



(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)



1-0048218

(51)^{2019.01} C07K 14/55; C12N 15/26; A61K 38/20 (13) B

(21) 1-2020-00794

(22) 03/08/2018

(86) PCT/US2018/045265 03/08/2018

(87) WO 2019/028425 07/02/2019

(30) 62/540,781 03/08/2017 US

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/08/2020 389A

(73) Synthorx, Inc. (US)

11099 North Torrey Pines Road, Suite 290, La Jolla, California 92037, United States of America

(72) PTACIN, Jerod (US); CAFFARO, Carolina E. (AR); MILLA, Marcos (US).

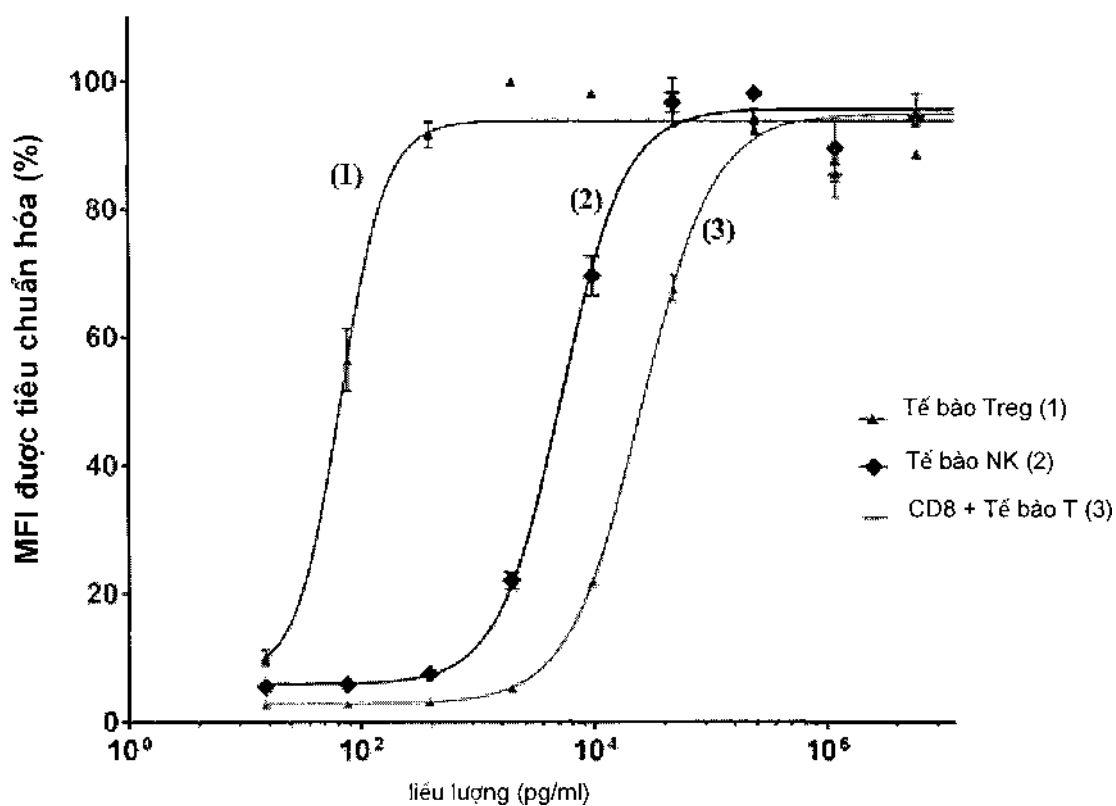
(74) Công ty TNHH Trần Hữu Nam và Đồng sự (TRAN H.N & ASS.)

(54) POLYPEPTIT INTERLEUKIN-2 (IL-2) ĐƯỢC CẢI BIẾN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA POLYPEPTIT IL-2 NÀY

(21) 1-2020-00794

(57) Sáng chế đề cập đến thể liên hợp interleukin (IL) (ví dụ, thể liên hợp IL-2) và việc sử dụng chúng trong điều trị một hoặc nhiều dấu hiệu của bệnh lý. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm và kit chứa một hoặc nhiều thể liên hợp interleukin (ví dụ, thể liên hợp IL-2).

FIG.4A



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất thể liên hợp xytokin và việc sử dụng trong điều trị một hoặc nhiều dấu hiệu của bệnh lý, polypeptit interleukin 2 (IL-2) đã được phân lập và cải biến bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên, được phẩm chứa: thể liên hợp IL-2 được mô tả trên đây; và tá dược được dụng. Sáng chế cũng đề cập tới phương pháp mở rộng quần thể tế bào T điều hòa (Treg) và kit chứa một hoặc nhiều thể liên hợp interleukin.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các quần thể tế bào T khác biệt điều biến hệ miễn dịch để duy trì tính nội cân bằng miễn dịch và sự dung nạp. Ví dụ, tế bào T điều hòa (Treg) ngăn ngừa các đáp ứng không phù hợp bởi hệ miễn dịch bằng cách ngăn ngừa tính tự phản ứng bệnh lý trong khi tế bào T gây độc tế bào hướng đích và tiêu diệt các tế bào đã bị lây nhiễm và/hoặc tế bào ung thư. Trong một số trường hợp, sự điều biến của các quần thể khác nhau của tế bào T tạo ra lựa chọn để điều trị bệnh hoặc dấu hiệu của bệnh lý.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thể liên hợp xytokin và việc sử dụng trong điều trị một hoặc nhiều dấu hiệu của bệnh lý. Theo một số phương án, sáng chế cũng đề xuất thể liên hợp interleukin 2 (IL-2) và việc sử dụng trong điều trị một hoặc nhiều dấu hiệu của bệnh lý. Trong một số trường hợp, một hoặc nhiều dấu hiệu của bệnh bao gồm bệnh tự miễn. Trong một số trường hợp, sáng chế đề xuất thể liên hợp IL-2 để điều biến tương tác giữa IL-2 và thụ thể IL-2 để kích thích hoặc mở rộng quần thể tế bào T điều hòa đặc hiệu (tế bào Treg). Trong một số trường hợp, sáng chế đề xuất thể liên hợp IL-2 với chu kỳ bán rã in vivo kéo dài, tính độc giảm, và/hoặc cửa sổ trị liệu mở rộng. Trong các trường hợp bổ sung, sáng chế đề xuất dược phẩm và kit chứa một hoặc nhiều thể liên hợp interleukin (ví dụ, thể liên hợp IL-2) được đề cập trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit interleukin 2 (IL-2) đã được phân lập và cải biến bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên ở vị trí làm giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể đến thụ thể interleukin 2 $\beta\gamma$ (IL-2R $\beta\gamma$) hoặc làm giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β , nhưng vẫn giữ được sự hoạt hóa đáng kể thụ thể interleukin 2 $\alpha\beta\gamma$ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$), trong đó hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể đã được giảm so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể giữa polypeptit IL-2 tự nhiên và IL-2R $\beta\gamma$, và trong đó mức bổ sung này là so với mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ bởi polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, R81, P82, R83, D84, S87, N88, N89, V91, I92, L94, E95, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, T113, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, R81, D84, S87, N88, V91, I92, L94, E95, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, P82, R83, N89, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, và T113, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, L12, E15, H16, L19, D20, Q22, M23, N26, D84, N88, E95, và Q126, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, và H16, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của

ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ Q22, N26, N88, và Q126, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E15, D20, D84, và E95, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ L12, L19, và M23, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ Q22 và N26, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên: là chất tương tự lysin; là chất tương tự xystein hoặc chất tương tự histidin; bao gồm mạch bên thơm; bao gồm nhóm azido; bao gồm nhóm alkyn; hoặc bao gồm nhóm aldehyt hoặc keton. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên không bao gồm mạch bên thơm. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên bao gồm N6-azidoetoxy-L-lysin (AzK), N6-propargyletoxy-L-lysin (PraK), BCN-L-lysin, norbornen lysin, TCO-lysin, metyltetrazin lysin, alyloxycarbonyllysin, axit 2-amino-8-oxononanoic, axit 2-amino-8-oxooctanoic, p-axetyl-L-phenylalanin, p-azidometyl-L-phenylalanin (pAMF), p-iodo-L-phenylalanin, m-axetylphenylalanin, axit 2-amino-8-oxononanoic, p-propargyloxyphenylalanin, p-propargyl-phenylalanin, 3-metyl-phenylalanin, L-Dopa, phenylalanin đã được flo hóa, isopropyl-L-phenylalanin, p-azido-L-phenylalanin, p-axyl-L-phenylalanin, p-benzoyl-L-phenylalanin, p-bromophenylalanin, p-amino-L-phenylalanin, isopropyl-L-phenylalanin, O-alyltyrosin, O-metyl-L-tyrosin, O-4-alyl-L-tyrosin, 4-propyl-L-tyrosin, phosphotyrosin, tri-O-axetyl-GlcNAcp-serin, L-phosphoserin, phosphoserin, L-3-(2-naphtyl)alanin, axit 2-amino-3-((2-((3-(benzyloxy)-3-oxopropyl)amino)etyl)selanyl)propanoic, axit 2-amino-3-(phenylselanyl)propanoic, hoặc selenoxystein. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên được đưa vào polypeptit IL-2 đã được cải biến bằng cặp ARN vận chuyển synthetaza/ARN vận chuyển trực giao. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao của cặp synthetaza/ARN vận chuyển trực giao bao gồm ít nhất một nucleobazơ không tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải

biến được gắn cộng hóa trị với gốc liên hợp thông qua ít nhất một axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, gốc liên hợp bao gồm polyme hòa tan trong nước, lipid, protein, hoặc peptit. Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm polyetylen glycol (PEG), poly(propylen glycol) (PPG), copolyme của etylen glycol và propylen glycol, poly(polyol đã được oxyetyl hóa), poly(rượu olefin), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin (POZ), poly(N-acryloylmorpholin), hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm phân tử PEG. Theo một số phương án, phân tử PEG là PEG mạch thẳng. Theo một số phương án, phân tử PEG là PEG mạch nhánh. Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm polysacarit. Theo một số phương án, polysacarit bao gồm dextran, axit polysialic (PSA), axit hyaluronic (HA), amyloza, heparin, heparan sulfat (HS), dextrin, hoặc hydroxyetyl-tinh bột (HES). Theo một số phương án, lipid bao gồm axit béo. Theo một số phương án, axit béo chứa trong khoảng từ 6 đến khoảng 26 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 24 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 22 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 20 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 18 nguyên tử cacbon, từ 20 đến khoảng 26 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 26 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 24 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 22 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 20 nguyên tử cacbon, hoặc từ khoảng 12 đến khoảng 18 nguyên tử cacbon. Theo một số phương án, axit béo là axit béo bão hòa. Theo một số phương án, protein bao gồm albumin, transferin, hoặc transthyretin. Theo một số phương án, protein bao gồm kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó. Theo một số phương án, kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó bao gồm phần Fc của kháng thể. Theo một số phương án, peptit bao gồm XTEN peptit, polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP), PAS polypeptit, polypeptit giống elastin (ELP), CTP peptit, hoặc polyme protein giống gelatin (GLK). Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn kết gián tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên của IL-2 đã được cải biến thông qua liên kết cầu nối. Theo một số phương án, liên kết cầu nối

bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau, liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau, liên kết cầu nối có chiều dài bằng 0, liên kết cầu nối dipeptit có thể đứt gãy hoặc không đứt gãy, nhóm maleimide, đêmi, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được phân lập và cải biến có mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể với IL-2R $\beta\gamma$, và mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1000 lần, hoặc nhiều hơn với IL-2R $\beta\gamma$ so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến là: mảnh có hoạt tính chức của polypeptit IL-2 có chiều dài đầy đủ; polypeptit IL-2 tái tổ hợp; hoặc polypeptit IL-2 của người tái tổ hợp. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N, khuyết đoạn đầu tận cùng C, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, khuyết đoạn đầu tận cùng N bao gồm khuyết 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, hoặc 30 gốc đầu tiên từ đầu tận cùng N, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, khuyết đoạn đầu tận cùng C bao gồm khuyết 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20 gốc cuối cùng, hoặc nhiều hơn từ đầu tận cùng C, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 10-133, 20-133, 30-133, 10-130, 20-130, 30-130, 10-125, 20-125, 30-125, 1-130, hoặc 1-125, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến có mức tương đồng trình tự là khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến có mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể với IL-2R $\beta\gamma$ có khả năng mở rộng tế bào CD4⁺ T điều hòa (Treg). Theo một số phương án, gốc liên hợp làm suy yếu hoặc phong bế hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể của IL-2 với IL-2R $\beta\gamma$, hoặc làm giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β . Theo một số phương án, sự tăng sinh tế bào CD4⁺ Treg bởi phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ đã được cải biến là tương đương hoặc lớn hơn so với sự tăng sinh của polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ đã được

cải biến tạo ra sự tăng sinh của tế bào CD4⁺ Treg đối với quần thể là đủ để điều biến thời kỳ bệnh ở mô hình động vật. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến có hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất với IL-2R $\beta\gamma$ và hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai với IL-2R $\alpha\beta\gamma$, trong đó hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất là thấp hơn ít nhất 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 20 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 500 lần, 1000 lần, hoặc thấp hơn nữa so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai. Theo một số phương án, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất của polypeptit IL-2 đã được cải biến là thấp hơn so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể của polypeptit IL-2 tự nhiên với IL-2R $\beta\gamma$. Theo một số phương án, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai của polypeptit IL-2 đã được cải biến là thấp hơn so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể của polypeptit IL-2 tự nhiên với IL-2R $\alpha\beta\gamma$. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến còn tạo ra sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α vào polypeptit IL-2 dẫn đến sự hoạt hóa thụ thể interleukin 2 $\alpha\beta\gamma$ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$), trong đó sự tăng mức bổ sung này là so với mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α bởi polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến còn tạo ra sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β , trong đó sự giảm mức bổ sung này là so với mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R β và/hoặc tiểu đơn vị IL-2R γ bởi polypeptit IL-2 tự nhiên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit interleukin 2 (IL-2) đã được phân lập và cải biến bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên ở vị trí làm tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α vào polypeptit IL-2 dẫn đến sự hoạt hóa thụ thể interleukin 2 $\alpha\beta\gamma$ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$), trong đó sự tăng mức bổ sung này là so với mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α bởi polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, R81, P82, R83, D84, S87, N88, N89, V91, I92, L94, E95, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, T113, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với

SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, R81, D84, S87, N88, V91, I92, L94, E95, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, P82, R83, N89, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, và T113, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, L12, E15, H16, L19, D20, Q22, M23, N26, D84, N88, E95, và Q126, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, và H16, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ Q22, N26, N88, và Q126, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E15, D20, D84, và E95, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ L12, L19, và M23, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ Q22 và N26, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên: là chất tương tự lysin; là chất tương tự xystein hoặc chất tương tự histidin; bao gồm mạch bên thơm; bao gồm nhóm azido; bao gồm nhóm alkyn; hoặc bao gồm nhóm aldehyt hoặc keton. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên không bao gồm mạch bên thơm. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên bao gồm N6-azidoetoxy-L-lysin (AzK), N6-propargyletoxy-L-lysin (PraK), BCN-L-lysin, norbornen lysin, TCO-lysin, metyltetrazin lysin, alyloxycarbonyllysin, axit 2-

amino-8-oxononanoic, axit 2-amino-8-oxooctanoic, p-axetyl-L-phenylalanin, p-azidometyl-L-phenylalanin (pAMF), p-iodo-L-phenylalanin, m-axetylphenylalanin, axit 2-amino-8-oxononanoic, p-propargyloxyphenylalanin, p-propargyl-phenylalanin, 3-metyl-phenylalanin, L-Dopa, phenylalanin đã được flo hóa, isopropyl-L-phenylalanin, p-azido-L-phenylalanin, p-axyl-L-phenylalanin, p-benzoyl-L-phenylalanin, p-bromophenylalanin, p-amino-L-phenylalanin, isopropyl-L-phenylalanin, O-alyltyrosin, O-metyl-L-tyrosin, O-4-alyl-L-tyrosin, 4-propyl-L-tyrosin, phosphotyrosin, tri-O-axetyl-GlcNAcp-serin, L-phosphoserin, phosphoserin, L-3-(2-naphtyl)alanin, axit 2-amino-3-((2-((3-(benzyloxy)-3-oxopropyl)amino)etyl)selanyl)propanoic, axit 2-amino-3-(phenylselanyl)propanoic, hoặc selenoxystein. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên được đưa vào polypeptit IL-2 đã được cải biến bằng cặp ARN vận chuyển synthetaza/ARN vận chuyển trực giao. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao của cặp synthetaza/ARN vận chuyển trực giao bao gồm ít nhất một nucleobazơ không tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến được gắn cộng hóa trị với gốc liên hợp thông qua ít nhất một axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, gốc liên hợp bao gồm polyme hòa tan trong nước, lipid, protein, hoặc peptit. Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm polyetylen glycol (PEG), poly(propylen glycol) (PPG), copolyme của etylen glycol và propylen glycol, poly(polyol đã được oxyetyl hóa), poly(rượu olefin), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin (POZ), poly(N-acryloylmorpholin), hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm phân tử PEG. Theo một số phương án, phân tử PEG là PEG mạch thẳng. Theo một số phương án, phân tử PEG là PEG mạch nhánh. Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm polysacarit. Theo một số phương án, polysacarit bao gồm dextran, axit polysialic (PSA), axit hyaluronic (HA), amyloza, heparin, heparan sulfat (HS), dextrin, hoặc hydroxyetyl-tinh bột (HES). Theo một số phương án, lipid bao gồm axit béo. Theo một số phương án, axit béo chứa trong khoảng từ 6 đến

khoảng 26 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 24 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 22 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 20 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 18 nguyên tử cacbon, từ 20 đến khoảng 26 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 26 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 24 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 22 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 20 nguyên tử cacbon, hoặc từ khoảng 12 đến khoảng 18 nguyên tử cacbon. Theo một số phương án, axit béo là axit béo bão hòa. Theo một số phương án, protein bao gồm albumin, transferin, hoặc transthyretin. Theo một số phương án, protein bao gồm kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó. Theo một số phương án, kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó bao gồm phần Fc của kháng thể. Theo một số phương án, peptit bao gồm XTEN peptit, polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP), PAS polypeptit, polypeptit giống elastin (ELP), CTP peptit, hoặc polyme protein giống gelatin (GLK). Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn kết gián tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên của IL-2 đã được cải biến thông qua liên kết cầu nối. Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau, liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau, liên kết cầu nối có chiều dài bằng 0, liên kết cầu nối dipeptit có thể đứt gãy hoặc không đứt gãy, nhóm maleimit, đem nôi, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được phân lập và cải biến có mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể với IL-2R $\beta\gamma$, và mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1000 lần, hoặc nhiều hơn với IL-2R $\beta\gamma$ so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến là: mảnh có hoạt tính chức của polypeptit IL-2 có chiều dài đầy đủ; polypeptit IL-2 tái tổ hợp; hoặc polypeptit IL-2 của người tái tổ hợp. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N, khuyết đoạn đầu tận cùng C, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, khuyết đoạn đầu tận cùng N bao gồm khuyết 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, hoặc 30 gốc đầu tiên từ đầu tận cùng N, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, khuyết

đoạn đầu tận cùng C bao gồm khuyết 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20 gốc cuối cùng, hoặc nhiều hơn từ đầu tận cùng C, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 10-133, 20-133, 30-133, 10-130, 20-130, 30-130, 10-125, 20-125, 30-125, 1-130, hoặc 1-125, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến có mức tương đồng trình tự là khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến có mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể với IL-2R $\beta\gamma$ có khả năng mở rộng tế bào CD4⁺ T điều hòa (Treg). Theo một số phương án, gốc liên hợp làm suy yếu hoặc phong bế hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể của IL-2 với IL-2R $\beta\gamma$, hoặc làm giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β . Theo một số phương án, sự tăng sinh tế bào CD4⁺ Treg bởi phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ đã được cải biến là tương đương hoặc lớn hơn so với sự tăng sinh của polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ đã được cải biến tạo ra sự tăng sinh của tế bào CD4⁺ Treg đối với quần thể là đủ để điều biến thời kỳ bệnh ở mô hình động vật. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến có hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất với IL-2R $\beta\gamma$ và hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai với IL-2R $\alpha\beta\gamma$, trong đó hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất là thấp hơn ít nhất 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 20 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 500 lần, 1000 lần, hoặc thấp hơn so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai. Theo một số phương án, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất của polypeptit IL-2 đã được cải biến là thấp hơn so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể của polypeptit IL-2 tự nhiên với IL-2R $\beta\gamma$. Theo một số phương án, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai của polypeptit IL-2 đã được cải biến là thấp hơn so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể của polypeptit IL-2 tự nhiên với IL-2R $\alpha\beta\gamma$. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến còn tạo ra sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α vào polypeptit IL-2 dẫn đến sự hoạt hóa thụ thể interleukin 2 $\alpha\beta\gamma$ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$), trong đó sự tăng mức bổ sung này là so với mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α bởi polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã

được cải biến còn tạo ra sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β , trong đó sự giảm mức bổ sung này là so với mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R β và/hoặc tiểu đơn vị IL-2R γ bởi polypeptit IL-2 tự nhiên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit interleukin 2 (IL-2) đã được phân lập và cải biến bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên ở vị trí làm giảm gắn kết giữa polypeptit IL-2 đã được cải biến và thụ thể interleukin 2 $\beta\gamma$ (IL-2R $\beta\gamma$) hoặc làm giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β , nhưng không làm suy yếu sự hoạt hóa thụ thể interleukin 2 $\alpha\beta\gamma$ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$), trong đó sự giảm mức gắn kết này là so với mức gắn kết giữa polypeptit IL-2 tự nhiên và IL-2R $\beta\gamma$, và trong đó sự giảm mức bổ sung này là so với mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ bởi polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, R81, P82, R83, D84, S87, N88, N89, V91, I92, L94, E95, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, T113, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, R81, D84, S87, N88, V91, I92, L94, E95, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, P82, R83, N89, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, và T113, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, L12, E15, H16, L19, D20, Q22, M23, N26, D84, N88, E95, và Q126, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng

với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, và H16, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ Q22, N26, N88, và Q126, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E15, D20, D84, và E95, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ L12, L19, và M23, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ Q22 và N26, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên là ở Q22, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên là ở N26, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên: là chất tương tự lysin; là chất tương tự xystein hoặc chất tương tự histidin; bao gồm mạch bên thơm; bao gồm nhóm azido; hoặc bao gồm nhóm aldehyt hoặc keton. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên không bao gồm mạch bên thơm. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên bao gồm N6-azidoetoxy-L-lysin (AzK), N6-propargyletoxy-L-lysin (PraK), BCN-L-lysin, norbornen lysin, TCO-lysin, metyltetrazin lysin, alyloxycarbonyllysin, axit 2-amino-8-oxononanoic, axit 2-amino-8-oxooctanoic, p-axetyl-L-phenylalanin, p-azidometyl-L-phenylalanin (pAMF), p-iodo-L-phenylalanin, m-axetylphenylalanin, axit 2-amino-8-oxononanoic, p-propargyloxyphenylalanin, p-propargyl-phenylalanin, 3-metyl-phenylalanin, L-Dopa, phenylalanin đã được flo hóa, isopropyl-L-phenylalanin, p-azido-L-phenylalanin, p-axyl-L-phenylalanin, p-benzoyl-L-phenylalanin, p-bromophenylalanin, p-amino-L-phenylalanin, isopropyl-L-phenylalanin, O-alyltyrosin, O-metyl-L-tyrosin, O-4-alyl-L-tyrosin, 4-propyl-L-tyrosin, phosphonotyrosin, tri-O-axetyl-GlcNAcp-serin, L-phosphoserin, phosphoserin,

L-3-(2-naphtyl)alanin, axit 2-amino-3-((2-((3-(benzyloxy)-3-oxopropyl)amino)etyl)selanyl)propanoic, axit 2-amino-3-(phenylselanyl)propanoic, hoặc selenoxystein. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên được đưa vào polypeptit IL-2 đã được cải biến bằng cặp ARN vận chuyển synthetaza/ARN vận chuyển trực giao. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao của cặp synthetaza/ARN vận chuyển trực giao bao gồm ít nhất một nucleobazơ không tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến được gắn cộng hóa trị với gốc liên hợp thông qua ít nhất một axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, gốc liên hợp bao gồm polyme hòa tan trong nước, lipid, protein, hoặc peptit. Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm polyetylen glycol (PEG), poly(propylen glycol) (PPG), copolyme của etylen glycol và propylen glycol, poly(polyol đã được oxyetyl hóa), poly(rượu olefin), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin (POZ), poly(N-acryloylmorpholin), hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm phân tử PEG. Theo một số phương án, phân tử PEG là PEG mạch thẳng. Theo một số phương án, phân tử PEG là PEG mạch nhánh. Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm polysacarit. Theo một số phương án, polysacarit bao gồm dextran, axit polysialic (PSA), axit hyaluronic (HA), amyloza, heparin, heparan sulfat (HS), dextrin, hoặc hydroxyetyl-tinh bột (HES). Theo một số phương án, lipid bao gồm axit béo. Theo một số phương án, axit béo chứa trong khoảng từ 6 đến khoảng 26 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 24 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 22 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 20 nguyên tử cacbon, từ khoảng 6 đến khoảng 18 nguyên tử cacbon, từ 20 đến khoảng 26 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 26 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 24 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 22 nguyên tử cacbon, từ khoảng 12 đến khoảng 20 nguyên tử cacbon, hoặc từ khoảng 12 đến khoảng 18 nguyên tử cacbon. Theo một số phương án, axit béo là axit béo bão hòa. Theo một số phương án, protein bao gồm albumin, transferin, hoặc transthyretin. Theo một số phương án,

protein bao gồm kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó. Theo một số phương án, kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó bao gồm phần Fc của kháng thể. Theo một số phương án, peptit bao gồm XTEN peptit, polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP), PAS polypeptit, polypeptit giống elastin (ELP), CTP peptit, hoặc polyme protein giống gelatin (GLK). Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn kết gián tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên của IL-2 đã được cải biến thông qua liên kết cầu nối. Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau, liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau, liên kết cầu nối có chiều dài bằng 0, liên kết cầu nối dipeptit có thể đứt gãy hoặc không đứt gãy, nhóm maleimit, đêrơ, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, mức gắn kết giảm khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, hoặc cao hơn trong gắn kết với IL-2R $\beta\gamma$ so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, mức gắn kết giảm khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1.000 lần, hoặc cao hơn với IL-2R $\beta\gamma$ so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ giảm khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, hoặc cao hơn so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ giảm khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1.000 lần, hoặc cao hơn so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến là: mảnh có hoạt tính chức của polypeptit IL-2 có chiều dài đầy đủ; polypeptit IL-2 tái tổ hợp; hoặc polypeptit IL-2 của người tái tổ hợp. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N, khuyết đoạn đầu tận cùng C, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, khuyết đoạn đầu tận cùng N bao gồm khuyết 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, hoặc 30 gốc đầu tiên từ đầu tận cùng N, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, khuyết đoạn đầu tận cùng C bao gồm khuyết 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20 gốc cuối cùng, hoặc nhiều hơn từ đầu tận cùng C, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí

được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 10-133, 20-133, 30-133, 10-130, 20-130, 30-130, 10-125, 20-125, 30-125, 1-130, hoặc 1-125, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến có mức tương đồng trình tự là khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến với mức giảm ái lực gắn kết với IL-2R β γ có khả năng mở rộng tế bào CD4⁺ T điều hòa (Treg). Theo một số phương án, gốc liên hợp làm suy yếu hoặc phong bế sự gắn kết của IL-2 với IL-2R β γ, hoặc làm giảm mức bổ sung tiêu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β . Theo một số phương án, sự tăng sinh tế bào CD4⁺ Treg bởi phức hợp IL-2/IL-2R α βγ đã được cải biến là tương đương hoặc lớn hơn so với sự tăng sinh bởi polypeptit IL-2 tự nhiên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thể liên hợp interleukin 2 (IL-2) bao gồm: polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế; và gốc liên hợp gắn kết với polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế ở gốc axit amin được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, R81, P82, R83, D84, S87, N88, N89, V91, I92, L94, E95, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, T113, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, R81, D84, S87, N88, V91, I92, L94, E95, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, P82, R83, N89, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, và T113, trong

đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ K8, K9, L12, E15, H16, L19, D20, Q22, M23, N26, D84, N88, E95, và Q126, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí axit amin được chọn từ K8, K9, và H16. Theo một số phương án, vị trí axit amin được chọn từ Q22, N26, N88, và Q126. Theo một số phương án, vị trí axit amin được chọn từ E15, D20, D84, và E95. Theo một số phương án, vị trí axit amin được chọn từ L12, L19, M23, và F78. Theo một số phương án, vị trí axit amin được chọn từ Q22 và N26. Theo một số phương án, vị trí axit amin là ở Q22. Theo một số phương án, vị trí axit amin là ở N26. Theo một số phương án, gốc axit amin được chọn từ K8, K9, L12, E15, H16, L19, D20, Q22, M23, N26, F78, D84, N88, E95, và Q126 được gây đột biến tiếp thành lysin, xystein, hoặc histidin. Theo một số phương án, gốc axit amin được gây đột biến thành xystein. Theo một số phương án, gốc axit amin được gây đột biến thành lysin. Theo một số phương án, gốc axit amin được chọn từ K8, K9, L12, E15, H16, L19, D20, Q22, M23, N26, F78, D84, N88, E95, và Q126 được gây đột biến tiếp thành axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên bao gồm p-axetyl-L-phenylalanin, p-azidometyl-L-phenylalanin (pAMF), p-iodo-L-phenylalanin, O-metyl-L-tyrosin, p-propargyloxyphenylalanin, p-propargyl-phenylalanin, L-3-(2-naphtyl)alanin, 3-metyl-phenylalanin, O-4-alyl-L-tyrosin, 4-propyl-L-tyrosin, tri-O-axetyl-GlcNAcp-serin, L-Dopa, phenylalanin đã được flo hóa, isopropyl-L-phenylalanin, p-azido-L-phenylalanin, p-axyl-L-phenylalanin, p-benzoyl-L-phenylalanin, L-phosphoserin, phosphoserin, phosphonotyrosin, p-bromophenylalanin, p-amino-L-phenylalanin, hoặc isopropyl-L-phenylalanin. Theo một số phương án, gốc axit amin đã được gây đột biến bổ sung gắn kết với gốc liên hợp bổ sung. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 có ái lực giảm với tiểu đơn vị thụ thể IL-2 β (IL-2R β), tiểu đơn vị thụ thể IL-2 γ (IL-2R γ), hoặc hỗn hợp của chúng, so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, mức giảm ái lực gắn kết là khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, hoặc 60% với IL-2R β , IL-2R γ , hoặc hỗn hợp của chúng, so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, mức giảm ái lực là khoảng 1 lần,

