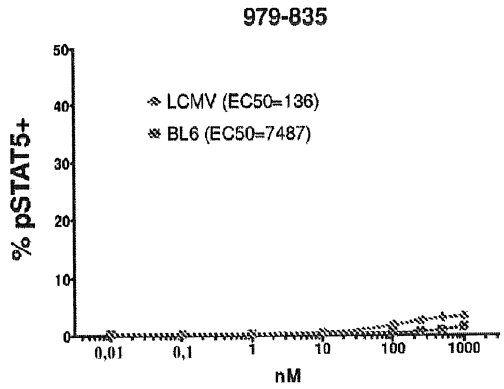
Đột biến: F42A, Y45A, D20K, H16A



Đột biến: F42A, Y45A, D20K



Đột biến: F42A, Y45A, D20K, H16A, Q126A



Đột biến: F42A, Y45A, D20K, Q126A

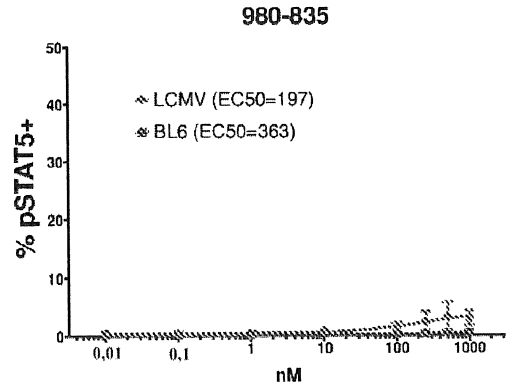
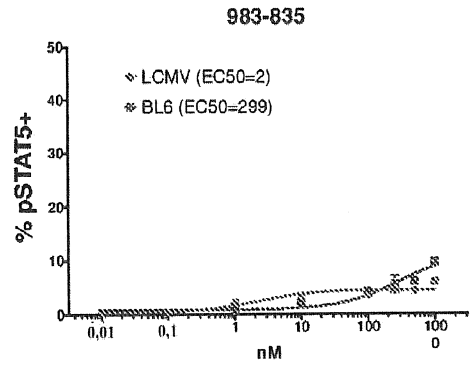


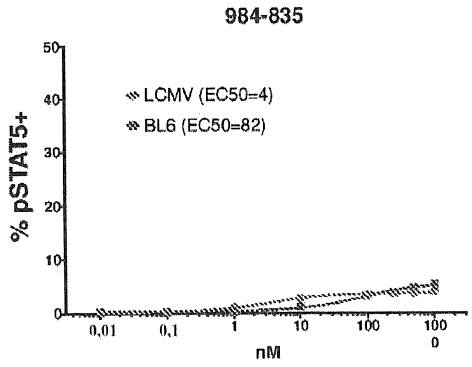
FIG. 14C

Hai bản sao của IL-2

Đột biến: F42A, D20K



Đột biến: F42A, D20K, Q126A



Đột biến: F42A, D20K, H16A

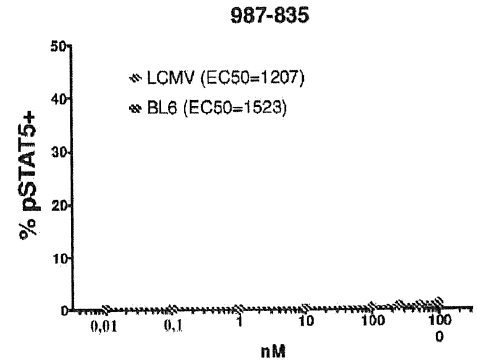
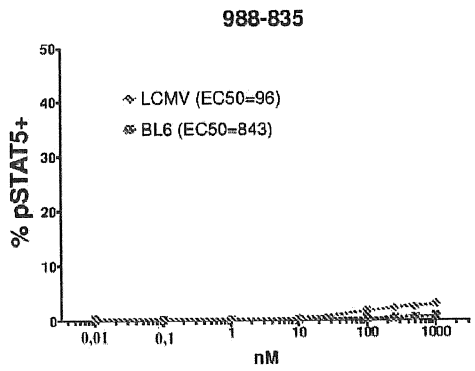


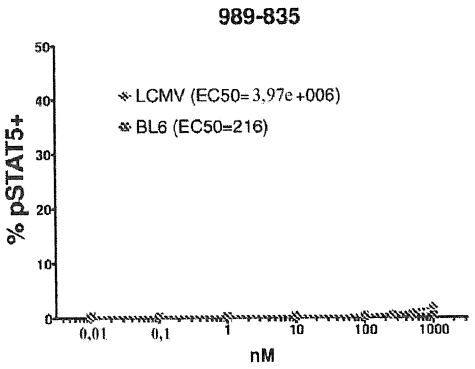
FIG. 14D

Hai bản sao của IL-2

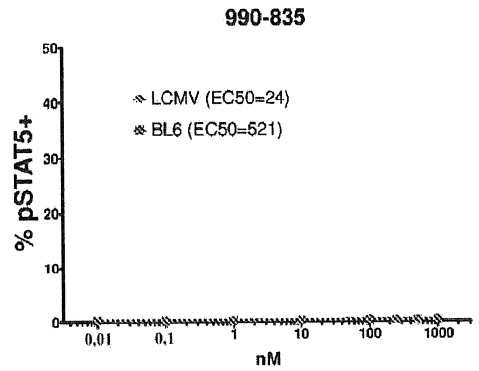
Đột biến: F42A, Y45A, D20K, H16A



Đột biến: F42A, Y45A, D20K



Đột biến: F42A, Y45A, D20K, H16A, Q126A



Đột biến: F42A, Y45A, D20K, Q126A

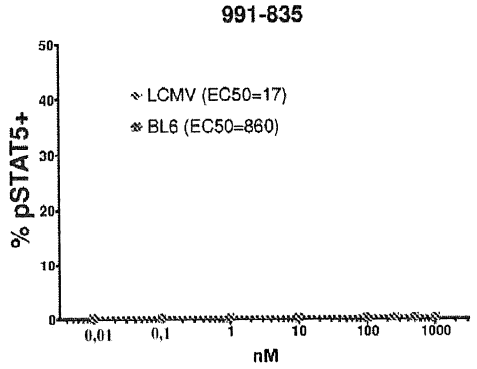
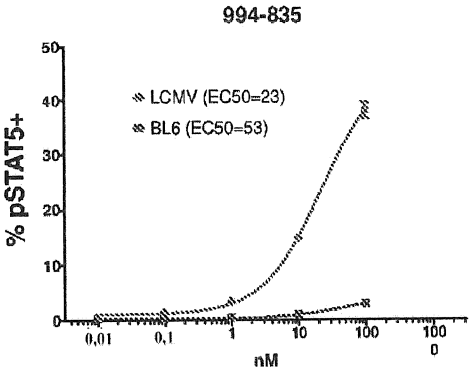


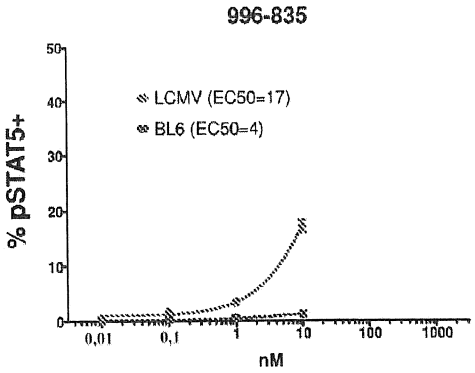
FIG. 14E

Ba bản sao của IL-2

Đột biến: F42A, D20K



Đột biến: F42A, D20K, E15A



Đột biến: F42A, D20K, H16A

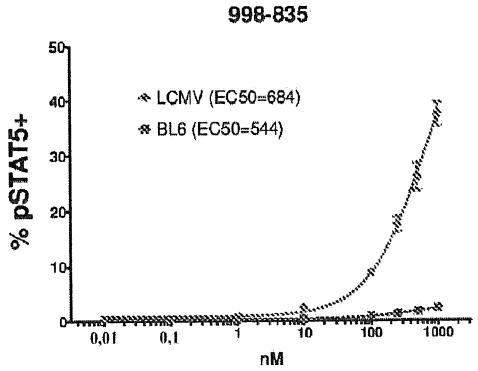
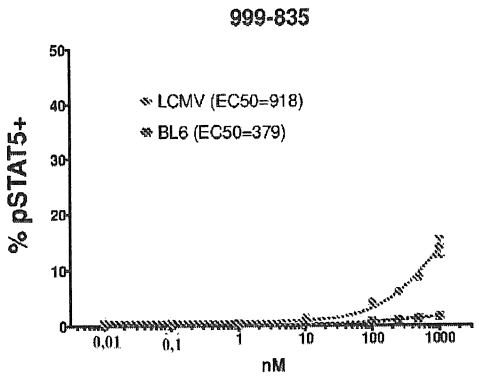


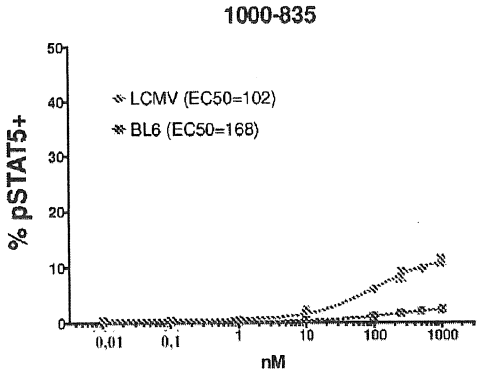
FIG. 14F

Ba bản sao của IL-2

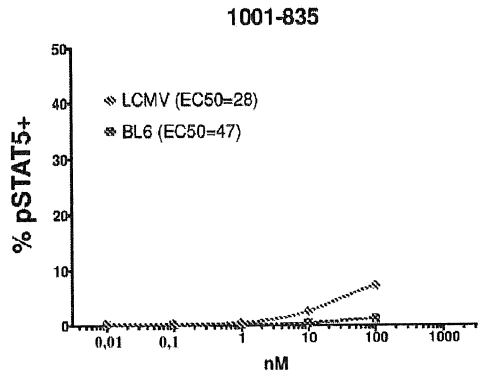
Đột biến: F42A, Y45A, D20K, H16A



Đột biến: F42A, Y45A, D20K



Đột biến: F42A, Y45A, D20K, H16A, Q126A



Đột biến: F42A, Y45A, D20K, Q126A

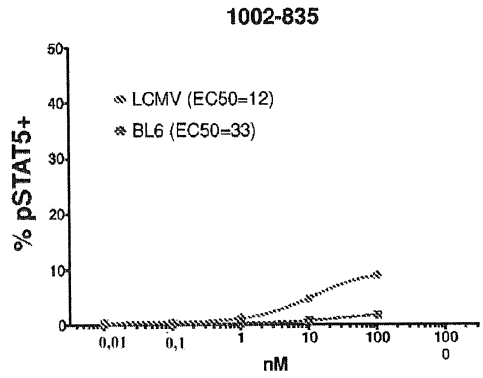


FIG. 15

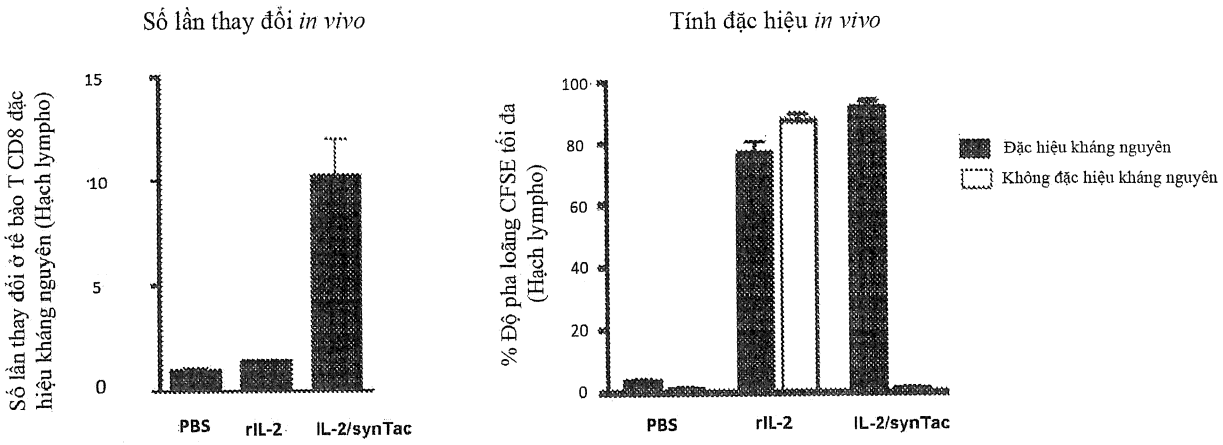

Số lần thay đổi *in vivo*
Số lần thay đổi ở tế bào T CD8 đặc hiệu kháng nguyên (Hạch lympho)
15
10
5
0
PBS
rIL-2
IL-2/synTac
Tính đặc hiệu *in vivo*
% Độ pha loãng CFSE tối đa (Hạch lympho)
100
80
60
40
20
0
PBS
rIL-2
IL-2/synTac
Đặc hiệu kháng nguyên
Không đặc hiệu kháng nguyên

FIG. 16A

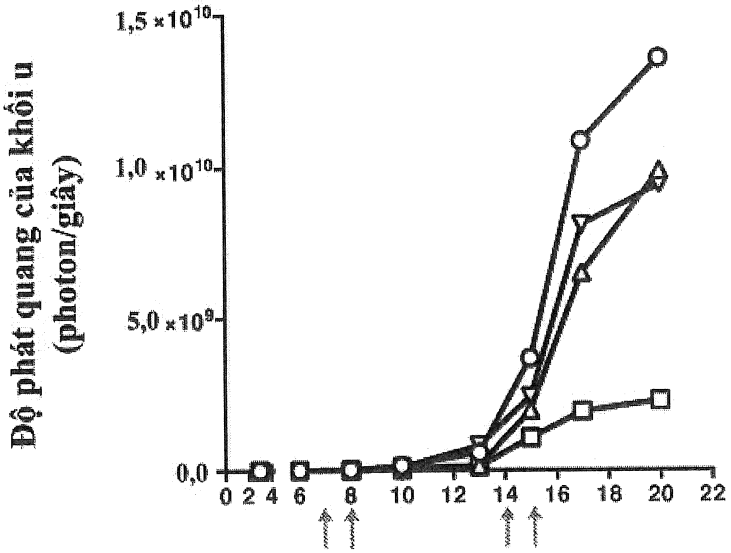

Độ phát quang của khối u
(photon/giây)
1,5 ×10^10
1,0 ×10^10
5,0 ×10^9
0,0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22
Số ngày sau khi ghép (được sử dụng Rx ở mũi tên đỏ)
PBS với 250 mM NaCl
986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 4mg/kg
986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 8mg/kg
986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 16mg/kg

FIG. 16B

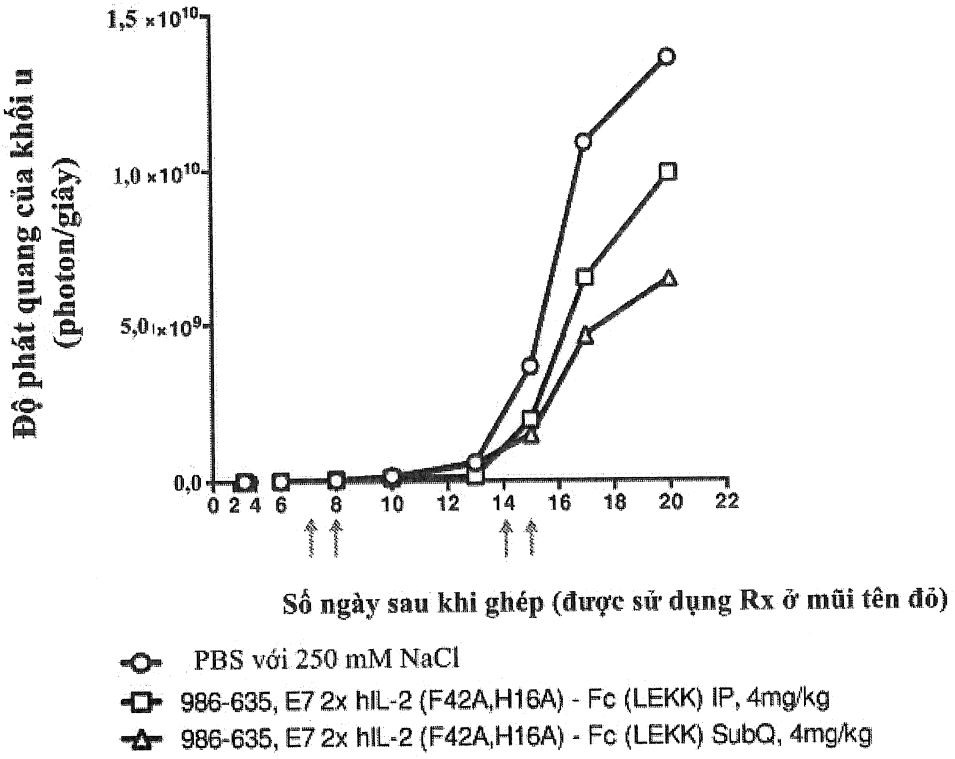

Độ phát quang của khối u (photon/giây)
1,5 ×10^10
1,0 ×10^10
5,0 ×10^9
0,0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22
Số ngày sau khi ghép (được sử dụng Rx ở mũi tên đỏ)
PBS với 250 mM NaCl
986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 4mg/kg
986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) SubQ, 4mg/kg

FIG. 17A

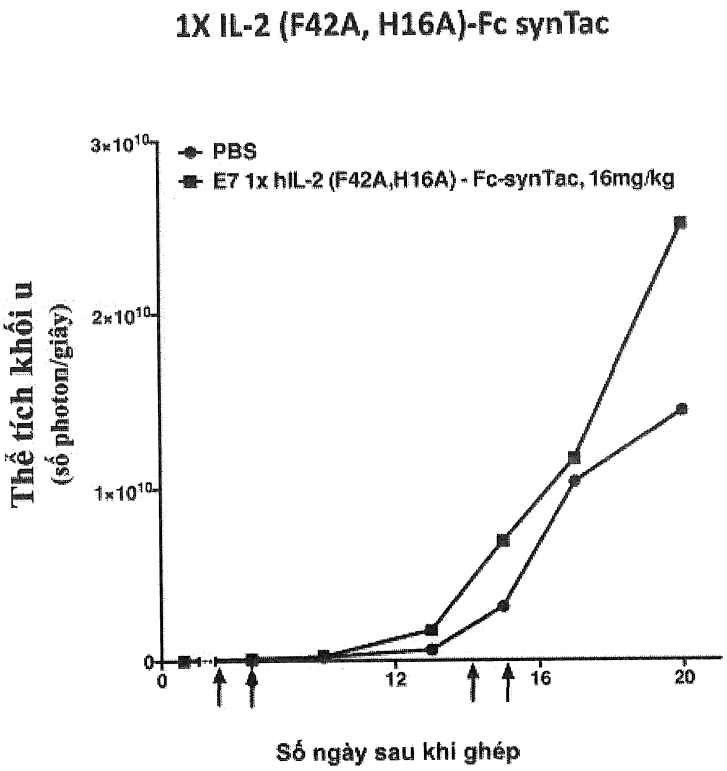

1X IL-2 (F42A, H16A)-Fc synTac
PBS
E7 1x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc-synTac, 16mg/kg
Thể tích khối u
(số photon/giây)
3×10^10
2×10^10
1×10^10
0
0
12
16
20
Số ngày sau khi ghép

FIG. 17B

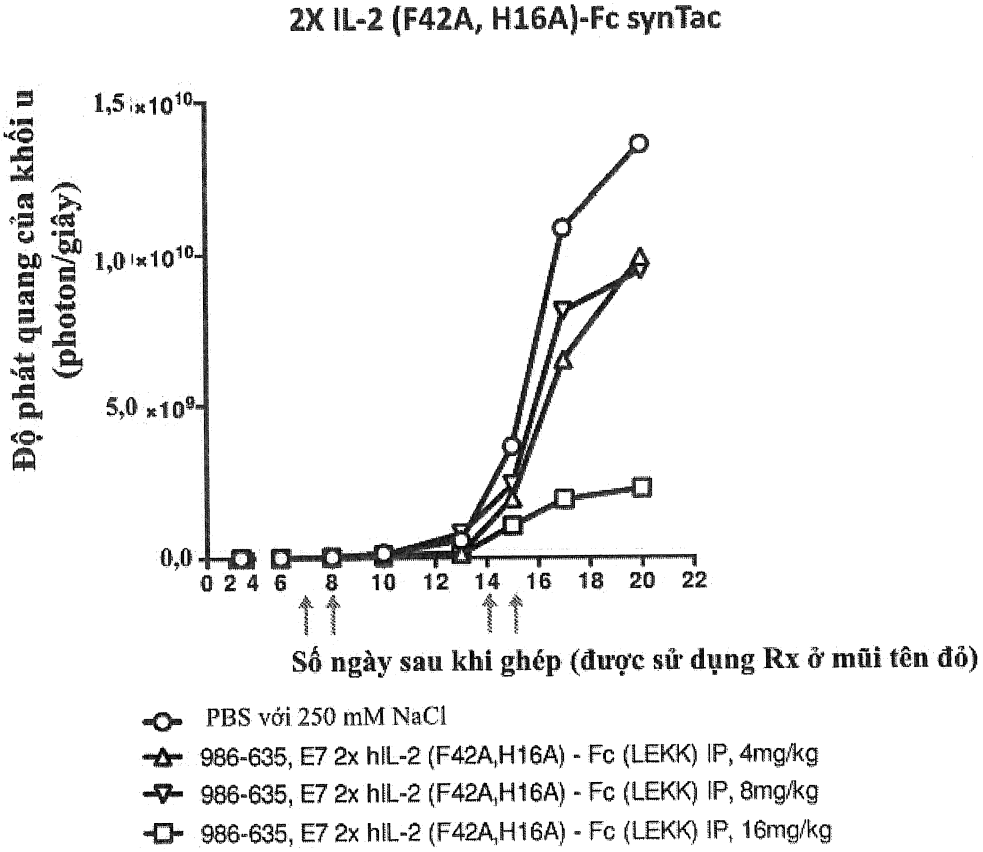

2X IL-2 (F42A, H16A)-Fc synTac
Độ phát quang của khối u (photon/giây)
1,5 ×10^10
1,0 ×10^10
5,0 ×10^9
0,0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22
Số ngày sau khi ghép (được sử dụng Rx ở mũi tên đỏ)
PBS với 250 mM NaCl
986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 4mg/kg
986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 8mg/kg
986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 16mg/kg