2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, hoặc cao hơn so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, gốc liên hợp làm suy yếu hoặc phong bế sự gắn kết của IL-2 với IL-2R β , IL-2R γ , hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, gốc liên hợp điều biến xuôi chiều mức bổ sung mạch IL-R γ vào phức hợp mạch IL-2/IL-2R β đã được tạo ra. Theo một số phương án, gốc liên hợp kéo dài chu kỳ bán rã nội hấp polypeptit mà không ảnh hưởng đến ái lực của nó đối với các mạch α , β và γ của thụ thể IL-2. Theo một số phương án, gốc liên hợp bao gồm polyme hòa tan trong nước. Theo một số phương án, gốc liên hợp bổ sung bao gồm polyme hòa tan trong nước. Theo một số phương án, mỗi polyme hòa tan trong nước độc lập bao gồm polyetylen glycol (PEG), poly(propylen glycol) (PPG), copolyme của etylen glycol và propylen glycol, poly(polyol đã được oxyetyl hóa), poly(rượu olefin), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin (POZ), poly(N-acryloylmorpholin), hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, mỗi polyme hòa tan trong nước độc lập bao gồm PEG. Theo một số phương án, PEG là PEG mạch thẳng hoặc PEG mạch nhánh. Theo một số phương án, mỗi polyme hòa tan trong nước độc lập bao gồm polysacarit. Theo một số phương án, polysacarit bao gồm dextran, axit polysialic (PSA), axit hyaluronic (HA), amyloza, heparin, heparan sulfat (HS), dextrin, hoặc hydroxyetyl-tinh bột (HES). Theo một số phương án, mỗi polyme hòa tan trong nước độc lập bao gồm glycan. Theo một số phương án, mỗi polyme hòa tan trong nước độc lập bao gồm polyamin. Theo một số phương án, gốc liên hợp bao gồm protein. Theo một số phương án, gốc liên hợp bổ sung bao gồm protein. Theo một số phương án, mỗi protein độc lập bao gồm albumin, transferin, hoặc transthyretin. Theo một số phương án, mỗi protein độc lập bao gồm phần Fc. Theo một số phương án, mỗi protein độc lập bao gồm phần Fc của IgG. Theo một số phương án, gốc liên hợp bao gồm polypeptit. Theo một số phương án, gốc liên hợp bổ sung bao gồm polypeptit. Theo một số phương án, mỗi polypeptit độc lập bao gồm XTEN peptit, polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP), PAS polypeptit, polypeptit giống elastin (ELP), CTP peptit, hoặc polyme protein giống gelatin (GLK). Theo một số phương án,

polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế được cải biến bằng quá trình glutamin hóa. Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn kết trực tiếp với polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế. Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn kết gián tiếp với polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế thông qua liên kết cầu nối. Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau. Theo một số phương án, liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau bao gồm chất phản ứng Lomant dithiobis (succinimidylpropionat) DSP, 3,3'-dithiobis(sulfosuccinimidyl proprionat) (DTSSP), disuccinimidyl suberat (DSS), bis(sulfosuccinimidyl)suberat (BS), disuccinimidyl tartrat (DST), disulfosuccinimidyl tartrat (sulfo DST), etylen glycobis(succinimidylsuccinat) (EGS), disuccinimidyl glutarat (DSG), N,N'-disuccinimidyl carbonat (DSC), dimetyl adipimidat (DMA), dimetyl pimelimidat (DMP), dimetyl suberimidat (DMS), dimetyl-3,3'-dithiobispropionimidat (DTBP), 1,4-di-(3'-(2'-pyridyldithio)propionamido)butan (DPDPB), bismaleimidohexan (BMH), hợp chất chứa aryl halogenua (DFDNB) như, ví dụ, 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen hoặc 1,3-diflo-4,6-dinitrobenzen, 4,4'-diflo-3,3'-dinitrophenylsulfon (DFDNPS), bis-[β-(4-azidosalixylamido)etyl]disulfua (BASED), formaldehyt, glutaraldehyt, 1,4-butandiol diglyxidyl ete, dihydrazit của axit adipic, carbohydrazit, o-toluidin, 3,3'-dimetylbenzidin, benzidin, α,α'-p-diaminodiphenyl, axit diiodo-p-xylene sulfonic, N,N'-etylen-bis(iodoaxetamit), hoặc N,N'-hexametylen-bis(iodoaxetamit). Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau. Theo một số phương án, liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau bao gồm N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionat (sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionat mạch dài (LC-sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionat mạch dài hòa tan trong nước (sulfo-LC-sPDP), succinimidylloxycarbonyl-α-metyl-α-(2-pyridyldithio)toluen (sMPT), sulfosuccinimidyl-6-[α-metyl-α-(2-pyridyldithio)toluamido]hexanoat (sulfo-LC-sMPT), succinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (sMCC), sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (sulfo-sMCC), m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimit este (MBs), m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysulfosuccinimit

este (sulfo-MBs), N-succinimidyl(4-iodoaxetyl)aminobenzoat (sIAB),
 sulfosuccinimidyl(4-iodoaxetyl)aminobenzoat (sulfo-sIAB), succinimidyl-4-(p-
 maleimidophenyl)butyrat (sMPB), sulfosuccinimidyl-4-(p-
 maleimidophenyl)butyrat (sulfo-sMPB), N-(γ -maleimidobutyryloxy)succinimit
 este (GMB), N-(γ -maleimidobutyryloxy)sulfosuccinimit este (sulfo-GMB),
 succinimidyl 6-((iodoaxetyl)amino)hexanoat (sIAX), succinimidyl 6-[6-
 (((iodoaxetyl)amino)hexanoyl)amino]hexanoat (sIAXX), succinimidyl 4-
 (((iodoaxetyl)amino)metyl)xyclohexan-1-carboxylat (sIAC), succinimidyl 6-((((4-
 iodoaxetyl)amino)metyl)xyclohexan-1-carbonyl)amino) hexanoat (sIACX), p-
 nitrophenyl iodoaxetat (NPIA), liên kết cầu nối ngang phản ứng carbonyl và phản
 ứng sulfhydryl như hydrazit của axit 4-(4-N-maleimidophenyl)butyric (MPBH), 4-
 (N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxyl-hydrazit-8 (M_2C_2H), 3-(2-
 pyridyldithio)propionyl hydrazit (PDPH), axit N-hydroxysuccinimidyl-4-
 azidosalixylic (NHs-AsA), axit N-hydroxysulfosuccinimidyl-4-azidosalixylic
 (sulfo-NHs-AsA), sulfosuccinimidyl-(4-azidosalixylamido)hexanoat (sulfo-NHs-
 LC-AsA), sulfosuccinimidyl-2-(p-azidosalixylamido)etyl-1,3'-dithiopropionat
 (sAsD), N-hydroxysuccinimidyl-4-azidobenzoat (HsAB), N-
 hydroxysulfosuccinimidyl-4-azidobenzoat (sulfo-HsAB), N-succinimidyl-6-(4'-
 azido-2'-nitrophenylamino)hexanoat (sANPAH), sulfosuccinimidyl-6-(4'-azido-2'-
 nitrophenylamino)hexanoat (sulfo-sANPAH), N-5-azido-2-
 nitrobenzoyloxysuccinimit (ANB-NOs), sulfosuccinimidyl-2-(m-azido-o-
 nitrobenzamido)-etyl-1,3'-dithiopropionat (sAND), N-succinimidyl-4(4-
 azidophenyl)1,3'-dithiopropionat (sADP), N-sulfosuccinimidyl(4-azidophenyl)-
 1,3'-dithiopropionat (sulfo-sADP), sulfosuccinimidyl 4-(p-azidophenyl)butyrat
 (sulfo-sAPB), sulfosuccinimidyl 2-(7-azido-4-metylcoumarin-3-axetamit)etyl-1,3'-
 dithiopropionat (sAED), sulfosuccinimidyl 7-azido-4-metylcoumain-3-axetat
 (sulfo-sAMCA), p-nitrophenyl diazopyruvat (pNPDP), p-nitrophenyl-2-diazo-
 3,3,3-triflopropionat (PNP-DTP), 1-(p-Azidosalixylamido)-4-
 (iodoaxetamido)butan (AsIB), N-[4-(p-azidosalixylamido)butyl]-3'-(2'-
 pyridyldithio)propionamit (APDP), benzophenon-4-iodoaxetamit, p-azidobenzoyl

hydrazit (ABH), 4-(*p*-azidosalixylamido)butylamin (AsBA), hoặc *p*-azidophenyl glyoxal (APG). Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối dễ bị đứt gãy, tùy ý bao gồm liên kết cầu nối dipeptit. Theo một số phương án, liên kết cầu nối dipeptit bao gồm Val-Cit, Phe-Lys, Val-Ala, hoặc Val-Lys. Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối không bị đứt gãy. Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm nhóm maleimit, tùy ý bao gồm maleimidocaproyl (mc), succinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (sMCC), hoặc sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (sulfo-sMCC). Theo một số phương án, liên kết cầu nối còn bao gồm đệm nối. Theo một số phương án, đệm nối này bao gồm rượu *p*-aminobenzyl (PAB), *p*-aminobenzyloxycarbonyl (PABC), dẫn xuất, hoặc chất tương tự chúng. Theo một số phương án, gốc liên hợp có thể kéo dài chu kỳ bán rã huyết thanh của thể liên hợp IL-2. Theo một số phương án, gốc liên hợp bổ sung có thể kéo dài chu kỳ bán rã huyết thanh của thể liên hợp IL-2.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thể liên hợp interleukin 2 (IL-2) bao gồm: polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế; và gốc liên hợp; trong đó thể liên hợp IL-2 có ái lực giảm với tiểu đơn vị thụ thể IL-2 β (IL-2R β), tiểu đơn vị thụ thể IL-2 γ (IL-2R γ), hoặc hỗn hợp của chúng, so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn kết với gốc axit amin mà tương tác với IL-2R β hoặc IL-2R γ . Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn kết với gốc axit amin được chọn từ K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, R81, D84, S87, N88, V91, I92, L94, E95, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, gốc liên hợp bao gồm polyme hòa tan trong nước. Theo một số phương án, gốc liên hợp bổ sung bao gồm polyme hòa tan trong nước. Theo một số phương án, mỗi polyme hòa tan trong nước độc lập bao gồm polyetylen glycol (PEG), poly(propylen glycol) (PPG), copolyme của etylen glycol và propylen glycol, poly(polyol đã được oxyetyl hóa), poly(rượu olefin), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu

vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin (POZ), poly(N-acryloylmorpholin), hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, mỗi polyme hòa tan trong nước độc lập bao gồm PEG. Theo một số phương án, PEG là PEG mạch thẳng hoặc PEG mạch nhánh. Theo một số phương án, mỗi polyme hòa tan trong nước độc lập bao gồm polysacarit. Theo một số phương án, polysacarit bao gồm dextran, axit polysialic (PSA), axit hyaluronic (HA), amyloza, heparin, heparan sulfat (HS), dextrin, hoặc hydroxyetyl-tinh bột (HES). Theo một số phương án, mỗi polyme hòa tan trong nước độc lập bao gồm glycan. Theo một số phương án, mỗi polyme hòa tan trong nước độc lập bao gồm polyamin. Theo một số phương án, gốc liên hợp bao gồm protein. Theo một số phương án, gốc liên hợp bổ sung bao gồm protein. Theo một số phương án, mỗi protein độc lập bao gồm albumin, transferin, hoặc transthyretin. Theo một số phương án, mỗi protein độc lập bao gồm phần Fc. Theo một số phương án, mỗi protein độc lập bao gồm phần Fc của IgG. Theo một số phương án, gốc liên hợp bao gồm polypeptit. Theo một số phương án, gốc liên hợp bổ sung bao gồm polypeptit. Theo một số phương án, mỗi polypeptit độc lập bao gồm XTEN peptit, polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP), PAS polypeptit, polypeptit giống elastin (ELP), CTP peptit, hoặc polyme protein giống gelatin (GLK). Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế được cải biến bằng quá trình glutamin hóa. Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn kết trực tiếp với polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế. Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn kết gián tiếp với polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế thông qua liên kết cầu nối. Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau. Theo một số phương án, liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau bao gồm chất phản ứng Lomant dithiobis (succinimidylpropionat) DSP, 3'3'-dithiobis(sulfosuccinimidyl propionat) (DTSSP), disuccinimidyl suberat (DSS), bis(sulfosuccinimidyl)suberat (BS), disuccinimidyl tartrat (DST), disulfosuccinimidyl tartrat (sulfo DST), etylen glycobis(succinimidylsuccinat) (EGS), disuccinimidyl glutarat (DSG), N,N'-disuccinimidyl carbonat (DSC), dimetyl adipimidat (DMA), dimetyl pimelimidat (DMP), dimetyl suberimidat (DMS), dimetyl-3,3'-dithiobispropionimidat (DTBP), 1,4-di-(3'-(2'-

pyridyldithio)propionamido)butan (DPDPB), bismaleimidohexan (BMH), hợp chất chứa aryl halogenua (DFDNB) như, ví dụ, 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen hoặc 1,3-diflo-4,6-dinitrobenzen, 4,4'-diflo-3,3'-dinitrophenylsulfon (DFDNPS), bis-[β -(4-azidosalixylamido)etyl]disulfua (BASED), formaldehyt, glutaraldehyt, 1,4-butandiol diglyxydyl ete, dihydrazit của axit adipic, carbohydrazit, o-toluidin, 3,3'-dimetylbenzidin, benzidin, α,α' -p-diaminodiphenyl, axit diiodo-p-xylen sulfonic, N,N'-etylen-bis(iodoaxetamid), hoặc N,N'-hexametylen-bis(iodoaxetamid). Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau. Theo một số phương án, liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau bao gồm N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionat (sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionat mạch dài (LC-sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionat mạch dài hòa tan trong nước (sulfo-LC-sPDP), succinimidylloxycarbonyl- α -metyl- α -(2-pyridyldithio)toluen (sMPT), sulfosuccinimidyl-6-[α -metyl- α -(2-pyridyldithio)toluamido]hexanoat (sulfo-LC-sMPT), succinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (sMCC), sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (sulfo-sMCC), m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimit este (MBs), m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysulfosuccinimit este (sulfo-MBs), N-succinimidyl(4-iodoacteyl)aminobenzoat (sIAB), sulfosuccinimidyl(4-iodoacteyl)aminobenzoat (sulfo-sIAB), succinimidyl-4-(p-maleimidophenyl)butyrat (sMPB), sulfosuccinimidyl-4-(p-maleimidophenyl)butyrat (sulfo-sMPB), N-(γ -maleimidobutyryloxy)succinimit este (GMB), N-(γ -maleimidobutyryloxy)sulfosuccinimit este (sulfo-GMB), succinimidyl 6-((iodoaxetyl)amino)hexanoat (sIAX), succinimidyl 6-[6-(((iodoaxetyl)amino)hexanoyl)amino]hexanoat (sIAXX), succinimidyl 4-(((iodoaxetyl)amino)metyl)xyclohexan-1-carboxylat (sIAC), succinimidyl 6-((((4-iodoaxetyl)amino)metyl)xyclohexan-1-carbonyl)amino) hexanoat (sIACX), p-nitrophenyl iodoaxetat (NPIA), liên kết cầu nối ngang phản ứng carbonyl và phản ứng sulfhydryl như hydrazit của axit 4-(4-N-maleimidophenyl)butyric (MPBH), 4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxyl-hydrazit-8 (M_2C_2H), 3-(2-pyridyldithio)propionyl hydrazit (PDPH), axit N-hydroxysuccinimidyl-4-

azidosalixylic (NHs-AsA), axit N-hydroxysulfosuccinimidyl-4-azidosalixylic (sulfo-NHs-AsA), sulfosuccinimidyl-(4-azidosalixylamido)hexanoat (sulfo-NHs-LC-AsA), sulfosuccinimidyl-2-(p-azidosalixylamido)etyl-1,3'-dithiopropionat (sAsD), N-hydroxysuccinimidyl-4-azidobenzoat (HsAB), N-hydroxysulfosuccinimidyl-4-azidobenzoat (sulfo-HsAB), N-succinimidyl-6-(4'-azido-2'-nitrophenylamino)hexanoat (sANPAH), sulfosuccinimidyl-6-(4'-azido-2'-nitrophenylamino)hexanoat (sulfo-sANPAH), N-5-azido-2-nitrobenzoyloxysuccinimit (ANB-NOs), sulfosuccinimidyl-2-(m-azido-o-nitrobenzamido)-etyl-1,3'-dithiopropionat (sAND), N-succinimidyl-4-(4-azidophenyl)1,3'-dithiopropionat (sADP), N-sulfosuccinimidyl(4-azidophenyl)-1,3'-dithiopropionat (sulfo-sADP), sulfosuccinimidyl 4-(p-azidophenyl)butyrat (sulfo-sAPB), sulfosuccinimidyl 2-(7-azido-4-methylcoumarin-3-axetamit)etyl-1,3'-dithiopropionat (sAED), sulfosuccinimidyl 7-azido-4-methylcoumain-3-axetat (sulfo-sAMCA), p-nitrophenyl diazopyruvat (pNPDP), p-nitrophenyl-2-diazo-3,3,3-triflopropionat (PNP-DTP), 1-(p-Azidosalixylamido)-4-(iodoaxetamido)butan (AsIB), N-[4-(p-azidosalixylamido)butyl]-3'-(2'-pyridyldithio)propionamit (APDP), benzophenon-4-iodoaxetamit, p-azidobenzoyl hydrazit (ABH), 4-(p-azidosalixylamido)butylamin (AsBA), hoặc p-azidophenyl glyoxal (APG). Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối dễ bị đứt gãy, tùy ý bao gồm liên kết cầu nối dipeptit. Theo một số phương án, liên kết cầu nối dipeptit bao gồm Val-Cit, Phe-Lys, Val-Ala, hoặc Val-Lys. Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối không bị đứt gãy. Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm nhóm maleimit, tùy ý bao gồm maleimidocaproyl (mc), succinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (sMCC), hoặc sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (sulfo-sMCC). Theo một số phương án, liên kết cầu nối còn bao gồm đệm nối. Theo một số phương án, đệm nối này bao gồm *rượu p-aminobenzyl* (PAB), *p-aminobenzyloxycarbonyl* (PABC), dẫn xuất, hoặc chất tương tự chúng. Theo một số phương án, gốc liên hợp có thể kéo dài chu kỳ bán rã huyết thanh của thể liên hợp

IL-2. Theo một số phương án, gốc liên hợp bổ sung có thể kéo dài chu kỳ bán rã huyết thanh của thể liên hợp IL-2.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất được phẩm chứa: thể liên hợp IL-2 được mô tả trên đây; và tá được được dụng. Theo một số phương án, được phẩm được bào chế để dùng ngoài đường tiêu hóa.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh tự miễn hoặc rối loạn ở đối tượng cần điều trị bệnh này, bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh của thể liên hợp IL-2 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, bệnh hoặc rối loạn tự miễn bao gồm bệnh rụng tóc từng vùng, bệnh thiếu tán huyết tự miễn, bệnh gan tự miễn, bệnh viêm bì cơ, bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh viêm khớp thiếu niên vô căn, bệnh viêm màng lọc thận, bệnh Graves, hội chứng Guillain-Barré, chứng xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn, bệnh nhược cơ, bệnh đa xơ cứng, bệnh bóng nước/bệnh da bóng nước, bệnh thiếu máu ác tính, bệnh viêm đa động mạch nút, bệnh viêm đa cơ, bệnh xơ gan ứ mật nguyên phát, bệnh vẩy nến, bệnh phong thấp, bệnh xơ cứng bì, hội chứng Sjögren, bệnh lupus ban đỏ hệ thống, bệnh viêm tuyến giáp, bệnh viêm màng bồ đào, bệnh bạch biến, hoặc bệnh u hạt Wegener. Theo một số phương án, phương pháp còn bao gồm bước dùng tác nhân trị liệu bổ sung. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 và tác nhân trị liệu bổ sung được dùng đồng thời. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 và tác nhân trị liệu bổ sung được dùng lần lượt. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 được dùng trước tác nhân trị liệu bổ sung. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 được dùng sau khi dùng tác nhân trị liệu bổ sung. Theo một số phương án, đối tượng là người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp mở rộng quần thể tế bào T điều hòa (Treg), bao gồm: (a) cho tế bào tiếp xúc với thể liên hợp IL-2 được mô tả trên đây; và (b) cho thể liên hợp IL-2 tương tác với các tiểu đơn vị IL-2R α , IL-2R β , và IL-2R γ để tạo ra phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$; trong đó thể liên hợp IL-2 có ái lực giảm với các tiểu đơn vị IL-2R β và/hoặc IL-2R γ , hoặc điều biến xuôi chiều mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β , hoặc vẫn giữ được hiệu lực tương tự như IL-2 ở các tiểu đơn vị thụ thể α , β và γ của nó, nhưng kéo dài chu

kỳ bán rã của nó, và trong đó phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ kích thích sự mở rộng của tế bào Treg tương tự hoặc mạnh hơn so với IL-2 nguyên thể.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kit chứa thể liên hợp IL-2 được mô tả trên đây; hoặc được phẩm chứa thể liên hợp IL-2 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, sáng chế cũng đề xuất kit chứa phân tử axit polynucleic mã hóa polypeptit IL-2 được mô tả trên đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các dấu hiệu mới theo sáng chế được nêu với tính riêng biệt trong các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo. Việc hiểu rõ hơn về các dấu hiệu và ưu điểm theo sáng chế sẽ thu được dựa vào phần mô tả chi tiết sau nêu trong các phương án minh họa, trong đó các nguyên lý theo sáng chế được sử dụng, và các hình vẽ kèm theo trong đó:

Fig. 1 thể hiện axit amin không tự nhiên được lấy làm ví dụ. Hình này được điều chỉnh từ Fig. 2 của Young *et al.*, “Beyond the canonical 20 amino acids: expanding the genetic lexicon,” *J. of Biological Chemistry* **285**(15): 11039-11044 (2010).

Fig. 2A-Fig. 2B minh họa axit amin không tự nhiên được lấy làm ví dụ. Fig 2A minh họa dẫn xuất lysin được lấy làm ví dụ. Fig. 2B minh họa dẫn xuất phenylalanin được lấy làm ví dụ.

Fig. 3A-Fig. 3D minh họa axit amin không tự nhiên được lấy làm ví dụ. Các axit amin không tự nhiên (UAA) này đã được mã hóa về mặt di truyền trong protein (Fig. 3A – UAA #1-42; Fig. 3B - UAA # 43-89; Fig. 3C – UAA # 90-128; Fig. 3D – UAA # 129-167). Figs. 3A-3D được điều chỉnh từ Bảng 1 của Dumas *et al.*, *Chemical Science* 2015, **6**, 50-69.

Fig. 4A-Fig. 4B thể hiện đường cong đáp ứng liều lượng của biến thể IL-2 được lấy làm ví dụ để truyền tín hiệu pSTAT5 ở tế bào sơ cấp LRS của người (Fig. 4A) và đáp ứng tăng sinh ở quần thể CTLL-2 chuột nhắt (Fig. 4B).

Fig. 5 thể hiện profin PK đã được tăng cường của phân tử IL-2 K35_30kD ở hai nồng độ khác nhau.

Mô tả chi tiết sáng chế

Xytokin bao gồm họ protein truyền tín hiệu tế bào như chemokin, interferon, interleukin, lymphokin, yếu tố hoại tử khối u, và các yếu tố sinh trưởng khác đóng vai trò trong tính nội cân bằng miễn dịch thích nghi và bẩm sinh. Xytokin được tạo ra bằng các tế bào miễn dịch như đại thực bào, lympho bào B, lympho bào T và dưỡng bào, tế bào nội mô, nguyên bào sợi, và tế bào dạ dày biệt hóa. Trong một số trường hợp, xytokin điều biến sự cân bằng giữa các đáp ứng miễn dịch trên cơ sở dịch thể và tế bào.

Interleukin là protein truyền tín hiệu điều biến sự phát triển và sự biệt hóa của lympho bào T và B, tế bào dòng đơn nhân, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái kiềm, bạch cầu ái toan, tế bào nhân khổng lồ, và tế bào tạo máu. Interleukin được tạo ra bằng lympho bào T và B CD4 trợ giúp, bạch cầu đơn nhân, đại thực bào, tế bào nội mô, và các gốc mô khác. Trong một số trường hợp, có khoảng 15 interleukin, interleukin 1-13, interleukin 15, và interleukin 17.

Interleukin 2 (IL-2) là xytokin typ 1 đa hướng có cấu trúc bao gồm một bó bốn mạch xoắn ốc α -helix 15,5 kDa. Dạng tiền thân của IL-2 có chiều dài 153 gốc axit amin, với 20 axit amin đầu tiên tạo ra peptit tín hiệu và gốc 21-153 tạo ra dạng trưởng thành. IL-2 cơ bản được tạo ra bằng sự kích thích sau kháng nguyên tế bào T CD4⁺ và ở mức độ thấp hơn, bằng tế bào CD8⁺, tế bào giết tự nhiên (NK), và NK T (NKT) tế bào, hoạt hóa tế bào tua (DC), và dưỡng bào. Sự truyền tín hiệu IL-2 xảy ra nhờ sự tương tác với các tổ hợp đặc hiệu của các tiểu đơn vị thụ thể IL-2 (IL-2R), IL-2R α (còn được gọi là CD25), IL-2R β (còn được gọi là CD122), và IL-2R γ (còn được gọi là CD132). Tương tác của IL-2 với IL-2R α tạo ra phức hợp thụ thể IL-2 “ái lực thấp” với K_d là khoảng 10^{-8} M. Tương tác của IL-2 với IL-2R β và IL-2R γ tạo ra phức hợp thụ thể IL-2 “ái lực trung bình” với K_d là khoảng 10^{-9} M. Tương tác của IL-2 với tất cả ba tiểu đơn vị, IL-2R α , IL-2R β , và IL-2R γ , tạo ra phức hợp thụ thể IL-2 “ái lực cao” với K_d là khoảng $>10^{-11}$ M.

Trong một số trường hợp, sự truyền tín hiệu IL-2 qua phức hợp IL-2R $\alpha\beta\gamma$ “ái lực cao” điều biến sự hoạt hóa và sự tăng sinh của tế bào T điều hòa. Tế bào T điều hòa, hoặc tế bào T điều hòa CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ (Treg) tạo ra sự duy trì của tính nội

cân bằng miễn dịch bằng cách ức chế tế bào hiệu ứng như tế bào T CD8⁺, các tế bào trợ giúp như CD4⁺ Th1, Th2, và tế bào Th17, tế bào B, tế bào NK, và tế bào T NK. Trong một số trường hợp, tế bào Treg được sinh ra từ tuyến ức (tế bào tTreg) hoặc được tạo ra từ tế bào T nguyên thể ở ngoại vi (tế bào pTreg). Trong một số trường hợp, tế bào Treg được xem là chất tạo ra sự dung nạp ngoại vi. Thực vậy, trong một nghiên cứu, sự chuyển dịch của tế bào T CD4⁺ ngoại vi tiêu CD25 tạo ra sự đa dạng của các bệnh tự miễn ở chuột nhắt trụi lông, trong khi sự chuyển dịch đồng thời của tế bào T CD4⁺CD25⁺ đã ức chế sự phát triển của tính tự miễn (Sakaguchi, *et al.*, “Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25),” *J. Immunol.* 155(3): 1151-1164 (1995)). Sự gia tăng của quần thể tế bào Treg điều hòa dưới sự tăng sinh tế bào hiệu ứng T và ức chế tính tự miễn và đáp ứng kháng khối u tế bào T.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều hòa trên có chọn lọc (các) quần thể lympho bào khác biệt (ví dụ, tế bào T điều hòa) thông qua sự truyền tín hiệu thụ thể xytokin/xytokin. Trong một số trường hợp, xytokin bao gồm interleukin. Trong một số trường hợp, xytokin là thể liên hợp xytokin, ví dụ, thể liên hợp interleukin, thể liên hợp interferon, hoặc thể liên hợp yếu tố hoại tử khối u. Trong các trường hợp bổ sung, sáng chế đề xuất được phẩm và kit chứa một hoặc nhiều thể liên hợp xytokin được đề cập trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều hòa trên có chọn lọc quần thể Treg thông qua sự truyền tín hiệu IL-2/IL-2R. Trong một số trường hợp, IL-2 là thể liên hợp IL-2 có sự tương tác IL-2R β và IL-2R γ yếu trong phức hợp IL-2R $\alpha\beta\gamma$ so với IL-2 tự nhiên, hoặc điều biến xuôi chiều mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β , hoặc vẫn giữ được hiệu lực tương tự như IL-2 ở các tiểu đơn vị thụ thể α , β và γ của nó, nhưng kéo dài chu kỳ bán rã của nó. Theo một số phương án, sáng chế mô tả tiếp phương pháp điều trị bệnh tự miễn bằng việc sử dụng thể liên hợp IL-2 được đề cập trong bản mô tả này. Theo các phương án bổ sung, sáng chế đề xuất được phẩm và kit chứa một hoặc nhiều thể liên hợp IL-2 được đề cập trong bản mô tả này.

Thẻ liên hợp xytokin

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thẻ liên hợp xytokin. Trong một số trường hợp, xytokin bao gồm interleukin, yếu tố hoại tử khối u, interferon, chemokin, hoặc lymphokin. Trong một số trường hợp, xytokin là interleukin. Trong một số trường hợp, xytokin là interferon. Trong các trường hợp bổ sung, xytokin là yếu tố hoại tử khối u.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thẻ liên hợp interleukin. Interleukin được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, interleukin 1 β (IL-1 β), interleukin 2 (IL-2), interleukin 7 (IL-7), interleukin 10 (IL-10), interleukin 12 (IL-12), interleukin 15 (IL-15), interleukin 18 (IL-18), và interleukin 21 (IL-21). Trong một số trường hợp, sáng chế đề xuất thẻ liên hợp interleukin, trong đó interleukin được chọn từ IL-1 β , IL-2, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, và IL-21.

Thẻ liên hợp IL-2

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thẻ liên hợp IL-2 đã cải biến ở vị trí axit amin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 là polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 là IL-2 của động vật có vú, ví dụ, IL-2 protein của loài gặm nhấm, hoặc IL-2 protein của người. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 là IL-2 protein của người. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 có mức tương đồng trình tự là khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 cấu thành bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong các trường hợp bổ sung, polypeptit IL-2 có mức tương đồng trình tự là khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 2. Trong các trường hợp bổ sung, polypeptit IL-2 bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2. Trong các trường hợp bổ sung, polypeptit IL-2 cấu thành bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 là biến thể đã được cắt cụt. Trong một số trường hợp, sự cắt cụt là khuyết đoạn đầu tận cùng N. Trong các trường hợp

khác, sự cắt cụt là khuyết đoạn đầu tận cùng C. Trong các trường hợp bổ sung, sự cắt cụt bao gồm cả các khuyết đoạn đầu tận cùng C và đầu tận cùng N. Ví dụ, sự cắt cụt có thể là khuyết ít nhất hoặc khoảng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20 gốc, hoặc nhiều hơn từ hoặc đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C, hoặc cả hai đầu tận cùng. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20 gốc, hoặc nhiều hơn. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, hoặc 10 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 2 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 3 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 4 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 5 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 6 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 7 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 8 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 9 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 bao gồm khuyết đoạn đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 10 gốc.

Theo một số phương án, polypeptit IL-2 là mảnh có hoạt tính chức. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 10-133, 20-133, 30-133, 10-130, 20-130, 30-130, 10-125, 20-125, 30-125, 1-130, hoặc 1-125, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 10-133, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 20-133, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 30-133, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí

được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 10-125, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 20-125, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 1-130, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức bao gồm vùng IL-2 1-125, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 được đề cập trong bản mô tả này bao gồm polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế và gốc liên hợp có ái lực giảm với tiểu đơn vị thụ thể IL-2 β (IL-2R β), tiểu đơn vị thụ thể IL-2 γ (IL-2R γ), hoặc hỗn hợp của chúng, so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 có mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β giảm, so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được gắn kết với gốc axit amin mà tương tác với IL-2R β (ví dụ, ở bề mặt chung IL-2/IL-2R β), với IL-2R γ (ví dụ, ở bề mặt chung IL-2/IL-2R β), hoặc hỗn hợp của chúng. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được gắn kết với gốc axit amin là gần với bề mặt chung IL-2/IL-2R β , IL-2/IL-2R β , hoặc IL-2R $\beta\gamma$. Trong một số trường hợp, gốc axit amin cách khoảng 5Å, khoảng 10Å, khoảng 15Å, hoặc khoảng 20Å từ bề mặt chung IL-2/IL-2R β , bề mặt chung IL-2/IL-2R β , hoặc bề mặt chung IL-2R $\beta\gamma$. Như được sử dụng ở đây, gốc của IL-2 liên quan đến bề mặt chung IL-2/IL-2R β , bề mặt chung IL-2/IL-2R β , hoặc bề mặt chung IL-2R $\beta\gamma$ bao gồm gốc IL-2 tạo ra tương tác kỵ nước, liên kết hydro, hoặc tương tác ion với gốc từ tiểu đơn vị IL-2R β , tiểu đơn vị IL-2R γ , hoặc gốc ở bề mặt chung IL-2R $\beta\gamma$.

Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được gắn kết với gốc axit amin được chọn từ vị trí axit amin P2, T3, S4, S5, S6, T7, K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, R81, P82, R83, D84, S87, N88, N89, V91, I92, L94, E95, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112,

T113, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, R81, D84, S87, N88, V91, I92, L94, E95, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, P82, R83, N89, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, và T113. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ K8, K9, L12, E15, H16, L19, D20, Q22, M23, N26, D84, N88, E95, và Q126. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ K8, K9, và H16. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ Q22, N26, N88, và Q126. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ E15, D20, D84, và E95. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ L12, L19, và M23. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ Q22 và N26. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở K8. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở K9. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở Q11. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở L12. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở E15. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở H16. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở L18. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở L19. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở D20. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở Q22. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở M23. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở N26. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở R81. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở D84. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở S87. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở N88. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở V91. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở I92. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở L94. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở E95. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở E116. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở N119. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở R120. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở T123.

Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở A125. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở Q126. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở S127. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở S130. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở T131. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở L132. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin là ở T133.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 còn bao gồm đột biến bổ sung. Trong các trường hợp như vậy, axit amin được liên hợp với gốc liên hợp bổ sung để làm tăng chu kỳ bán rã huyết thanh, độ ổn định, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo cách khác, axit amin được gây đột biến trước tiên với axit amin tự nhiên như lysin, xystein, histidin, arginin, axit aspartic, axit glutamic, serin, threonin, hoặc tyrosin; hoặc với axit amin không tự nhiên trước khi gắn kết với gốc liên hợp bổ sung.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 có mức giảm ái lực gắn kết với tiểu đơn vị thụ thể IL-2 β (IL-2R β), tiểu đơn vị thụ thể IL-2 γ (IL-2R γ), hoặc hỗn hợp của chúng, của phức hợp IL-2R $\alpha\beta\gamma$, so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực của thể liên hợp IL-2 với tiểu đơn vị thụ thể IL-2 β (IL-2R β), tiểu đơn vị thụ thể IL-2 γ (IL-2R γ), hoặc hỗn hợp của chúng, so với polypeptit IL-2 tự nhiên, là khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, hoặc lớn hơn 99%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 10%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 20%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 40%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 50%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 60%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 80%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 90%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 99%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là lớn hơn 99%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 80%. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 100%.