FIG. 18

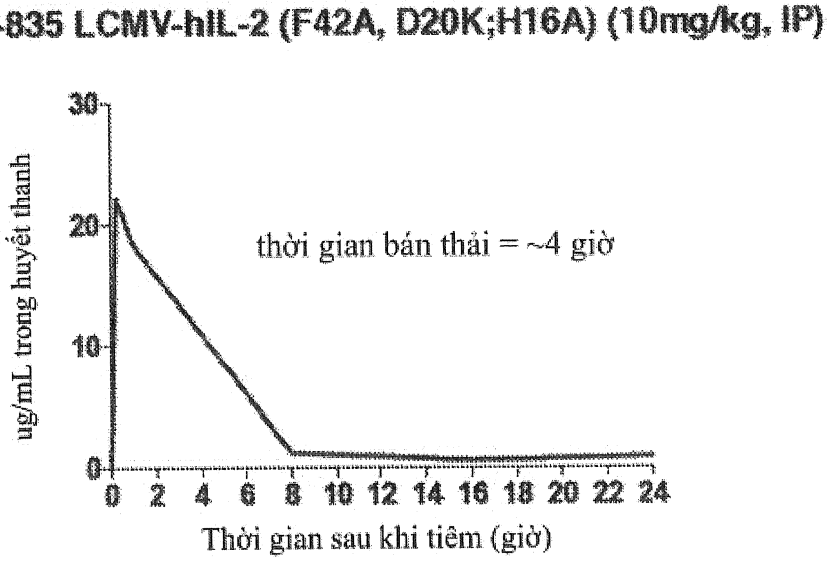
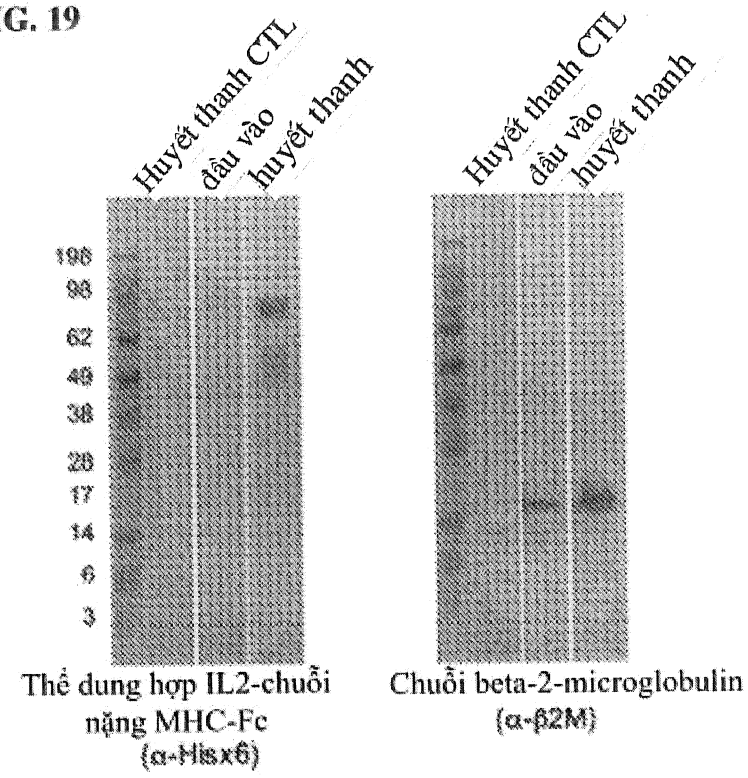

976-835 LCMV-hIL-2 (F42A, D20K;H16A) (10mg/kg, IP)
ug/mL trong huyết thanh
30
20
10
0
thời gian bán thải = ~4 giờ
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
Thời gian sau khi tiêm (giờ)

FIG. 19



Phân tích thấm tách Tây

FIG. 20

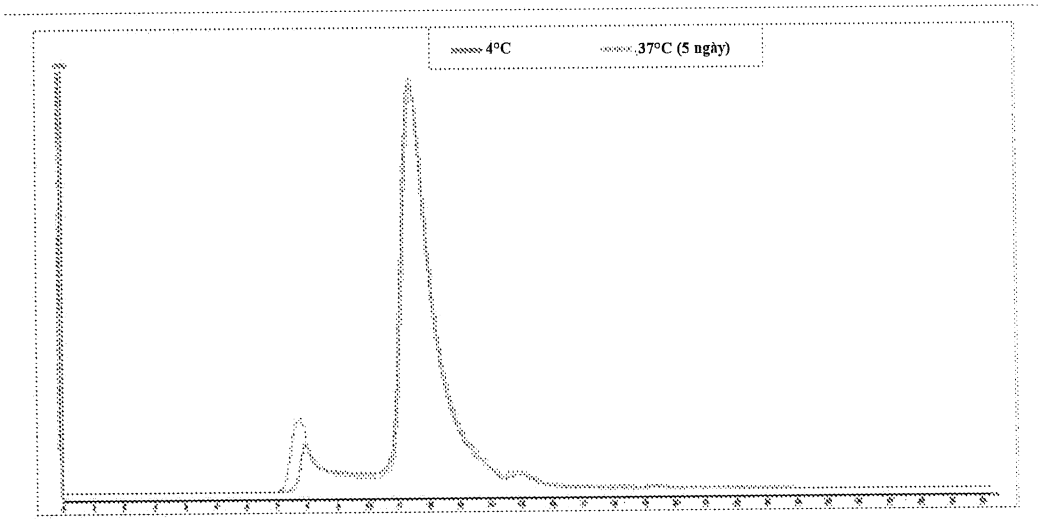


FIG. 21

CUE101-N297A có peptit dẫn đầu (SEQ ID NO:68)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS*APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFV
RFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHT
VQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự dẫn đầu IL2 người - in nghiêng

IL-2 (H16A/F42A) - in đậm (với H16 và F42 được gạch chân)

Cầu nối (G4S)4 **- được gạch chân một lần**

Chuỗi H MHC Y84A; A236C– gạch chân hai lần (với Y84A và A236C in đậm)

Cầu nối AAAGG - gạch chân một lần

IgG1 Fc người ; N297A – (in đậm và gạch chân, với N297A không được in đậm)

FIG. 22

CUE101-N297A không có peptit dẫn đầu (SEQ ID NO: 69)

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFV
RFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHT
VQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGG DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IL-2 (H16A/F42A) – in đậm (với H16 và F42 được gạch chân)

Cầu nối (G4S)4 **- được gạch chân một lần**

Chuỗi H MHC Y84A; A236C– gạch chân hai lần (với Y84A và A236C in đậm)

Cầu nối AAAGG - gạch chân một lần

IgG1 Fc người ; N297A – (in đậm và gạch chân, với N297A không được in đậm)

FIG. 23A

CUE101-N297A (SEQ ID NO:70)

1360:

*ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGT*GCACCTACTTC
AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACTGGAGGCATTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATG
GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACTCACCAGGATGCTCACAGCAAAGTTTTACATGCCCAAGAAG
GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
AGCTCAAAGCAAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTC
TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
CAGCTACAACTGGAGGCATTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
CCCAAACTCACCAGGATGCTCACAGCAAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACTTTCA
CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACTAAAGGGATCTGAAACAA
CATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCG
GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTCGACAGCGACGCCG
CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGA
GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCGCCTACA
ACCAGAGCGAGGCCGGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCGGACTGGCGC
TTCCTCCGCGGGTACCACCAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
CTTGGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAG
CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCCAAAACGCATATGACTCACCACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACC
CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTTGCGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG
CTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
CCCTCACCCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCA
CCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCAAGCAC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG
CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
TACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATAGTGA

FIG. 23B

Trình tự dẫn đầu IL2 người - in nghiêng

IL2 người ; H16A=GCA; F42A=GCA - in đậm (với GCA được gạch chân)

Cầu nối (G4S)4 - được gạch chân một lần

A0201 người ; Y84A=**GCC**; A236C=**TGC**

Cầu nối AAAGG - gạch chân một lần

IgG1 Fc người ; N297A= GCA; AGG đến **AGA** (vẫn R) và AGC đến **TCC** (vẫn S) - (in đậm và gạch chân, với GCA được in nghiêng)

Codon dừng (TAGTGA)

FIG. 24

CUE101-LALA có peptit dẫn đầu (SEQ ID NO:71)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS*APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFV
RFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHT
VQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Peptit dẫn đầu - in nghiêng

IL-2 (H16A/F42A) – in đậm (với H16 và F42 được gạch chân)

Cầu nối (G4S)4 - **gạch chân một lần**

chuỗi H MHC Y84A; A236C– gạch chân hai lần (với Y84A và A236C in đậm)

Cầu nối AAAGG - gạch chân một lần

IgG1 Fc người ; L234A; L235A – (in đậm và gạch chân, với L234A và L235A không in đậm)

FIG. 25

CUE101-LALA không có peptit dẫn đầu (SEQ ID NO:72)

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFV
RFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHT
VQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IL-2 (H16A/F42A) – in đậm (với H16 và F42 được gạch chân)

Cầu nối (G4S)4 **- gạch chân một lần**

chuỗi H MHC Y84A; A236C– gạch chân hai lần (với Y84A và A236C in đậm)

cầu nối AAAGG - gạch chân một lần

IgG1 Fc người ; L234A; L235A – (in đậm và gạch chân, với L234A và L235A không in đậm)

FIG. 26A (SEQ ID NO:73)
CUE101-LALA: trình tự nucleotit mã hóa CUE101-LALA với trình tự dẫn đầu

*ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGT*GCACCTACTTC
AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACTGGAGGCATTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATG
GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACTCACCAGGATGCTCACAGCAAAGTTTTACATGCCCAAGAAG
GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
AGCTCAAAGCAAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTC
TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
CAGCTACAACTGGAGGCATTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
CCCAAACTCACCAGGATGCTCACAGCAAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACTTTCA
CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACTAAAGGGATCTGAAACAA
CATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCG
GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTCGACAGCGACGCCG
CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGA
GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCGCCTACA
ACCAGAGCGAGGCCGGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCGGACTGGCGC
TTCCTCCGCGGGTACCACCAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
CTTGGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAG
CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCCAAAACGCATATGACTCACCACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACC
CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTTGCGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG
CTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
CCCTCACCCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCA
CCTGAAGCCGCCGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG
CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
TACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATAGTGA

FIG. 26B

Trình tự dẫn đầu IL2 người - in nghiêng

IL2 người ; H16A=GCA; F42A=GCA - in đậm (với GCA được gạch chân)

Cầu nối (G4S)4 - gạch chân một lần

A0201 ,0202 người ; Y84A=**GCC**; A236C=**TGC** – gạch chân hai lần (với GCC và TGC in đậm)

cầu nối AAAGG - gạch chân một lần

IgG1 Fc người ; L234A, L235A = GCCGCC

N297= AAC; AGG đến **AGA** (vẫn R) và AGC đến **TCC** (vẫn S) - (in đậm và gạch chân)

với GCCGCC được in nghiêng)

Codon dừng (TAGTGA)

FIG. 27 (SEQ ID NO:74)

CUE101-TM có peptit dẫn đầu

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS*APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFV
RFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHT
VQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGGDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Peptit dẫn đầu - in nghiêng

IL-2 (H16A/F42A) - in đậm (với H16 và F42 được gạch chân)

Cầu nối (G4S)4 - **gạch chân một lần**

chuỗi H MHC Y84A; A236C - gạch chân hai lần (với Y84A và A236C được in đậm)

cầu nối AAAGG - được gạch chân một lần

IgG1 Fc người ; L234F; L235E; P331S – (được in đậm và được gạch chân, với L234F, L235E, và P331S không được in đậm)

FIG. 28

CUE101-TM không có peptit dẫn đầu (SEQ ID NO:75)

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFV
RFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHT
VQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGG DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IL-2 (H16A/F42A) – in đậm (với H16 và F42 được gạch chân)
Cầu nối (G4S)4 - gạch chân một lần
chuỗi H MHC Y84A; A236C - gạch chân hai lần (với Y84A và A236C được in đậm)
cầu nối AAAGG - được gạch chân một lần
IgG1 Fc người; ; L234F; L235E; P331S – (được in đậm và được gạch chân, với L234F, L235E, và P331S không được in đậm)

FIG. 29A (SEQ ID NO:76)

CUE101-TM : trình tự nucleotit mã hóa CUE101-TM với trình tự dẫn đầu

*ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGT*GCACCTACTTC
AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACTGGAGGCATTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATG
GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACTCACCAGGATGCTCACAGCAAAGTTTTACATGCCCAAGAAG
GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
AGCTCAAAGCAAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTC
TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
CAGCTACAACTGGAGGCATTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
CCCAAACTCACCAGGATGCTCACAGCAAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACTTTCA
CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACTAAAGGGATCTGAAACAA
CATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCG
GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTCGACAGCGACGCCG
CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGA
GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCGCCTACA
ACCAGAGCGAGGCCGGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCGGACTGGCGC
TTCCTCCGCGGGTACCACCAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
CTTGGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAG
CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCCAAAACGCATATGACTCACCACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACC
CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTTGCGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG
CTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
CCCTCACCCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCA
CCTGAATTCGAGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG
CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
TACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATAGTGA

FIG. 29B

Trình tự dẫn đầu IL2 người- in nghiêng
IL2 người; H16A=GCA; F42A=GCA - in đậm (với GCA được gạch chân)
cầu nối (G4S)4 - gạch chân một lần
A0201 người ; Y84A=**GCC**; A236C=**TGC** - gạch chân hai lần (với GCC và TGC được in đậm)
Cầu nối AAAGG - gạch chân một lần
IgG1 Fc người ; L234F=TTC; L235E=GAG; P331S=AGC
N297= AAC; AGG đến **AGA** (vẫn R) và AGC đến **TCC** (vẫn S) - (in đậm và gạch chân, với TTC, GAG, AAC, và AGC được in nghiêng)
Codon dừng (TAGTGA)

FIG. 30

1274: (SEQ ID NO:77)

*MSRSVALAVLALLSLSGLEA*YMLDLQPETTGGGGSGGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSCHPA
ENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEK
DEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM

Trình tự dẫn đầu β2M người -- in nghiêng

E7(11-20) - in đậm và gạch chân

cầu nối (G4S)3 - gạch chân một lần

β2M; R12C người - gạch chân hai lần (R12C được in đậm)

FIG. 31

1274 không có peptit dẫn đầu (SEQ ID NO:78)

YMLDLQPETTGGGGSGGGGSGGGGSIQYMLDLQPETTGGGGSGGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSCH
FAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEY
ACRVNHVTLSQPKIVKWDRDMRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERI
EKVEHSDLSFSKLWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHYTLSQPKIVKWDRDM

E7(11-20) - in đậm và gạch chân (YMLDLQPETT; SEQ ID NO:13)

cầu nối (G4S)3 - gạch chân một lần (GGGGSGGGGSGGGGS ;SEQ ID NO:89)

β2M; R12C người - gạch chân hai lần

FIG. 32 (SEQ ID NO:79)

trình tự 1274 nucleotit mã hóa 1274 có peptit dẫn đầu

*ATGTCTCGCTCCGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCC*TACATGCTCGA
TTTGCAGCCCGAAACGACGGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGAGGCGGTTCGGGCGGAGGTGGTAGTATC
CAGCGTACTCCAAAGATTCAGGTTTACTCATGCCATCCAGCAGAGAATGGAAAGTCAAATTTCCTGAATT
GCTATGTGTCTGGGTTTCATCCATCCGACATTGAAGTTGACTTACTGAAGAATGGAGAGAGAATTGAAAA
AGTGGAGCATTCAGACTTGTCTTTCAGCAAGGACTGGTCTTTCTATCTCTTGTATTATACTGAATTCACCCC
CACTGAAAAAGATGAGTATGCCTGCCGTGTGAACCACGTGACTTTGTCACAGCCCAAGATAGTTAAGTG
GGATCGAGACATGTAGTGA

Trình tự dẫn đầu β2M người -- in nghiêng

E7(11-20) - in đậm và gạch chân

cầu nối (G4S)3 - gạch chân một lần

β2M; R12C=TGC -- người - gạch chân hai lần (TGC được in đậm)

Codon dừng TAGTGA

FIG. 33A

Trình tự Fc IgG1 người WT: (SEQ ID NO:80)

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

FIG. 33B

Đột biến Fc IgG1 người: L234F/L235E/P331S (Đột biến bộ ba "TM") (SEQ ID NO: 81) 1)

DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

FIG. 33C

Đột biến Fc IgG1 người: N297A (SEQ ID NO:82)

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

FIG. 33D

Đột biến Fc IgG1 người: L234A/L235A ("LALA") (SEQ ID NO:83)

DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Gốc được đánh số theo chỉ số EU (đánh số Kabat)

FIG. 34A
B2M R12C (SEQ ID NO:17)

IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLL
YYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM

FIG. 34B
IL-2 (H16A; F42A) (SEQ ID NO:84)

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKP
LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS
TLT

FIG. 34C
A0201 chuỗi H-MHC Lớp I (Y84A; A236C) (SEQ ID NO:19)

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR
KVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDL
RSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVS
DHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCH
VQHEGLPKPLTLRWE

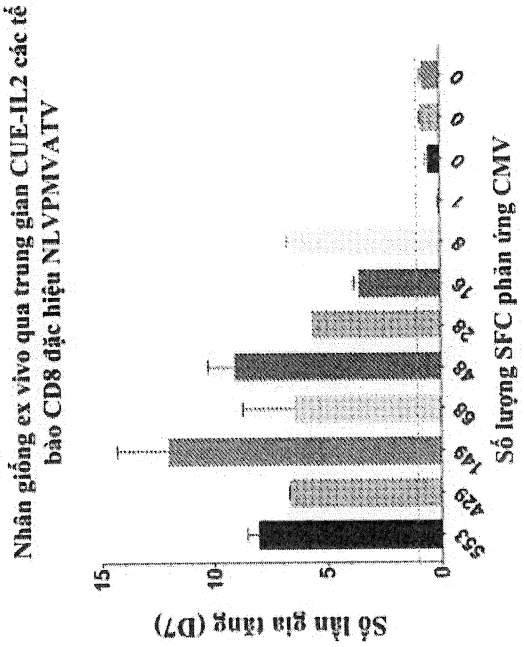

Nhân giống ex vivo qua trung gian CUE-IL2 các tế bào CD8 đặc hiệu NLVPMVATV
Số lần gia tăng (D7)
15
10
5
0
553
429
149
69
48
28
15
9
1
0
0
0
Số lượng SFC phản ứng CMV

FIG. 35

FIG. 36

Axit amin	Số Syntac	Mức biểu hiện (mg/L)	Liên kết với thụ thể bởi Octet (KD theo nM)			EC50 cho liên kết tế bào, nM		EC50 cho pSTAT5, nM		
			αβγ	βγ	β	LCMV	Black6	LCMV	Black6	B6/LCMV
H	982	77	14,9			0,25	>100	5,019	57,05	11
A	986	89	16,5			0,22	>100	20,09	543,8	27
R	1284	81	ND			0,29	>100	>1000	>1000	ND
N	1285	50	9,0			0,48	>100	35,19	1041	30
D	1286	31	12,3			0,28	>100	0,8365	15,71	25
C	1287	37	7,6			0,50	>100	59,98	1152	19
Q	1288	66	13,8			0,23	>100	21,64	530,1	24
E	1289	66	12,7			0,31	>100	3,899	117,2	30
G	1290									
I	1291	61	8,4			0,31	>100	>1000	>1000	ND
L	1292	50	12,5			0,36	>100	>1000	>1000	ND
K	1293	74	ND			0,27	>100	>1000	>1000	ND
M	1294	81	19,2			0,41	>100	34,88	674,5	19
F	1295	32	19,6			0,46	>100	4,864	69,1	14
P	1296	2								
S	1297	77	21,2			0,28	>100	14,42	113,4	8
T	1298	123	29,5			0,31	>100	29,66	>1000	>34
W	1299	24	18,6			0,59	>100	70,95	>1000	>14
Y	1300	31	29,4			0,49	>100	16,82	188	11
V	1301	87	7,8			0,28	>100	230,4	>1000	>4

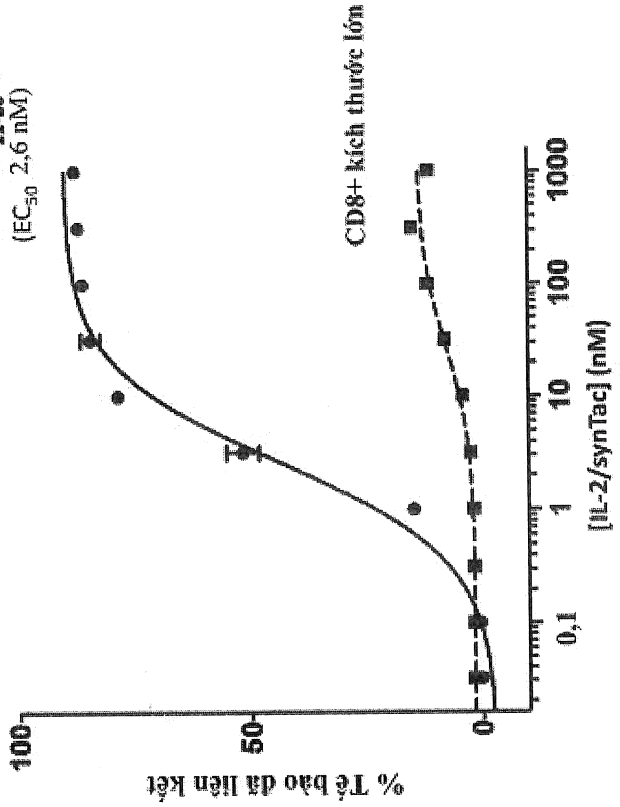
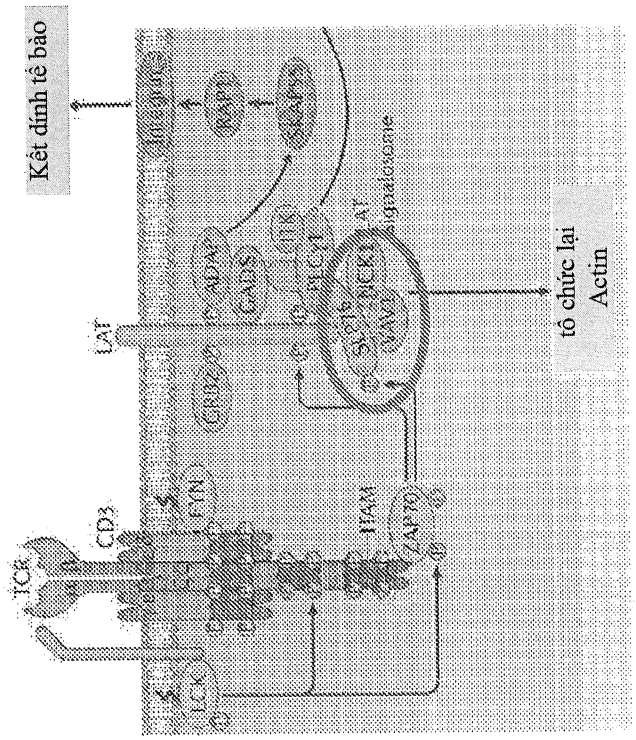
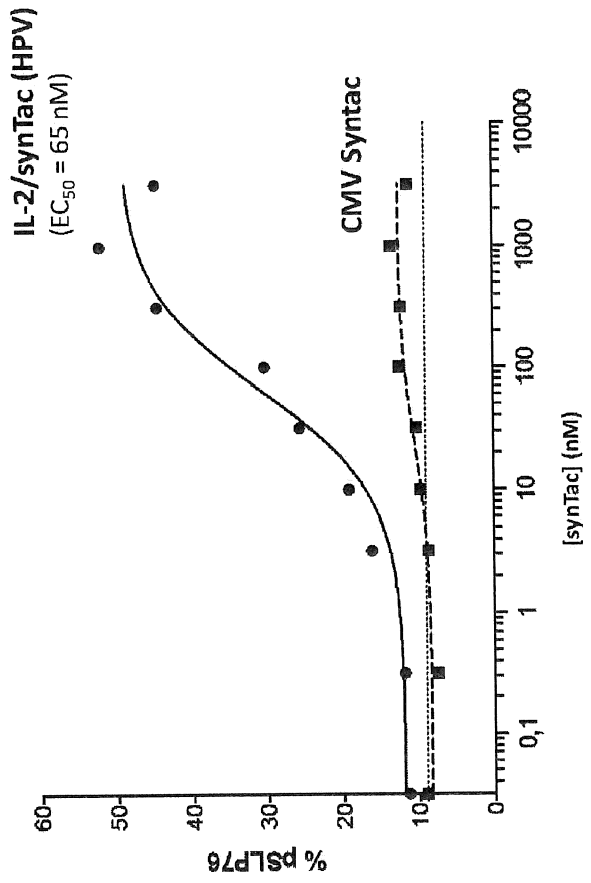