Theo một số phương án, mức giảm ái lực gắn kết của thể liên hợp IL-2 với tiểu đơn vị thụ thể IL-2 β (IL-2R β), tiểu đơn vị thụ thể IL-2 γ (IL-2R γ), hoặc hỗn hợp của chúng, so với polypeptit IL-2 tự nhiên, là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần,

500 lần, 1.000 lần, hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 1 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 2 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 4 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 5 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 6 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 8 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 10 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 30 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 50 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 100 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 300 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 500 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là khoảng 1000 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm ái lực là lớn hơn 1.000 lần.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 có sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β . Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung này là so với mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ bởi polypeptit IL-2 tương đương mà không có axit amin không tự nhiên (ví dụ, polypeptit IL-2 tự nhiên). Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, hoặc lớn hơn 99% so với polypeptit IL-2 tương đương mà không có sự cải biến axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 10%. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 20%. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 40%. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 50%. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 60%. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 70%. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 80%. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 90%. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 99%. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là lớn hơn 99%. Trong một số

trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 100%. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 còn có sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α .

Theo một số phương án, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1.000 lần, hoặc lớn hơn so với polypeptit IL-2 tương đương mà không có sự cải biến axit amin không tự nhiên (ví dụ, polypeptit IL-2 tự nhiên). Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 1 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 2 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 4 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 5 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 6 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 8 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 10 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 30 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 50 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 100 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 300 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 500 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là khoảng 1.000 lần. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ là lớn hơn 1.000 lần. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 còn có sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α .

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 có sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α vào polypeptit IL-2. Trong một số trường hợp, sự giảm mức bổ sung này là so với mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α bởi polypeptit IL-2 tương đương mà không có axit amin không tự nhiên (ví dụ, polypeptit IL-2 tự nhiên). Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, hoặc lớn hơn 99% so với polypeptit IL-2 tương đương mà không có sự cải biến axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp,

sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 10%. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 20%. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 40%. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 50%. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 60%. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 70%. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 80%. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 90%. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 99%. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là lớn hơn 99%. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 100%. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 còn có sự giảm mức bổ sung của tiểu đơn vị IL-2R β và/hoặc tiểu đơn vị IL-2R γ .

Theo một số phương án, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1.000 lần, hoặc lớn hơn so với polypeptit IL-2 tương đương mà không có sự cải biến axit amin không tự nhiên (ví dụ, polypeptit IL-2 tự nhiên). Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 1 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 2 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 4 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 5 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 6 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 8 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 10 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 30 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 50 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 100 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 300 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α là khoảng 500 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiểu đơn

vị IL-2R α là khoảng 1.000 lần. Trong một số trường hợp, sự tăng mức bổ sung tiêu đơn vị IL-2R α là lớn hơn 1.000 lần. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 còn có sự giảm mức bổ sung của tiêu đơn vị IL-2R β và/hoặc tiêu đơn vị IL-2R γ .

Theo một số phương án, polypeptit IL-2 được đề cập trong bản mô tả này có mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể với IL-2R $\beta\gamma$. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1000 lần, hoặc lớn hơn với IL-2R $\beta\gamma$ so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 2 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 5 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 10 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 20 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 30 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 40 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 50 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 100 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 200 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 300 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 400 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 500 lần. Trong một số trường hợp, mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là khoảng 1.000 lần.

Trong một số trường hợp, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể được đo bằng giá trị EC50. Trong một số trường hợp, sự giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là sự tăng EC50. Trong một số trường hợp, mức tăng EC50 là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1.000 lần, hoặc lớn hơn so với polypeptit IL-2 tự nhiên.

Trong một số trường hợp, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể được đo bằng giá trị ED50. Trong một số trường hợp, sự giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể là sự tăng ED50. Trong một số trường hợp, mức tăng ED50 là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần,

5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1.000 lần, hoặc lớn hơn so với polypeptit IL-2 tự nhiên.

Theo một số phương án, polypeptit IL-2 được đề cập trong bản mô tả này có cửa sổ trị liệu đã được mở rộng so với cửa sổ trị liệu của polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong một số trường hợp, cửa sổ trị liệu đã được mở rộng là do sự giảm mức gắn kết giữa polypeptit IL-2 và thụ thể interleukin 2 $\beta\gamma$ (IL-2R $\beta\gamma$), sự giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể đến IL-2R $\beta\gamma$, sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β , hoặc sự giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R α vào polypeptit IL-2. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 không có sự hoạt hóa thụ thể interleukin 2 $\alpha\beta\gamma$ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$) suy giảm.

Theo một số phương án, polypeptit IL-2 đã được cải biến có hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất với phức hợp truyền tín hiệu IL-2 $\beta\gamma$ và hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai với phức hợp truyền tín hiệu IL-2 $\alpha\beta\gamma$, và trong đó sự sai khác giữa hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất và hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai là ít nhất 1 lần. Trong một số trường hợp, sự sai khác là ít nhất 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 20 lần, 30 lần, 40 lần, 50 lần, 60 lần, 70 lần, 80 lần, 90 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1.000 lần, hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất thấp hơn hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai. Trong một số trường hợp, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất là thấp hơn ít nhất 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 20 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, 500 lần, 1.000 lần, hoặc thấp hơn so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 đã được cải biến có hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể đến phức hợp truyền tín hiệu IL-2 $\beta\gamma$ thấp hơn so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai với phức hợp truyền tín hiệu IL-2 $\alpha\beta\gamma$. Trong một số trường hợp, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất của polypeptit IL-2 đã được cải biến là thấp hơn ít nhất 1 lần so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể của polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong một số trường hợp, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất của polypeptit IL-2 đã được cải biến là thấp hơn ít nhất 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 10 lần, 20 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, hoặc 500 lần so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể của polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong một số trường

hợp, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất và hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai đều thấp hơn so với các hiệu lực tương ứng của polypeptit IL-2 tự nhiên, nhưng hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất là thấp hơn so với hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai. Trong một số trường hợp, sự sai khác giữa hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ nhất và hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể thứ hai làm tăng cửa sổ trị liệu đối với polypeptit IL-2 đã được cải biến.

Theo một số phương án, gốc liên hợp được liên kết với đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của polypeptit IL-2, hoặc trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua liên kết cầu nối peptit. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp (ví dụ, polyme, protein, hoặc peptit) được dung hợp về mặt di truyền với IL-2, ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của IL-2, và hoặc trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua liên kết cầu nối peptit. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được liên kết với đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C gốc axit amin. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được liên kết với nhóm phản ứng được gắn kết với gốc axit amin ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 18 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, hoặc cao hơn. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, hoặc cao hơn. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 1 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 2 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 3 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 4 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 5 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 6 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 7 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 8 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 9 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ

bán rã huyết tương là lớn hơn 10 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 12 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 18 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là lớn hơn 24 giờ.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 15 giờ, 18 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, hoặc cao hơn. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 15 giờ, 18 giờ, 24 giờ, hoặc cao hơn. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 1 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 2 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 3 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 4 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 5 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 6 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 7 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 8 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 9 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 10 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 12 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 18 giờ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là ít nhất 24 giờ.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là nằm trong khoảng từ 1 giờ đến khoảng 7 ngày, từ khoảng 12 giờ đến khoảng 7 ngày, từ khoảng 18 giờ đến khoảng 7 ngày, từ khoảng 24 giờ đến khoảng 7 ngày, từ khoảng 1 giờ đến khoảng 5 ngày, từ khoảng 12 giờ đến khoảng 5 ngày, từ khoảng

24 giờ đến khoảng 5 ngày, từ khoảng 2 ngày đến khoảng 5 ngày, hoặc từ khoảng 2 ngày đến khoảng 3 ngày.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương là nằm trong khoảng từ 1 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 1 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 2 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 2 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 8 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 8 giờ đến khoảng 12 giờ, hoặc từ khoảng 8 giờ đến khoảng 10 giờ.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương có khả năng tăng sinh và/hoặc mở rộng tế bào Treg nhưng không gây ra hiệu ứng độc như sự gây chết theo chương trình.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương đã được kéo dài, ví dụ, ít nhất là 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 15 giờ, 18 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, hoặc cao hơn so với IL-2 tự nhiên.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương đã được kéo dài, ví dụ, từ khoảng 1 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 1 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 2 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 2 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 8 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 8 giờ đến khoảng 12 giờ, hoặc từ khoảng 8 giờ đến khoảng 10 giờ so với IL-2 tự nhiên.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương đã được kéo dài với độc tính giảm. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương đã được kéo dài là ít nhất 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 15 giờ, 18 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày,

4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, hoặc cao hơn với độc tính giảm. Trong một số trường hợp, thẻ liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương đã được kéo dài là ít nhất 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 15 giờ, 18 giờ, 24 giờ, hoặc cao hơn với độc tính giảm. Trong một số trường hợp, thẻ liên hợp IL-2 bao gồm chu kỳ bán rã huyết tương đã được kéo dài là nằm trong khoảng từ 1 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 1 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 2 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 2 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 8 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 8 giờ đến khoảng 12 giờ, hoặc từ khoảng 8 giờ đến khoảng 10 giờ với độc tính giảm. Trong một số trường hợp, độc tính giảm là ít nhất 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 20 lần, 30 lần, 50 lần, 100 lần, hoặc cao hơn so với IL2 tự nhiên. Trong một số trường hợp, độc tính giảm là ít nhất 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, hoặc cao hơn so với IL-2 tự nhiên.

Theo một số phương án, thẻ liên hợp IL-2 bao gồm gốc liên hợp trong đó kích cỡ (ví dụ, thể tích hoặc chiều dài) của gốc liên hợp tăng cường độ ổn định huyết tương nhưng không làm giảm hiệu lực. Trong một số trường hợp, kích cỡ của gốc liên hợp kéo dài chu kỳ bán rã huyết tương ít nhất là 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 15 giờ, 18 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, hoặc cao hơn. Trong một số trường hợp, kích cỡ của gốc liên hợp kéo dài chu kỳ bán rã huyết tương ít nhất là 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 15 giờ, 18 giờ, 24 giờ, hoặc cao hơn. Trong một số trường hợp, kích cỡ của gốc liên hợp kéo dài chu kỳ bán rã huyết tương từ khoảng 1 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 1 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 2 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 2 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 6 giờ đến

khoảng 8 giờ, từ khoảng 8 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 8 giờ đến khoảng 12 giờ, hoặc từ khoảng 8 giờ đến khoảng 10 giờ. Trong một số trường hợp, kích cỡ của gốc liên hợp làm giảm hiệu lực thấp hơn 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, hoặc thấp hơn so với IL-2 tự nhiên.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-2 bao gồm gốc liên hợp trong đó kích cỡ (ví dụ, thể tích hoặc chiều dài) của gốc liên hợp tăng cường độ ổn định huyết tương và hiệu lực. Trong một số trường hợp, kích cỡ của gốc liên hợp kéo dài chu kỳ bán rã huyết tương ít nhất là 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 15 giờ, 18 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, hoặc cao hơn. Trong một số trường hợp, kích cỡ của gốc liên hợp kéo dài chu kỳ bán rã huyết tương ít nhất là 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 15 giờ, 18 giờ, 24 giờ, hoặc cao hơn. Trong một số trường hợp, kích cỡ của gốc liên hợp kéo dài chu kỳ bán rã huyết tương từ khoảng 1 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 1 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 2 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 2 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 4 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 12 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 10 giờ, từ khoảng 6 giờ đến khoảng 8 giờ, từ khoảng 8 giờ đến khoảng 18 giờ, từ khoảng 8 giờ đến khoảng 12 giờ, hoặc từ khoảng 8 giờ đến khoảng 10 giờ. Trong một số trường hợp, kích cỡ của gốc liên hợp tăng cường hơn nữa hiệu lực cao hơn 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, hoặc cao hơn so với IL-2 tự nhiên.

Trong một số trường hợp, gốc liên hợp làm suy yếu hoặc phong bế hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể của IL-2 với IL-2R $\beta\gamma$, hoặc làm giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β .

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 đã được cải biến có mức giảm hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể với IL-2R $\beta\gamma$ có khả năng mở rộng tế bào CD4⁺ T điều hòa (Treg).

Theo một số phương án, sự tăng sinh tế bào CD4⁺ Treg bởi phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ đã được cải biến là tương đương hoặc lớn hơn so với sự tăng sinh của polypeptit IL-2 tự nhiên.

Theo một số phương án, phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ tạo ra sự tăng sinh của tế bào CD4⁺ Treg đối với quần thể là đủ để điều biến thời kỳ bệnh ở mô hình động vật.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất protein gắn kết thụ thể interleukin 2 $\alpha\beta\gamma$ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$), trong đó hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể đối với thụ thể interleukin 2 $\beta\gamma$ (IL-2R $\beta\gamma$) của protein gắn kết này thấp hơn hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể IL-2 (hIL-2) tự nhiên của người, và trong đó protein gắn kết này bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, protein gắn kết này là polypeptit IL-2 đã được cải biến hoặc mảnh có hoạt tính chức của nó, trong đó polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất protein gắn kết thụ thể interleukin 2 $\alpha\beta\gamma$ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$), trong đó mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β bằng protein gắn kết này thấp hơn so với mức bổ sung của IL-2 (hIL-2) tự nhiên của người, và trong đó protein gắn kết này bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, protein gắn kết này là polypeptit IL-2 đã được cải biến hoặc mảnh có hoạt tính chức của nó, trong đó polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất protein gắn kết thụ thể interleukin 2 $\alpha\beta\gamma$ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$), trong đó ái lực gắn kết đối với thụ thể interleukin 2 $\beta\gamma$ (IL-2R $\beta\gamma$) của protein gắn kết này thấp hơn so với ái lực gắn kết của IL-2 (hIL-2) tự nhiên của người, và trong đó protein gắn kết này bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên. Trong các trường hợp như vậy, protein gắn kết này là polypeptit IL-2 đã được cải biến hoặc mảnh có hoạt tính chức của nó, trong đó polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ bao gồm polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm axit amin không tự nhiên và IL-2R $\alpha\beta\gamma$, trong đó polypeptit IL-2 đã được cải biến có hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể giảm với IL-2R $\beta\gamma$, và trong đó hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể đã được giảm so với ái lực

gắn kết giữa polypeptit IL-2 tự nhiên và IL-2R $\beta\gamma$. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 đã được cải biến còn bao gồm gốc liên hợp gắn đồng hóa trị với axit amin không tự nhiên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ bao gồm polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm axit amin không tự nhiên và IL-2R $\alpha\beta\gamma$, trong đó mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β bằng polypeptit IL-2 đã được cải biến này thấp hơn so với mức bổ sung của polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 đã được cải biến còn bao gồm gốc liên hợp gắn đồng hóa trị với axit amin không tự nhiên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ bao gồm polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm axit amin không tự nhiên và IL-2R $\alpha\beta\gamma$, trong đó polypeptit IL-2 đã được cải biến có ái lực gắn kết với IL-2R $\beta\gamma$ giảm, và trong đó ái lực gắn kết đã được giảm so với ái lực gắn kết giữa polypeptit IL-2 tự nhiên và IL-2R $\beta\gamma$. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ bao gồm polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm axit amin không tự nhiên và IL-2R $\alpha\beta\gamma$, trong đó mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β bằng polypeptit IL-2 đã được cải biến này thấp hơn so với mức bổ sung của polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 đã được cải biến còn bao gồm gốc liên hợp gắn đồng hóa trị với axit amin không tự nhiên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất chất hoạt hóa tế bào CD4⁺ Treg mở rộng có chọn lọc tế bào CD4⁺ Treg trong quần thể tế bào, trong đó chất hoạt hóa này bao gồm polypeptit IL-2 đã được cải biến bao gồm ít nhất một axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, chất hoạt hóa này mở rộng tế bào hiệu ứng T CD8⁺ và/hoặc tế bào giết tự nhiên là thấp hơn 20%, 15%, 10%, 5%, 1%, hoặc 0,1% trong quần thể tế bào CD3⁺ khi chất hoạt hóa này đang tiếp xúc với quần thể tế bào CD3⁺ này, so với sự mở rộng của tế bào hiệu ứng T CD8⁺ và/hoặc tế bào giết tự nhiên trong quần thể tế bào CD3⁺ được tiếp xúc bởi polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong một số trường hợp, quần thể tế bào này là quần thể tế bào *in vivo*. Trong một số trường hợp, quần thể tế bào này là quần thể tế bào *in vitro*. Trong một số trường hợp, quần thể tế bào này là quần thể tế bào *ex vivo*.

Thể liên hợp IL-10

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thể liên hợp IL-10 đã cải biến ở vị trí axit amin. IL-10, còn được gọi là yếu tố ức chế sự tổng hợp xytokin của người hoặc CSIF, là xytokin điều biến miễn dịch hạn chế đáp ứng viêm đối với các nguồn bệnh nhưng cũng đã được xác định là xytokin kháng khối u do hoạt tính kích thích miễn dịch đối với tế bào T CD8. IL-10 điều hòa xuôi chiều sự biểu hiện của Th1 xytokin, kháng nguyên MHC lớp II, và các phân tử đồng kích thích đối với đại thực bào, và tăng cường hơn nữa sự sống sót, sự tăng sinh tế bào B, và sự sản xuất kháng thể. Ngoài ra, IL-10 có thể kích thích tăng sinh của tế bào tuyến ức và tính gây độc tế bào của tế bào T CD8. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-10 bao gồm IL-10 polypeptit đã được phân lập và tinh chế và gốc liên hợp. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-10 có ái lực giảm với thụ thể IL-10 so với IL-10 polypeptit tự nhiên. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được gắn kết với gốc axit amin mà tương tác với thụ thể IL-10 (ví dụ, ở bề mặt chung IL-10/IL-10R). Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được gắn kết với gốc axit amin là gần với bề mặt chung IL-10/IL-10R (ví dụ, cách khoảng 5Å, khoảng 10Å, khoảng 15Å, hoặc khoảng 20Å từ bề mặt chung IL-10/IL-10R). Như được sử dụng ở đây, gốc liên quan đến bề mặt chung IL-10/IL-10R bao gồm gốc IL-10 tạo ra tương tác kỵ nước, liên kết hydro, hoặc tương tác ion với gốc từ IL-10R. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được liên kết với đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của IL-10 polypeptit, hoặc trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua liên kết cầu nối peptit. Trong các trường hợp bổ sung, gốc liên hợp điều biến tương tác giữa IL-10 và IL-10R để tăng cường hoạt tính ức chế miễn dịch của nó và làm giảm hoạt tính kích thích miễn dịch của nó. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-10 điều hòa trên (các) quần thể lympho bào khác biệt thông qua sự truyền tín hiệu IL-10/IL-10R. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-10 điều biến hoạt tính miễn dịch.

Thể liên hợp xytokin bổ sung

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất một hoặc nhiều thể liên hợp xytokin bổ sung đã cải biến ở vị trí axit amin. Xytokin được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, IL-1 β , IL-7, IL-12, IL-15, IL-18, và IL-21. Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin bao gồm xytokin polypeptit đã được phân lập và tinh chế và gốc liên hợp. Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin có ái lực giảm với thụ thể tương ứng của nó so với xytokin tự nhiên. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được gắn kết với gốc axit amin là gần với bề mặt chung của thụ thể (ví dụ, cách khoảng 5Å, khoảng 10Å, khoảng 15Å, hoặc khoảng 20Å từ bề mặt chung của thụ thể). Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được liên kết với đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của xytokin polypeptit, hoặc trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua liên kết cầu nối peptit. Trong các trường hợp bổ sung, gốc liên hợp điều biến tương tác giữa xytokin và thụ thể của nó để tăng cường hoạt tính ức chế miễn dịch của nó và làm giảm hoạt tính kích thích miễn dịch của nó. Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin điều hòa trên (các) quần thể lympho bào khác biệt thông qua sự truyền tín hiệu thụ thể của nó. Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin điều biến hoạt tính miễn dịch.

Tiền chất của thể liên hợp xytokin

Sáng chế mô tả tiền chất của thể liên hợp xytokin, bao gồm xytokin đột biến (như IL-2), trong đó một hoặc nhiều axit amin đã được gây đột biến từ axit amin tự nhiên. Các tiền chất như vậy thường được sử dụng với các phương pháp được đề cập trong bản mô tả này để điều trị các bệnh hoặc tình trạng bệnh. Theo một số phương án, tiền chất xytokin không được liên hợp. Các đột biến như vậy bao gồm các bổ sung, các khuyết đoạn, hoặc các thay thế khác nhau. Theo một số phương án, đột biến bao gồm sự thay thế với axit amin tự nhiên khác nhau. Trong một số trường hợp, xytokin đột biến bao gồm đột biến ở vị trí axit amin P2, T3, S4, S5, S6, T7, K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, R81, P82, R83, D84, S87, N88, N89, V91, I92, L94, E95, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108,

D109, E110, T111, A112, T113, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, R81, D84, S87, N88, V91, I92, L94, E95, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, P82, R83, N89, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, và T113. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ K8, K9, L12, E15, H16, L19, D20, Q22, M23, N26, D84, N88, E95, và Q126. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ K8, K9, và H16. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ Q22, N26, N88, và Q126. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ E15, D20, D84, và E95. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ L12, L19, và M23. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ Q22 và N26. Theo một số phương án, thể đột biến xytokin bao gồm gốc liên hợp, trong đó gốc liên hợp này được gắn với vị trí đột biến trong xytokin đột biến.

Thể dung hợp protein hoặc peptit

Theo một số phương án, thể liên hợp xytokin được đề cập trong bản mô tả này bao gồm xytokin (ví dụ, IL-2, hoặc các xytokin khác) được dung hợp với peptit hoặc protein (sự dung hợp). Theo một số phương án, peptit hoặc protein là kháng thể hoặc mảnh kháng thể. Theo một số phương án, thể liên hợp xytokin được đề cập trong bản mô tả này bao gồm xytokin (ví dụ, IL-2, hoặc các xytokin khác) được dung hợp với kháng thể, hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó. Theo một số phương án, xytokin được đề cập trong bản mô tả này được dung hợp với nhiều protein hoặc peptit. Theo một số phương án, thể liên hợp xytokin bao gồm xytokin dung hợp với protein hoặc peptit, và ít nhất một gốc liên hợp. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó bao gồm kháng thể đã được làm giống như

kháng thể của người hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể của chuột hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể khảm hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh gắn kết của nó, Fab' hóa trị một, Fab₂ hóa trị hai, các mảnh F(ab)'₃, mảnh biến đổi mạch đơn (scFv), bis-scFv, (scFv)₂, diabody, minibody, nanobody, triabody, tetrabody, humabody, protein Fv đã được làm ổn định disulfua (dsFv), kháng thể miền đơn (sdAb), Ig NAR, kháng thể của lạc đà hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể đặc hiệu kép hoặc mảnh gắn kết của nó, hoặc dẫn xuất đã được cải biến hóa học của nó. Các protein dung hợp như vậy trong một số trường hợp được tạo ra trực tiếp thông qua quá trình dịch mã. Theo một số phương án, các thể dung hợp được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp hóa học hoặc nối bằng enzym khác. Theo một số phương án, thể liên hợp xytokin bao gồm peptit hoặc protein đã được dung hợp được gắn bằng liên kết cầu nối. Theo một số phương án, liên kết cầu nối là peptit. Theo một số phương án, thể liên hợp xytokin bao gồm thể dung hợp peptit hoặc protein đầu tận cùng N. Theo một số phương án, thể liên hợp xytokin bao gồm thể dung hợp peptit hoặc protein đầu tận cùng C. Trong một số trường hợp, xytokin được dung hợp với peptit hoặc protein được liên hợp tiếp với một hoặc nhiều gốc liên hợp được mô tả dưới đây.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin bao gồm thể dung hợp với thể dung hợp scFv, bis-scFv, (scFv)₂, dsFv, hoặc sdAb. Trong một số trường hợp, thể dung hợp bao gồm scFv. Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin bao gồm thể dung hợp với bis-scFv. Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin bao gồm thể dung hợp với (scFv)₂. Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin bao gồm thể dung hợp với dsFv. Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin bao gồm thể dung hợp với sdAb. Trong một số trường hợp, xytokin được dung hợp với scFv, bis-scFv, (scFv)₂, dsFv, hoặc sdAb được liên hợp tiếp với một hoặc nhiều gốc liên hợp được mô tả dưới đây.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin bao gồm thể dung hợp với phần Fc của kháng thể, ví dụ, của IgG, IgA, IgM, IgE, hoặc IgD. Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin bao gồm thể dung hợp với phần Fc của IgG (ví dụ, IgG₁,

IgG₃, hoặc IgG₄). Trong một số trường hợp, xytokin được dung hợp với phần Fc được liên hợp tiếp với một hoặc nhiều gốc liên hợp được mô tả dưới đây.

Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được dung hợp với kháng thể, hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó. Trong một số trường hợp, xytokin polypeptit được dung hợp với kháng thể đã được làm giống như kháng thể của người hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể của chuột hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể khảm hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh gắn kết của nó, Fab' hóa trị một, Fab₂ hóa trị hai, các mảnh F(ab)'₃, mảnh biến đổi mạch đơn (scFv), bis-scFv, (scFv)₂, diabody, minibody, nanobody, triabody, tetrabody, humabody, protein Fv đã được làm ổn định disulfua (dsFv), kháng thể miền đơn (sdAb), Ig NAR, kháng thể của lạc đà hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể đặc hiệu kép hoặc mảnh gắn kết của nó, hoặc dẫn xuất đã được cải biến hóa học của nó. Trong các trường hợp bổ sung, xytokin polypeptit được dung hợp với phần Fc của kháng thể. Trong các trường hợp bổ sung, xytokin polypeptit được dung hợp với phần Fc của IgG (ví dụ, IgG₁, IgG₃, hoặc IgG₄). Trong một số trường hợp, xytokin được dung hợp với kháng thể, hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó được liên hợp tiếp với một hoặc nhiều gốc liên hợp được mô tả dưới đây.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được dung hợp với kháng thể, hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được dung hợp với kháng thể đã được làm giống như kháng thể của người hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể của chuột hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể khảm hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh gắn kết của nó, Fab' hóa trị một, Fab₂ hóa trị hai, các mảnh F(ab)'₃, mảnh biến đổi mạch đơn (scFv), bis-scFv, (scFv)₂, diabody, minibody, nanobody, triabody, tetrabody, humabody, protein Fv đã được làm ổn định disulfua (dsFv), kháng thể miền đơn (sdAb), Ig NAR, kháng thể của lạc đà hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể đặc hiệu kép hoặc mảnh gắn kết của nó, hoặc dẫn xuất đã được cải biến hóa học của nó. Trong các trường hợp bổ sung, polypeptit IL-2 được dung hợp với phần Fc của kháng thể. Trong các trường hợp bổ sung, polypeptit IL-2 được dung hợp với phần Fc của IgG

(ví dụ, IgG₁, IgG₃, hoặc IgG₄). Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó được dung hợp với polypeptit IL-2 sẽ không cản trở gắn kết của polypeptit IL-2 với IL-2R $\beta\gamma$. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó được dung hợp với polypeptit IL-2 phong bế một phần gắn kết của polypeptit IL-2 với IL-2R $\beta\gamma$. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được dung hợp với kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó được liên hợp tiếp với một hoặc nhiều gốc liên hợp được mô tả dưới đây.

Axit amin tự nhiên và axit amin không tự nhiên

Theo một số phương án, gốc axit amin được đề cập trong bản mô tả này (ví dụ, trong xytokin như IL-2) được gây đột biến thành lysin, xystein, histidin, arginin, axit aspartic, axit glutamic, serin, threonin, hoặc tyrosin trước khi gắn kết với (hoặc phản ứng với) gốc liên hợp. Ví dụ, mạch bên của lysin, xystein, histidin, arginin, axit aspartic, axit glutamic, serin, threonin, hoặc tyrosin có thể gắn kết với gốc liên hợp được đề cập trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được gây đột biến thành xystein, lysin, hoặc histidin. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được gây đột biến thành xystein. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được gây đột biến thành lysin. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được gây đột biến thành histidin. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được gây đột biến thành tyrosin. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được gây đột biến thành tryptophan. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên không được liên hợp với gốc liên hợp. Theo một số phương án, xytokin được đề cập trong bản mô tả này bao gồm axit amin không tự nhiên, trong đó xytokin được liên hợp với protein, trong đó điểm gắn không phải là axit amin không tự nhiên.

Theo một số phương án, gốc axit amin được đề cập trong bản mô tả này (ví dụ, trong xytokin như IL-2) được gây đột biến thành axit amin không tự nhiên trước khi gắn kết với gốc liên hợp. Trong một số trường hợp, đột biến thành axit amin không tự nhiên ngăn ngừa hoặc làm giảm đến mức tối thiểu đáp ứng tự kháng nguyên của hệ miễn dịch. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "axit amin không tự nhiên" dùng để chỉ axit amin ngoài 20 axit amin xảy ra trong tự nhiên trong protein. Các ví dụ

không giới hạn phạm vi của sáng chế về axit amin không tự nhiên bao gồm: p-axetyl-L-phenylalanin, p-iodo-L-phenylalanin, p-metoxypheylalanin, O-metyl-L-tyrosin, p-propargyloxyphenylalanin, p-propargyl-phenylalanin, L-3-(2-naphtyl)alanin, 3-metyl-phenylalanin, O-4-allyl-L-tyrosin, 4-propyl-L-tyrosin, tri-O-axetyl-GlcNAcp-serin, L-Dopa, phenylalanin đã được flo hóa, isopropyl-L-phenylalanin, p-azido-L-phenylalanin, p-axyl-L-phenylalanin, p-benzoyl-L-phenylalanin, p-Boronophenylalanin, O-propargyltyrosin, L-phosphoserin, phosphoserin, phosphotyrosin, p-bromophenylalanin, selenoxystein, p-amino-L-phenylalanin, isopropyl-L-phenylalanin, azido-lysin (AzK), chất tương tự không tự nhiên của axit amin tyrosin; chất tương tự không tự nhiên của axit amin glutamin; chất tương tự không tự nhiên của axit amin phenylalanin; chất tương tự không tự nhiên của axit amin serin; chất tương tự không tự nhiên của axit amin threonin; alkyl, aryl, axyl, azido, xyano, halo, hydrazin, hydrazit, hydroxyl, alkenyl, alkynyl, ete, thiol, sulfonyl, seleno, este, thioaxit, borat, boronat, phospho, phosphono, phosphin, dị vòng, enon, imin, aldehyt, hydroxylamin, keto, hoặc axit amin được thế amino, hoặc hỗn hợp của chúng; axit amin với liên kết cầu nối ngang có thể hoạt hóa quang; axit amin dán nhãn quay; axit amin huỳnh quang; axit amin gắn kết kim loại; axit amin chứa kim loại; axit amin phóng xạ; axit amin tạo lồng quang học và/hoặc đồng phân quang học; axit amin chứa biotin hoặc chất tương tự biotin; axit amin chứa keto; axit amin bao gồm polyetylen glycol hoặc polyete; axit amin được thế nguyên tử nặng; axit amin có thể đứt gãy bằng hóa chất hoặc ánh sáng; axit amin với mạch bên kéo dài; axit amin chứa nhóm độc tố; axit amin được thế đường; axit amin chứa đường được liên kết cacbon; axit amin có hoạt tính oxy hóa khử; axit chứa α -hydroxy; axit amin thio; axit amin được thế hai lần α , α ; β -axit amin; axit amin vòng ngoài prolin hoặc histidin, và axit amin thơm ngoài phenylalanin, tyrosin hoặc tryptophan.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm phản ứng chọn lọc, hoặc nhóm phản ứng để dán nhãn chọn lọc vị trí polypeptit đích. Trong một số trường hợp, phản ứng hóa học là phản ứng hai chiều (ví dụ, các phản ứng tương thích sinh học và chọn lọc). Trong một số trường hợp, phản ứng hóa học là phản ứng được xúc tác Cu(I) hoặc tạo ra alkyn-azit triazol “không chứa đồng”, phản

ứng nối Staudinger, phản ứng ngược nhu cầu điện tử Diels-Alder (IEDDA), phản ứng “hóa ảnh”, hoặc quy trình qua trung gian kim loại như phản ứng hoán vị olefin và ngẫu hợp chéo Suzuki-Miyaura hoặc Sonogashira.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm phản ứng quang, tạo liên kết chéo, khi chiếu xạ với, ví dụ, UV.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên bao gồm axit amin tạo lồng quang học.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất axit amin được thế ở vị trí para, meta, hoặc ortho.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm p-acetyl-L-phenylalanin, p-iodo-L-phenylalanin, O-metyl-L-tyrosin, p-metoxypheylalanin, p-propargyloxyphenylalanin, p-propargyl-phenylalanin, L-3-(2-naphtyl)alanin, 3-metyl-phenylalanin, O-4-allyl-L-tyrosin, 4-propyl-L-tyrosin, tri-O-acetyl-GlcNAc-p-serin, L-Dopa, phenylalanin đã được flo hóa, isopropyl-L-phenylalanin, p-azido-L-phenylalanin, p-axyl-L-phenylalanin, p-benzoyl-L-phenylalanin, L-phosphoserin, phosphoserin, phosphotyrosin, p-bromophenylalanin, p-amino-L-phenylalanin, hoặc isopropyl-L-phenylalanin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là 3-aminotyrosin, 3-nitrotyrosin, 3,4-dihydroxy-phenylalanin, hoặc 3-iodotyrosin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là phenylselenoxystein.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là benzophenon, keton, iodia, metoxy, axetyl, benzoyl, hoặc azit chứa dẫn xuất phenylalanin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin chứa benzophenon, keton, iodia, metoxy, axetyl, benzoyl, hoặc azit.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm mạch bên thơm.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên không bao gồm mạch bên thơm.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm azido.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm nhận Michael. Trong một số trường hợp, nhóm nhận Michael bao gồm gốc chưa bão hòa

có khả năng tạo ra liên kết cộng hóa trị thông qua phản ứng cộng 1,2. Trong một số trường hợp, nhóm nhận Michael bao gồm alken hoặc alkyn thiếu hụt điện tử. Trong một số trường hợp, nhóm nhận Michael bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, alpha, beta chưa bão hòa: keton, aldehyt, sulfoxit, sulfon, nitril, imin, hoặc thiom.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dehydroalanin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm aldehyt hoặc keton.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin bao gồm nhóm aldehyt hoặc keton.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin bao gồm một hoặc nhiều nguyên tử O, N, Se, hoặc S ở vị trí beta, gama, hoặc delta. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin bao gồm nguyên tử O, N, Se, hoặc S ở vị trí gama.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin trong đó nguyên tử epsilon N được thay thế bằng nguyên tử oxy.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin không phải là lysin được cải biến sau dịch mã xảy ra trong tự nhiên.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit amin bao gồm mạch bên, trong đó nguyên tử thứ sáu từ vị trí alpha bao gồm nhóm carbonyl. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit amin bao gồm mạch bên, trong đó nguyên tử thứ sáu từ vị trí alpha bao gồm nhóm carbonyl, và nguyên tử thứ năm từ vị trí alpha là nitơ. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit amin bao gồm mạch bên, trong đó nguyên tử thứ bảy từ vị trí alpha là nguyên tử oxy.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất serin bao gồm seleni. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là selenoserin (axit 2-amino-3-hydroselenopropanoic). Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-3-((2-((3-(benzyloxy)-3-oxopropyl)amino)ethyl)selanyl)propanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-3-(phenylselanyl)propanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao

gồm seleni, trong đó quá trình oxy hóa seleni dẫn đến sự tạo thành axit amin không tự nhiên bao gồm alken.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm xyclooctynyl.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm transxycloctenyl.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm norbornenyl.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm xyclopropenyl.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm diazirin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm nhóm tetrazin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin, trong đó nitơ mạch bên được carbamyl hóa. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin, trong đó nitơ mạch bên được axyl hóa. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-[[[(tert-butoxy)carbonyl]amino}hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-[[[(tert-butoxy)carbonyl]amino}hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-Boc-N6-metyllysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-axetyllysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là pyrolysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-trifloaxetyllysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-[[[(benzyloxy)carbonyl]amino}hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-[[[(p-iodobenzyloxy)carbonyl]amino}hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-[[[(p-nitrobenzyloxy)carbonyl]amino}hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-prolyllysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-[[[(xyclopentyloxy)carbonyl]amino}hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(xyclopentancarbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit

amin không tự nhiên là N6-(tetrahydrofuran-2-carbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(3-etylnyltetrahydrofuran-2-carbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((prop-2-yn-1-yloxy)carbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-{{(2-azidoxyclopentyloxy)carbonyl}amino}hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((2-azidoetoxy)carbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-{{(2-nitrobenzyloxy)carbonyl}amino}hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-{{(2-xyclooctynyloxy)carbonyl}amino}hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(2-aminobut-3-ynoyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-((2-aminobut-3-ynoyl)oxy)hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(alyloxycarbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(butenyl-4-oxycarbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(pentenyl-5-oxycarbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((but-3-yn-1-yloxy)carbonyl)-lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((pent-4-yn-1-yloxy)carbonyl)-lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(thiazolidin-4-carbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-8-oxononanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-8-oxooctanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(2-oxoaxetyl)lysin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-propionyllysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-butyryllysin, trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(but-2-enoyl)lysin, trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((bixyclo[2,2,1]hept-5-en-2-yloxy)carbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((spiro[2,3]hex-1-en-5-ylmetoxy)carbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(((4-(1-(triflometyl)xycloprop-2-en-1-yl)benzyl)oxy)carbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((bixyclo[2,2,1]hept-5-en-2-ylmetoxy)carbonyl)lysin. Trong một số trường

hợp, axit amin không tự nhiên là xysteinyllysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((1-(6-nitrobenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)etoxy)carbonyl)lysine. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)etoxy)carbonyl)lysine. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((3-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)propoxy)carbonyl)lysine. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((metanitrobenzyloxy)N6-methylcarbonyl)lysine. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((bicyclo[6,1,0]non-4-yn-9-ylmetoxy)carbonyl)-lysine. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((cyclohept-3-en-1-yloxy)carbonyl)-L-lysine.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-3-((((benzyloxy)carbonyl)amino)methyl)selanylpropanoic.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin (ví dụ, IL polypeptit) bằng codon kết thúc hô phách, o-pan, hoặc hoàng thổ tái sử dụng.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin (ví dụ, IL polypeptit) bằng codon 4-bazơ.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin (ví dụ, IL polypeptit) bằng codon nghĩa hiếm tái sử dụng.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin (ví dụ, IL polypeptit) bằng codon tổng hợp bao gồm axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin bằng cặp synthetaza/ARN vận chuyển cải biến, trực giao. Các cặp trực giao như vậy bao gồm synthetaza không tự nhiên có khả năng nạp ARN vận chuyển không tự nhiên bằng axit amin không tự nhiên, trong khi làm giảm đến mức tối thiểu nạp a) axit amin nội sinh khác vào ARN vận chuyển không tự nhiên và b) axit amin không tự nhiên vào ARN vận chuyển nội sinh khác. Các cặp trực giao như vậy bao gồm ARN vận chuyển có khả năng được nạp bằng synthetaza không tự nhiên, trong khi tránh được bị nạp với a) axit amin nội sinh khác bằng synthetaza nội sinh. Theo một số phương án, các cặp như vậy được nhận diện từ các sinh vật khác nhau như vi khuẩn, nấm, Archaea, hoặc các nguồn từ người. Theo một số phương án, cặp synthetaza/ARN vận chuyển trực giao bao gồm các thành phần từ một sinh vật duy nhất. Theo một

số phương án, cặp synthetaza/ARN vận chuyển trực giao bao gồm các thành phần từ hai sinh vật khác nhau. Theo một số phương án, cặp synthetaza/ARN vận chuyển trực giao bao gồm các thành phần trước khi cải biến, thúc đẩy quá trình dịch mã của hai axit amin khác nhau. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là alanin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là arginin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là asparagin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là axit aspartic synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là xystein synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là glutamin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là axit glutamic synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là alanin glyxin đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là histidin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là leuxin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là isoleuxin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là lysin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là methionin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là phenylalanin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là prolin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là serin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là threonin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là tryptophan synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là tyrosin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là valin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, synthetaza trực giao là phosphoserin synthetaza đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là alanin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là arginin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là asparagin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là axit aspartic ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo

một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là cystein ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là glutamin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là axit glutamic ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là alanin glyxin đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là histidin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là leuxin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là isoleuxin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là lysin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là methionin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là phenylalanin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là prolin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là serin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là threonin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là tryptophan ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là tyrosin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là valin ARN vận chuyển đã được cải biến. Theo một số phương án, ARN vận chuyển trực giao là phosphoserin ARN vận chuyển đã được cải biến.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin (ví dụ, IL polypeptit) bằng cặp aminoaxyl (aaRS hoặc RS)-ARN vận chuyển synthetaza-ARN vận chuyển. Cặp aaRS-ARN vận chuyển được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, cặp aaRS/ARN vận chuyển *Methanococcus jannaschii* (Mj-Tyr), cặp ARN vận chuyển_{CUA} *E. coli* TyrRS (*Ec-Tyr*)/*B. stearothermophilus*, cặp ARN vận chuyển_{CUA} *E. coli* LeuRS (*Ec-Leu*)/*B. stearothermophilus*, và cặp pyrolysyl-ARN vận chuyển. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin (ví dụ, IL polypeptit) bằng cặp Mj-TyrRS/ARN vận chuyển. UAA được lấy làm ví dụ có thể được đưa vào bằng cặp

Mj-TyrRS/ARN vận chuyển bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dẫn xuất phenylalanin được thể ở vị trí para như *p*-aminophenylalanin và *p*-metoxyphenylalanin; các dẫn xuất tyrosin được thể ở vị trí meta như 3-aminotyrosin, 3-nitotyrosin, 3,4-dihydroxyphenylalanin, và 3-iodotyrosin; phenylselenoxystein; *p*-boronophenylalanin; và *o*-nitrobenzyltyrosin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin (ví dụ, IL polypeptit) bằng cặp *Ec-Tyr/ARN* vận chuyển_{CUA} hoặc *Ec-Leu/ARN* vận chuyển_{CUA}. UAA được lấy làm ví dụ có thể được đưa vào bằng cặp *Ec-Tyr/ARN* vận chuyển_{CUA} hoặc *Ec-Leu/ARN* vận chuyển_{CUA} bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dẫn xuất phenylalanin chứa các phần tử thể benzophenone, keton, iodua, hoặc azit; *O*-propargyltyrosin; axit α -aminocaprylic, *O*-metyl tyrosin, *O*-nitrobenzyl xystein; và axit 3-(naphthalen-2-ylamino)-2-amino-propanoic.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin (ví dụ, IL polypeptit) bằng cặp pyrolysyl-ARN vận chuyển. Trong một số trường hợp, PylRS thu được từ sinh vật đơn bào nguyên thủy, ví dụ, từ sinh vật đơn bào nguyên thủy sinh metan. Trong một số trường hợp, PylRS thu được từ *Methanosarcina barkeri*, *Methanosarcina mazei*, hoặc *Methanosarcina acetivorans*. UAA được lấy làm ví dụ có thể được đưa vào bằng cặp pyrolysyl-ARN vận chuyển bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, lysin được thể amit và carbamat như axit 2-amino-6-((R)-tetrahydrofuran-2-carboxamido)hexanoic, *N*- ϵ -D-prolyl-L-lysin, và *N*- ϵ -xyclopentylloxycarbonyl-L-lysin; *N*- ϵ -Acryloyl-L-lysin; *N*- ϵ -[(1-(6-nitrobenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)etoxy)carbonyl]-L-lysin; và *N*- ϵ -(1-metylxyclopro-2-enecarboxamido)lysin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin được đề cập trong bản mô tả này (ví dụ, IL polypeptit) bằng synthetaza được bộc lộ trong US 9,988,619 và US 9,938,516. UAA thu được lấy làm ví dụ có thể được đưa vào bằng các synthetaza như vậy bao gồm các axit amin không tự nhiên para-metylazido-L-phenylalanin, aralkyl, heteroxycyl, heteroaralkyl, và các axit amin khác. Theo một số phương án, UAA như vậy bao gồm pyridyl, pyrazinyl, pyrazolyl, triazolyl, oxazolyl, thiazolyl, thiophenyl, hoặc dị vòng khác. Axit amin như vậy theo một số

phương án bao gồm azit, tetrazin, hoặc nhóm hóa chất khác có khả năng liên hợp với đối tác ngẫu hợp, như gốc hòa tan trong nước. Theo một số phương án, các synthetaza như vậy được biểu hiện và được sử dụng để đưa UAA vào xytokin *in-vivo*. Theo một số phương án, các synthetaza như vậy được sử dụng để đưa UAA vào xytokin bằng cách sử dụng hệ thống dịch mã không tế bào.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin được đề cập trong bản mô tả này (ví dụ, IL polypeptit) bằng synthetaza xuất hiện trong tự nhiên. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin bằng sinh vật là dinh dưỡng thụ động đối với một hoặc nhiều axit amin. Theo một số phương án, synthetaza tương ứng với axit amin dinh dưỡng thụ động có khả năng nạp ARN vận chuyển tương ứng với axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên là selenoxystein, hoặc dẫn xuất của nó. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên là selenomethionin, hoặc dẫn xuất của nó. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên là axit amin thơm, trong đó axit amin thơm bao gồm aryl halogenua, như iodua. Theo các phương án, axit amin không tự nhiên là tương tự về mặt cấu trúc với axit amin dinh dưỡng thụ động.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm axit amin không tự nhiên được minh họa trên Fig. 1.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm lysin hoặc dẫn xuất phenylalanin hoặc chất tương tự. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm dẫn xuất lysin hoặc chất tương tự lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm pyrolysin (Pyl). Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm dẫn xuất phenylalanin hoặc chất tương tự phenylalanin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit amin không tự nhiên được mô tả trong Wan, et al., "Pyrrolysyl-tRNA synthetase: an ordinary enzyme but an outstanding genetic code expansion tool, Biochem Biophys Acta 1844(6): 1059-4070 (2014)". Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên bao gồm axit amin không tự nhiên được minh họa trên Fig. 2 (ví dụ, Fig. 2A và Fig. 2B).

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên bao gồm axit amin không tự nhiên được minh họa trên Fig. 3A - Fig. 3D (được điều chỉnh từ Bảng 1 của Dumas *et al.*, *Chemical Science* 2015, **6**, 50-69).

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin được đề cập trong bản mô tả này (ví dụ, IL polypeptit) được bộc lộ trong US 9,840,493; US 9,682,934; US 2017/0260137; US 9,938,516; hoặc US 2018/0086734. UAA được lấy làm ví dụ có thể được đưa vào bằng các synthetaza như vậy bao gồm para-methylazido-L-phenylalanin, aralkyl, heteroxyclyl, và heteroaralkyl, và dẫn xuất lysin axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, UAA như vậy bao gồm pyridyl, pyrazinyl, pyrazolyl, triazolyl, oxazolyl, thiazolyl, thiophenyl, hoặc dị vòng khác. Axit amin như vậy theo một số phương án bao gồm azit, tetrazin, hoặc nhóm hóa chất khác có khả năng liên hợp với đối tác ngẫu hợp, như gốc hòa tan trong nước. Theo một số phương án, UAA bao gồm azit gắn vào gốc thơm nhờ liên kết cầu nối alkyl. Theo một số phương án, liên kết cầu nối alkyl là liên kết cầu nối C₁-C₁₀. Theo một số phương án, UAA bao gồm tetrazin gắn vào gốc thơm nhờ liên kết cầu nối alkyl. Theo một số phương án, UAA bao gồm tetrazin gắn vào gốc thơm nhờ nhóm amino. Theo một số phương án, UAA bao gồm tetrazin gắn vào gốc thơm nhờ nhóm alkylamino. Theo một số phương án, UAA bao gồm azit gắn vào nitơ kết thúc (ví dụ, N6 của dẫn xuất lysin, hoặc N5, N4, hoặc N3 của dẫn xuất bao gồm mạch bên alkyl ngắn hơn) của mạch bên axit amin nhờ mạch alkyl. Theo một số phương án, UAA bao gồm tetrazin gắn vào nitơ kết thúc của mạch bên axit amin nhờ mạch alkyl. Theo một số phương án, UAA bao gồm azit hoặc tetrazin gắn vào amit nhờ liên kết cầu nối alkyl. Theo một số phương án, UAA là carbamat chứa azit hoặc tetrazin hoặc amit của 3-aminoalanin, serin, lysin, hoặc dẫn xuất của nó. Theo một số phương án, UAA như vậy được đưa vào xytokin *in-vivo*. Theo một số phương án, UAA như vậy được đưa vào xytokin trong hệ thống không tế bào.

Gốc liên hợp

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất gốc liên hợp được gắn kết với một hoặc nhiều xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) được mô tả trên đây. Trong

một số trường hợp, gốc liên hợp là phân tử gây nhiều tương tác của xytokin với thụ thể của nó. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp là phân tử bất kỳ mà khi gắn kết với xytokin, có thể làm cho thụ thể liên hợp xytokin điều biến đáp ứng miễn dịch. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm polyme hòa tan trong nước. Trong các trường hợp khác, gốc liên hợp bao gồm protein hoặc mảnh gắn kết của nó. Trong các trường hợp bổ sung, gốc liên hợp bao gồm peptit. Trong các trường hợp bổ sung, gốc liên hợp bao gồm axit nucleic. Trong các trường hợp bổ sung, gốc liên hợp bao gồm phân tử nhỏ. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp làm tăng chu kỳ bán rã huyết thanh, và/hoặc cải thiện độ ổn định. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp làm giảm sự tương tác xytokin với một hoặc nhiều miền hoặc tiểu đơn vị thụ thể xytokin. Trong các trường hợp bổ sung, gốc liên hợp phong bế tương tác xytokin của một hoặc nhiều miền hoặc tiểu đơn vị xytokin với (các) thụ thể cùng gốc của nó. Theo một số phương án, thụ thể liên hợp xytokin được đề cập trong bản mô tả này bao gồm nhiều gốc liên hợp. Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn với axit amin tự nhiên hoặc không tự nhiên trong xytokin peptit. Theo một số phương án, thụ thể liên hợp xytokin bao gồm gốc liên hợp gắn vào axit amin tự nhiên. Theo một số phương án, thụ thể liên hợp xytokin được gắn với axit amin không tự nhiên trong xytokin peptit. Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn với axit amin đầu tận cùng N hoặc C của xytokin peptit. Các vị trí kết hợp khác nhau được bộc lộ ở đây, ví dụ, gốc liên hợp thứ nhất được gắn với axit amin tự nhiên hoặc không tự nhiên trong xytokin peptit, và gốc liên hợp thứ nhất được gắn với axit amin đầu tận cùng N hoặc C của xytokin peptit. Theo một số phương án, một gốc liên hợp duy nhất được gắn với nhiều gốc của xytokin peptit (ví dụ, ghim đập). Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn với cả axit amin đầu tận cùng N và C xytokin peptit.

Polyme hòa tan trong nước

Theo một số phương án, gốc liên hợp được đề cập trong bản mô tả này là polyme hòa tan trong nước. Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước là không peptit, không độc, và tương thích sinh học. Như được sử dụng ở đây, chất được xem là tương thích sinh học nếu các hiệu quả có lợi liên quan đến việc sử dụng

một chất riêng lẻ hoặc với chất khác (ví dụ, hoạt chất như gốc xytokin) liên quan đến các mô sống (ví dụ, dùng cho bệnh nhân) vượt trội hơn các ảnh hưởng có hại bất kỳ như được đánh giá bởi bác sỹ lâm sàng, ví dụ, bác sỹ điều trị, nhà nghiên cứu độc tố, hoặc chuyên gia phát triển lâm sàng. Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước là không gây miễn dịch tiếp. Trong một số trường hợp, chất được xem là không gây miễn dịch nếu mục đích sử dụng của chất *in vivo* không tạo ra đáp ứng miễn dịch không mong muốn (ví dụ, sự tạo thành kháng thể) hoặc, nếu đáp ứng miễn dịch được tạo ra, đáp ứng như vậy không được coi là có ý nghĩa hoặc quan trọng về mặt lâm sàng như được đánh giá bởi bác sỹ lâm sàng, ví dụ, bác sỹ điều trị, nhà nghiên cứu độc tố, hoặc chuyên gia phát triển lâm sàng.

Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước được đặc trưng vì có từ khoảng 2 đến khoảng 300 đầu tận cùng. Polyme hòa tan trong nước được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, poly(alkylen glycol) như polyetylen glycol (“PEG”), poly(propylen glycol) (“PPG”), copolyme của etylen glycol và propylen glycol và các chất tương tự, poly(polyol đã được oxyetyl hóa), poly(rượu olefin), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl) (PVA), polyacrylamit (PAAm), poly(N-(2-hydroxypropyl) metacrylamit) (PHPMA), polydimethylacrylamit (PDAAm), polyphosphazen, polyoxazolin (“POZ”) (được mô tả trong WO 2008/106186), poly(N-acryloylmorpholin), và hỗn hợp của các hợp chất bất kỳ nêu trên.

Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước không bị giới hạn ở cấu trúc cụ thể. Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước là cấu trúc mạch thẳng (ví dụ, được chặn đầu, ví dụ, alkoxy PEG hoặc PEG hai chức), mạch nhánh hoặc tạo nhiều nhánh (ví dụ, PEG phân nhánh hoặc PEG gắn vào lõi polyol), tua (hoặc hình ngôi sao), mỗi dạng có hoặc không có một hoặc nhiều liên kết cầu nối suy biến. Hơn nữa, cấu trúc bên trong của polyme hòa tan trong nước có thể được tổ chức theo một số kiểu lặp lại khác nhau bất kỳ và có thể được chọn từ nhóm bao gồm homopolyme, copolyme thay thế, copolyme ngẫu nhiên, copolyme khối, tripolyme thay thế, tripolyme ngẫu nhiên, và tripolyme khối.

Theo một số phương án, khối lượng phân tử trung bình khối của polyme hòa tan trong nước trong thể liên hợp IL-2 nằm trong khoảng từ 100 Dalton đến khoảng 150.000 Dalton. Các khoảng được lấy làm ví dụ bao gồm, ví dụ, khối lượng phân tử trung bình khối nằm trong khoảng lớn hơn 5.000 Dalton đến khoảng 100.000 Dalton, từ khoảng 6.000 Dalton đến khoảng 90.000 Dalton, nằm trong khoảng từ 10.000 Dalton đến khoảng 85.000 Dalton, nằm trong khoảng lớn hơn 10.000 Dalton đến khoảng 85.000 Dalton, từ khoảng 20.000 Dalton đến khoảng 85.000 Dalton, từ khoảng 53.000 Dalton đến khoảng 85.000 Dalton, từ khoảng 25.000 Dalton đến khoảng 120.000 Dalton, từ khoảng 29.000 Dalton đến khoảng 120.000 Dalton, từ khoảng 35.000 Dalton đến khoảng 120.000 Dalton, và nằm trong khoảng từ 40.000 Dalton đến khoảng 120.000 Dalton.

Khối lượng phân tử trung bình khối được lấy làm ví dụ đối với polyme hòa tan trong nước bao gồm khoảng 100 Dalton, khoảng 200 Dalton, khoảng 300 Dalton, khoảng 400 Dalton, khoảng 500 Dalton, khoảng 600 Dalton, khoảng 700 Dalton, khoảng 750 Dalton, khoảng 800 Dalton, khoảng 900 Dalton, khoảng 1.000 Dalton, khoảng 1.500 Dalton, khoảng 2.000 Dalton, khoảng 2.200 Dalton, khoảng 2.500 Dalton, khoảng 3.000 Dalton, khoảng 4.000 Dalton, khoảng 4.400 Dalton, khoảng 4.500 Dalton, khoảng 5.000 Dalton, khoảng 5.500 Dalton, khoảng 6.000 Dalton, khoảng 7.000 Dalton, khoảng 7.500 Dalton, khoảng 8.000 Dalton, khoảng 9.000 Dalton, khoảng 10.000 Dalton, khoảng 11.000 Dalton, khoảng 12.000 Dalton, khoảng 13.000 Dalton, khoảng 14.000 Dalton, khoảng 15.000 Dalton, khoảng 20.000 Dalton, khoảng 22.500 Dalton, khoảng 25.000 Dalton, khoảng 30.000 Dalton, khoảng 35.000 Dalton, khoảng 40.000 Dalton, khoảng 45.000 Dalton, khoảng 50.000 Dalton, khoảng 55.000 Dalton, khoảng 60.000 Dalton, khoảng 65.000 Dalton, khoảng 70.000 Dalton, và khoảng 75.000 Dalton. Các phiên bản mạch nhánh của polyme hòa tan trong nước (ví dụ, polyme hòa tan trong nước mạch nhánh 40.000 Dalton chứa hai polyme 20.000 Dalton) có tổng khối lượng phân tử trong số khối lượng phân tử bất kỳ nêu trên cũng có thể được sử dụng. Theo một hoặc nhiều phương án, thể liên hợp sẽ không có gốc PEG bất kỳ gắn, hoặc trực tiếp

hoặc gián tiếp, với PEG có khối lượng phân tử trung bình khối là thấp hơn khoảng 6.000 Dalton.

PEG thường sẽ bao gồm một số monome (OCH_2CH_2) [hoặc monome ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), phụ thuộc vào PEG được định nghĩa như thế nào]. Như được sử dụng ở đây, số đơn vị lặp lại được xác định bằng chỉ số dưới “n” trong “ $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ ”. Do đó, giá trị của (n) thường nằm trong một hoặc nhiều các khoảng sau: từ 2 đến khoảng 3400, từ 100 đến khoảng 2300, từ 100 đến khoảng 2270, từ 136 đến khoảng 2050, từ 225 đến khoảng 1930, từ 450 đến khoảng 1930, từ 1200 đến khoảng 1930, từ 568 đến khoảng 2727, từ 660 đến khoảng 2730, từ 795 đến khoảng 2730, từ 795 đến khoảng 2730, từ 909 đến khoảng 2730, và từ khoảng 1.200 đến khoảng 1,900. Đối với polyme đã cho bất kỳ trong đó khối lượng phân tử đã biết, có thể xác định được số đơn vị lặp lại (tức là “n”) bằng cách chia tổng khối lượng phân tử trung bình khối của polyme cho khối lượng phân tử của monome lặp lại.

Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước là polyme được chặn đầu, tức là polyme có ít nhất một đầu tận cùng được chặn bằng nhóm trơ tương đối, như nhóm C_{1-6} alkoxy thấp hơn, hoặc nhóm hydroxyl. Khi polyme là PEG, ví dụ, metoxy-PEG (thường được gọi là mPEG) có thể được sử dụng, là dạng mạch thẳng của PEG trong đó một đầu tận cùng của polyme là nhóm metoxy ($-\text{OCH}_3$), trong khi đầu tận cùng kia là hydroxyl hoặc nhóm chức khác có thể tùy ý được cải biến hóa học.

Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, PEG rời rạc mạch thẳng hoặc mạch nhánh (dPEG) từ Quanta Biodesign, Ltd; PEG mạch thẳng, mạch nhánh, hoặc phân nhánh từ Nektar Therapeutics; và dẫn xuất PEG hình chữ Y từ JenKem Technology.

Theo một số phương án, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được đề cập trong bản mô tả này được liên hợp với polyme hòa tan trong nước được chọn từ poly(alkylen glycol) như polyetylen glycol (“PEG”), poly(propylen glycol) (“PPG”), copolyme của etylen glycol và propylen glycol và các chất tương tự, poly(polyol đã được oxyetyl hóa), poly(rượu olefin), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit),

poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl) (PVA), polyacrylamit (PAAm), polydimethylacrylamit (PDAAm), poly(N-(2-hydroxypropyl) metacrylamit) (PHPMA), polyphosphazen, polyoxazolin (“POZ”), poly(N-acryloylmorpholin), và hỗn hợp của chúng. Trong một số trường hợp, xytokin polypeptit được liên hợp với PEG (ví dụ, được PEG hóa). Trong một số trường hợp, xytokin polypeptit được liên hợp với PPG. Trong một số trường hợp, xytokin polypeptit được liên hợp với POZ. Trong một số trường hợp, xytokin polypeptit được liên hợp với PVP.

Theo một số phương án, polypeptit IL-2 được đề cập trong bản mô tả này được liên hợp với polyme hòa tan trong nước được chọn từ poly(alkylen glycol) như polyetylen glycol (“PEG”), poly(propylen glycol) (“PPG”), copolyme của etylen glycol và propylen glycol và các chất tương tự, poly(polyol đã được oxyetyl hóa), poly(rượu olefin), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl) (PVA), polyacrylamit (PAAm), polydimethylacrylamit (PDAAm), poly(N-(2-hydroxypropyl) metacrylamit) (PHPMA), polyphosphazen, polyoxazolin (“POZ”), poly(N-acryloylmorpholin), và hỗn hợp của chúng. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với PEG (ví dụ, được PEG hóa). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với PPG. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với POZ. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với PVP.

Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước bao gồm polyglyxerol (PG). Trong một số trường hợp, polyglyxerol là PG siêu mạch nhánh (HPG) (ví dụ, như được mô tả bởi Imran, et al. “Influence of architecture of high molecular weight linear and branched polyglycerols on their biocompatibility and biodistribution,” *Biomaterials* **33**:9135–9147 (2012)). Trong các trường hợp khác, polyglyxerol là PG mạch thẳng (LPG). Trong các trường hợp bổ sung, polyglyxerol là PG đa chức, PG siêu mạch nhánh phong bế mạch thẳng (ví dụ, như được mô tả bởi Wurm et. Al., “Squaric acid mediated synthesis and biological activity of a library of linear and hyperbranched poly(glycerol)–protein conjugates,” *Biomacromolecules* **13**:1161–1171 (2012)), hoặc PG chức mạch bên (ví dụ, như được mô tả bởi Li, et. al.,

“Synthesis of linear polyether polyol derivatives as new materials for bioconjugation,” *Bioconjugate Chem.* **20**:780–789 (2009).

Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được đề cập trong bản mô tả này được liên hợp với PG, ví dụ, HPG, LPG, PG chức giữa, PG siêu mạch nhánh phong bế mạch thẳng, hoặc PG chức mạch bên. Trong một số trường hợp, xytokin là polypeptit IL-2. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với PG, PG chức giữa, PG siêu mạch nhánh phong bế mạch thẳng.

Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước là dạng thay thế PEG tổng hợp suy biến. Dạng thay thế PEG tổng hợp suy biến được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, poly[oligo(etylen glycol)metyl metacrylat] (POEGMA); dẫn xuất PEG được cải biến khung được tạo ra bởi quá trình polyme hóa telechelic, hoặc monome lớn trên cơ sở PEG được tạo chức ở hai đầu; dẫn xuất PEG bao gồm comonome bao gồm liên kết cầu nối suy biến như poly[(etylen oxit)-co-(metylen etylen oxit)][P(EO-co-MEO)], keten axetal vòng như 5,6-benzo-2-metylen-1,3-dioxepan (BMDO), 2-metylen-1,3-dioxepan (MDO), và 2-metylen-4-phenyl-1,3-dioxolan (MPDL) được copolyme hóa bằng OEGMA; hoặc poly-(ϵ -caprolacton)-ghép-poly(etylen oxit) (PCL-g-PEO).

Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được đề cập trong bản mô tả này được liên hợp với dạng thay thế PEG tổng hợp suy biến như, ví dụ, POEGM; dẫn xuất PEG được cải biến khung được tạo ra bởi quá trình polyme hóa telechelic, hoặc monome lớn trên cơ sở PEG được tạo chức ở hai đầu; P(EO-co-MEO); keten axetal vòng như BMDO, MDO, và MPDL được copolyme hóa bằng OEGMA; hoặc PCL-g-PEO. Trong một số trường hợp, xytokin là polypeptit IL-2. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với dạng thay thế PEG tổng hợp suy biến như, ví dụ, POEGM; dẫn xuất PEG được cải biến khung được tạo ra bởi quá trình polyme hóa telechelic, hoặc monome lớn trên cơ sở PEG được tạo chức ở hai đầu; P(EO-co-MEO); keten axetal vòng như BMDO, MDO, và MPDL được copolyme hóa bằng OEGMA; hoặc PCL-g-PEO.

Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm poly(ion lưỡng tính). Poly(ion lưỡng tính) được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, poly(sulfobetain metacrylat) (PSBMA), poly(carboxybetain metacrylat) (PCBMA), và poly(2-metyacryloyloxyetyl phosphorylcholin) (PMPC). Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được đề cập trong bản mô tả này được liên hợp với poly(ion lưỡng tính) như PSBMA, PCBMA, hoặc PMPC. Trong một số trường hợp, xytokin là polypeptit IL-2. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với poly(ion lưỡng tính) như PSBMA, PCBMA, hoặc PMPC.

Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm polycarbonat. Polycarbonat được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, pentaflorphenyl 5-metyl-2-oxo-1,3-dioxan-5-carboxylat (MTC-OC₆F₅). Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được đề cập trong bản mô tả này được liên hợp với polycarbonat như MTC-OC₆F₅. Trong một số trường hợp, xytokin là polypeptit IL-2. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với polycarbonat như MTC-OC₆F₅.

Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm thể lai polyme như, ví dụ, thể lai polyme polycarbonat/PEG, thể liên hợp peptit/protein-polyme, hoặc polyme được dẫn xuất từ ion lưỡng tính và/hoặc ion chứa hydroxyl (ví dụ, polyme PEG được dẫn xuất từ ion lưỡng tính và/hoặc ion chứa hydroxyl). Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được đề cập trong bản mô tả này được liên hợp với thể lai polyme như thể lai polyme polycarbonat/PEG, thể liên hợp peptit/protein-polyme, hoặc polyme được dẫn xuất từ ion lưỡng tính và/hoặc ion chứa hydroxyl (ví dụ, polyme PEG được dẫn xuất từ ion lưỡng tính và/hoặc ion chứa hydroxyl). Trong một số trường hợp, xytokin là polypeptit IL-2. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với thể lai polyme như thể lai polyme polycarbonat/PEG, thể liên hợp peptit/protein-polyme, hoặc polyme được dẫn xuất từ ion lưỡng tính và/hoặc ion chứa hydroxyl (ví dụ, polyme PEG được dẫn xuất từ ion lưỡng tính và/hoặc ion chứa hydroxyl).

Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước bao gồm polysacarit. Polysacarit được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dextran, axit polysialic (PSA), axit hyaluronic (HA), amyloza, heparin, heparan sulfat (HS), dextrin, hoặc hydroxyetyl-tinh bột (HES). Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với polysacarit. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với dextran. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với PSA. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với HA. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với amyloza. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với heparin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với HS. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với dextrin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với HES.

Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước bao gồm glycan. Nhóm glycan được lấy làm ví dụ bao gồm glycan được liên kết N, glycan được liên kết O, glycolipit, O-GlcNAc, và glycosaminoglycan. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với glycan. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với glycan được liên kết N. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với glycan được liên kết O. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với glycolipit. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với O-GlcNAc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với glycosaminoglycan.