HPV E7 11-20 CD8+
(EC50 2,6 nM)
CD8+ kích thước lớn
% Tế bào đã liên kết
100
50
0
0,1
1
10
100
1000
[IL-2/synTac] (nM)

FIG. 37

FIG. 38


Kết dính tế bào
integrins
RAP1
GRAP2
LAT
ADAP
GADS
ITK
PLCγ1
SLP76
VAV1
NCK1
PKCθ
Signalosome
tổ chức lại
Actin
TCR
CD3
FYN
ITAM
ZAP70
LCK


IL-2/synTac (HPV)
(EC50 = 65 nM)
CMV Syntac
% pSLP76
[synTac] (nM)
0
10
20
30
40
50
60
0,1
1
10
100
1000
10000

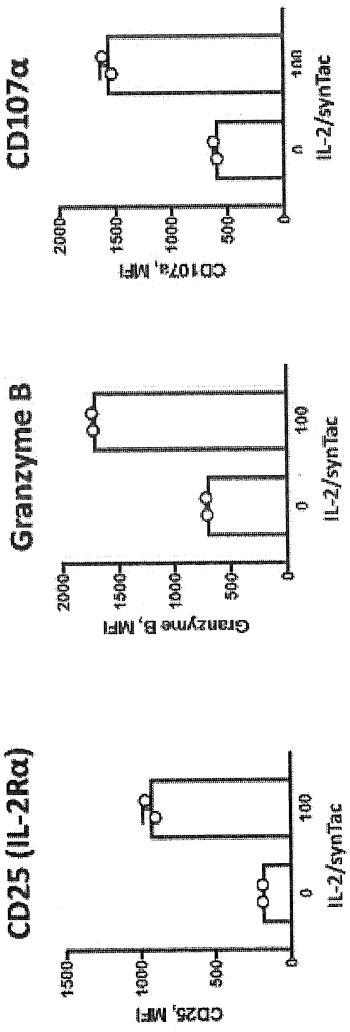

CD107α
CD107a, MFI
2000
1500
1000
500
0
0
100
IL-2/synTac
Granzyme B
Granzyme B, MFI
2000
1500
1000
500
0
0
100
IL-2/synTac
CD25 (IL-2Rα)
CD25, MFI
1500
1000
500
0
0
100
IL-2/synTac

FIG. 39

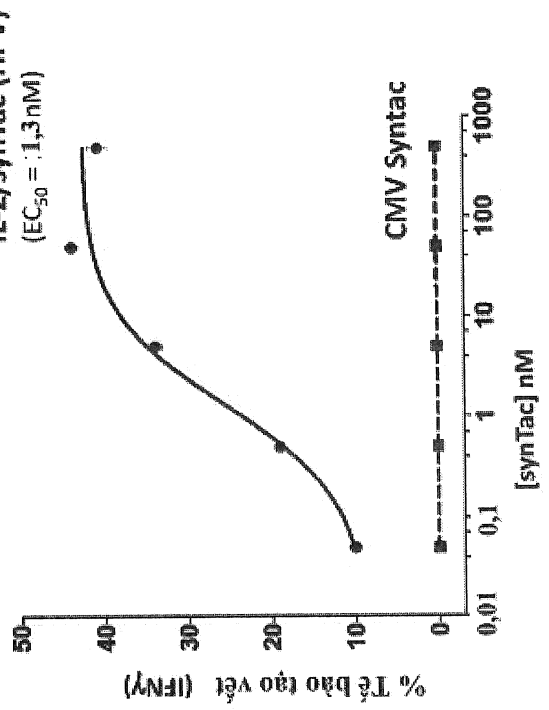

IL-2/synTac (HPV)
(EC_{50} = 1,3 nM)
CMV Syntac
% Tế bào tạo vết (IFNγ)
50
40
30
20
10
0
0,01
0,1
1
10
100
1000
[synTac] nM

FIG. 40

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Cue Biopharma, Inc.

Seidel, Ronald D III

Chaparro, Rodolfo J

<120> Heterodime chứa polypeptit và dược phẩm chứa heterodime này để điều trị ung thư

<130> CUEB-107WO

<160> 100

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 133

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 1

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

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

20 25 30

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 2
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 2

Gly Gly Ser Gly
1

<210> 3
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 3

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 4

Gly Ser Gly Ser Gly

1 5

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 5

Gly Ser Gly Gly Gly
1 5

<210> 6
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 6

Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 7

Gly Ser Ser Ser Gly
1 5

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 8

Gly Ser Ser Ser Ser
1 5

<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 9

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 10
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 10

Gly Cys Gly Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 11

Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val
1 5

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 12

Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile
1 5

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 13

Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr
1 5 10

<210> 14

<211> 276

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 14

Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
35 40 45

Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr
50 55 60

Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr
65 70 75 80

Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln
85 90 95

Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly
100 105 110

Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu
115 120 125

Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys
130 135 140

His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu

145 150 155 160

Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys
165 170 175

Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His
180 185 190

Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
195 200 205

Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln
210 215 220

Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
260 265 270

Arg Trp Glu Pro
275

<210> 15
<211> 274
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 15

Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro Arg
35 40 45

Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln Thr
50 55 60

Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg Thr
65 70 75 80

Ala Gln Arg Tyr Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe Gln
85 90 95

Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg Gly
100 105 110

Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu
115 120 125

Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr Arg
130 135 140

Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly Asn
165 170 175

Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr His
180 185 190

Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe
195 200 205

Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp Leu
210 215 220

Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln Asn
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr Leu
260 265 270

Arg Trp

<210> 16

<211> 99

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 16

Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu
1 5 10 15

Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro
20 25 30

Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys
35 40 45

Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu
50 55 60

Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys
65 70 75 80

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

Arg Asp Met

<210> 17
<211> 99
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 17

Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Cys His Pro Ala Glu
1 5 10 15

Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro
20 25 30

Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys
35 40 45

Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu
50 55 60

Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys
65 70 75 80

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

Arg Asp Met

<210> 18

<211> 276

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 18

Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
35 40 45

Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr
50 55 60

Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr
65 70 75 80

Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln
85 90 95

Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly
100 105 110

Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu
115 120 125

Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys
130 135 140

His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu
145 150 155 160

Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys
165 170 175

Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His
180 185 190

Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
195 200 205

Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln
210 215 220

Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
260 265 270

Arg Trp Glu Pro
275

<210> 19

<211> 275

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 19

Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
35 40 45

Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr
50 55 60

Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr
65 70 75 80

Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln

85 90 95

Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly
100 105 110

Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu
115 120 125

Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys
130 135 140

His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu
145 150 155 160

Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys
165 170 175

Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His
180 185 190

Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
195 200 205

Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln
210 215 220

Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
260 265 270

Arg Trp Glu
275

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 20

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 21

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 22

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 23

His His His His His
1 5

<210> 24

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 24

His His His His His His

1 5

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 25

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

1 5

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 26

Arg Tyr Ile Arg Ser
1 5

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 27

Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg
1 5 10 15

Ala

<210> 28

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 28

Ala Ala Ala Gly Gly
1 5

<210> 29

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 29

Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro
1 5

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 30

Glu Asn Leu Tyr Thr Gln Ser
1 5

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 31

Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 32
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 32

Leu Val Pro Arg
1

<210> 33
<211> 22
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 33

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 34
<211> 21
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 34

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 35

<211> 23

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 35

Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp
1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 36

<211> 25

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 36

Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala
1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 37

Asn Leu Val Pro Met Val Ala Thr Val
1 5

<210> 38

<211> 133

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<400> 38

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 39
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Xaa là axit amin khác với axit aspartic

<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 Xaa 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> 40
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> Xaa là axit amin khác với axit glutamic

<400> 40

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Xaa 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> 41
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> Xaa là axit amin khác với histidin

<400> 41

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Xaa
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> 42
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> Xaa là axit amin khác với tyrosin

<400> 42

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 43

<211> 133

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (126)..(126)

<223> Xaa là axit amin khác với glutamin

<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 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 Xaa Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 44
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> Xaa là axit amin khác với histidin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<400> 44

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

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

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

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

50 55 60

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 45
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Xaa là axit amin khác với axit aspartic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<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 Xaa Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

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

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

50 55 60

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 46
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> Xaa là axit amin khác với axit glutamic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Xaa là axit amin khác với axit aspartic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<400> 46

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 47

<211> 133

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> Xaa là axit amin khác với histidin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Xaa là axit amin khác với axit aspartic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<400> 47

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

1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 48
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> Xaa là axit amin khác với axit aspartic

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (42)..(42)
<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (126)..(126)
<223> Xaa là axit amin khác với glutamin

<400> 48

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

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

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

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

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

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

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

100 105 110

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 49
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> Xaa là axit amin khác với axit aspartic

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (42)..(42)
<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa là axit amin khác với tyrosin

<400> 49

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 50
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> Xaa là axit amin khác với histidin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Xaa là axit amin khác với axit aspartic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa là axit amin khác với tyrosin

<400> 50

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 51

<211> 133

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Xaa là axit amin khác với axit aspartic

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa là axit amin khác với tyrosin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (126)..(126)

<223> Xaa là axit amin khác với glutamin

<400> 51

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 52
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> Xaa là axit amin khác với histidin

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> Xaa là axit amin khác với axit aspartic

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa là axit amin khác với tyrosin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (126)..(126)

<223> Xaa là axit amin khác với glutamin

<400> 52

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 53
<211> 133
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> Xaa là axit amin khác với histidin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa là axit amin khác với phenylalanin

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (126)..(126)

<223> Xaa là axit amin khác với glutamin

<400> 53

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 54

<211> 272

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 54

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> 55

<211> 491

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 55

Met Ala Ala Pro Ala Leu Ser Trp Arg Leu Pro Leu Leu Ile Leu Leu
1 5 10 15

Leu Pro Leu Ala Thr Ser Trp Ala Ser Ala Ala Val Asn Gly Thr Ser
20 25 30

Gln Phe Thr Cys Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp
35 40 45

Ser Gln Asp Gly Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp
50 55 60

Pro Asp Arg Arg Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser
65 70 75 80

Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ala Pro Asp Ser Gln
85 90 95

Lys Leu Thr Thr Val Asp Ile Val Thr Leu Arg Val Leu Cys Arg Glu
100 105 110

Gly Val Arg Trp Arg Val Met Ala Ala Pro Leu Leu Thr Leu Lys Gln
115 120 125

Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr Pro Asp Thr Gln Tyr
130 135 140

Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly Glu Phe Thr Thr Trp
145 150 155 160

Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr Lys Pro Ala Ala Leu
165 170 175

Gly Lys Asp Thr Ile Pro Trp Leu Gly His Leu Leu Val Gly Leu Ser
180 185 190

Gly Ala Phe Gly Phe Ile Ile Leu Val Tyr Leu Leu Ile Asn Cys Arg
195 200 205

Asn Thr Gly Pro Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys Cys Asn Thr Pro Asp
210 215 220

Pro Ser Lys Phe Phe Ser Gln Leu Ser Ser Glu His Gly Gly Asp Val
225 230 235 240

Gln Lys Trp Leu Ser Ser Pro Phe Pro Ser Ser Ser Phe Ser Pro Gly
245 250 255

Gly Leu Ala Pro Glu Ile Ser Pro Leu Glu Val Leu Glu Arg Asp Lys
260 265 270

Val Thr Gln Leu Leu Leu Gln Gln Asp Lys Val Pro Glu Pro Ala Ser
275 280 285

Leu Ser Ser Asn His Ser Leu Thr Ser Cys Phe Thr Asn Gln Gly Tyr
290 295 300

Phe Phe Phe His Leu Pro Asp Ala Leu Glu Ile Glu Ala Cys Gln Val
305 310 315 320

Tyr Phe Thr Tyr Asp Pro Tyr Ser Glu Glu Asp Pro Asp Glu Gly Val
325 330 335

Ala Gly Ala Pro Thr Gly Ser Ser Pro Gln Pro Leu Gln Pro Leu Ser
340 345 350

Gly Glu Asp Asp Ala Tyr Cys Thr Phe Pro Ser Arg Asp Asp Leu Leu
355 360 365

Leu Phe Ser Pro Ser Leu Leu Gly Gly Pro Ser Pro Pro Ser Thr Ala
370 375 380

Pro Gly Gly Ser Gly Ala Gly Glu Glu Arg Met Pro Pro Ser Leu Gln
385 390 395 400

Glu Arg Val Pro Arg Asp Trp Asp Pro Gln Pro Leu Gly Pro Pro Thr
405 410 415

Pro Gly Val Pro Asp Leu Val Asp Phe Gln Pro Pro Pro Glu Leu Val

420 425 430

Leu Arg Glu Ala Gly Glu Glu Val Pro Asp Ala Gly Pro Arg Glu Gly
435 440 445

Val Ser Phe Pro Trp Ser Arg Pro Pro Gly Gln Gly Glu Phe Arg Ala
450 455 460

Leu Asn Ala Arg Leu Pro Leu Asn Thr Asp Ala Tyr Leu Ser Leu Gln
465 470 475 480

Glu Leu Gln Gly Gln Asp Pro Thr His Leu Val
485 490

<210> 56

<211> 369

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 56

Met Leu Lys Pro Ser Leu Pro Phe Thr Ser Leu Leu Phe Leu Gln Leu

1 5 10 15

Pro Leu Leu Gly Val Gly Leu Asn Thr Thr Ile Leu Thr Pro Asn Gly
20 25 30

Asn Glu Asp Thr Thr Ala Asp Phe Phe Leu Thr Thr Met Pro Thr Asp
35 40 45

Ser Leu Ser Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val
50 55 60

Phe Asn Val Glu Tyr Met Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro
65 70 75 80

Gln Pro Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr Trp Tyr Lys Asn Ser Asp Asn
85 90 95

Asp Lys Val Gln Lys Cys Ser His Tyr Leu Phe Ser Glu Glu Ile Thr
100 105 110

Ser Gly Cys Gln Leu Gln Lys Lys Glu Ile His Leu Tyr Gln Thr Phe
115 120 125

Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Arg Glu Pro Arg Arg Gln Ala Thr Gln
130 135 140

Met Leu Lys Leu Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu
145 150 155 160

Thr Leu His Lys Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn
165 170 175

Arg Phe Leu Asn His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp
180 185 190

Trp Asp His Ser Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe
195 200 205

Ser Leu Pro Ser Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg
210 215 220

Ser Arg Phe Asn Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp
225 230 235 240

Ser His Pro Ile His Trp Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe
245 250 255

Leu Phe Ala Leu Glu Ala Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu
260 265 270

Ile Ile Ser Leu Leu Cys Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro
275 280 285

Arg Ile Pro Thr Leu Lys Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His
290 295 300

Gly Asn Phe Ser Ala Trp Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser
305 310 315 320

Leu Gln Pro Asp Tyr Ser Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro
325 330 335

Pro Lys Gly Gly Ala Leu Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn
340 345 350

Gln His Ser Pro Tyr Trp Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu
355 360 365

Thr

<210> 57
<211> 227
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 57

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

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

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

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

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

130 135 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

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

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

Pro Gly Lys
225

<210> 58

<211> 325

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 58

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

Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
20 25 30

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
35 40 45

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
50 55 60

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr
65 70 75 80

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

Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
100 105 110

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

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

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

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

Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu
180 185 190

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

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
210 215 220

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
225 230 235 240

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
245 250 255

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
260 265 270

Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
275 280 285

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
290 295 300

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
305 310 315 320

Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 59
<211> 246
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 59

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Leu Lys Thr
1 5 10 15

Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
20 25 30

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
35 40 45

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
50 55 60

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
65 70 75 80

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
85 90 95

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
100 105 110

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
115 120 125

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
130 135 140

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

145 150 155 160

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
165 170 175

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
180 185 190

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
195 200 205

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
210 215 220

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
225 230 235 240

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 60

<211> 383

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 60

Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg His
1 5 10 15

Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly Tyr
20 25 30

His Pro Thr Ser Val Thr Val Thr Trp Tyr Met Gly Thr Gln Ser Gln
35 40 45

Pro Gln Arg Thr Phe Pro Glu Ile Gln Arg Arg Asp Ser Tyr Tyr Met
50 55 60

Thr Ser Ser Gln Leu Ser Thr Pro Leu Gln Gln Trp Arg Gln Gly Glu
65 70 75 80

Tyr Lys Cys Val Val Gln His Thr Ala Ser Lys Ser Lys Lys Glu Ile
85 90 95

Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr
100 105 110

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

Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu
130 135 140

Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys
145 150 155 160

Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala Val
165 170 175

Gln Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val
180 185 190

Gly Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys
195 200 205

Val Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn
210 215 220

Gly Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp
225 230 235 240

Asn Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro
245 250 255

Pro Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val
260 265 270

Lys Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala
275 280 285

Ser Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu
290 295 300

Leu Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala
305 310 315 320

Pro Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Arg Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp
325 330 335

Ser Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr
340 345 350

Thr Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser
355 360 365

Arg Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His Gly Pro Met Lys
370 375 380

<210> 61

<211> 276

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 61

Val Thr Ser Thr Leu Thr Ile Lys Glx Ser Asp Trp Leu Gly Glu Ser
1 5 10 15

Met Phe Thr Cys Arg Val Asp His Arg Gly Leu Thr Phe Gln Gln Asn
20 25 30

Ala Ser Ser Met Cys Val Pro Asp Gln Asp Thr Ala Ile Arg Val Phe
35 40 45

Ala Ile Pro Pro Ser Phe Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr Lys
50 55 60

Leu Thr Cys Leu Val Thr Asp Leu Thr Thr Tyr Asx Ser Val Thr Ile
65 70 75 80

Ser Trp Thr Arg Glu Glu Asn Gly Ala Val Lys Thr His Thr Asn Ile
85 90 95

Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala Ser

100 105 110

Ile Cys Glu Asp Asx Asp Trp Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr Val
115 120 125

Thr His Thr Asp Leu Pro Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg Pro
130 135 140

Lys Gly Val Ala Leu His Arg Pro Asx Val Tyr Leu Leu Pro Pro Ala
145 150 155 160

Arg Glx Glx Leu Asn Leu Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu Val
165 170 175

Thr Gly Phe Ser Pro Ala Asp Val Phe Val Glu Trp Met Gln Arg Gly
180 185 190

Glu Pro Leu Ser Pro Gln Lys Tyr Val Thr Ser Ala Pro Met Pro Glu
195 200 205

Pro Gln Ala Pro Gly Arg Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu Thr Val Ser
210 215 220

Glu Glu Glu Trp Asn Thr Gly Gly Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala His
225 230 235 240

Glu Ala Leu Pro Asn Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser Thr
245 250 255

Gly Lys Pro Thr Leu Tyr Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala
260 265 270

Gly Thr Cys Tyr
275

<210> 62
<211> 353
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 62

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

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val
35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro
100 105 110

Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser
115 120 125

Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn
130 135 140

Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe
145 150 155 160

Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Glu
165 170 175

Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys
180 185 190

Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr
195 200 205

Pro Glu Ser Lys Thr Pro Leu Thr Ala Thr Leu Ser Lys Ser Gly Asn
210 215 220

Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu
225 230 235 240

Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe Ser
245 250 255

Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro
260 265 270

Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln Gly
275 280 285

Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu Asp
290 295 300

Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu
305 310 315 320

Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys Pro

325 330 335

Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys

340 345 350

Tyr

<210> 63

<211> 222

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 63

Ala Asp Pro Cys Asp Ser Asn Pro Arg Gly Val Ser Ala Tyr Leu Ser

1 5 10 15

Arg Pro Ser Pro Phe Asp Leu Phe Ile Arg Lys Ser Pro Thr Ile Thr

20 25 30

Cys Leu Val Val Asp Leu Ala Pro Ser Lys Gly Thr Val Asn Leu Thr

35 40 45

Trp Ser Arg Ala Ser Gly Lys Pro Val Asn His Ser Thr Arg Lys Glu
50 55 60

Glu Lys Gln Arg Asn Gly Thr Leu Thr Val Thr Ser Thr Leu Pro Val
65 70 75 80

Gly Thr Arg Asp Trp Ile Glu Gly Glu Thr Tyr Gln Cys Arg Val Thr
85 90 95

His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Thr Ser
100 105 110

Gly Pro Arg Ala Ala Pro Glu Val Tyr Ala Phe Ala Thr Pro Glu Trp
115 120 125

Pro Gly Ser Arg Asp Lys Arg Thr Leu Ala Cys Leu Ile Gln Asn Phe
130 135 140

Met Pro Glu Asp Ile Ser Val Gln Trp Leu His Asn Glu Val Gln Leu
145 150 155 160

Pro Asp Ala Arg His Ser Thr Thr Gln Pro Arg Lys Thr Lys Gly Ser
165 170 175

Gly Phe Phe Val Phe Ser Arg Leu Glu Val Thr Arg Ala Glu Trp Glu
180 185 190

Gln Lys Asp Glu Phe Ile Cys Arg Ala Val His Glu Ala Ala Ser Pro
195 200 205

Ser Gln Thr Val Gln Arg Ala Val Ser Val Asn Pro Gly Lys
210 215 220

<210> 64
<211> 327
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 64

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

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 65

<211> 365

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 65

Met Ala Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ser Gly Ala
1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Gln Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
20 25 30

Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala
35 40 45

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
50 55 60

Ala Ser Gln Lys Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly

65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Asp Gln Glu Thr Arg Asn Met Lys Ala His Ser Gln
85 90 95