Theo một số phương án, polyme hòa tan trong nước bao gồm polyme polyoxazolin. Polyme polyoxazolin là polyme tổng hợp mạch thẳng, và tương tự với PEG, bao gồm tính đa phân tán thấp. Trong một số trường hợp, polyme polyoxazolin là polyme polyoxazolin đã được đa phân tán, khác biệt ở chỗ có khối lượng phân tử trung bình. Trong một số trường hợp, khối lượng phân tử trung bình của polyme polyoxazolin bao gồm, ví dụ, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 10.000, 12.000, 20.000, 35.000, 40.000, 50.000, 60.000, 100.000, 200.000, 300.000, 400.000, hoặc 500.000 Da. Trong một số trường hợp, polyme polyoxazolin bao gồm poly(2-metyl 2-oxazolin)

(PMOZ), poly(2-ethyl 2-oxazolin) (PEOZ), hoặc poly(2-propyl 2-oxazolin) (PPOZ). Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với polyme polyoxazolin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với polyme polyoxazolin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với PMOZ. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với PEOZ. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với PPOZ.

Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước bao gồm polyme của axit polyacrylic. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với polyme của axit polyacrylic. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với polyme của axit polyacrylic.

Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước bao gồm polyamin. Polyamin là polyme hữu cơ bao gồm hai hoặc nhóm amino bậc một cao hơn. Theo một số phương án, polyamin bao gồm polyamin mạch nhánh, polyamin mạch thẳng, hoặc polyamin vòng. Trong một số trường hợp, polyamin là polyamin mạch thẳng có khối lượng phân tử thấp. Polyamin được lấy làm ví dụ bao gồm putresxin, cadaverin, spermidin, spermin, etylen diamin, 1,3-diaminopropan, hexametylendiamin, tetraetylmetylendiamin, và piperazin. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với polyamin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với polyamin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với putresxin, cadaverin, spermidin, spermin, etylen diamin, 1,3-diaminopropan, hexametylendiamin, tetraetylmetylendiamin, hoặc piperazin.

Trong một số trường hợp, polyme hòa tan trong nước được mô tả trong các patent Mỹ số 7,744,861, 8,273,833, và 7,803,777. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với liên kết cầu nối được mô tả trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 7,744,861, 8,273,833, hoặc 7,803,777. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với liên kết cầu nối được mô tả trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 7,744,861, 8,273,833, hoặc 7,803,777.

Protein

Theo một số phương án, gốc liên hợp được đề cập trong bản mô tả này là protein hoặc mảnh gắn kết của nó. Protein được lấy làm ví dụ bao gồm albumin, transferin, hoặc transthyretin. Trong một số trường hợp, protein hoặc mảnh gắn kết của nó bao gồm kháng thể, hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó. Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin bao gồm protein hoặc mảnh gắn kết của nó. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 bao gồm protein hoặc mảnh gắn kết của nó có chu kỳ bán rã huyết thanh, và/hoặc độ ổn định tăng. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 bao gồm protein hoặc mảnh gắn kết của nó có sự tương tác IL-2 giảm với một hoặc nhiều tiểu đơn vị IL-2R. Trong các trường hợp bổ sung, protein hoặc mảnh gắn kết của nó phong bế sự tương tác IL-2 với một hoặc nhiều tiểu đơn vị IL-2R, hoặc ảnh hưởng đến sự lắp ráp phức hợp truyền tín hiệu IL-2R $\beta\gamma$.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là albumin. Albumin là họ của protein globulin hòa tan trong nước. Nó thường được tìm thấy trong huyết tương, bao gồm khoảng 55-60% tất cả các protein huyết tương. Albumin huyết thanh của người (HSA) là polypeptit 585 axit amin trong đó cấu trúc bậc ba được chia thành ba miền, miền I (gốc axit amin 1-195), miền II (gốc axit amin 196-383), và miền III (gốc axit amin 384-585). Mỗi miền còn bao gồm vị trí gắn kết, có thể tương tác hoặc nghịch đảo hoặc không nghịch đảo với phối tử nội sinh như axit béo mạch dài và mạch trung bình, bilirubin, hoặc hemin, hoặc các hợp chất ngoại sinh như dị vòng hoặc các hợp chất thơm.

Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với albumin. Trong một số trường hợp, xytokin polypeptit được liên hợp với albumin huyết thanh của người (HSA). Trong các trường hợp bổ sung, xytokin polypeptit được liên hợp với mảnh chức của albumin.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với albumin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với albumin huyết thanh của người (HSA). Trong các trường hợp bổ sung, polypeptit IL-2 được liên hợp với mảnh chức của albumin.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là transferin. Transferin là polypeptit 679 axit amin có kích cỡ khoảng 80 kDa và bao gồm hai vị trí gắn kết Fe^{3+} với một vị trí ở miền đầu tận cùng N và vị trí kia ở miền đầu tận cùng C. Trong một số trường hợp, transferin của người có chu kỳ bán rã là khoảng 7-12 ngày.

Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với transferin. Trong một số trường hợp, xytokin polypeptit được liên hợp với transferin của người. Trong các trường hợp bổ sung, xytokin polypeptit được liên hợp với mảnh chức của transferin.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với transferin. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với transferin của người. Trong các trường hợp bổ sung, polypeptit IL-2 được liên hợp với mảnh chức của transferin.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là transthyretin (TTR). Transthyretin là protein vận chuyển nằm trong huyết thanh và dịch não tủy vận chuyển thyroxin của hormon thyroid (T_4) và protein gắn kết retinol được gắn kết với retinol.

Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với transthyretin (nhờ một trong số các đầu tận cùng của nó hoặc nhờ vùng bản lề bên trong). Trong một số trường hợp, xytokin polypeptit được liên hợp với mảnh chức của transthyretin.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với transthyretin (nhờ một trong số các đầu tận cùng của nó hoặc nhờ vùng bản lề bên trong). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với mảnh chức của transthyretin.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là kháng thể, hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó bao gồm kháng thể đã được làm giống như kháng thể của người hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể của chuột hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể khảm hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh gắn kết của nó, Fab' hóa trị một, Fab₂ hóa trị hai, các mảnh F(ab)'_3 , mảnh biến đổi mạch đơn (scFv), bis-scFv, (scFv)₂, diabody, minibody, nanobody, triabody, tetrabody, humabody, Fv protein đã được làm ổn định disulfua (dsFv), kháng thể miền đơn (sdAb), Ig NAR, kháng thể của lạc đà hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể

lượng đặc hiệu hoặc mảnh gắn kết của nó, hoặc dẫn xuất đã được cải biến hóa học của nó.

Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm scFv, bis-scFv, (scFv)₂, dsFv, hoặc sdAb. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm scFv. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm bis-scFv. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm (scFv)₂. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm dsFv. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm sdAb.

Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm phần Fc của kháng thể, ví dụ, của IgG, IgA, IgM, IgE, hoặc IgD. Trong một số trường hợp, gốc bao gồm phần Fc của IgG (ví dụ, IgG₁, IgG₃, hoặc IgG₄).

Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với kháng thể, hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó. Trong một số trường hợp, xytokin polypeptit được liên hợp với kháng thể đã được làm giống như kháng thể của người hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể của chuột hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể khảm hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh gắn kết của nó, Fab' hóa trị một, Fab₂ hóa trị hai, các mảnh F(ab)'₃, mảnh biến đổi mạch đơn (scFv), bis-scFv, (scFv)₂, diabody, minibody, nanobody, triabody, tetrabody, humabody, Fv protein đã được làm ổn định disulfua (dsFv), kháng thể miền đơn (sdAb), Ig NAR, kháng thể của lạc đà hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể lượng đặc hiệu hoặc mảnh gắn kết của nó, hoặc dẫn xuất đã được cải biến hóa học của nó. Trong các trường hợp bổ sung, xytokin polypeptit được liên hợp với phần Fc của kháng thể. Trong các trường hợp bổ sung, xytokin polypeptit được liên hợp với phần Fc của IgG (ví dụ, IgG₁, IgG₃, hoặc IgG₄).

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với kháng thể, hoặc các mảnh kháng thể gắn kết của nó. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với kháng thể đã được làm giống như kháng thể của người hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể của chuột hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể khảm hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh gắn kết của nó, Fab' hóa trị một, Fab₂ hóa trị hai, các mảnh F(ab)'₃, mảnh biến đổi mạch đơn (scFv), bis-scFv, (scFv)₂, diabody, minibody, nanobody, triabody, tetrabody, humabody, Fv

protein đã được làm ổn định disulfua (dsFv), kháng thể miền đơn (sdAb), Ig NAR, kháng thể của lạc đà hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể lưỡng đặc hiệu hoặc mảnh gắn kết của nó, hoặc dẫn xuất đã được cải biến hóa học của nó. Trong các trường hợp bổ sung, polypeptit IL-2 được liên hợp với phần Fc của kháng thể. Trong các trường hợp bổ sung, polypeptit IL-2 được liên hợp với phần Fc của IgG (ví dụ, IgG₁, IgG₃, hoặc IgG₄).

Theo một số phương án, polypeptit IL-2 được liên hợp với polyme hòa tan trong nước (ví dụ, PEG) và kháng thể hoặc các mảnh gắn kết của nó. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh gắn kết của nó bao gồm kháng thể đã được làm giống như kháng thể của người hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể của chuột hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể khảm hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh gắn kết của nó, Fab' hóa trị một, Fab₂ hóa trị hai, các mảnh F(ab')₃, mảnh biến đổi mạch đơn (scFv), bis-scFv, (scFv)₂, diabody, minibody, nanobody, triabody, tetrabody, humabody, Fv protein đã được làm ổn định disulfua (dsFv), kháng thể miền đơn (sdAb), Ig NAR, kháng thể của lạc đà hoặc các mảnh gắn kết của nó, kháng thể lưỡng đặc hiệu hoặc mảnh gắn kết của nó, hoặc dẫn xuất đã được cải biến hóa học của nó. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh gắn kết của nó bao gồm scFv, bis-scFv, (scFv)₂, dsFv, hoặc sdAb. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh gắn kết của nó bao gồm scFv. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh gắn kết của nó hướng dẫn thể liên hợp IL-2 đến tế bào đích đang quan tâm và polyme hòa tan trong nước tăng cường độ ổn định và/hoặc chu kỳ bán rã huyết thanh.

Trong một số trường hợp, một hoặc nhiều thể liên hợp polypeptit IL-2 – polyme hòa tan trong nước (ví dụ, PEG) được gắn kết tiếp với kháng thể hoặc các mảnh gắn kết của nó. Trong một số trường hợp, tỷ lệ giữa thể liên hợp IL-2 và kháng thể là khoảng 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 11:1, hoặc 12:1. Trong một số trường hợp, tỷ lệ giữa thể liên hợp IL-2 và kháng thể là khoảng 1:1. Trong các trường hợp khác, tỷ lệ giữa thể liên hợp IL-2 và kháng thể là khoảng 2:1, 3:1, hoặc 4:1. Trong các trường hợp bổ sung, tỷ lệ giữa thể liên hợp IL-2 và kháng thể là khoảng 6:1 hoặc cao hơn.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều thể liên hợp polypeptit IL-2 – polyme hòa tan trong nước (ví dụ, PEG) được gắn kết trực tiếp với kháng thể hoặc các mảnh gắn kết của nó. Trong các trường hợp khác, thể liên hợp IL-2 được gắn kết gián tiếp với kháng thể hoặc các mảnh gắn kết của nó với liên kết cầu nối. Liên kết cầu nối được lấy làm ví dụ bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau, liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau, liên kết cầu nối trên cơ sở maleimit, liên kết cầu nối không đầu vết, liên kết cầu nối tự cố định, phân dậm nối, và các chất tương tự.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc các mảnh gắn kết của nó được gắn kết hoặc trực tiếp hoặc gián tiếp với phần polypeptit IL-2 của thể liên hợp polypeptit IL-2 – polyme hòa tan trong nước (ví dụ, PEG). Trong các trường hợp như vậy, vị trí liên hợp của kháng thể với polypeptit IL-2 là ở vị trí sẽ không cản trở gắn kết của polypeptit IL-2 với IL-2R $\beta\gamma$. Trong các trường hợp bổ sung, vị trí liên hợp của kháng thể với polypeptit IL-2 là ở vị trí phong bế một phần gắn kết của polypeptit IL-2 với IL-2R $\beta\gamma$. Theo các phương án khác, kháng thể hoặc các mảnh gắn kết của nó được gắn kết hoặc trực tiếp hoặc gián tiếp với phần polyme hòa tan trong nước của thể liên hợp polypeptit IL-2 – polyme hòa tan trong nước (ví dụ, PEG).

Peptit

Theo một số phương án, gốc liên hợp được đề cập trong bản mô tả này là peptit. Trong một số trường hợp, peptit là peptit không cấu trúc. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với peptit. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 bao gồm peptit có chu kỳ bán rã huyết thanh, và/hoặc độ ổn định tăng. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 bao gồm peptit có sự tương tác IL-2 giảm với một hoặc nhiều tiểu đơn vị IL-2R. Trong các trường hợp bổ sung, peptit phong bế sự tương tác IL-2 với một hoặc nhiều tiểu đơn vị IL-2R.

Trong một số trường hợp, gốc liên hợp là XTENT[™] peptit (Amunix Operating Inc.) và sự cải biến dùng để chỉ quá trình XTEN hóa. Quá trình XTEN hóa là quá trình dung hợp di truyền của axit nucleic mã hóa polypeptit đang quan tâm với axit nucleic mã hóa XTENT[™] peptit (Amunix Operating Inc.), peptit dài ưa nước không

cấu trúc bao gồm tỷ lệ phần trăm khác nhau của sáu axit amin: Ala, Glu, Gly, Ser, và Thr. Trong một số trường hợp, XTEN™ peptit được chọn lọc trên cơ sở các đặc tính như sự biểu hiện, độ ổn định di truyền, độ hòa tan, tính chống kết tụ, chu kỳ bán rã tăng cường, hiệu lực tăng, và/hoặc hoạt tính *in vitro* tăng kết hợp với polypeptit đang quan tâm. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với XTEN peptit. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với XTEN peptit.

Trong một số trường hợp, gốc liên hợp là polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP) và sự cải biến dùng để chỉ quá trình HAP hóa. Quá trình HAP hóa là quá trình dung hợp di truyền axit nucleic mã hóa polypeptit đang quan tâm với axit nucleic mã hóa polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP). Trong một số trường hợp, HAP polyme bao gồm (Gly₄Ser)_n môtip lặp lại (SEQ ID NO: 3) và đôi khi có chiều dài là khoảng 50, 100, 150, 200, 250, 300 gốc, hoặc cao hơn. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với HAP. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với HAP.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là PAS polypeptit và sự cải biến dùng để chỉ quá trình PAS hóa. Quá trình PAS hóa là quá trình dung hợp di truyền axit nucleic mã hóa polypeptit đang quan tâm với axit nucleic mã hóa PAS polypeptit. PAS polypeptit là polypeptit ưa nước không tích điện cấu thành bởi gốc Pro, Ala và Ser. Trong một số trường hợp, chiều dài của PAS polypeptit là ít nhất khoảng 100, 200, 300, 400, 500, hoặc 600 axit amin. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với PAS polypeptit. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với PAS polypeptit.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là polypeptit giống elastin (ELP) và sự cải biến dùng để chỉ quá trình ELP hóa. Quá trình ELP hóa là quá trình dung hợp di truyền axit nucleic mã hóa polypeptit đang quan tâm với axit nucleic mã hóa polypeptit giống elastin (ELPs). ELP bao gồm VPGxG môtip lặp lại (SEQ ID NO: 4) trong đó x là axit amin bất kỳ ngoại trừ prolin. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được liên hợp với ELP. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 được liên hợp với ELP.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là CTP peptit. CTP peptit bao gồm 31 gốc axit amin peptit FQSSSS*KAPPPS*LSPSPS*RLPGPS*DTPILPQ (SEQ ID NO: 5) trong đó S* để chỉ các vị trí O-glycosyl hóa (OPKO). Trong một số trường hợp, CTP peptit được dung hợp về mặt di truyền với xytokin polypeptit (ví dụ, polypeptit IL-2). Trong một số trường hợp, xytokin polypeptit (ví dụ, polypeptit IL-2) được liên hợp với CTP peptit.

Theo một số phương án, xytokin (ví dụ, polypeptit IL-2) được cải biến bằng quá trình glutamyl hóa. Glutamyl hóa (hoặc polyglutamyl hóa) là quá trình cải biến sau dịch mã thuận nghịch glutamat, trong đó nhóm γ -carboxy của glutamat tạo ra gắn kết giống peptit với nhóm amino của glutamat tự do trong đó nhóm α -carboxy mở rộng vào mạch polyglutamat.

Theo một số phương án, xytokin (ví dụ, polypeptit IL-2) được cải biến bằng polyme protein giống gelatin (GLK). Trong một số trường hợp, GLK polyme bao gồm nhiều đơn vị lặp lại của Gly-Xaa-Yaa trong đó Xaa và Yaa về cơ bản bao gồm lần lượt prolin và 4-hydroxyprolin. Trong một số trường hợp, GLK polyme còn bao gồm gốc axit amin Pro, Gly, Glu, Qln, Asn, Ser, và Lys. Trong một số trường hợp, chiều dài của GLK polyme là khoảng 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 150 gốc hoặc dài hơn.

Gốc liên hợp bổ sung

Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm gen đánh dấu sinh học ngoại bào. Trong một số trường hợp, gen đánh dấu sinh học ngoại bào là kháng nguyên khối u. Trong một số trường hợp, gen đánh dấu sinh học ngoại bào được lấy làm ví dụ bao gồm CD19, PSMA, B7-H3, B7-H6, CD70, CEA, CSPG4, EGFRvIII, EphA3, EpCAM, EGFR, ErbB2 (HER2), FAP, FR α , GD2, GD3, Lewis-Y, mesothelin, Muc1, Muc 16, ROR1, TAG72, VEGFR2, CD11, Gr-1, CD204, CD16, CD49b, CD3, CD4, CD8, và B220. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được gắn kết hoặc liên hợp với xytokin (ví dụ, IL-2). Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được dung hợp về mặt di truyền, ví dụ, ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C, của xytokin (ví dụ, IL-2).

Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm phân tử từ quá trình cải biến sau dịch mã. Trong một số trường hợp, ví dụ về quá trình cải biến sau dịch mã bao gồm quá trình myristoyl hóa, quá trình palmitoyl hóa, quá trình isoprenyl hóa (hoặc quá trình prenyl hóa) (ví dụ, quá trình farnesyl hóa hoặc quá trình geranylgeranyl hóa), quá trình glypiat hóa, quá trình axyl hóa (ví dụ, quá trình O-axyl hóa, quá trình N-axyl hóa, quá trình S-axyl hóa), quá trình alkyl hóa (ví dụ, bổ sung các nhóm alkyl như các nhóm methyl hoặc ethyl), quá trình amit hóa, quá trình glycosyl hóa, quá trình hydroxyl hóa, quá trình iot hóa, quá trình cộng nucleotit, quá trình oxy hóa, quá trình phosphoryl hóa, quá trình succin hóa, quá trình sulfat hóa, quá trình glycat hóa, quá trình carbamyl hóa, quá trình glutamyl hóa, hoặc quá trình khử amit hóa. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, IL-2) được cải biến bằng quá trình cải biến sau dịch mã như quá trình myristoyl hóa, quá trình palmitoyl hóa, quá trình isoprenyl hóa (hoặc quá trình prenyl hóa) (ví dụ, quá trình farnesyl hóa hoặc quá trình geranylgeranyl hóa), quá trình glypiat hóa, quá trình axyl hóa (ví dụ, quá trình O-axyl hóa, quá trình N-axyl hóa, quá trình S-axyl hóa), quá trình alkyl hóa (ví dụ, bổ sung các nhóm alkyl như các nhóm methyl hoặc ethyl), quá trình amit hóa, quá trình glycosyl hóa, quá trình hydroxyl hóa, quá trình iot hóa, quá trình cộng nucleotit, quá trình oxy hóa, quá trình phosphoryl hóa, quá trình succin hóa, quá trình sulfat hóa, quá trình glycat hóa, quá trình carbamyl hóa, quá trình glutamyl hóa, hoặc quá trình khử amit hóa.

Sự liên hợp

Liên kết cầu nối

Theo một số phương án, các nhóm phản ứng chức hữu ích để liên hợp hoặc gắn kết gốc liên hợp với xytokin polypeptit (ví dụ, polypeptit IL-2) được đề cập trong bản mô tả này bao gồm, ví dụ, liên kết cầu nối theo trình tự 0 hoặc cao hơn. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được đưa vào interleukin được đề cập trong bản mô tả này bao gồm nhóm phản ứng chức. Trong một số trường hợp, liên kết cầu nối bao gồm nhóm phản ứng chức phản ứng với axit amin không tự nhiên được đưa vào interleukin được đề cập trong bản mô tả này. Trong một số

trường hợp, gốc liên hợp bao gồm nhóm phản ứng chức phản ứng với axit amin không tự nhiên được đưa vào interleukin được đề cập trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp bao gồm nhóm phản ứng chức phản ứng với liên kết cầu nối (được gắn sơ bộ tùy ý với xytokin peptit) được đề cập trong bản mô tả này. Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm nhóm phản ứng phản ứng với axit amin tự nhiên trong xytokin peptit được đề cập trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, liên kết cầu nối theo trình tự cao hơn bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức, như liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau hoặc liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau. Liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất phản ứng Lomant dithiobis (succinimidylpropionat) DSP, 3'3'-dithiobis(sulfosuccinimidyl propionat (DTSSP), disuccinimidyl suberat (DSS), bis(sulfosuccinimidyl)suberat (BS), disuccinimidyl tartrat (DST), disulfosuccinimidyl tartrat (sulfo DST), etylen glycobis(succinimidylsuccinat) (EGS), disuccinimidyl glutarat (DSG), N,N'-disuccinimidyl carbonat (DSC), dimetyl adipimidat (DMA), dimetyl pimelimidat (DMP), dimetyl suberimidat (DMS), dimetyl-3,3'-dithiobispropionimidat (DTBP), 1,4-di-3'-(2'-pyridyldithio)propionamido)butan (DPDPB), bismaleimidohexan (BMH), hợp chất chứa aryl halogenua (DFDNB) như, ví dụ, 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen hoặc 1,3-diflo-4,6-dinitrobenzen, 4,4'-diflo-3,3'-dinitrophenylsulfon (DFDNPS), bis-[β -(4-azidosalixylamido)etyl]disulfua (BASED), formaldehyt, glutaraldehyt, 1,4-butandiol diglyxidyl ete, dihydrazit của axit adipic, carbohydrazit, o-toluidin, 3,3'-dimetylbenzidin, benzidin, α,α' -p-diaminodiphenyl, axit diiodo-p-xylene sulfonic, N,N'-etylen-bis(iodoaxetamit), hoặc N,N'-hexametylen-bis(iodoaxetamit).

Theo một số phương án, liên kết cầu nối hai nhóm chức bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau. Liên kết cầu nối hai nhóm chức khác nhau được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, liên kết cầu nối phản ứng amin và liên kết cầu nối ngang sulfhydryl như N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionat (sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionat mạch dài (LC-sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio) propionat mạch dài hòa tan trong nước (sulfo-LC-

sPDP), succinimidylloxycarbonyl- α -methyl- α -(2-pyridyldithio)toluen (sMPT), sulfosuccinimidyl-6-[α -methyl- α -(2-pyridyldithio)toluamido]hexanoat (sulfo-LC-sMPT), succinimidyl-4-(N-maleimidomethyl)cyclohexan-1-carboxylat (sMCC), sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidomethyl)cyclohexan-1-carboxylat (sulfo-sMCC), m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimit este (MBs), m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysulfosuccinimit este (sulfo-MBs), N-succinimidyl(4-iodoaxetyl)aminobenzoat (sIAB), sulfosuccinimidyl(4-iodoaxetyl)aminobenzoat (sulfo-sIAB), succinimidyl-4-(p-maleimidophenyl)butyrat (sMPB), sulfosuccinimidyl-4-(p-maleimidophenyl)butyrat (sulfo-sMPB), N-(γ -maleimidobutyryloxy)succinimit este (GMB), N-(γ -maleimidobutyryloxy)sulfosuccinimit este (sulfo-GMB), succinimidyl 6-(((iodoaxetyl)amino)hexanoat (sIAX), succinimidyl 6-[6-(((iodoaxetyl)amino)hexanoyl)amino]hexanoat (sIAXX), succinimidyl 4-(((iodoaxetyl)amino)methyl)cyclohexan-1-carboxylat (sIAC), succinimidyl 6-(((4-iodoaxetyl)amino)methyl)cyclohexan-1-carboxylat (sIACX), p-nitrophenyl iodoaxetat (NPIA), liên kết cầu nối ngang phản ứng carbonyl và phản ứng sulfhydryl như hydrazit của axit 4-(4-N-maleimidophenyl)butyric (MPBH), 4-(N-maleimidomethyl)cyclohexan-1-carboxyl-hydrazit-8 (M_2C_2H), 3-(2-pyridyldithio)propionyl hydrazit (PDPH), liên kết cầu nối phản ứng amin và liên kết cầu nối ngang phản ứng quang như Axit N-hydroxysuccinimidyl-4-azidosalixylic (NHs-AsA), axit N-hydroxysulfosuccinimidyl-4-azidosalixylic (sulfo-NHs-AsA), sulfosuccinimidyl-(4-azidosalixylamido)hexanoat (sulfo-NHs-LC-AsA), sulfosuccinimidyl-2-(p-azidosalixylamido)etyl-1,3'-dithiopropionat (sAsD), N-hydroxysuccinimidyl-4-azidobenzoat (HsAB), N-hydroxysulfosuccinimidyl-4-azidobenzoat (sulfo-HsAB), N-succinimidyl-6-(4'-azido-2'-nitrophenylamino)hexanoat (sANPAH), sulfosuccinimidyl-6-(4'-azido-2'-nitrophenylamino)hexanoat (sulfo-sANPAH), N-5-azido-2-nitrobenzoyloxysuccinimit (ANB-NOs), sulfosuccinimidyl-2-(m-azido-o-nitrobenzamido)-etyl-1,3'-dithiopropionat (sAND), N-succinimidyl-4(4-azidophenyl)1,3'-dithiopropionat (sADP), N-sulfosuccinimidyl(4-azidophenyl)-

1,3'-dithiopropionat (sulfo-sADP), sulfosuccinimidyl 4-(*p*-azidophenyl)butyrat (sulfo-sAPB), sulfosuccinimidyl 2-(7-azido-4-methylcoumarin-3-axetamit)etyl-1,3'-dithiopropionat (sAED), sulfosuccinimidyl 7-azido-4-methylcoumain-3-axetat (sulfo-sAMCA), *p*-nitrophenyl diazopyruvat (*p*NPDP), *p*-nitrophenyl-2-diazo-3,3,3-triflopropionat (PNP-DTP), liên kết cầu nối phản ứng sulfhydryl và liên kết cầu nối ngang phản ứng quang như 1-(*p*-Azidosalixylamido)-4-(iodoaxetamido)butan (AsIB), N-[4-(*p*-azidosalixylamido)butyl]-3'-(2'-pyridyldithio)propionamit (APDP), benzophenon-4-iodoaxetamit, liên kết cầu nối phản ứng benzophenon-4-maleimit carbonyl và liên kết cầu nối ngang phản ứng quang như *p*-azidobenzoyl hydrazit (ABH), liên kết cầu nối phản ứng carboxylat và liên kết cầu nối ngang phản ứng quang như 4-(*p*-azidosalixylamido)butylamin (AsBA), và liên kết cầu nối phản ứng arginin và liên kết cầu nối ngang phản ứng quang như *p*-azidophenyl glyoxal (APG).

Trong một số trường hợp, nhóm chức phản ứng bao gồm nhóm ưa nhân phản ứng với nhóm ưa điện tử có mặt trên gốc gắn kết (ví dụ, trên gốc liên hợp hoặc trên IL-2). Các nhóm ưa điện tử được lấy làm ví dụ bao gồm nhóm carbonyl - như aldehyt, keton, axit carboxylic, este, amit, enon, axyl halogenua hoặc axit anhydrit. Theo một số phương án, nhóm chức phản ứng là aldehyt. Các nhóm ưa nhân được lấy làm ví dụ bao gồm hydrazit, oxim, amino, hydrazin, thiosemicarbazon, hydrazin carboxylat, và arylhydrazit.

Theo một số phương án, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối dễ bị đứt gãy. Theo một số phương án, liên kết cầu nối dễ bị đứt gãy là liên kết cầu nối dipeptit. Theo một số phương án, liên kết cầu nối dipeptit là valin-xitrulin (Val-Cit), phenylalanin-lysin (Phe-Lys), valin-alanin (Val-Ala) và valin-lysin (Val-Lys). Theo một số phương án, liên kết cầu nối dipeptit là valin-xitrulin.

Theo một số phương án, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối peptit bao gồm, ví dụ, ít nhất 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 axit amin hoặc nhiều hơn. Trong một số trường hợp, liên kết cầu nối peptit bao gồm nhiều nhất 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, axit amin hoặc ít hơn.

Trong các trường hợp bổ sung, liên kết cầu nối peptit bao gồm khoảng 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, hoặc 50 axit amin.

Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm gốc liên kết cầu nối tự cố định. Theo một số phương án, gốc liên kết cầu nối tự cố định bao gồm rượu *p*-aminobenzyl (PAB), *p*-aminobenzyloxycarbonyl (PABC), hoặc các dẫn xuất hoặc các chất tương tự chúng. Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm gốc liên kết cầu nối dipeptit và gốc liên kết cầu nối tự cố định. Theo một số phương án, gốc liên kết cầu nối tự cố định là như được mô tả trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 9089614 và Công bố đơn quốc tế số 2015038426.

Theo một số phương án, liên kết cầu nối dễ bị đứt gãy là glucuronit. Theo một số phương án, liên kết cầu nối dễ bị đứt gãy là liên kết cầu nối dễ bị đứt gãy bởi axit. Theo một số phương án, liên kết cầu nối dễ bị đứt gãy bởi axit là hydrazin. Theo một số phương án, liên kết cầu nối dễ bị đứt gãy là liên kết cầu nối dễ khử.

Theo một số phương án, liên kết cầu nối bao gồm nhóm maleimit. Trong một số trường hợp, nhóm maleimit cũng được gọi là phần đệm nối maleimit. Trong một số trường hợp, nhóm maleimit còn bao gồm axit caproic, tạo ra maleimidocaproyl (mc). Trong một số trường hợp, liên kết cầu nối bao gồm maleimidocaproyl (mc). Trong một số trường hợp, liên kết cầu nối là maleimidocaproyl (mc). Trong các trường hợp khác, nhóm maleimit bao gồm nhóm maleimidometyl, như succinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xylohexan-1-carboxylat (sMCC) hoặc sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xylohexan-1-carboxylat (sulfo-sMCC) được mô tả trên đây.

Theo một số phương án, nhóm maleimit là maleimit tự làm ổn định. Trong một số trường hợp, maleimit tự làm ổn định sử dụng axit Diaminopropionic (DPR) để đưa vào nhóm amino cơ bản liên kết với maleimit để tạo ra sự xúc tác nội phân tử của sự xúc tác vòng tiosuccinimit, nhờ đó khử bỏ maleimit ra khỏi quá trình nhờ phản ứng khử bỏ thông qua phản ứng retro-Michael. Trong một số trường hợp, maleimit tự làm ổn định là nhóm maleimit được mô tả trong Lyon, *et al.*, "Self-hydrolyzing maleimides improve the stability and pharmacological properties of antibody-drug conjugates," *Nat. Biotechnol.* **32**(10):1059-1062 (2014). Trong một

số trường hợp, liên kết cầu nối bao gồm maleimit tự làm ổn định. Trong một số trường hợp, liên kết cầu nối là maleimit tự làm ổn định.

Hóa liên hợp

Các phản ứng liên hợp khác nhau được sử dụng để liên hợp liên kết cầu nối, gốc liên hợp, và axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin peptit được đề cập trong bản mô tả này. Các phản ứng liên hợp như vậy thường tương hợp với các điều kiện nước, như các phản ứng “trực giao sinh học”. Theo một số phương án, các phản ứng liên hợp được gây ra bởi các chất phản ứng hóa học như chất xúc tác, ánh sáng, hoặc các nhóm hóa chất phản ứng được tìm thấy trên liên kết cầu nối, gốc liên hợp, hoặc axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, các phản ứng liên hợp được gây ra bởi enzym. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được sử dụng ở đây được mô tả trong Gong, Y., Pan, L. Tett. Lett. 2015, 56, 2123. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được sử dụng ở đây được mô tả trong Chen, X.; Wu. Y-W. Org. Biomol. Chem. 2016, 14, 5417.

Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng của keton hoặc aldehyt với chất ưa nhân. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng của keton với nhóm aminoxy để tạo ra oxim. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng của keton với nhóm aryl hoặc heteroaryl amin để tạo ra imin. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng của aldehyt với nhóm aryl hoặc heteroaryl amin để tạo ra imin. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này dẫn đến xytokin peptit bao gồm liên kết cầu nối hoặc gốc liên hợp được gắn qua oxim. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng Pictet-Spengler của aldehyt hoặc keton với chất ưa nhân tryptamin. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng hydrazino-Pictet-Spengler. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng nối Pictet-Spengler.

Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của azit và phosphin (phản ứng nối Staudinger). Theo một số phương án, phosphin là aryl phosphin. Theo một số

phương án, aryl phosphin bao gồm nhóm ortho este. Theo một số phương án, phosphin bao gồm cấu trúc methyl 2-(diphenylphosphaneyl)benzoat. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này dẫn đến tạo ra xytokin peptit bao gồm liên kết cầu nối hoặc gốc liên hợp được gắn qua là arylamit. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này dẫn đến tạo ra xytokin peptit bao gồm liên kết cầu nối hoặc gốc liên hợp được gắn qua amit.

Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng cộng vòng phân cực kép vị trí 1,3. Theo một số phương án, phản ứng cộng vòng phân cực kép vị trí 1,3 bao gồm phản ứng của azit và phosphin (phản ứng “Click”). Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được xúc tác bằng đồng. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này dẫn đến xytokin peptit bao gồm liên kết cầu nối hoặc gốc liên hợp được gắn qua triazol. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của azit với olefin đã được tạo mạch. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của azit với alkyn đã được tạo mạch. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của azit với xycloalkyn, ví dụ, OCT, DIFO, DIFBO, DIBO, BARAC, TMTH, hoặc các xycloalkyn đã được tạo mạch khác, cấu trúc của chúng được thể hiện trong Gong, Y., Pan, L. Tett. Lett. 2015, 56, 2123. Theo một số phương án, phản ứng cộng vòng phân cực kép vị trí 1,3 được xúc tác bằng ánh sáng (“hóa quang”). Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của nhóm alyl đầu tận cùng với tetrazol và ánh sáng. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của nhóm alkynyl đầu tận cùng với tetrazol và ánh sáng. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của O-aryl axit amin với tetrazin và ánh sáng. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của O-aryl tyrosin với tetrazin và ánh sáng.

Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng cộng vòng ngược nhu cầu điện tử bao gồm dien và dienophin. Theo một số phương án, dien bao gồm tetrazin. Theo một số phương án, dienophin bao gồm alken. Theo một số phương án, dienophin bao gồm alkyn. Theo một số phương án, alkyn là alkyn đã được tạo chuỗi. Theo một số phương án, alken là dien đã được tạo chuỗi. Theo một số phương án, alkyn là trans-xyclooctyn. Theo một số phương án, alkyn là xycloocten. Theo một số phương án, alken là xyclopropen. Theo một số phương án, alken là floxyclopropen. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này dẫn đến sự tạo thành xytokin peptit gắn vào liên kết cầu nối hoặc gốc liên hợp qua dị vòng nhân có 6 cạnh bao gồm hai nguyên tử nitơ trong vòng.

Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng hoán vị olefin. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của alken và alkyn với chất xúc tác ruteni. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của hai alken với chất xúc tác ruteni. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của hai alkyn với chất xúc tác ruteni. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của alken qua đường miêngkyn với chất xúc tác ruteni và axit amin bao gồm nhóm alyl. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của alken hoặc alkyn với chất xúc tác ruteni và axit amin bao gồm alyl sulfua hoặc selenua. Theo một số phương án, chất xúc tác ruteni là chất xúc tác thế hệ hai Hoveda-Grubbs. Theo một số phương án, phản ứng hoán vị olefin bao gồm phản ứng của một hoặc nhiều alken hoặc alkyn đã được tạo mạch.

Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng ngẫu hợp chéo. Theo một số phương án, phản ứng ngẫu hợp chéo bao gồm chất xúc tác kim loại chuyển tiếp, như iridi, vàng, ruteni, rodi, paladi, niken, platin, hoặc chất xúc tác kim loại chuyển tiếp khác và một hoặc nhiều phối tử. Theo một số phương án, chất xúc tác kim loại

chuyển tiếp là hòa tan trong nước. Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng ngẫu hợp chéo Suzuki-Miyaura. Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của aryl halogenua (hoặc triflat, hoặc tosylat), aryl hoặc axit alkenyl boronic, và chất phản ứng paladi. Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng ngẫu hợp chéo Sonogashira. Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của aryl halogenua (hoặc triflat, hoặc tosylat), alkyn, và chất phản ứng paladi. Theo một số phương án, phản ứng ngẫu hợp chéo dẫn đến sự gắn của liên kết cầu nối hoặc gốc liên hợp với xytokin peptit qua gắn kết cacbon-cacbon.

Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm khử bảo vệ hoặc “khử lồng” phản ứng của nhóm phản ứng trước khi liên hợp. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm khử lồng nhóm phản ứng với ánh sáng, tiếp theo là phản ứng liên hợp. Theo một số phương án, nhóm phản ứng được bảo vệ bằng gốc aralkyl bao gồm một hoặc nhiều nhóm nitro. Theo một số phương án, khử lồng nhóm phản ứng dẫn đến tạo ra amin tự do, sulfua, hoặc nhóm phản ứng khác. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm khử lồng nhóm phản ứng bằng chất xúc tác kim loại chuyển tiếp, tiếp theo là phản ứng liên hợp. Theo một số phương án, chất xúc tác kim loại chuyển tiếp bao gồm paladi và một hoặc nhiều phối tử. Theo một số phương án, nhóm phản ứng được bảo vệ bằng gốc allyl. Theo một số phương án, nhóm phản ứng được bảo vệ bằng allylic carbamat. Theo một số phương án, nhóm phản ứng được bảo vệ bằng gốc propargylic. Theo một số phương án, nhóm phản ứng được bảo vệ bằng propargyl carbamat. Theo một số phương án, nhóm phản ứng được bảo vệ bằng dienophin, trong đó tiếp xúc với dien (như tetrazin) dẫn đến khử bảo vệ nhóm phản ứng.

Theo một số phương án được đề cập trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng hướng phối tử, trong đó phối tử (tùy ý) gắn vào nhóm phản ứng tạo thuận lợi vị trí liên hợp giữa nhóm phản ứng và xytokin peptit. Theo một số phương án, phối tử bị đứt gãy trong quá trình hoặc sau phản ứng của xytokin peptit với nhóm phản ứng. Theo một số phương án, vị trí liên hợp của xytokin peptit là axit amin tự nhiên. Theo một số phương án, vị trí liên hợp của xytokin peptit là lysin, xystein, hoặc serin. Theo một số phương án, vị trí liên hợp của xytokin peptit là axit amin không tự nhiên được đề cập trong bản mô tả này. Theo một số phương án nhóm phản ứng bao gồm nhóm rời chuyển, như nhóm aryl hoặc heteroaryl nghèo điện tử. Theo một số phương án nhóm phản ứng bao gồm nhóm rời chuyển, như nhóm alkyl nghèo điện tử được thay thế bằng xytokin peptit. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của chất bắt gốc với các chất gốc. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng cộng gốc oxy hóa. Theo một số phương án, chất bắt gốc là arylamin. Theo một số phương án, các chất gốc là gốc tyrosyl. Theo một số phương án, các chất gốc được tạo ra bởi chất xúc tác ruteni (như $[Ru(bpy)_3]$) và ánh sáng.

Các phản ứng enzym tùy ý được sử dụng cho các phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này. Các phản ứng liên hợp enzym được lấy làm ví dụ bao gồm phản ứng liên hợp qua trung gian SortA, phản ứng liên hợp qua trung gian TGs, hoặc phản ứng liên hợp qua trung gian FGE. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được đề cập trong bản mô tả này bao gồm phản ứng nối protein nguyên thể (NPL) của nhóm 1-amino-2-thio đầu tận cùng với thioeste để tạo ra gắn kết amit.

Các phản ứng liên hợp khác nhau được đề cập trong bản mô tả này để phản ứng liên kết cầu nối hoặc gốc liên hợp với xytokin peptit, trong đó phản ứng xảy ra với axit amin tự nhiên (“canonical”) trong xytokin peptit. Theo một số phương án, axit amin tự nhiên được tìm thấy ở vị trí liên hợp được tìm thấy ở trình tự tự nhiên, hoặc theo cách khác vị trí này đã được gây đột biến. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm sự tạo thành gắn kết disulfua ở gốc xystein. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng cộng 1,4 Michael của xystein hoặc

lysin. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm sự nối xyanobenzothiazol của xystein. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm tạo liên kết chéo với gốc axeton, như 1,3-diclo-2-propionon. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng cộng 1,4 Michael vào dehydroalanin, được tạo ra bởi phản ứng của xystein với O-mesitylsulfonylhydroxylamin. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng của tyrosin với triazolindion (TAD), hoặc dẫn xuất TAD. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng của tryptophan với rodi carbenoit.

Phương pháp sử dụng

Bệnh hoặc rối loạn tự miễn

Theo một số phương án, sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn tự miễn ở đối tượng cần điều trị bệnh này, bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh của thể liên hợp xytokin (ví dụ, thể liên hợp IL-2) được đề cập trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 bao gồm polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế và gốc liên hợp, trong đó thể liên hợp IL-2 có ái lực giảm với tiểu đơn vị thụ thể IL-2 β (IL-2R β), tiểu đơn vị thụ thể IL-2 γ (IL-2R γ), hoặc hỗn hợp của chúng, so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 bao gồm polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế; và gốc liên hợp gắn kết với polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế ở gốc axit amin được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, R81, P82, R83, D84, S87, N88, N89, V91, I92, L94, E95, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, T113, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được chọn từ K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, R81, D84, S87, N88, V91, I92, L94, E95, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133. Trong một số

trường hợp, gốc axit amin được chọn từ K8, K9, L12, E15, H16, L19, D20, Q22, M23, N26, D84, N88, E95, và Q126. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 tương tác với phức hợp IL-2R $\alpha\beta\gamma$ nhưng với ái lực giảm đối với các tiểu đơn vị IL-2R β và IL-2R γ , hoặc sẽ làm giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β . Trong một số trường hợp, polypeptit IL-2 đã được cải biến duy trì ái lực gắn kết đối với IL-2R α so với polypeptit IL-2 tự nhiên. Trong các trường hợp như vậy, Phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ kích thích hoặc tăng cường sự mở rộng của tế bào CD4⁺ Treg. Trong các trường hợp bổ sung, polypeptit IL-2 đã được cải biến làm tăng liều lượng cần để hoạt hóa tế bào T hiệu ứng và/hoặc tế bào NK nhờ phức hợp IL-2R $\beta\gamma$, nhờ đó mở rộng khoảng liều lượng để hoạt hóa tế bào Treg nhờ phức hợp IL-2R $\alpha\beta\gamma$ (hoặc mở rộng cửa sổ trị liệu của IL-2 để hoạt hóa tế bào Treg nhờ phức hợp IL-2R $\alpha\beta\gamma$).

Trong một số trường hợp, bệnh hoặc rối loạn tự miễn bao gồm bệnh rụng tóc từng vùng, bệnh thiếu tán huyết tự miễn, bệnh gan tự miễn, bệnh viêm bì cơ, bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh viêm khớp thiếu niên vô căn, bệnh viêm màng lọc thận, bệnh Graves, hội chứng Guillain-Barré, chứng xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn, bệnh nhược cơ, bệnh đa xơ cứng, bệnh bóng nước/bệnh da bóng nước, bệnh thiếu máu ác tính, bệnh viêm đa động mạch nút, bệnh viêm đa cơ, bệnh xơ gan ứ mật nguyên phát, bệnh vẩy nến, bệnh phong thấp, bệnh xơ cứng bì, hội chứng Sjögren, bệnh lupus ban đỏ hệ thống, bệnh viêm tuyến giáp, bệnh viêm màng bồ đào, bệnh bạch biến, hoặc bệnh u hạt Wegener.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) được dùng cho đối tượng có bệnh rụng tóc từng vùng, bệnh thiếu tán huyết tự miễn, bệnh gan tự miễn, bệnh viêm bì cơ, bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh viêm khớp thiếu niên vô căn, bệnh viêm màng lọc thận, bệnh Graves, hội chứng Guillain-Barré, chứng xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn, bệnh nhược cơ, bệnh đa xơ cứng, bệnh bóng nước/bệnh da bóng nước, bệnh thiếu máu ác tính, bệnh viêm đa động mạch nút, bệnh viêm đa cơ, bệnh xơ gan ứ mật nguyên phát, bệnh vẩy nến, bệnh phong thấp, bệnh xơ cứng bì, hội chứng Sjögren, bệnh lupus ban đỏ hệ thống, bệnh viêm tuyến giáp, bệnh viêm màng bồ đào, bệnh bạch biến, hoặc bệnh u hạt Wegener.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 được dùng cho đối tượng có bệnh rụng tóc từng vùng, bệnh thiếu tán huyết tự miễn, bệnh gan tự miễn, bệnh viêm bì cơ, bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh viêm khớp thiếu niên vô căn, bệnh viêm màng lọc thận, bệnh Graves, hội chứng Guillain-Barré, chứng xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn, bệnh nhược cơ, bệnh đa xơ cứng, bệnh bóng nước/bệnh da bong nước, bệnh thiếu máu ác tính, bệnh viêm đa động mạch nút, bệnh viêm đa cơ, bệnh xơ gan ứ mật nguyên phát, bệnh vẩy nến, bệnh phong thấp, bệnh xơ cứng bì, hội chứng Sjögren, bệnh lupus ban đỏ hệ thống, bệnh viêm tuyến giáp, bệnh viêm màng bồ đào, bệnh bạch biến, hoặc bệnh u hạt Wegener. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 được dùng cho đối tượng có bệnh đái tháo đường typ 1. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 được dùng cho đối tượng có bệnh Graves. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 được dùng cho đối tượng có bệnh đa xơ cứng. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 được dùng cho đối tượng có bệnh vẩy nến. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 được dùng cho đối tượng có bệnh phong thấp. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 được dùng cho đối tượng có hội chứng Sjögren. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 được dùng cho đối tượng có bệnh lupus ban đỏ hệ thống. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 được dùng cho đối tượng có bệnh viêm màng bồ đào. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 được dùng cho đối tượng có bệnh u hạt Wegener.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin (ví dụ, thể liên hợp IL-2) được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh vật chủ chống lại mảnh ghép (GVHD).

Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung được dùng tiếp cho đối tượng. Trong một số trường hợp, tác nhân trị liệu bổ sung được dùng đồng thời với thể liên hợp xytokin (ví dụ, thể liên hợp IL-2). Trong các trường hợp khác, tác nhân trị liệu bổ sung và thể liên hợp xytokin (ví dụ, thể liên hợp IL-2) được dùng lần lượt, ví dụ, thể liên hợp xytokin (ví dụ, thể liên hợp IL-2) được dùng trước tác nhân trị liệu bổ sung hoặc thể liên hợp xytokin (ví dụ, thể liên hợp IL-2) được dùng sau khi dùng tác nhân trị liệu bổ sung.

Tác nhân trị liệu bổ sung được lấy làm ví dụ để điều trị bệnh tự miễn hoặc rối loạn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, corticosteroid như prednisone,

budesonide, hoặc prednisolone; chất ức chế calcineurin như cyclosporine hoặc tacrolimus; chất ức chế mTOR như sirolimus hoặc everolimus; chất ức chế IMDH như azathioprine, leflunomide, hoặc mycophenolate; biologics như abatacept, adalimumab, anakinra, certolizumab, etanercept, golimumab, infliximab, ixekizumab, natalizumab, rituximab, secukinumab, tocilizumab, ustekinumab, hoặc vedolizumab; và kháng thể đơn dòng như basiliximab, daclizumab, hoặc muromonab.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp xytokin (ví dụ, thể liên hợp IL-2) được dùng với tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ corticosteroit như prednisone, budesonide, hoặc prednisolone; chất ức chế calcineurin như cyclosporine hoặc tacrolimus; chất ức chế mTOR như sirolimus hoặc everolimus; chất ức chế IMDH như azathioprine, leflunomide, hoặc mycophenolate; chất sinh học như abatacept, adalimumab, anakinra, certolizumab, etanercept, golimumab, infliximab, ixekizumab, natalizumab, rituximab, secukinumab, tocilizumab, ustekinumab, hoặc vedolizumab; và kháng thể đơn dòng như basiliximab, daclizumab, hoặc muromonab.

Phương pháp mở rộng quần thể tế bào

Theo một số phương án, sáng chế còn mô tả thêm phương pháp mở rộng quần thể tế bào Treg. Trong một số trường hợp, phương pháp bao gồm bước cho tế bào tiếp xúc với thể liên hợp xytokin được đề cập trong bản mô tả này, và cho xytokin tương tác với thụ thể xytokin để tạo ra phức hợp, trong đó phức hợp kích thích sự mở rộng của quần thể lympho bào khác biệt.

Theo một số phương án, phương pháp mở rộng quần thể tế bào T điều hòa CD4⁺ (Treg) bao gồm bước cho tế bào tiếp xúc với polypeptit IL-2 đã được phân lập và cải biến được mô tả trên đây trong thời gian đủ để gây ra sự tạo thành phức hợp với IL-2R $\alpha\beta\gamma$, nhờ đó kích thích sự mở rộng của quần thể tế bào Treg. Theo một số phương án, phương pháp mở rộng quần thể tế bào CD4⁺ Treg bao gồm (a) cho tế bào tiếp xúc với thể liên hợp IL-2 được đề cập trong bản mô tả này; và (b) cho thể liên hợp IL-2 tương tác với các tiểu đơn vị IL-2R α , IL-2R β , và IL-2R γ để

tạo ra phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$; trong đó thể liên hợp IL-2 có ái lực giảm với các tiểu đơn vị IL-2R β và IL-2R γ , hoặc làm giảm mức bổ sung tiểu đơn vị IL-2R γ vào phức hợp IL-2/IL-2R β , và trong đó phức hợp IL-2/IL-2R $\alpha\beta\gamma$ kích thích sự mở rộng của tế bào Treg. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 bao gồm polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế; và gốc liên hợp gắn kết với polypeptit IL-2 đã được phân lập và tinh chế ở gốc axit amin được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, R81, P82, R83, D84, S87, N88, N89, V91, I92, L94, E95, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, T113, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133, trong đó việc đánh số các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được chọn từ K8, K9, Q11, L12, E15, H16, L18, L19, D20, Q22, M23, N26, R81, D84, S87, N88, V91, I92, L94, E95, E116, N119, R120, T123, A125, Q126, S127, S130, T131, L132, và T133. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được chọn từ P2, T3, S4, S5, S6, T7, G27, N29, N30, Y31, K32, K35, T37, M46, K47, K48, A50, T51, E52, K53, H55, Q57, E60, E67, N71, Q74, S75, K76, N77, F78, H79, P82, R83, N89, K97, G98, S99, E100, T101, T102, F103, M104, C105, E106, Y107, A108, D109, E110, T111, A112, và T113. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ K8, K9, L12, E15, H16, L19, D20, Q22, M23, N26, D84, N88, E95, và Q126. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ K8, K9, và H16. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ Q22, N26, N88, và Q126. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ E15, D20, D84, và E95. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ L12, L19, M23, và F78. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin được chọn từ Q22 và N26.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 mở rộng tế bào CD4⁺ T điều hòa (Treg) ít nhất là 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 mở rộng tế bào CD4⁺ T điều

hòa (Treg) là khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, hoặc lớn hơn.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 mở rộng tế bào CD4⁺ T điều hòa (Treg) ít nhất là 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 15 lần, 20 lần, 30 lần, 40 lần, 50 lần, 60 lần, 70 lần, 80 lần, 90 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1000 lần, hoặc cao hơn. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-2 mở rộng tế bào CD4⁺ T điều hòa (Treg) là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 15 lần, 20 lần, 30 lần, 40 lần, 50 lần, 60 lần, 70 lần, 80 lần, 90 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, 500 lần, 1000 lần, hoặc cao hơn.

Trong một số trường hợp, thời gian đủ để tạo ra sự tạo thành phức hợp với IL-2R $\alpha\beta\gamma$ là ít nhất 5 phút, 10 phút, 15 phút, 20 phút, 30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 18 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, hoặc 7 ngày. Trong một số trường hợp, thời gian đủ để làm tạo thành phức hợp với IL-2R $\alpha\beta\gamma$ là khoảng 5 phút, 10 phút, 15 phút, 20 phút, 30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 18 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, hoặc 7 ngày.

Theo một số phương án, phương pháp này là phương pháp *in vivo*.

Theo các phương án khác, phương pháp này là phương pháp *in vitro*.

Theo các phương án bổ sung, phương pháp này là phương pháp *ex vivo*.

Sản xuất xytokin polypeptit

Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, interleukin, IFN, hoặc TNF) polypeptit được đề cập trong bản mô tả này, hoặc chứa axit amin tự nhiên đột biến hoặc axit amin không tự nhiên đột biến, được tạo ra bằng tái tổ hợp hoặc được tổng hợp bằng hóa học. Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit được đề cập trong bản mô tả này được tạo ra bằng tái tổ hợp, ví dụ, hoặc bằng hệ thống tế bào vật chủ, hoặc trong hệ thống không tế bào.

Trong một số trường hợp, xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit được tạo ra bằng tái tổ hợp thông qua hệ thống tế bào vật chủ. Trong một số trường hợp, tế bào vật chủ

là tế bào có nhân điển hình (ví dụ, tế bào động vật có vú, tế bào côn trùng, tế bào nấm hoặc tế bào thực vật) hoặc tế bào chưa có nhân điển hình (ví dụ, vi khuẩn gram dương hoặc vi khuẩn gram âm). Trong một số trường hợp, tế bào vật chủ có nhân điển hình là tế bào vật chủ động vật có vú. Trong một số trường hợp, tế bào vật chủ động vật có vú là dòng tế bào ổn định, hoặc dòng tế bào đã được đưa vào vật liệu di truyền đang quan tâm vào chính bộ gen của nó và có khả năng biểu hiện sản phẩm của vật liệu di truyền sau nhiều thế hệ phân chia tế bào. Trong các trường hợp khác, tế bào vật chủ động vật có vú là dòng tế bào tạm thời, hoặc dòng tế bào chưa được đưa vật liệu di truyền đang quan tâm vào chính bộ gen của nó và không có khả năng biểu hiện sản phẩm của vật liệu di truyền sau nhiều thế hệ phân chia tế bào.

Tế bào vật chủ động vật có vú được lấy làm ví dụ bao gồm dòng tế bào 293T, dòng tế bào 293A, dòng tế bào 293FT, tế bào 293F, tế bào 293H, tế bào A549, tế bào MDCK, tế bào CHO DG44, tế bào CHO-S, tế bào CHO-K1, tế bào Expi293F™, dòng tế bào Flp-In™ T-REx™ 293, dòng tế bào Flp-In™-293, dòng tế bào Flp-In™-3T3, dòng tế bào Flp-In™-BHK, dòng tế bào Flp-In™-CHO, dòng tế bào Flp-In™-CV-1, dòng tế bào Flp-In™-Jurkat, tế bào FreeStyle™ 293-F, tế bào FreeStyle™ CHO-S, dòng tế bào GripTite™ 293 MSR, dòng tế bào GS-CHO, tế bào HepaRG™, dòng tế bào T-REx™ Jurkat, tế bào Per.C6, dòng tế bào T-REx™-293, dòng tế bào T-REx™-CHO, và dòng tế bào T-REx™-HeLa.

Theo một số phương án, tế bào vật chủ có nhân điển hình là tế bào vật chủ côn trùng. Tế bào vật chủ côn trùng được lấy làm ví dụ bao gồm tế bào *Drosophila* S2, tế bào Sf9, tế bào Sf21, tế bào High Five™, và tế bào expresSF+®.

Theo một số phương án, tế bào vật chủ có nhân điển hình là tế bào vật chủ nấm. Tế bào vật chủ nấm được lấy làm ví dụ bao gồm chủng nấm *Pichia pastoris* như GS115, KM71H, SMD1168, SMD1168H, và X-33, và chủng nấm *Saccharomyces cerevisiae* như INVSc1.

Theo một số phương án, tế bào vật chủ có nhân điển hình là tế bào vật chủ thực vật. Trong một số trường hợp, tế bào thực vật bao gồm tế bào từ tảo. Dòng tế bào thực vật được lấy làm ví dụ bao gồm các chủng từ *Chlamydomonas reinhardtii* 137c, hoặc *Synechococcus elongatus* PPC 7942.

Theo một số phương án, tế bào vật chủ là tế bào vật chủ chưa có nhân điển hình. Tế bào vật chủ chưa có nhân điển hình được lấy làm ví dụ bao gồm BL21, Mach1™, DH10B™, TOP10, DH5α, DH10Bac™, OmniMax™, MegaX™, DH12S™, INV110, TOP10F', INVαF, TOP10/P3, ccdB Survival, PIR1, PIR2, Stbl2™, Stbl3™, hoặc Stbl4™.

Trong một số trường hợp, phân tử axit polynucleic hoặc vec-tơ thích hợp để tạo ra polypeptit IL-2 được đề cập trong bản mô tả này bao gồm vec-tơ thích hợp bất kỳ có nguồn gốc từ hoặc nguồn sinh vật có nhân điển hình hoặc nguồn sinh vật chưa có nhân điển hình. Phân tử axit polynucleic hoặc vec-tơ được lấy làm ví dụ bao gồm vec-tơ từ nguồn vi khuẩn (ví dụ, *E. coli*), côn trùng, nấm (ví dụ, *Pichia pastoris*), tảo, hoặc động vật có vú. Vec-tơ vi khuẩn bao gồm, ví dụ, pACYC177, pASK75, chuỗi vec-tơ pBAD, chuỗi vec-tơ pBADM, chuỗi vec-tơ pET, chuỗi vec-tơ pETM, chuỗi vec-tơ pGEX, pHAT, pHAT2, pMal-c2, pMal-p2, chuỗi vec-tơ pQE, pRSET A, pRSET B, pRSET C, pTrcHis2 series, pZA31-Luc, pZE21-MCS-1, pFLAG ATS, pFLAG CTS, pFLAG MAC, pFLAG Shift-12c, pTAC-MAT-1, pFLAG CTC, hoặc pTAC-MAT-2.

Vec-tơ côn trùng bao gồm, ví dụ, pFastBac1, pFastBac DUAL, pFastBac ET, pFastBac HTa, pFastBac HTb, pFastBac HTc, pFastBac M30a, pFastBac M30b, pFastBac M30c, pVL1392, pVL1393, pVL1393 M10, pVL1393 M11, pVL1393 M12, vec-tơ FLAG như pPolh-FLAG1 hoặc pPolh-MAT 2, hoặc vec-tơ MAT như pPolh-MAT1, hoặc pPolh-MAT2.

Vec-tơ nấm bao gồm, ví dụ, vec-tơ Gateway® pDEST™ 14, vec-tơ Gateway® pDEST™ 15, vec-tơ Gateway® pDEST™ 17, vec-tơ Gateway® pDEST™ 24, vec-tơ Gateway® pYES-DEST52, vec-tơ đích pBAD-DEST49 Gateway®, vec-tơ pAO815 *Pichia*, vec-tơ pFLD1 *Pichi pastoris*, vec-tơ pGAPZA, B, & C *Pichia pastoris*, vec-tơ pPIC3.5K *Pichia*, vec-tơ pPIC6 A, B, & C *Pichia*, vec-tơ pPIC9K *Pichia*, pTEF1/Zeo, vec-tơ nấm pYES2, vec-tơ nấm pYES2/CT, vec-tơ nấm pYES2/NT A, B, & C, hoặc vec-tơ nấm pYES3/CT.

Vec-tơ tảo bao gồm, ví dụ, vec-tơ pChlamy-4 hoặc vec-tơ MCS.

Vec-tơ động vật có vú bao gồm, ví dụ, vec-tơ biểu hiện tạm thời hoặc vec-tơ biểu hiện ổn định. Vec-tơ biểu hiện tạm thời của động vật có vú được lấy làm ví dụ bao gồm p3xFLAG-CMV 8, pFLAG-Myc-CMV 19, pFLAG-Myc-CMV 23, pFLAG-CMV 2, pFLAG-CMV 6a,b,c, pFLAG-CMV 5,1, pFLAG-CMV 5a,b,c, p3xFLAG-CMV 7,1, pFLAG-CMV 20, p3xFLAG-Myc-CMV 24, pCMV-FLAG-MAT1, pCMV-FLAG-MAT2, pBICEP-CMV 3, hoặc pBICEP-CMV 4. Vec-tơ biểu hiện ổn định của động vật có vú được lấy làm ví dụ bao gồm pFLAG-CMV 3, p3xFLAG-CMV 9, p3xFLAG-CMV 13, pFLAG-Myc-CMV 21, p3xFLAG-Myc-CMV 25, pFLAG-CMV 4, p3xFLAG-CMV 10, p3xFLAG-CMV 14, pFLAG-Myc-CMV 22, p3xFLAG-Myc-CMV 26, pBICEP-CMV 1, hoặc pBICEP-CMV 2.

Trong một số trường hợp, hệ thống không tế bào được sử dụng để tạo ra xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit được đề cập trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, hệ thống không tế bào bao gồm hỗn hợp của các thành phần tế bào chất và/hoặc nhân từ tế bào và thích hợp để tổng hợp axit nucleic *in vitro*. Trong một số trường hợp, hệ thống không tế bào sử dụng tế bào chưa có nhân điển hình các thành phần. Trong các trường hợp khác, hệ thống không tế bào sử dụng tế bào có nhân điển hình các thành phần. Sự tổng hợp axit nucleic thu được trong hệ thống không tế bào trên cơ sở, ví dụ, tế bào ruồi giấm, trứng ếch Nam Phi, tế bào Archaea, hoặc HeLa. Hệ thống không tế bào được lấy làm ví dụ bao gồm hệ dịch chiết E. coli S30, hệ E. coli T7 S30, hoặc PURExpress®, XpressCF, và XpressCF+.

Hệ thống dịch mã không tế bào bao gồm các thành phần khác nhau như plasmit, ARN thông tin, ADN, ARN vận chuyển, synthetaza, yếu tố giải phóng, ribosom, chaperone protein, yếu tố khởi mào và kéo dài quá trình dịch mã, axit amin tự nhiên và/hoặc không tự nhiên, và/hoặc các thành phần khác được sử dụng để biểu hiện protein. Các thành phần như vậy tùy ý được cải biến để cải thiện hiệu suất, tăng tốc độ tổng hợp, tăng độ chính xác của sản phẩm protein, hoặc đưa vào axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, xytokin được đề cập trong bản mô tả này được tổng hợp bằng cách sử dụng hệ thống dịch mã không tế bào được mô tả trong các Bảng độc quyền sáng chế Mỹ số US 8,778,631; US 2017/0283469; US 2018/0051065; US 2014/0315245; hoặc US 8,778,631. Theo một số phương án, hệ

thống dịch mã không tế bào bao gồm yếu tố giải phóng đã được cải biến, hoặc thậm chí loại bỏ một hoặc nhiều yếu tố giải phóng ra khỏi hệ thống. Theo một số phương án, hệ thống dịch mã không tế bào bao gồm nồng độ proteaza giảm. Theo một số phương án, hệ thống dịch mã không tế bào bao gồm ARN vận chuyển đã được cải biến với các codon đã được chỉ định lại được sử dụng để ghi mã axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, synthetaza được đề cập trong bản mô tả này để đưa vào axit amin không tự nhiên là hữu ích trong hệ thống dịch mã không tế bào. Theo một số phương án, ARN vận chuyển được tải sơ bộ axit amin không tự nhiên bằng cách sử dụng các phương pháp enzym hoặc hóa học trước khi được bổ sung vào hệ thống dịch mã không tế bào. Theo một số phương án, các thành phần dùng cho hệ thống dịch mã không tế bào thu được từ sinh vật đã được cải biến, như vi khuẩn, nấm, hoặc các sinh vật đã được cải biến.

Theo một số phương án, xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit được tạo ra dưới dạng hoán vị vòng tròn, hoặc nhờ hệ thống vật chủ biểu hiện hoặc thông qua hệ thống không tế bào.

Tạo ra Xytokin Polypeptit bao gồm axit amin không tự nhiên

Mã di truyền trực giao hoặc đã được mở rộng có thể được sử dụng theo sáng chế, trong đó một hoặc nhiều codon đặc hiệu có mặt trong trình tự axit nucleic của xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit được chỉ định để mã hóa axit amin không tự nhiên sao cho nó có thể được đưa về mặt di truyền vào xytokin (ví dụ, IL-2) bằng cách sử dụng cặp ARN vận chuyển synthetaza/ARN vận chuyển trực giao. Cặp ARN vận chuyển synthetaza/ARN vận chuyển trực giao có khả năng nạp ARN vận chuyển bằng axit amin không tự nhiên và có khả năng đưa axit amin không tự nhiên vào chuỗi polypeptit đáp ứng với codon.

Trong một số trường hợp, codon là codon hỗ phách, hoang thỏ, đá phiến hoặc codon bộ tứ. Trong một số trường hợp, codon tương ứng với ARN vận chuyển trực giao sẽ được sử dụng để mang axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, codon là hỗ phách. Trong các trường hợp khác, codon là codon trực giao.

Trong một số trường hợp, codon là codon bộ tứ, có thể được khử mã hóa bằng ribosome ribo-Q1 trực giao. Trong một số trường hợp, codon bộ tứ là như được minh họa trong Neumann, *et al.*, “Encoding multiple unnatural amino acids via evolution of a quadruplet-decoding ribosome,” *Nature*, **464**(7287): 441-444 (2010).

Trong một số trường hợp, codon được sử dụng theo sáng chế là codon đã được mã hóa lại, ví dụ, codon đồng nghĩa hoặc codon hiếm được thay thế bằng codon thay thế. Trong một số trường hợp, codon đã được mã hóa lại là như được mô tả trong Napolitano, *et al.*, “Emergent rules for codon choice elucidated by editing rare arginine codons in *Escherichia coli*,” *PNAS*, **113**(38): E5588-5597 (2016). Trong một số trường hợp, codon đã được mã hóa lại là như được mô tả trong Ostrov *et al.*, “Design, synthesis, and testing toward a 57-codon genome,” *Science* **353**(6301): 819-822 (2016).