Thr Asp Arg Ala Asn Leu Gly Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
100 105 110

Glu Asp Gly Ser His Thr Ile Gln Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly
115 120 125

Pro Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly
130 135 140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
145 150 155 160

Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Val His Ala
165 170 175

Ala Glu Gln Arg Arg Val Tyr Leu Glu Gly Arg Cys Val Asp Gly Leu
180 185 190

Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro
195 200 205

Pro Lys Thr His Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr
210 215 220

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr
225 230 235 240

Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu
245 250 255

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
260 265 270

Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu
275 280 285

Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Leu Ser Ser Gln Pro
290 295 300

Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala
305 310 315 320

Val Ile Thr Gly Ala Val Val Ala Ala Val Met Trp Arg Arg Lys Ser
325 330 335

Ser Asp Arg Lys Gly Gly Ser Tyr Thr Gln Ala Ala Ser Ser Asp Ser
340 345 350

Ala Gln Gly Ser Asp Val Ser Leu Thr Ala Cys Lys Val
355 360 365

<210> 66
<211> 362
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 66

Met Leu Val Met Ala Pro Arg Thr Val Leu Leu Leu Ser Ala Ala
1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
20 25 30

Tyr Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser
35 40 45

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
50 55 60

Ala Ser Pro Arg Glu Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly
65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Asp Arg Asn Thr Gln Ile Tyr Lys Ala Gln Ala Gln
85 90 95

Thr Asp Arg Glu Ser Leu Arg Asn Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
100 105 110

Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln Ser Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly
115 120 125

Pro Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly His Asp Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly
130 135 140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
145 150 155 160

Asp Thr Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg Lys Trp Glu Ala Ala Arg Glu
165 170 175

Ala Glu Gln Arg Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu
180 185 190

Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Asp Lys Leu Glu Arg Ala Asp Pro
195 200 205

Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr

210 215 220

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr
225 230 235 240

Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu
245 250 255

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Arg Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
260 265 270

Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu
275 280 285

Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Pro Ser Ser Gln Ser
290 295 300

Thr Val Pro Ile Val Gly Ile Val Ala Gly Leu Ala Val Leu Ala Val
305 310 315 320

Val Val Ile Gly Ala Val Val Ala Ala Val Met Cys Arg Arg Lys Ser
325 330 335

Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Gln Ala Ala Cys Ser Asp Ser
340 345 350

Ala Gln Gly Ser Asp Val Ser Leu Thr Ala
355 360

<210> 67
<211> 366
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 67

Met Arg Val Met Ala Pro Arg Ala Leu Leu Leu Leu Leu Ser Gly Gly
1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Cys Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
20 25 30

Asp Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser
35 40 45

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
50 55 60

Ala Ser Pro Arg Gly Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly
65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Gln Asn Tyr Lys Arg Gln Ala Gln
85 90 95

Ala Asp Arg Val Ser Leu Arg Asn Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
100 105 110

Glu Asp Gly Ser His Thr Leu Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Leu Gly
115 120 125

Pro Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Asp Gln Ser Ala Tyr Asp Gly
130 135 140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
145 150 155 160

Asp Thr Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg Lys Leu Glu Ala Ala Arg Ala
165 170 175

Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu
180 185 190

Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Ala Glu Pro
195 200 205

Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Leu Ser Asp His Glu Ala Thr
210 215 220

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr
225 230 235 240

Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu
245 250 255

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
260 265 270

Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Met Gln His Glu
275 280 285

Gly Leu Gln Glu Pro Leu Thr Leu Ser Trp Glu Pro Ser Ser Gln Pro
290 295 300

Thr Ile Pro Ile Met Gly Ile Val Ala Gly Leu Ala Val Leu Val Val
305 310 315 320

Leu Ala Val Leu Gly Ala Val Val Thr Ala Met Met Cys Arg Arg Lys
325 330 335

Ser Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Cys Ser Gln Ala Ala Cys Ser Asn
340 345 350

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

355 360 365

<210> 68

<211> 833

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 68

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 Ala 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 Ala 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr
165 170 175

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu
180 185 190

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
195 200 205

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr
210 215 220

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
225 230 235 240

Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
245 250 255

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser
260 265 270

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
275 280 285

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr
290 295 300

Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
305 310 315 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr
325 330 335

Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly
340 345 350

Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser
355 360 365

Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu
370 375 380

Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His
385 390 395 400

Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala
405 410 415

Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp
420 425 430

Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp
435 440 445

Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met
450 455 460

Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu
465 470 475 480

Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg
485 490 495

Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys

500 505 510

Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg
515 520 525

Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln
530 535 540

Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg
545 550 555 560

Pro Cys Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro
565 570 575

Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu
580 585 590

Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys
595 600 605

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
610 615 620

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
625 630 635 640

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
645 650 655

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
660 665 670

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val
675 680 685

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
690 695 700

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
705 710 715 720

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
725 730 735

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
740 745 750

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
755 760 765

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
770 775 780

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
785 790 795 800

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
805 810 815

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
820 825 830

Lys

<210> 69

<211> 813

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 69

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
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 Ala 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 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
145 150 155 160

Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met

165 170 175

Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met
180 185 190

Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His
195 200 205

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn
210 215 220

Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser
225 230 235 240

Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe
245 250 255

Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
260 265 270

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly
275 280 285

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
290 295 300

Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg
305 310 315 320

Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp
325 330 335

Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu
340 345 350

Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly
355 360 365

Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu
370 375 380

Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr
385 390 395 400

Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu
405 410 415

Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu
420 425 430

Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr
435 440 445

Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala
450 455 460

Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn
465 470 475 480

Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr
485 490 495

His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu
500 505 510

Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu
515 520 525

Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys Gly Asp
530 535 540

Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu
545 550 555 560

Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu
565 570 575

Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys
580 585 590

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

595 600 605

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
610 615 620

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
625 630 635 640

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
645 650 655

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
660 665 670

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
675 680 685

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
690 695 700

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
705 710 715 720

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
725 730 735

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
740 745 750

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
755 760 765

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
770 775 780

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
785 790 795 800

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
805 810

<210> 70

<211> 2505

<212> ADN

<213> Người hiện đại

<400> 70

atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaaacagt 60

gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggaggcatt actgctggat 120

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180

acagcaaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 300

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420

tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgactg gaggcggagg atctggtggt 480

ggaggttctg gtggtggggg atctggaggc ggaggatctg cacctacttc aagttctaca 540

aagaaaacac agctacaact ggaggcatta ctgctggatt tacagatgat tttgaatgga 600

attaataatt acaagaatcc caaactcacc aggatgctca cagcaaagtt ttacatgccc 660

aagaaggcca cagaactgaa acatcttcag tgtctagaag aagaactcaa acctctggag 720

gaagtgctaa atttagctca aagcaaaaac tttcacttaa gacccaggga cttaatcagc 780

aatatcaacg taatagttct ggaactaaag ggatctgaaa caacattcat gtgtgaatat 840

gctgatgaga cagcaaccat tgtagaattt ctgaacagat ggattacctt ttgtcaaagc 900

atcatctcaa cactgactgg aggcggagga tctggtggtg gaggttctgg tggtggggga 960

tctggaggcg gaggatctgg ctctcactcc atgaggtatt tcttcacatc cgtgtcccgg 1020

cccggccgcg gggagccccg cttcatcgca gtgggctacg tggacgacac gcagttcgtg 1080

cggttcgaca gcgacgccgc gagccagagg atggagccgc gggcgccgtg gatagagcag 1140

gagggtccgg agtattggga cggggagaca cggaaagtga aggcccactc acagactcac 1200

cgagtggacc tggggaccct gcgcggcgcc tacaaccaga gcgaggccgg ttctcacacc 1260

gtccagagga tgtatggctg cgacgtgggg tcggactggc gcttcctccg cgggtaccac 1320

cagtacgcct acgacggcaa ggattacatc gccctgaaag aggacctgcg ctcttggacc 1380

gcggcggaca tggcagctca gaccaccaag cacaagtggg aggcggccca tgtggcggag 1440

cagttgagag cctacctgga gggcacgtgc gtggagtggc tccgcagata cctggagaac 1500

gggaaggaga cgctgcagcg cacggacgcc cccaaaacgc atatgactca ccacgctgtc 1560

tctgaccatg aagccaccct gaggtgctgg gccctgagct tctaccctgc ggagatcaca 1620

ctgacctggc agcgggatgg ggaggaccag acccaggaca cggagctcgt ggagaccagg 1680

ccttgcgggg atggaacctt ccagaagtgg gcggctgtgg tggtgccttc tggacaggag 1740

cagagataca cctgccatgt gcagcatgag ggtttgccca agcccctcac cctgagatgg 1800

gaggcagctg cgggtggcga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc 1860

ctgggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 1920

cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 1980

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 2040

cagtacgcaa gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 2100

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 2160

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc 2220

cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtcaaagg cttctatccc 2280

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 2340

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag 2400

agcagatggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcacgaggc tctgcacaac 2460

cactacacgc agaagtccct ctccctgtct ccgggtaaat agtga 2505

<210> 71

<211> 833

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 71

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 Ala 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 Ala 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr
165 170 175

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu
180 185 190

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
195 200 205

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr
210 215 220

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
225 230 235 240

Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
245 250 255

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser
260 265 270

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
275 280 285

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr
290 295 300

Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
305 310 315 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr
325 330 335

Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly
340 345 350

Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser
355 360 365

Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu
370 375 380

Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His
385 390 395 400

Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala
405 410 415

Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp
420 425 430

Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp
435 440 445

Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met
450 455 460

Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu

465 470 475 480

Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg
485 490 495

Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys
500 505 510

Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg
515 520 525

Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln
530 535 540

Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg
545 550 555 560

Pro Cys Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro
565 570 575

Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu
580 585 590

Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys
595 600 605

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
610 615 620

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
625 630 635 640

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
645 650 655

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
660 665 670

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
675 680 685

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
690 695 700

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
705 710 715 720

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
725 730 735

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
740 745 750

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
755 760 765

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
770 775 780

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
785 790 795 800

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
805 810 815

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
820 825 830

Lys

<210> 72
<211> 813
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 72

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
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 Ala 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 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
145 150 155 160

Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met
165 170 175

Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met
180 185 190

Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His
195 200 205

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn
210 215 220

Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser
225 230 235 240

Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe
245 250 255

Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
260 265 270

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly
275 280 285

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
290 295 300

Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg
305 310 315 320

Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp
325 330 335

Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu
340 345 350

Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly
355 360 365

Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu
370 375 380

Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr
385 390 395 400

Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu
405 410 415

Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu
420 425 430

Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr
435 440 445

Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala
450 455 460

Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn
465 470 475 480

Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr
485 490 495

His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu
500 505 510

Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu
515 520 525

Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys Gly Asp
530 535 540

Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu
545 550 555 560

Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu

565 570 575

Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys
580 585 590

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
595 600 605

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
610 615 620

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
625 630 635 640

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
645 650 655

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
660 665 670

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
675 680 685

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
690 695 700

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
705 710 715 720

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
725 730 735

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
740 745 750

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
755 760 765

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
770 775 780

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
785 790 795 800

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
805 810

<210> 73
<211> 2505
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 73
atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaaacagt 60

gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggaggcatt actgctggat 120

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180

acagcaaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 300

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420

tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgactg gaggcggagg atctggtggt 480

ggaggttctg gtggtggggg atctggaggc ggaggatctg cacctacttc aagttctaca 540

aagaaaacac agctacaact ggaggcatta ctgctggatt tacagatgat tttgaatgga 600

attaataatt acaagaatcc caaactcacc aggatgctca cagcaaagtt ttacatgccc 660

aagaaggcca cagaactgaa acatcttcag tgtctagaag aagaactcaa acctctggag 720

gaagtgctaa atttagctca aagcaaaaac tttcacttaa gacccaggga cttaatcagc 780

aatatcaacg taatagttct ggaactaaag ggatctgaaa caacattcat gtgtgaatat 840

gctgatgaga cagcaaccat tgtagaattt ctgaacagat ggattacctt ttgtcaaagc 900

atcatctcaa cactgactgg aggcggagga tctggtggtg gaggttctgg tggtggggga 960

tctggaggcg gaggatctgg ctctcactcc atgaggtatt tcttcacatc cgtgtcccgg 1020

cccggccgcg gggagccccg cttcatcgca gtgggctacg tggacgacac gcagttcgtg 1080

cggttcgaca gcgacgccgc gagccagagg atggagccgc gggcgccgtg gatagagcag 1140

gagggtccgg agtattggga cggggagaca cggaaagtga aggcccactc acagactcac 1200

cgagtggacc tggggaccct gcgcggcgcc tacaaccaga gcgaggccgg ttctcacacc 1260

gtccagagga tgtatggctg cgacgtgggg tcggactggc gcttcctccg cgggtaccac 1320

cagtacgcct acgacggcaa ggattacatc gccctgaaag aggacctgcg ctcttggacc 1380

gcggcggaca tggcagctca gaccaccaag cacaagtggg aggcggccca tgtggcggag 1440

cagttgagag cctacctgga gggcacgtgc gtggagtggc tccgcagata cctggagaac 1500

gggaaggaga cgctgcagcg cacggacgcc cccaaaacgc atatgactca ccacgctgtc 1560

tctgaccatg aagccaccct gaggtgctgg gccctgagct tctaccctgc ggagatcaca 1620

ctgacctggc agcgggatgg ggaggaccag acccaggaca cggagctcgt ggagaccagg 1680

ccttgcgggg atggaacctt ccagaagtgg gcggctgtgg tggtgccttc tggacaggag 1740

cagagataca cctgccatgt gcagcatgag ggtttgccca agcccctcac cctgagatgg 1800

gaggcagctg cgggtggcga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaagcc 1860

gccgggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 1920

cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 1980

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 2040

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 2100

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 2160

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc 2220

cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtcaaagg cttctatccc 2280

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 2340

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag 2400

agcagatggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcacgaggc tctgcacaac 2460

cactacacgc agaagtccct ctccctgtct ccgggtaaat agtga 2505

<210> 74

<211> 833

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 74

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 Ala 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 Ala 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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr
165 170 175

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu
180 185 190

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
195 200 205

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr
210 215 220

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
225 230 235 240

Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
245 250 255

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser
260 265 270

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
275 280 285

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr
290 295 300

Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
305 310 315 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr
325 330 335

Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly
340 345 350

Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser
355 360 365

Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu
370 375 380

Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His
385 390 395 400

Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala
405 410 415

Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp
420 425 430

Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp

435 440 445

Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met
450 455 460

Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu
465 470 475 480

Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg
485 490 495

Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys
500 505 510

Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg
515 520 525

Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln
530 535 540

Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg
545 550 555 560

Pro Cys Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro
565 570 575

Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu
580 585 590

Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys
595 600 605

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro
610 615 620

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
625 630 635 640

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
645 650 655

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
660 665 670

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
675 680 685

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
690 695 700

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys
705 710 715 720

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
725 730 735

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
740 745 750

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
755 760 765

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
770 775 780

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
785 790 795 800

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
805 810 815

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
820 825 830

Lys

<210> 75
<211> 813
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 75

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
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 Ala 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 Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
145 150 155 160

Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met
165 170 175

Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met
180 185 190

Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His
195 200 205

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn
210 215 220

Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser
225 230 235 240

Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe
245 250 255

Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
260 265 270

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly
275 280 285

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
290 295 300

Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg
305 310 315 320

Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp
325 330 335

Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu
340 345 350

Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly
355 360 365

Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu
370 375 380

Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr
385 390 395 400

Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu
405 410 415

Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu
420 425 430

Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr
435 440 445

Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala
450 455 460

Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn
465 470 475 480

Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr
485 490 495

His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu
500 505 510

Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu
515 520 525

Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys Gly Asp

530 535 540

Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu
545 550 555 560

Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu
565 570 575

Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys
580 585 590

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
595 600 605

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
610 615 620

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
625 630 635 640

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
645 650 655

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
660 665 670

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
675 680 685

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
690 695 700

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
705 710 715 720

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
725 730 735

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
740 745 750

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
755 760 765

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
770 775 780

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
785 790 795 800

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
805 810

<210> 76
<211> 2505
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 76
atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaaacagt 60

gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggaggcatt actgctggat 120

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180

acagcaaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 300

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420

tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgactg gaggcggagg atctggtggt 480

ggaggttctg gtggtggggg atctggaggc ggaggatctg cacctacttc aagttctaca 540

aagaaaacac agctacaact ggaggcatta ctgctggatt tacagatgat tttgaatgga 600

attaataatt acaagaatcc caaactcacc aggatgctca cagcaaagtt ttacatgccc 660

aagaaggcca cagaactgaa acatcttcag tgtctagaag aagaactcaa acctctggag 720

gaagtgctaa atttagctca aagcaaaaac tttcacttaa gacccaggga cttaatcagc 780

aatatcaacg taatagttct ggaactaaag ggatctgaaa caacattcat gtgtgaatat 840

gctgatgaga cagcaaccat tgtagaattt ctgaacagat ggattacctt ttgtcaaagc 900

atcatctcaa cactgactgg aggcggagga tctggtggtg gaggttctgg tggtggggga 960

tctggaggcg gaggatctgg ctctcactcc atgaggtatt tcttcacatc cgtgtcccgg 1020

cccggccgcg gggagccccg cttcatcgca gtgggctacg tggacgacac gcagttcgtg 1080

cggttcgaca gcgacgccgc gagccagagg atggagccgc gggcgccgtg gatagagcag 1140

gagggtccgg agtattggga cggggagaca cggaaagtga aggcccactc acagactcac 1200

cgagtggacc tggggaccct gcgcggcgcc tacaaccaga gcgaggccgg ttctcacacc 1260

gtccagagga tgtatggctg cgacgtgggg tcggactggc gcttcctccg cgggtaccac 1320

cagtacgcct acgacggcaa ggattacatc gccctgaaag aggacctgcg ctcttggacc 1380

gcggcggaca tggcagctca gaccaccaag cacaagtggg aggcggccca tgtggcggag 1440

cagttgagag cctacctgga gggcacgtgc gtggagtggc tccgcagata cctggagaac 1500

gggaaggaga cgctgcagcg cacggacgcc cccaaaacgc atatgactca ccacgctgtc 1560

tctgaccatg aagccaccct gaggtgctgg gccctgagct tctaccctgc ggagatcaca 1620

ctgacctggc agcgggatgg ggaggaccag acccaggaca cggagctcgt ggagaccagg 1680

ccttgcgggg atggaacctt ccagaagtgg gcggctgtgg tggtgccttc tggacaggag 1740

cagagataca cctgccatgt gcagcatgag ggtttgccca agcccctcac cctgagatgg 1800

gaggcagctg cgggtggcga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaattc 1860

gaggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 1920

cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 1980

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 2040

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 2100

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagccag catcgagaaa 2160

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc 2220

cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtcaaagg cttctatccc 2280

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 2340

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag 2400

agcagatggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcacgaggc tctgcacaac 2460

cactacacgc agaagtccct ctccctgtct ccgggtaaat agtga 2505

<210> 77

<211> 144

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 77

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg
35 40 45

Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Cys His Pro Ala Glu Asn Gly Lys
50 55 60

Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile

65 70 75 80

Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His
85 90 95

Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr
100 105 110

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn
115 120 125

His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
130 135 140

<210> 78

<211> 248

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polypeptit tổng hợp

<400> 78

Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Tyr Met Leu Asp Leu
20 25 30

Gln Pro Glu Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
35 40 45

Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Cys
50 55 60

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
65 70 75 80

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
85 90 95

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp

100 105 110

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp
115 120 125

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile
130 135 140

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser
145 150 155 160

Cys His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val
165 170 175

Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly
180 185 190

Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp
195 200 205

Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys
210 215 220

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

Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
245

<210> 79
<211> 438
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự polynucleotit tổng hợp

<400> 79
atgtctcgct ccgtggcctt agctgtgctc gcgctactct ctctttctgg cctggaggcc 60

tacatgctcg atttgcagcc cgaaacgacg ggtggaggtg gttctggagg aggcggttcg 120

ggcggaggtg gtagtatcca gcgtactcca aagattcagg tttactcatg ccatccagca 180

gagaatggaa agtcaaattt cctgaattgc tatgtgtctg ggtttcatcc atccgacatt 240

gaagttgact tactgaagaa tggagagaga attgaaaaag tggagcattc agacttgtct 300

ttcagcaagg actggtcttt ctatctcttg tattatactg aattcacccc cactgaaaaa 360

gatgagtatg cctgccgtgt gaaccacgtg actttgtcac agcccaagat agttaagtgg 420

gatcgagaca tgtagtga 438

<210> 80

<211> 227

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 80

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

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

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

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

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

Pro Gly Lys
225

<210> 81
<211> 227
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 81

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

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

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

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

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

Pro Gly Lys
225

<210> 82
<211> 227
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 82

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

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

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

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

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

Pro Gly Lys
225

<210> 83
<211> 227
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 83

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

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

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

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

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

Pro Gly Lys
225

<210> 84
<211> 133
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 84

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
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 Ala 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> 85

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 85

Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 86

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 86

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp

<400> 87

Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr
1 5

<210> 88

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 88

Phe His His Thr
1

<210> 89

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 89

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

<210> 90

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 90

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> 91
<211> 25
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp

<400> 91

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 92
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 92

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

<210> 93

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 93

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

Ser Ser Ser Ser
20

<210> 94

<211> 25

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 94

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

Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser
20 25

<210> 95

<211> 119

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 95

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp
85 90 95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile
100 105 110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 96
<211> 119
<212> PRT
<213> Pan troglodytes

<400> 96

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp
85 90 95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile
100 105 110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 97
<211> 119
<212> PRT
<213> Macaca mulatta

<400> 97

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Pro Glu Asn Gly Lys Pro Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Lys Met Gly Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Asn Glu Lys Asp
85 90 95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gly Pro Arg Thr
100 105 110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 98

<211> 118

<212> PRT

<213> Bos Taurus

<400> 98

Met Ala Arg Phe Val Ala Leu Val Leu Leu Gly Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Asp Ala Ile Gln Arg Pro Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Pro Glu Asp Gly Lys Pro Asn Tyr Leu Asn Cys Tyr Val Tyr
35 40 45

Gly Phe His Pro Pro Gln Ile Glu Ile Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Lys Ile Lys Ser Glu Gln Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser
65 70 75 80

Phe Tyr Leu Leu Ser His Ala Glu Phe Thr Pro Asn Ser Lys Asp Gln
85 90 95

Tyr Ser Cys Arg Val Lys His Val Thr Leu Glu Gln Pro Arg Ile Val
100 105 110

Lys Trp Asp Arg Asp Leu
115

<210> 99
<211> 119
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 99

Met Ala Arg Ser Val Thr Leu Val Phe Leu Val Leu Val Ser Leu Thr
1 5 10 15

Gly Leu Tyr Ala Ile Gln Lys Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Pro Glu Asn Gly Lys Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr
35 40 45

Gln Phe His Pro Pro His Ile Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys
50 55 60

Lys Ile Pro Lys Val Glu Met Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp
85 90 95

Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr
100 105 110

Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 100

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<220>

<221> Misc_Feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa là axit amin khác với Prolin

<400> 100

Val Pro Gly Xaa Gly
1 5