Trong một số trường hợp, axit nucleic không tự nhiên được sử dụng dẫn đến việc đưa một hoặc nhiều axit amin không tự nhiên vào xytokin (ví dụ, IL-2). Axit nucleic không tự nhiên được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, uraxil-5-yl, hypoxanthin-9-yl (I), 2-aminoadenin-9-yl, 5-metylxytosin (5-me-C), 5-hydroxymetyl xytosin, xanthin, hypoxanthin, 2-aminoadenin, 6-metyl và các dẫn xuất alkyl khác của adenin và guanin, 2-propyl và các dẫn xuất alkyl khác của adenin và guanin, 2-thiouraxil, 2-thiothymine và 2-thioxytosin, 5-halouraxil và xytosin, 5-propynyl uraxil và xytosin, 6-azo uraxil, xytosin và thymine, 5-uraxil (pseudouraxil), 4-thiouraxil, 8-halo, 8-amino, 8-thiol, 8-thioalkyl, 8-hydroxyl và các adenin và guanin được thế ở vị trí 8 khác, 5-halo đặc biệt là 5-bromo, 5-triflometyl và các uraxil và xytosin được thế ở vị trí 5 khác, 7-metylguanin và 7-metyladenin, 8-azaguanin và 8-azaadenin, 7-deazaguanin và 7-deazaadenin và 3-deazaguanin và 3-deazaadenin. Các axit nucleic không tự nhiên nhất định, như pyrimidin được thế ở vị trí 5, 6-azapyrimidin và purin được thế N-2, purin được thế N-6, purin được thế O-6, 2-aminopropyladenin, 5-propynyluraxil, 5-propynylxytosin, 5-metylxytosin, các axit amin này làm tăng độ ổn định của sự tạo thành gấp đôi, axit nucleic phổ thông, axit nucleic kỵ nước, axit nucleic tạp, axit nucleic đã được mở rộng kích cỡ, axit nucleic đã được flo hóa, pyrimidin được thế ở vị trí 5, 6-azapyrimidin và purin

được thế N-2, N-6 và O-6, bao gồm 2-aminopropyladenin, 5-propynyluraxil và 5-propynylxytosin, 5-metylxytosin (5-me-C), 5-hydroxymetyl xytosin, xanthin, hypoxanthin, 2-aminoadenin, 6-metyl, các dẫn xuất alkyl khác của adenin và guanin, 2-propyl và các dẫn xuất alkyl khác của adenin và guanin, 2-thiouraxil, 2-thiothymin và 2-thioxytosin, 5-halouraxil, 5-haloxytosin, 5-propynyl ($-C\equiv C-CH_3$) uraxil, 5-propynyl xytosin, các dẫn xuất alkynyl khác của axit pyrimidin nucleic, 6-azo uraxil, 6-azo xytosin, 6-azo thymin, 5-uraxil (pseudouraxil), 4-thiouraxil, 8-halo, 8-amino, 8-thiol, 8-thioalkyl, 8-hydroxyl và các adenin và guanin được thế ở vị trí 8 khác, 5-halo đặc biệt là 5-bromo, 5-triflometyl, các uraxil và xytosin được thế ở vị trí 5 khác, 7-metylguanin, 7-metyladenin, 2-F-adenin, 2-amino-adenin, 8-azaguanin, 8-azaadenin, 7-deazaguanin, 7-deazaadenin, 3-deazaguanin, 3-deazaadenin, pyrimidin ba vòng, phenoxazin xytidin ([5,4-b][1,4]benzoxazin-2(3H)-on), phenothiazin xytidin (1H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-2(3H)-on), kẹp chữ G, phenoxazin xytidin (ví dụ, 9-(2-aminoetoxy)-H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzoxazin-2(3H)-on), carbazol xytidin (2H-pyrimido[4,5-b]indol-2-on), pyridoindol xytidin (H-pyrido[3',2':4,5]pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2-on), trong đó bazơ purin hoặc pyrimidin được thay thế bằng các dị vòng khác, 7-deaza-adenin, 7-deazaguanosin, 2-aminopyridin, 2-pyridon, azaxytosin, 5-bromoxytosin, bromouraxil, 5-cloxytosin, xytosin đã được clo hóa, xycloxytosin, xytosin arabinosit, 5-floxytosin, flopyrimidin, flouraxil, 5,6-dihydroxytosin, 5-iodoxytosin, hydroxyure, iodouraxil, 5-nitroxytosin, 5-bromouraxil, 5-clouraxil, 5-flouraxil, và 5-iodouraxil, 2-amino-adenin, 6-thio-guanin, 2-thio-thymin, 4-thio-thymin, 5-propynyl-uraxil, 4-thio-uraxil, N4-etylxytosin, 7-deazaguanin, 7-deaza-8-azaguanin, 5-hydroxyxytosin, 2'-deoxyuridin, 2-amino-2'-deoxyadenosin, và các hợp chất này được mô tả trong các Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 3,687,808; 4,845,205; 4,910,300; 4,948,882; 5,093,232; 5,130,302; 5,134,066; 5,175,273; 5,367,066; 5,432,272; 5,457,187; 5,459,255; 5,484,908; 5,502,177; 5,525,711; 5,552,540; 5,587,469; 5,594,121; 5,596,091; 5,614,617; 5,645,985; 5,681,941; 5,750,692; 5,763,588; 5,830,653 và 6,005,096; WO 99/62923; Kandimalla et al., (2001) Bioorg. Med. Chem. 9:807-813; The Concise Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Kroschwitz, J.I.,

Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858- 859; Englisch et al., *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613; and Sanghvi, Chapter 15, *Antisense Research and Applications*, Crooke and Lebleu Eds., CRC Press, 1993, 273-288. Các cải biến bazơ bổ sung có thể tìm thấy, ví dụ, trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 3,687,808; Englisch et al., *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613; và Sanghvi, Chapter 15, *Antisense Research and Applications*, pages 289-302, Crooke and Lebleu ed., CRC Press, 1993.

Axit nucleic không tự nhiên bao gồm các bazơ dị vòng khác nhau và các gốc đường (và các chất tương tự đường) khác nhau là có sẵn trong lĩnh vực kỹ thuật này, và axit nucleic trong một số trường hợp bao gồm một hoặc một vài bazơ dị vòng ngoài năm thành phần bazơ cơ bản của axit nucleic tự nhiên. Ví dụ, bazơ dị vòng bao gồm, trong một số trường hợp, nhóm uraxil-5-yl, xytosin-5-yl, adenin-7-yl, adenin-8-yl, guanin-7-yl, guanin-8-yl, 4-aminopyrolo[2,3-d]pyrimidin-5-yl, 2-amino-4-oxopyrolo[2,3-d]pyrimidin-5-yl, 2-amino-4-oxopyrolo[2,3-d]pyrimidin-3-yl, trong đó purin được gắn vào gốc đường của axit nucleic qua vị trí 9, pyrimidin qua vị trí 1, pyrolopyrimidin qua vị trí 7 và pyrazolopyrimidin qua vị trí 1.

Theo một số phương án, chất tương tự nucleotit cũng được cải biến ở gốc phosphat. Các gốc phosphat đã được cải biến bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các gốc có cải biến ở liên kết cầu nối giữa hai nucleotit và chứa, ví dụ, phosphorothioat, phosphorothioat không đối xứng, phosphorodithioat, phosphotrieste, aminoalkylphosphotrieste, methyl và các alkyl phosphonat khác bao gồm 3'-alkylen phosphonat và phosphonat không đối xứng, phosphinat, phosphoramidat bao gồm 3'-amino phosphoramidat và aminoalkylphosphoramidat, thionophosphoramidat, thionoalkylphosphonat, thionoalkylphosphotrieste, và boranophosphat. Cần hiểu rằng các phosphat này hoặc liên kết cầu nối phosphat đã được cải biến giữa hai nucleotit được thông qua liên kết cầu nối 3'-5' hoặc liên kết cầu nối 2'-5', và liên kết cầu nối chứa tính phân cực nghịch đảo như 3'-5' đến 5'-3' hoặc 2'-5' đến 5'-2'. Các dạng muối, hỗn hợp muối và axit tự do khác nhau cũng được bao gồm. Nhiều bằng sáng chế độc quyền Mỹ đề cập đến phương pháp điều chế và sử dụng nucleotit chứa phosphat đã được cải biến và bao gồm, nhưng không

chỉ giới hạn ở, các Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5,177,196; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131; 5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455,233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,306; 5,550,111; 5,563,253; 5,571,799; 5,587,361; và 5,625,050.

Theo một số phương án, axit nucleic không tự nhiên bao gồm 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydro-nucleosit (PCT/US2002/006460), các dẫn xuất ADN và ARN được thế ở vị trí 5' (PCT/US2011/033961; Saha et al., *J. Org Chem.*, 1995, 60, 788-789; Wang et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9, 885-890; và Mikhailov et al., *Nucleosit & Nucleotit*, 1991, 10(1-3), 339-343; Leonid et al., 1995, 14(3-5), 901-905; và Eppacher et al., *Helvetica Chimica Acta*, 2004, 87, 3004-3020; PCT/JP2000/004720; PCT/JP2003/002342; PCT/JP2004/013216; PCT/JP2005/020435; PCT/JP2006/315479; PCT/JP2006/324484; PCT/JP2009/056718; PCT/JP2010/067560), hoặc các monome được thế vị trí 5' được điều chế như monophosphat với các bazơ đã được cải biến (Wang et al., *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids*, 2004, 23 (1 & 2), 317-337).

Theo một số phương án, axit nucleic không tự nhiên bao gồm các cải biến ở vị trí 5' và vị trí 2' của vòng đường (PCT/US94/02993), như nucleosit được bảo vệ 5'-CH₂-được thế 2'-O- (Wu et al., *Helvetica Chimica Acta*, 2000, 83, 1127-1143 and Wu et al., *Bioconjugate Chem.* 1999, 10, 921-924). Trong một số trường hợp, axit nucleic không tự nhiên bao gồm nucleosit dime được liên kết amit đã được điều chế để đưa vào oligonucleotit trong đó nucleosit được liên kết vị trí 3' trong dime (5' đến 3') bao gồm 2'-OCH₃ và 5'-(S)-CH₃ (Mesmaeker et al., *Synlett*, 1997, 1287-1290). Axit nucleic không tự nhiên có thể bao gồm nucleosit cải biến 2'-được thế 5'-CH₂ (hoặc O) (PCT/US92/01020). Axit nucleic không tự nhiên có thể bao gồm 5'-metylenphosphonat ADN và ARN monome, và dime (Bohringer et al., *Tet. Lett.*, 1993, 34, 2723-2726; Collingwood et al., *Synlett*, 1995, 7, 703-705; và Hutter et al., *Helvetica Chimica Acta*, 2002, 85, 2777-2806). Axit nucleic không tự nhiên có thể bao gồm 5'-phosphonat monome có phần tử thế ở vị trí 2' (US2006/0074035) và 5'-phosphonat monome được cải biến khác (WO1997/35869). Axit nucleic không tự

nhiên có thể bao gồm metylenphosphonat monome được cải biến vị trí 5' (EP614907 và EP629633). Axit nucleic không tự nhiên có thể bao gồm các chất tương tự của 5' hoặc 6'-phosphonat ribonucleosit bao gồm nhóm hydroxyl ở vị trí 5' và/hoặc 6' (Chen et al., Phosphorus, Sulfur and Silicon, 2002, 777, 1783-1786; Jung et al., Bioorg. Med. Chem., 2000, 8, 2501-2509; Gallier et al., Eur. J. Org. Chem., 2007, 925-933; và Hampton et al., J. Med. Chem., 1976, 19(8), 1029-1033). Axit nucleic không tự nhiên có thể bao gồm 5'-phosphonat deoxyribonucleosit monome và dime có nhóm 5'-phosphat (Nawrot et al., Oligonucleotides, 2006, 16(1), 68-82). Axit nucleic không tự nhiên có thể bao gồm nucleosit có nhóm 6'-phosphonat trong đó vị trí 5' và/hoặc 6' không được thế hoặc được thế bằng nhóm thio-tert-butyl ($\text{SC}(\text{CH}_3)_3$) (và các chất tương tự chúng); nhóm metylenamino (CH_2NH_2) (và các chất tương tự chúng) hoặc nhóm xyano (CN) (và các chất tương tự chúng) (Fairhurst et al., Synlett, 2001, 4, 467-472; Kappler et al., J. Med. Chem., 1986, 29, 1030-1038; Kappler et al., J. Med. Chem., 1982, 25, 1179-1184; Vrudhula et al., J. Med. Chem., 1987, 30, 888-894; Hampton et al., J. Med. Chem., 1976, 19, 1371-1377; Geze et al., J. Am. Chem. Soc, 1983, 105(26), 7638-7640; và Hampton et al., J. Am. Chem. Soc, 1973, 95(13), 4404-4414).

Theo một số phương án, axit nucleic không tự nhiên cũng bao gồm các cải biến của gốc đường. Trong một số trường hợp, axit nucleic chứa một hoặc nhiều nucleosit trong đó nhóm đường đã được cải biến. Nucleosit đã được cải biến đường như vậy có thể mang lại độ ổn định nucleaza tăng cường, ái lực gắn kết tăng, hoặc một số đặc tính sinh học có lợi khác. Theo một số phương án, axit nucleic bao gồm gốc vòng ribofuranoza đã được cải biến hóa học. Ví dụ về vòng ribofuranoza đã được cải biến hóa học bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bổ sung các nhóm phần tử thế (bao gồm các nhóm phần tử thế 5' và/hoặc 2'; cầu nối của hai nguyên tử vòng để tạo ra axit nucleic hai vòng (BNA); thay thế nguyên tử oxy của vòng ribosyl bằng S, N(R), hoặc C(R₁)(R₂) (R = H, C₁-C₁₂ alkyl hoặc nhóm bảo vệ); và các tổ hợp của chúng. Ví dụ về đường đã được cải biến hóa học có thể được tìm thấy trong WO2008/101157, US2005/0130923, và WO2007/134181.

Trong một số trường hợp, axit nucleic đã được cải biến bao gồm đường hoặc các chất tương tự đường đã được cải biến. Do đó, ngoài riboza và deoxyriboza, gốc đường có thể là pentoza, deoxypentoza, hexoza, deoxyhexoza, glucoza, arabinoza, xyloza, lyxoza, hoặc nhóm xyclopentyl “tương tự” đường. Đường có thể là dạng pyranosyl hoặc furanosyl. Gốc đường có thể là furanosit của riboza, deoxyriboza, arabinoza hoặc 2'-O-alkylriboza, và đường này có thể được gắn vào bazơ dị vòng tương ứng hoặc trong cấu hình dị thường [alpha] hoặc [beta]. Các cải biến đường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất tương tự 2'-alkoxy-ARN, chất tương tự 2'-amino-ARN, 2'-flo-ADN, và thể khảm 2'-alkoxy- hoặc amino-ARN/ADN. Ví dụ, sự cải biến đường có thể bao gồm 2'-O-metyl-uridin hoặc 2'-O-metyl-xytidin. Các cải biến đường bao gồm deoxyribonucleosit được thể 2'-O-alkyl và 2'-O-etylenglycol như ribonucleosit. Quy trình điều chế các đường hoặc các chất tương tự đường này và “nucleosit” tương ứng trong đó các đường hoặc các chất tương tự như vậy được gắn vào bazơ dị vòng (bazơ axit nucleic) là đã biết. Các cải biến đường cũng có thể được thực hiện và kết hợp với các cải biến khác.

Các cải biến với gốc đường bao gồm các cải biến tự nhiên của riboza và deoxyriboza cũng như các cải biến không tự nhiên. Các cải biến đường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các cải biến sau ở vị trí 2': OH; F; O-, S-, hoặc N-alkyl; O-, S-, hoặc N-alkenyl; O-, S- hoặc N-alkynyl; hoặc O-alkyl-O-alkyl, trong đó alkyl, alkenyl và alkynyl có thể được thể hoặc không được thể C₁-C₁₀ alkyl hoặc C₂-C₁₀ alkenyl và alkynyl. Các cải biến đường ở vị trí 2' cũng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, -O[(CH₂)_nO]_mCH₃, -O(CH₂)_nOCH₃, -O(CH₂)_nNH₂, -O(CH₂)_nCH₃, -O(CH₂)_nONH₂, và -O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂, trong đó n và m nằm trong khoảng từ 1 đến khoảng 10.

Các cải biến khác ở vị trí 2' bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: alkyl thấp phân tử có 1 đến 10 nguyên tử cacbon, alkyl, alkaryl, aralkyl thấp phân tử được thể, O-alkaryl, O-aralkyl, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂ CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, heteroxycloalkyl, heteroxycloalkaryl, aminoalkylamino, polyalkylamino, silyl được thể, nhóm phân cắt ARN, nhóm báo cáo, chất cải xen, nhóm cải thiện đặc tính được động học của oligonucleotit, hoặc nhóm để cải thiện

đặc tính dược lực học của oligonucleotit, và các phần tử thể khác có các đặc tính tương tự. Các cải biến tương tự cũng có thể được thực hiện ở các vị trí khác trên đường, đặc biệt là vị trí 3' của đường trên nucleotit đầu tận cùng 3' hoặc trong oligonucleotit được liên kết 2'-5' và vị trí 5' của nucleotit đầu tận cùng 5'. Đường đã được cải biến cũng bao gồm các đường chứa các cải biến ở oxy của vòng cầu nối, như CH_2 và S. Các chất tương tự đường nucleotit cũng có thể có dạng mô phỏng đường như các gốc xyclobutyl thay thế đường pentofuranosyl. Có nhiều bằng sáng chế độc quyền Mỹ đề cập quy trình điều chế các cấu trúc đường đã được cải biến như vậy và nêu chi tiết và mô tả các khoảng cải biến bazơ, như các Bảng độc quyền sáng chế Mỹ số 4,981,957; 5,118,800; 5,319,080; 5,359,044; 5,393,878; 5,446,137; 5,466,786; 5,514,785; 5,519,134; 5,567,811; 5,576,427; 5,591,722; 5,597,909; 5,610,300; 5,627,053; 5,639,873; 5,646,265; 5,658,873; 5,670,633; 4,845,205; 5,130,302; 5,134,066; 5,175,273; 5,367,066; 5,432,272; 5,457,187; 5,459,255; 5,484,908; 5,502,177; 5,525,711; 5,552,540; 5,587,469; 5,594,121; 5,596,091; 5,614,617; 5,681,941; và 5,700,920, nội dung của mỗi tài liệu này được đưa vào bản mô tả bằng cách viện dẫn.

Ví dụ về axit nucleic có các gốc đường đã được cải biến bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit nucleic bao gồm các nhóm phần tử thể 5'-vinyl, 5'-metyl (R hoặc S), 4'-S, 2'-F, 2'- OCH_3 , và 2'- $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$. Phần tử thể ở vị trí 2' có thể cũng được chọn từ alyl, amino, azido, thio, O-alyl, O-($\text{C}_1\text{-C}_{10}$ alkyl), OCF_3 , $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{SCH}_3$, $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{-O-N}(\text{R}_m)(\text{R}_n)$, và $\text{O-CH}_2\text{-C(=O)-N}(\text{R}_m)(\text{R}_n)$, trong đó mỗi R_m và R_n là, độc lập, H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ alkyl được thế hoặc không được thế.

Theo một số phương án, axit nucleic được đề cập trong bản mô tả này bao gồm một hoặc nhiều axit nucleic hai vòng. Theo một số phương án như vậy, axit nucleic hai vòng bao gồm cầu nối giữa nguyên tử vòng ribosyl 4' và 2'. Theo một số phương án, axit nucleic được đề xuất theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều axit nucleic hai vòng trong đó cầu nối bao gồm axit nucleic hai vòng từ 4' đến 2'. Ví dụ về axit nucleic hai vòng 4' đến 2' như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, một trong số các công thức: 4'-(CH_2)-O-2' (LNA); 4'-(CH_2)-S-2'; 4'-(CH_2)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH_3)-O-2' và 4'-CH(CH_2OCH_3)-O-2', và dạng tương tự của chúng (xem, Bảng

độc quyền sáng chế Mỹ số 7,399,845); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' và các chất tương tự của nó, (xem WO2009/006478, WO2008/150729, US2004/0171570, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 7,427,672, Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 209, 74, 118-134, và WO2008/154401). Cũng xem, ví dụ: Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638; Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222; Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039; Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26) 8362-8379; Elayadi et al., Curr. Opinion Invens. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch et al., Chem. Biol, 2001, 8, 1-7; Oram et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243; các Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 4,849,513; 5,015,733; 5,118,800; 5,118,802; 7,053,207; 6,268,490; 6,770,748; 6,794,499; 7,034,133; 6,525,191; 6,670,461; và 7,399,845; các Công bố đơn quốc tế số WO2004/106356, WO1994/14226, WO2005/021570, WO2007/090071, và WO2007/134181; các Công bố đơn yêu cầu cấp Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US2004/0171570, US2007/0287831, và US2008/0039618; các đơn tạm thời Mỹ số 60/989,574, 61/026,995, 61/026,998, 61/056,564, 61/086,231, 61/097,787, và 61/099,844; và các đơn quốc tế số PCT/US2008/064591, PCT US2008/066154, PCT US2008/068922, và PCT/DK98/00393.

Theo một số phương án, axit nucleic bao gồm axit nucleic đã được liên kết. Axit nucleic có thể được liên kết với nhau bằng cách sử dụng liên kết cầu nối liên axit nucleic bất kỳ. Hai nhóm chính của nhóm liên kết liên axit nucleic được xác định bằng sự có mặt hoặc không có mặt của nguyên tử phospho. Liên kết cầu nối liên axit nucleic chứa phospho đại diện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phosphodiester, phosphotriester, methylphosphonat, phosphoramidat, và phosphorothioat (P=S). Nhóm liên kết liên axit nucleic chứa nguyên tử không phải phospho đại diện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, metylenmetylimino (-CH₂-N(CH₃)-O-CH₂-), thiodiester (-O-C(O)-S-), thionocarbamat (-O-C(O)(NH)-S-); siloxan (-O-Si(H)₂-O-); và N,N*-dimethylhydrazin (-CH₂-N(CH₃)-N(CH₃)). Theo một số phương án, liên kết cầu nối liên axit nucleic có nguyên tử không đối xứng có

thể được điều chế dưới dạng hỗn hợp racemic, dưới dạng chất đồng phân đối hình riêng biệt, ví dụ, alkylphosphonat và phosphorothioat. Axit nucleic không tự nhiên có thể chứa một cải biến duy nhất. Axit nucleic không tự nhiên có thể chứa nhiều cải biến trong một trong các gốc hoặc giữa các gốc khác nhau.

Các cải biến phosphat trong khung với axit nucleic bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, methyl phosphonat, phosphorothioat, phosphoramidat (tạo cầu nối hoặc không tạo cầu nối), phosphotrieste, phosphorodithioat, phosphodithioat, và boranophosphat, và có thể được sử dụng trong tổ hợp bất kỳ. Các liên kết cầu nối không phosphat khác cũng có thể được sử dụng.

Theo một số phương án, các cải biến trong khung (ví dụ, liên kết cầu nối methylphosphonat, phosphorothioat, phosphoroamidat và phosphorodithioat liên nucleotit) có thể trao đổi hoạt tính điều biến miễn dịch trên axit nucleic đã được cải biến và/hoặc tăng cường độ ổn định *in vivo* của chúng.

Trong một số trường hợp, dẫn xuất phospho (hoặc nhóm phosphat đã được cải biến) được gắn với đường hoặc gốc tương tự đường trong và có thể là monophosphat, diphosphat, triphosphat, alkylphosphonat, phosphorothioat, phosphorodithioat, phosphoramidat hoặc các hợp chất tương tự. Liên kết cầu nối phosphat chứa polynucleotit đã được cải biến hoặc liên kết cầu nối không phosphat có thể được tìm thấy trong Peyrottes et al., 1996, *Nucleic Acids Res.* 24: 1841-1848; Chaturvedi et al., 1996, *Nucleic Acids Res.* 24:2318-2323; and Schultz et al., (1996) *Nucleic Acids Res.* 24:2966-2973; Matteucci, 1997, "Oligonucleotide Analogs: an Overview" in *Oligonucleotides as Therapeutic Agents*, (Chadwick and Cardew, ed.) John Wiley and Sons, New York, NY; Zon, 1993, "Oligonucleoside Phosphorothioates" in *Protocols for Oligonucleotides and Analogs, Synthesis and Properties*, Humana Press, pp. 165-190; Miller et al., 1971, *JACS* 93:6657-6665; Jager et al., 1988, *Biochem.* 27:7247-7246; Nelson et al., 1997, *JOC* 62:7278-7287; Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 5,453,496; và Micklefield, 2001, *Curr. Med. Chem.* 8: 1157-1179.

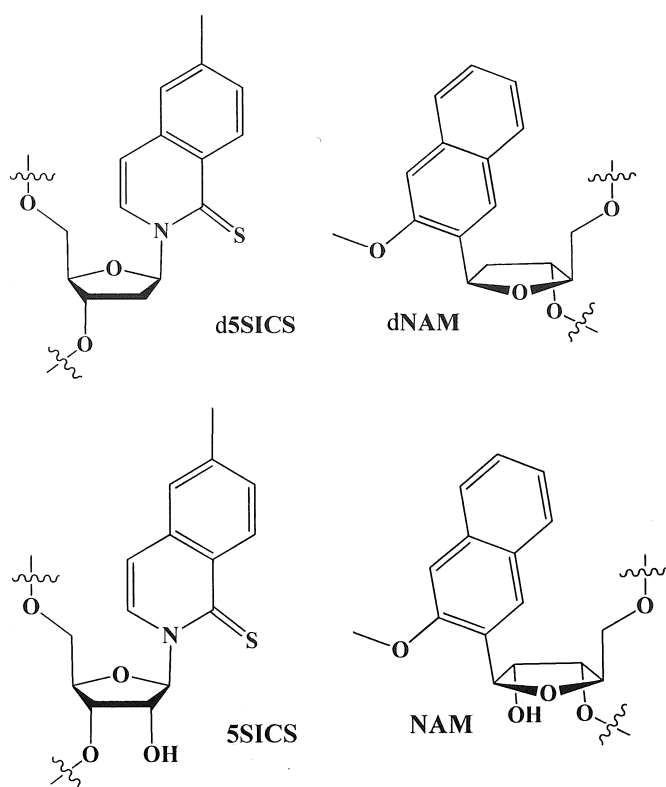
Trong một số trường hợp, cải biến trong khung bao gồm thay thế liên kết cầu nối phosphodiester bằng gốc thay thế như nhóm anion, trung hòa hoặc cation. Ví dụ về cải biến như vậy bao gồm: liên kết cầu nối liên nucleosit anion; Cải biến

phosphoramidat N3' đến P5'; ADN boranophosphat; prooligonucleotit; liên kết cầu nối liên nucleosit trung tính như metylphosphonat; ADN được liên kết amit; liên kết cầu nối metylen(metylimino); formaxetal và liên kết cầu nối thioformaxetal; các khung chứa nhóm sulfonyl; oligo morpholino; peptit axit nucleic (PNA); và oligo deoxyribonucleic guanidin tích điện dương (DNG) (Micklefield, 2001, Current Medicinal Chemistry 8: 1157-1179). Axit nucleic đã được cải biến có thể bao gồm khung hỗn hợp hoặc khảm bao gồm một hoặc nhiều cải biến, ví dụ, hỗn hợp của phosphat liên kết cầu nối như hỗn hợp của liên kết cầu nối phosphodiester và phosphorothioat.

Các phân tử thế đối với phosphat bao gồm, ví dụ, alkyl mạch ngắn hoặc liên kết cầu nối liên xycloalkyl nucleosit, hỗn hợp nguyên tử khác loại và alkyl hoặc liên kết cầu nối liên xycloalkyl nucleosit, hoặc một hoặc nhiều liên kết cầu nối liên nucleosit nguyên tử khác loại hoặc dị vòng mạch ngắn. Các liên kết cầu nối này bao gồm các khung có liên kết cầu nối morpholino (được tạo ra một phần từ phần đường của nucleosit); các khung siloxan; sulfua, các khung sulfoxit và sulfon; các khung formaxetyl và thioformaxetyl; các khung metylen formaxetyl và thioformaxetyl; các khung chứa alken; các khung sulfamat; các khung metylenimino và metylenhydrazino; các khung sulfonat và sulfonamit; các khung amit; và các khung khác có hỗn hợp các phần của thành phần N, O, S và CH₂. Nhiều bằng sáng chế độc quyền Mỹ đề cập đến phương pháp điều chế và sử dụng các dạng thay thế phosphat này và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 5,034,506; 5,166,315; 5,185,444; 5,214,134; 5,216,141; 5,235,033; 5,264,562; 5,264,564; 5,405,938; 5,434,257; 5,466,677; 5,470,967; 5,489,677; 5,541,307; 5,561,225; 5,596,086; 5,602,240; 5,610,289; 5,602,240; 5,608,046; 5,610,289; 5,618,704; 5,623,070; 5,663,312; 5,633,360; 5,677,437; và 5,677,439. Cũng cần hiểu rằng trong phân tử thế nucleotit cả gốc đường và phosphat của nucleotit có thể được thay thế, bằng, ví dụ, liên kết cầu nối dạng amit (aminoethylglyxin) (PNA). Các Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 5,539,082; 5,714,331; và 5,719,262 đề cập đến phương pháp điều chế và sử dụng phân tử PNA, mỗi tài liệu này được đưa vào bản mô tả bằng cách viện dẫn. Cũng xem Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500.

Cũng có thể liên kết các dạng phân tử khác (thể liên hợp) với nucleotit hoặc chất tương tự nucleotit để tăng cường, ví dụ, khả năng hấp thụ tế bào. Các thể liên hợp có thể được liên kết hóa học với nucleotit hoặc chất tương tự nucleotit. Các thể liên hợp như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, gốc lipit như gốc cholesterol (Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556), axit cholic (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060), thioete, ví dụ, hexyl-S-tritylthiol (Manoharan et al., Ann. KY. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770), thiocholesterol (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538), mạch béo, ví dụ, gốc dodecandiol hoặc undexyl (Saison-Behmoaras et al., EMBOJ, 1991, 10, 1111-1118; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327-330; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54), phospholipit, ví dụ, di-hexadexyl-rac-glyxerol hoặc trietylamoni 1-di-O-hexadexyl-rac-glyxero-S-H-phosphonat (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783), mạch polyamin hoặc polyetylen glycol (Manoharan et al., Nucleoside & Nucleotide, 1995, 14, 969-973), hoặc axit adamantan axetic (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654), gốc palmityl (Mishra et al., Biochem. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237), hoặc octadexylamin hoặc gốc hexylamino-carbonyl-oxycholesterol (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937). Nhiều Bằng sáng chế độc quyền Mỹ đề cập đến quy trình điều chế các thể liên hợp như vậy và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 4,828,979; 4,948,882; 5,218,105; 5,525,465; 5,541,313; 5,545,730; 5,552,538; 5,578,717; 5,580,731; 5,580,731; 5,591,584; 5,109,124; 5,118,802; 5,138,045; 5,414,077; 5,486,603; 5,512,439; 5,578,718; 5,608,046; 4,587,044; 4,605,735; 4,667,025; 4,762,779; 4,789,737; 4,824,941; 4,835,263; 4,876,335; 4,904,582; 4,958,013; 5,082,830; 5,112,963; 5,214,136; 5,082,830; 5,112,963; 5,214,136; 5,245,022; 5,254,469; 5,258,506; 5,262,536; 5,272,250; 5,292,873; 5,317,098; 5,371,241; 5,391,723; 5,416,203; 5,451,463; 5,510,475; 5,512,667; 5,514,785; 5,565,552; 5,567,810; 5,574,142; 5,585,481; 5,587,371; 5,595,726; 5,597,696; 5,599,923; 5,599,928 và 5,688,941.

Trong một số trường hợp, axit nucleic không tự nhiên tạo ra tiếp các cặp bazơ không tự nhiên. Nucleotit không tự nhiên được lấy làm ví dụ có khả năng tạo ra cặp bazơ ADN hoặc ARN không tự nhiên (UBP) trong các điều kiện *in vivo* bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 5SICS, d5SICS, NAM, dNaM, và các tổ hợp của chúng. Theo một số phương án, nucleotit không tự nhiên bao gồm:



Theo một số phương án, cặp bazơ không tự nhiên tạo ra axit amin không tự nhiên được mô tả trong Dumas *et al.*, “Designing logical codon reassignment – Expanding the chemistry in biology,” *Chemical Science*, **6**: 50-69 (2015).

Tế bào vật chủ mà các cấu trúc hoặc vec-tơ sáng chế đề cập đến được đưa vào được nuôi cấy hoặc duy trì trong môi trường thích hợp sao cho ARN vận chuyển, ARN vận chuyển synthetaza và protein đang quan tâm được tạo ra. Môi trường cũng bao gồm (các) axit amin không tự nhiên sao cho protein đang quan tâm đưa vào (các) axit amin không tự nhiên.

Cặp ARN vận chuyển synthetaza/ARN vận chuyển trực giao nạp ARN vận chuyển bằng axit amin không tự nhiên và đưa vào axit amin không tự nhiên vào chuỗi polypeptit đáp ứng với codon. Cặp aaRS-ARN vận chuyển được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, cặp *Methanococcus jannaschii* (Mj-Tyr)

aaRS/ARN vận chuyển, cặp *E. coli* TyrRS (*Ec-Tyr*)/*B. stearothermophilus* ARN vận chuyển_{CUA}, cặp *E. coli* LeuRS (*Ec-Leu*)/*B. stearothermophilus* ARN vận chuyển_{CUA}, và cặp pyrolysyl-ARN vận chuyển.

Xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit bao gồm (các) axit amin không tự nhiên được tạo ra bằng cách đưa vào các cấu trúc axit nucleic được đề cập trong bản mô tả này bao gồm ARN vận chuyển và ARN vận chuyển synthetaza và bao gồm trình tự axit nucleic đang quan tâm với một hoặc nhiều codon (kết thúc) trực giao trong khung vào tế bào vật chủ. Tế bào vật chủ được tiếp xúc với dung dịch sinh lý bao gồm (các) axit amin không tự nhiên, và tế bào vật chủ sau đó được duy trì trong các điều kiện cho phép sự biểu hiện của trình tự mã hóa của protein đang quan tâm. (Các) axit amin không tự nhiên được đưa vào mạch polypeptit đáp ứng với codon. Ví dụ, một hoặc nhiều axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit. Theo cách khác, hai hoặc nhiều hơn hai axit amin không tự nhiên có thể được đưa vào xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit ở hai hoặc nhiều hơn hai vị trí trong protein.

Khi nhiều axit amin không tự nhiên được đưa vào xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit, cần hiểu rằng nhiều codon sẽ cần được đưa vào trình tự axit nucleic mã hóa ở các vị trí mong muốn sao cho cặp ARN vận chuyển synthetaza/ARN vận chuyển có thể định hướng sự đưa vào axit amin không tự nhiên đáp ứng với (các) codon. Ít nhất 1, 2, 3, 4, hoặc cao hơn, codon mã hóa axit nucleic có thể được đưa vào trình tự axit nucleic đang quan tâm.

Khi mong muốn đưa nhiều hơn một dạng axit amin không tự nhiên vào protein đang quan tâm một protein duy nhất, cặp ARN vận chuyển trực giao-ARN vận chuyển synthetaza thứ hai hoặc khác nữa có thể được sử dụng để đưa vào axit amin không tự nhiên thứ hai hoặc khác nữa; thích hợp là cặp ARN vận chuyển trực giao-ARN vận chuyển synthetaza thứ hai hoặc khác nữa này nhận diện codon khác nhau trong axit nucleic mã hóa protein đang quan tâm sao cho hai hoặc hơn hai axit amin không tự nhiên có thể được đưa đặc hiệu vào các vị trí đã xác định khác nhau trong protein trong một bước sản xuất duy nhất. Vì vậy, theo một số phương án, hai hoặc nhiều hơn hai cặp ARN vận chuyển trực giao-ARN vận chuyển synthetaza có thể được sử dụng.

Khi xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit đưa vào (các) axit amin không tự nhiên đã được tạo ra trong tế bào vật chủ nó có thể được chiết từ đó bằng nhiều kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm phương pháp phá vỡ bằng enzym, hóa học và/hoặc ly giải thẩm thấu và vật lý. Xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit có thể được tinh chế bằng các kỹ thuật chuẩn đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này như sắc ký điều chế, tinh chế ái lực hoặc kỹ thuật thích hợp khác bất kỳ.

Tế bào vật chủ thích hợp có thể bao gồm tế bào vi khuẩn (ví dụ, *E. coli*), nhưng thích hợp nhất nếu tế bào vật chủ là tế bào có nhân điển hình, ví dụ, tế bào côn trùng (ví dụ, *Drosophila* như *Drosophila melanogaster*), tế bào nấm, tế bào giun tròn (ví dụ, *Celegans*), tế bào chuột nhắt (ví dụ, *Mus musculus*), hoặc tế bào động vật có vú (như tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (CHO) hoặc tế bào COS, tế bào 293T của người, tế bào HeLa, tế bào NIH 3T3, và tế bào chứng tăng hồng-bạch cầu (MEL) của chuột) hoặc tế bào của người hoặc các tế bào có nhân điển hình khác. Các tế bào vật chủ thích hợp khác là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này. Thích hợp, nếu tế bào vật chủ là tế bào động vật có vú - như tế bào của người hoặc tế bào côn trùng.

Các tế bào vật chủ thích hợp khác có thể thường được sử dụng trong các phương án theo sáng chế là các tế bào vật chủ được đề cập trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế. ADN vec-tơ có thể được đưa vào tế bào vật chủ nhờ kỹ thuật biến nạp hoặc chuyển nhiễm thông thường. Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ "biến nạp" và "chuyển nhiễm" được dự định để chỉ sự đa dạng của các kỹ thuật đã được thừa nhận để đưa phân tử axit nucleic ngoại lai (ví dụ, ADN) vào tế bào vật chủ, bao gồm phương pháp đồng kết tủa canxi phosphat hoặc canxi clorua, phương pháp chuyển nhiễm qua trung gian DEAE-dextran, phương pháp chuyển liposome, hoặc phương pháp xung điện. Các phương pháp biến nạp hoặc chuyển nhiễm tế bào vật chủ như vậy là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Khi tạo ra dòng tế bào, thường tốt hơn là dòng tế bào ổn định được tạo ra. Để chuyển nhiễm ổn định tế bào động vật có vú, ví dụ, đã biết rằng, tùy thuộc vào vec-tơ biểu hiện và kỹ thuật chuyển nhiễm được sử dụng, chỉ có mảnh nhỏ của các tế bào có thể nhập ADN ngoại lai vào bộ gen của chúng. Để xác định và chọn lọc các

thể nhập này, gen mã hóa gen đánh dấu chọn lọc (ví dụ, để kháng chất kháng sinh) thường được đưa vào tế bào vật chủ cùng với gen đang quan tâm. Các gen đánh dấu chọn lọc được ưu tiên bao gồm các gen đánh dấu chọn lọc mang lại tính kháng thuốc, như G418, hygromycin, hoặc methotrexate. Phân tử axit nucleic mã hóa gen đánh dấu chọn lọc có thể được đưa vào tế bào vật chủ trên cùng vec-tơ hoặc có thể được đưa vào trên các vec-tơ riêng rẽ. Các tế bào được chuyển nhiễm ổn định với phân tử axit nucleic đã được đưa vào có thể được xác định bằng sự chọn lọc thuốc (ví dụ, các tế bào đã được đưa vào gen đánh dấu chọn lọc sẽ sống sót, trong khi các tế bào khác chết).

Theo một phương án, các cấu trúc được đề cập trong bản mô tả này được nhập vào bộ gen của tế bào vật chủ. Ưu điểm của sự nhập ổn định đó là tính đồng nhất giữa các tế bào hoặc dòng vô tính riêng lẻ đạt được. Ưu điểm khác đó là việc chọn lọc nhà sản xuất tốt nhất có thể được thực hiện. Theo đó, mong muốn tạo ra dòng tế bào ổn định. Theo phương án khác, các cấu trúc được đề cập trong bản mô tả này được chuyển nhiễm vào tế bào vật chủ. Ưu điểm của chuyển nhiễm các cấu trúc vào tế bào vật chủ đó là hiệu suất protein có thể đạt được tối đa. Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất tế bào bao gồm cấu trúc axit nucleic hoặc vec-tơ được đề cập trong bản mô tả này.

Dược phẩm và dạng bào chế

Theo một số phương án, dược phẩm và dạng bào chế được đề cập trong bản mô tả này được dùng cho đối tượng bằng nhiều đường dùng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dùng ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da, tiêm bắp), nội sọ, qua khoang miệng, qua trực tràng, ngậm dưới lưỡi, hoặc qua da.

Theo một số phương án, dược phẩm chứa, nhưng không chỉ giới hạn ở, thể phân tán lỏng dạng nước, thể phân tán tự nhũ hóa, dung dịch rắn, thể phân tán liposom, sol khí, dạng liều lượng rắn, dạng bột, dạng bào chế giải phóng ngay, dạng bào chế giải phóng có kiểm soát, dạng bào chế tan chảy nhanh, viên nén, viên nang, thuốc viên, dạng bào chế giải phóng chậm, dạng bào chế giải phóng kéo dài, dạng

bào chế giải phóng theo nhịp, dạng bào chế nhiều hạt (ví dụ, dạng bào chế hạt nano), và dạng trung gian hỗn hợp và dạng bào chế giải phóng có kiểm soát.

Theo một số phương án, dược phẩm chứa chất mang hoặc vật liệu chất mang được chọn lọc trên cơ sở sự tương thích với chế phẩm được đề cập trong bản mô tả này, và các đặc tính profin giải phóng của dạng liều lượng mong muốn. Vật liệu chất mang được lấy làm ví dụ bao gồm, ví dụ, chất gắn kết, chất tạo huyền phù, chất gây rã, chất độn, chất hoạt động bề mặt, chất hòa tan, chất làm ổn định, chất làm trơn, chất thấm ướt, chất pha loãng, và các chất tương tự. Vật liệu chất mang tương thích về dược học bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, acacia, gelatin, silic dioxit dạng keo, canxi glyxerophosphat, canxi lactat, maltodextrin, glyxerin, magie silicat, polyvinylpyrrolidon (PVP), cholesterol, cholesterol este, natri caseinat, lexithin đậu tương, axit taurocholic, phosphatidylcholin, natri clorua, tricanxi phosphat, dikali phosphat, xenluloza và thể liên hợp xenluloza, đường natri stearyl lactylat, caragenan, monoglyxerit, diglyxerit, tinh bột đã được gelatin hóa sơ bộ, và các chất tương tự. Xem, ví dụ, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Nineteenth Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995), Hoover, John E., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975, Liberman, H.A. và Lachman, L., Eds., *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980, và *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999).

Trong một số trường hợp, dược phẩm được bào chế dưới dạng liposom miễn dịch, bao gồm nhiều thể liên hợp IL-2 gắn kết hoặc trực tiếp hoặc gián tiếp với hai lớp lipid của liposom. Lipid được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit béo; phospholipit; sterol như cholesterol; sphingolipit như sphingomyelin; glycosphingolipit như gangliosit, globocit, và xerebrosit; amin hoạt động bề mặt như stearyl, oleyl, và linoleyl amin. Trong một số trường hợp, lipid bao gồm lipid cation. Trong một số trường hợp, lipid bao gồm phospholipit. Phospholipit được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit phosphatidic ("PA"), phosphatidylcholin ("PC"), phosphatidylglyxerol ("PG"), phosphatidyletanolamin ("PE"), phosphatidylinositol ("PI"), và phosphatidylserin ("PS"), sphingomyelin

(bao gồm sphingomyelin của não), lexithin, lysolexithin, lysophosphatidyletanolamin, xerebroxit, diarachidoylphosphatidylcholin (“DAPC”), didecanoyl-L-alpha-phosphatidylcholin (“DDPC”), dielaidoylphosphatidylcholin (“DEPC”), dilauroylphosphatidylcholin (“DLPC”), dilinoleoylphosphatidylcholin, dimyristoylphosphatidylcholin (“DMPC”), dioleoylphosphatidylcholin (“DOPC”), dipalmitoylphosphatidylcholin (“DPPC”), distearoylphosphatidylcholin (“DSPC”), 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylcholin (“POPC”), diarachidoylphosphatidylglyxerol (“DAPG”), didecanoyl-L-alpha-phosphatidylglyxerol (“DDPG”), dielaidoylphosphatidylglyxerol (“DEPG”), dilauroylphosphatidylglyxerol (“DLPG”), dilinoleoylphosphatidylglyxerol, dimyristoylphosphatidylglyxerol (“DMPG”), dioleoylphosphatidylglyxerol (“DOPG”), dipalmitoylphosphatidylglyxerol (“DPPG”), distearoylphosphatidylglyxerol (“DSPG”), 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylglyxerol (“POPG”), diarachidoylphosphatidyletanolamin (“DAPE”), didecanoyl-L-alpha-phosphatidyletanolamin (“DDPE”), dielaidoylphosphatidyletanolamin (“DEPE”), dilauroylphosphatidyletanolamin (“DLPE”), dilinoleoylphosphatidyletanolamin, dimyristoylphosphatidyletanolamin (“DMPE”), dioleoylphosphatidyletanolamin (“DOPE”), dipalmitoylphosphatidyletanolamin (“DPPE”), distearoylphosphatidyletanolamin (“DSPE”), 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidyletanolamin (“POPE”), diarachidoylphosphatidylinositol (“DAPI”), didecanoyl-L-alpha-phosphatidylinositol (“DDPI”), dielaidoylphosphatidylinositol (“DEPI”), dilauroylphosphatidylinositol (“DLPI”), dilinoleoylphosphatidylinositol, dimyristoylphosphatidylinositol (“DMPI”), dioleoylphosphatidylinositol (“DOPI”), dipalmitoylphosphatidylinositol (“DPPI”), distearoylphosphatidylinositol (“DSPI”), 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylinositol (“POPI”), diarachidoylphosphatidylserin (“DAPS”), didecanoyl-L-alpha-phosphatidylserin (“DDPS”), dielaidoylphosphatidylserin (“DEPS”), dilauroylphosphatidylserin (“DLPS”), dilinoleoylphosphatidylserin, dimyristoylphosphatidylserin (“DMPS”), dioleoylphosphatidylserin (“DOPS”), dipalmitoylphosphatidylserin (“DPPS”),

distearoylphosphatidylserin (“DSPS”), 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylserin (“POPS”), diarachidoyl sphingomyelin, didecanoyl sphingomyelin, dielaidoyl sphingomyelin, dilauroyl sphingomyelin, dilinoleoyl sphingomyelin, dimyristoyl sphingomyelin, sphingomyelin, dioleoyl sphingomyelin, dipalmitoyl sphingomyelin, distearoyl sphingomyelin, và 1-palmitoyl-2-oleoyl-sphingomyelin.

Trong một số trường hợp, dược phẩm còn chứa chất điều chỉnh độ pH hoặc chất tạo đệm bao gồm các axit như axit axetic, axit boric, axit xitric, axit lactic, axit phosphoric và axit clohydric, các bazơ như natri hydroxit, natri phosphat, natri borat, natri xitrat, natri axetat, natri lactat và tris-hydroxymetylaminometan, và các dung dịch đệm như xitrat/dextroza, natri bicarbonat và amoni clorua. Các axit, bazơ và các dung dịch đệm được chứa với lượng theo yêu cầu để duy trì độ pH của dược phẩm trong khoảng chấp nhận được.

Trong một số trường hợp, dược phẩm chứa một hoặc nhiều muối với lượng theo yêu cầu để mang lại tính thẩm thấu của chế phẩm trong khoảng chấp nhận được. Các muối như vậy bao gồm các muối có cation natri, kali hoặc amoni và clorua, anion xitrat, ascorbat, borat, phosphat, bicarbonat, sulfat, thiosulfat hoặc bisulfite, các muối thích hợp bao gồm natri clorua, kali clorua, natri thiosulfat, natri bisulfite và amoni sulfat.

Theo một số phương án, dược phẩm chứa, nhưng không chỉ giới hạn ở, đường như trehaloza, sucroza, mannitol, maltoza, glucoza, hoặc các muối như kali phosphat, natri xitrat, amoni sulfat và/hoặc các chất khác như heparin để làm tăng độ hòa tan và độ ổn định *in vivo* của polypeptit.

Trong một số trường hợp, dược phẩm còn chứa chất pha loãng được sử dụng để làm ổn định hợp chất vì chúng có thể tạo ra môi trường ổn định hơn. Muối đã hòa tan trong các dung dịch đã được tạo đệm (cũng có thể tạo ra sự kiểm soát hoặc duy trì độ pH) được sử dụng làm chất pha loãng trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dung dịch nước muối được tạo đệm phosphat. Trong một số trường hợp, chất pha loãng làm tăng khối lượng của chế phẩm để tạo thuận lợi quá trình ép hoặc tạo ra khối lượng đủ để phối trộn đồng nhất để độn viên nang. Các hợp chất như vậy có thể bao gồm, ví dụ, lactoza, tinh bột, mannitol, sorbitol,

dextroza, xenluloza vi tinh thể như Avicel[®], canxi phosphat hai bazơ, dicanxi phosphat dihydrat, tricanxi phosphat, canxi phosphat, lactoza khan, lactoza đã được sấy phun, tinh bột đã được gelatin hóa sơ bộ, đường nén, như Di-Pac[®] (Amstar), mannitol, hydroxypropylmetylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza axetat stearat, chất pha loãng trên cơ sở sucroza, đường trong bánh kẹo, canxi sulfat monohidrat một bazơ, canxi sulfat dihydrat, canxi lactat trihydrat, dextrat, ngũ cốc rắn đã được thủy phân, amyloza, bột xenluloza, canxi carbonat, glyxin, kaolin, mannitol, natri clorua, inositol, bentonit, và các chất tương tự.

Trong một số trường hợp, dược phẩm chứa chất gây rã hoặc chất làm tan rã để tạo thuận lợi sự phá vỡ hoặc sự gây rã chất. Thuật ngữ “gây rã” bao gồm cả sự hòa tan và sự gây rã của dạng liều lượng khi được tiếp xúc với dịch của đường ruột-dạ dày. Ví dụ về chất gây rã bao gồm tinh bột, ví dụ, tinh bột tự nhiên như tinh bột ngô hoặc tinh bột khoai tây, tinh bột đã được gelatin hóa sơ bộ như National 1551 hoặc Amijel[®], hoặc natri tinh bột glycolat như Promogel[®] hoặc Explotab[®], xenluloza như sản phẩm gỗ, metylcrystalline xenluloza, ví dụ, Avicel[®], Avicel[®] PH101, Avicel[®] PH102, Avicel[®] PH105, Elcema[®] P100, Emcocel[®], Vivacel[®], Ming Tia[®], và Solka-Floc[®], metylxenluloza, croscarmeloza, hoặc xenluloza đã được tạo liên kết ngang, như natri carboxymetylxenluloza đã được tạo liên kết ngang (Ac-di-Sol[®]), carboxymetylxenluloza đã được tạo liên kết ngang, hoặc croscarmeloza đã được tạo liên kết ngang, tinh bột đã được tạo liên kết ngang như natri tinh bột glycolat, polyme đã được tạo liên kết ngang như crospovidone, polyvinylpyrrolidon đã được tạo liên kết ngang, alginat như axit alginic hoặc muối của axit alginic như natri alginat, đất sét như Veegum[®] HV (magie nhôm silicat), gôm như thạch, gôm guar, đậu châu châu, Karaya, pectin, hoặc gôm tragacanth, natri tinh bột glycolat, bentonit, bột biển tự nhiên, chất hoạt động bề mặt, nhựa như nhựa trao đổi cation, cam quýt, natri lauryl sulfat, natri lauryl sulfat kết hợp với tinh bột, và các chất tương tự.

Trong một số trường hợp, dược phẩm chứa chất độn như lactoza, canxi carbonat, canxi phosphat, canxi phosphat hai bazơ, canxi sulfat, xenluloza vi tinh thể, bột xenluloza, dextroza, dextrat, dextran, tinh bột, tinh bột đã được gelatin hóa

sơ bộ, sucroza, xylitol, lactitol, mannitol, sorbitol, natri clorua, polyetylen glycol, và các chất tương tự.

Chất làm trơn và chất trượt cũng tùy ý được chứa trong dược phẩm được đề cập trong bản mô tả này để ngăn ngừa, làm giảm hoặc ức chế sự bám dính hoặc sự ma sát của vật liệu. Chất làm trơn được lấy làm ví dụ bao gồm, ví dụ, axit stearic, canxi hydroxit, bột talc, natri stearyl fumerat, hydrocacbon như dầu khoáng, hoặc dầu thực vật đã được hydro hóa như dầu đậu tương đã được hydro hóa (Sterotex®), axit béo bậc cao hơn và các muối kim loại kiềm và kim loại kiềm thổ của chúng, như nhôm, canxi, magie, kẽm, axit stearic, natri stearat, glyxerol, bột talc, sáp, Stearowet®, axit boric, natri benzoat, natri axetat, natri clorua, leuxin, polyetylen glycol (ví dụ, PEG-4000) hoặc metoxypolyetylen glycol như Carbowax™, natri oleat, natri benzoat, glyxeryl behenat, polyetylen glycol, magie hoặc natri lauryl sulfat, silic dioxit dạng keo như Syloid™, Cab-O-Sil®, tinh bột như tinh bột ngô, dầu silicon, chất hoạt động bề mặt, và các chất tương tự.

Chất làm mềm dẻo bao gồm hợp chất được sử dụng để làm mềm vật liệu tạo vi nang hoặc các lớp phủ màng để làm cho chúng ít giòn hơn. Chất làm mềm dẻo thích hợp bao gồm, ví dụ, polyetylen glycol như PEG 300, PEG 400, PEG 600, PEG 1450, PEG 3350, và PEG 800, axit stearic, propylen glycol, axit oleic, trietyl xenluloza và triaxetin. Chất làm mềm dẻo cũng có thể hoạt động chức năng như chất phân tán hoặc chất thấm ướt.

Chất hòa tan bao gồm hợp chất như triaxetin, trietylxitrat, etyl oleat, etyl caprylat, natri lauryl sulfat, natri docusat, vitamin E TPGS, dimetylxetamit, N-metylpyrrolidon, N-hydroxyetylpyrrolidon, polyvinylpyrrolidon, hydroxypropylmetyl xenluloza, hydroxypropyl xyclodextrin, etanol, n-butanol, rượu isopropyl, cholesterol, muối mật, polyetylen glycol 200-600, glycofurol, transcitol, propylen glycol, và dimetyl isosorbit và các chất tương tự.

Chất làm ổn định bao gồm hợp chất như các chất chống oxy hóa bất kỳ, các dung dịch đệm, các axit, các chất bảo quản và các chất tương tự. Chất làm ổn định được lấy làm ví dụ bao gồm L-arginin hydroclorua, trometamin, albumin (của người), axit xitric, rượu benzyl, phenol, dinatri biphosphat dehydrat, propylen

glycol, metacresol hoặc m-cresol, kẽm axetat, polysorbate-20 hoặc Tween® 20, hoặc trometamol.

Chất tạo huyền phù bao gồm hợp chất như polyvinylpyrrolidon, ví dụ, polyvinylpyrrolidon K12, polyvinylpyrrolidon K17, polyvinylpyrrolidon K25, hoặc polyvinylpyrrolidon K30, copolyme vinyl pyrrolidon/vinyl axetat (S630), polyetylen glycol, ví dụ, polyetylen glycol có thể có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 300 đến khoảng 6000, hoặc từ khoảng 3350 đến khoảng 4000, hoặc từ khoảng 7000 đến khoảng 5400, natri carboxymetylxenluloza, metylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, hydroxymetylxenluloza axetat stearat, polysorbate-80, hydroxyetylxenluloza, natri alginat, gồm như, ví dụ, gồm tragacanth và gồm acaxia, gồm guar, xanthan, bao gồm gồm xanthan, đường, xenluloza, như, ví dụ, natri carboxymetylxenluloza, metylxenluloza, natri carboxymetylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, hydroxyetylxenluloza, polysorbate-80, natri alginat, sorbitan monolaurat đã được polyetoxyl hóa, sorbitan monolaurat đã được polyetoxyl hóa, povidone và các chất tương tự.

Chất hoạt động bề mặt bao gồm hợp chất như natri lauryl sulfat, natri docusat, Tween 60 hoặc 80, triaxetin, vitamin E TPGS, sorbitan monooleat, polyoxyetylen sorbitan monooleat, polysorbat, polaxome, muối mật, glyxeryl monostearat, copolyme của etylen oxit và propylen oxit, ví dụ, Pluronic® (BASF), và các chất tương tự. Chất hoạt động bề mặt bổ sung bao gồm glyxerit của axit béo polyoxyetylen và dầu thực vật, ví dụ, dầu thầu dầu đã được hydro hóa polyoxyetylen (60), và polyoxyetylen alkylete và alkylphenyl ete, ví dụ, octoxynol 10, octoxynol 40. Đôi khi, chất hoạt động bề mặt cũng bao gồm để tăng cường độ ổn định vật lý hoặc nhằm các mục đích khác.

Chất làm tăng cường độ nhót bao gồm, ví dụ, metyl xenluloza, gồm xanthan, carboxymetyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, hydroxypropylmetyl xenluloza, hydroxypropylmetyl xenluloza axetat stearat, hydroxypropylmetyl xenluloza phtalat, carbomer, rượu polyvinyl, alginat, acaxia, chitosan và các tổ hợp của chúng.

Chất thấm ướt bao gồm hợp chất như axit oleic, glyxeryl monostearat, sorbitan monooleat, sorbitan monolaurat, trietanolamin oleat, polyoxyetylen sorbitan

monooleat, polyoxyetylen sorbitan monolaurat, natri docusat, natri oleat, natri lauryl sulfat, natri docusat, triaxetin, Tween 80, vitamin E TPGS, muối amoni và các chất tương tự.

Phác đồ điều trị

Theo một số phương án, dược phẩm được đề cập trong bản mô tả này được dùng cho các ứng dụng trị liệu. Theo một số phương án, dược phẩm được dùng một lần mỗi ngày, hai lần mỗi ngày, ba lần mỗi ngày hoặc nhiều hơn. Dược phẩm được dùng hàng ngày, mỗi ngày, mỗi ngày thay thế, năm ngày một tuần, mỗi tuần một lần, mỗi tuần, hai tuần mỗi tháng, ba tuần mỗi tháng, mỗi tháng một lần, hai lần một tháng, ba lần mỗi tháng, hoặc nhiều hơn. Dược phẩm được dùng trong ít nhất 1 tháng, 2 tháng, 3 tháng, 4 tháng, 5 tháng, 6 tháng, 7 tháng, 8 tháng, 9 tháng, 10 tháng, 11 tháng, 12 tháng, 18 tháng, 2 năm, 3 năm, hoặc nhiều hơn.

Trong trường hợp trong đó tình trạng bệnh nhân cải thiện, theo sự quyết định của bác sĩ, việc dùng chế phẩm sẽ được đưa ra liên tục, theo cách khác, liều dùng của chế phẩm đang được dùng tạm thời được giảm hoặc tạm thời được treo trong một khoảng thời gian nhất định (tức là “kỳ nghỉ thuốc”). Trong một số trường hợp, chiều dài của kỳ nghỉ thuốc thay đổi trong khoảng từ 2 ngày đến 1 năm, bao gồm, chỉ bằng cách ví dụ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 12 ngày, 15 ngày, 20 ngày, 28 ngày, 35 ngày, 50 ngày, 70 ngày, 100 ngày, 120 ngày, 150 ngày, 180 ngày, 200 ngày, 250 ngày, 280 ngày, 300 ngày, 320 ngày, 350 ngày, hoặc 365 ngày. Mức giảm liều dùng trong kỳ nghỉ thuốc nằm trong khoảng 10%-100%, bao gồm, chỉ bằng cách ví dụ, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, hoặc 100%.

Khi xuất hiện sự cải thiện tình trạng của bệnh nhân, liều duy trì được dùng nếu cần. Sau đó, liều lượng hoặc tần suất dùng, hoặc cả hai, có thể được giảm, dưới dạng hàm của triệu chứng, đến mức mà tại đó bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh được ngăn lại.

Theo một số phương án, lượng tác nhân nhất định tương ứng với một lượng như vậy thay đổi tùy thuộc vào các yếu tố như hợp chất cụ thể, mức nghiêm trọng

của bệnh, nhân dạng (ví dụ, thể trọng) của đối tượng hoặc vật chủ cần điều trị, nhưng tuy nhiên thường được xác định theo cách đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này theo các tình huống cụ thể quanh trường hợp này, bao gồm, ví dụ, tác nhân cụ thể được dùng, đường dùng, và đối tượng hoặc vật chủ được dùng. Trong một số trường hợp, liệu mong muốn được trình bày thuận tiện dưới dạng một liều duy nhất hoặc dưới dạng các liều chia nhỏ được dùng đồng thời (hoặc trong một khoảng thời gian ngắn) hoặc vào những khoảng thời gian thích hợp, ví dụ, hai, ba, bốn liều phụ hoặc cao hơn, mỗi ngày.

Các khoảng nêu trên chỉ mang tính gợi ý, vì số lượng biến liên quan đến phác đồ điều trị riêng lẻ là lớn, và các khoảng dao động đáng kể từ các giá trị được đề xuất này không phải là hiếm. Liều lượng như vậy được thay đổi phụ thuộc vào một số biến, nhưng không chỉ giới hạn ở, hoạt tính của hợp chất được sử dụng, bệnh hoặc tình trạng bệnh cần được điều trị, kiểu dùng, yêu cầu của từng đối tượng, mức nghiêm trọng của bệnh hoặc tình trạng bệnh đang được điều trị, và sự đánh giá của bác sỹ.

Theo một số phương án, độc tính và hiệu quả điều trị của phác đồ điều trị như vậy được xác định bởi các quy trình được phẩm tiêu chuẩn trong môi trường nuôi cấy tế bào hoặc động vật thí nghiệm, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc xác định LD50 (Liều gây chết đến 50% quần thể) và ED50 (Liều điều trị có hiệu quả ở 50% quần thể). Tỷ lệ liều dùng giữa hiệu quả gây độc và hiệu quả điều trị là chỉ số điều trị và được biểu diễn bằng tỷ lệ giữa LD50 và ED50. Hợp chất có chỉ số điều trị cao được ưu tiên. Dữ liệu thu được từ các thử nghiệm nuôi cấy và các nghiên cứu động vật là hữu ích để bào chế khoảng liều lượng để sử dụng ở người. Tốt hơn là, liều lượng của các hợp chất như vậy nằm trong khoảng nồng độ toàn hoàn bao gồm ED50 với độc tính ở mức tối thiểu. Liều lượng thay đổi trong khoảng này tùy thuộc vào dạng liều lượng được dùng và đường dùng được sử dụng.

Kit/Vật phẩm sản xuất

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kit và vật phẩm sản xuất để sử dụng với một hoặc nhiều phương pháp và được phẩm được đề cập trong bản mô tả này. Kit như vậy bao gồm chất mang, bao gói, hoặc đồ chứa được chia thành ngăn để tiếp

nhận một hoặc nhiều đồ chứa như lọ nhỏ, ống, và các dạng tương tự, mỗi dạng đồ chứa bao gồm một trong các yếu tố riêng biệt để được sử dụng trong phương pháp được đề cập trong bản mô tả này. Đồ chứa thích hợp bao gồm, ví dụ, chai, lọ nhỏ, ống tiêm, và ống thử nghiệm. Theo một phương án, đồ chứa được làm từ các vật liệu khác nhau như thủy tinh hoặc chất dẻo.

Vật phẩm sản xuất được đề xuất theo sáng chế chứa vật liệu bao gói. Ví dụ về vật liệu bao gói được phẩm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví, chai, ống, túi, đồ chứa, chai, và vật liệu bao gói bất kỳ thích hợp cho dạng bào chế đã được chọn và kiểu dùng và phương pháp điều trị dự định.

Ví dụ, đồ chứa bao gồm một hoặc nhiều thể liên hợp xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit hoặc xytokin (ví dụ, IL-2) được đề cập trong bản mô tả này, và tùy ý một hoặc nhiều tá được đề cập trong bản mô tả này để tạo thuận lợi sự phân phối thể liên hợp xytokin (ví dụ, IL-2) polypeptit hoặc xytokin (ví dụ, IL-2). Kit như vậy còn tùy ý bao gồm phần mô tả xác định hoặc nhãn dán hoặc hướng dẫn liên quan đến việc sử dụng nó trong các phương pháp được đề cập trong bản mô tả này.

Kit thường bao gồm nhãn dán liệt kê các thành phần và/hoặc hướng dẫn sử dụng, và vật cài xen bao gói với hướng dẫn sử dụng. Bộ hướng dẫn sử dụng cũng sẽ thường chứa trong kit.

Theo một phương án, nhãn dán nằm trên hoặc kèm theo đồ chứa. Theo một phương án, nhãn dán nằm trên đồ chứa khi chữ cái, con số hoặc các ký tự khác tạo ra nhãn dán được đính kèm, tạo khuôn hoặc khắc vào chính đồ chứa, nhãn dán kèm theo đồ chứa khi nó có trong vật đựng hoặc chất mang cũng giữ đồ chứa như, ví dụ, vật cài xen bao gói. Theo một phương án, nhãn dán được sử dụng để chỉ ra các thành phần để được sử dụng cho ứng dụng điều trị cụ thể. Nhãn dán cũng chỉ ra các hướng dẫn để sử dụng các thành phần như trong các phương pháp được đề cập trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, dược phẩm được trình bày trong một gói hoặc dụng cụ phân tán chứa một hoặc nhiều dạng liều lượng đơn vị chứa hợp chất được đề xuất theo sáng chế. Gói này, ví dụ, chứa phôi kim loại hoặc chất dẻo, như ví. Theo một phương án, gói hoặc dụng cụ phân tán được kèm theo hướng dẫn sử dụng. Theo một

phương án, gói hoặc dụng cụ phân tán cũng được kèm theo thông báo liên quan đến đồ chứa ở dạng được quy định bởi cơ quan nhà nước để điều hòa sản xuất, sử dụng, hoặc kinh doanh dược phẩm, thông báo này phản ánh sự chấp thuận của cơ quan nhà nước về dạng thuốc để dùng cho người và trong thú y. Thông báo như vậy, ví dụ, là nhãn dán được chấp thuận bởi Cục quản lý dược phẩm và thực phẩm Mỹ đối với thuốc, hoặc vật cài xen sản phẩm đã được chấp thuận. Theo một phương án, được phẩm chứa hợp chất được đề xuất theo sáng chế được pha chế trong chất mang được dụng tương thích cũng được bào chế, đặt vào đồ chứa thích hợp, và dán nhãn để điều trị tình trạng bệnh đã chỉ ra.

Một số thuật ngữ

Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng ở đây đều có cùng nghĩa như thường được hiểu bởi chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật có liên quan. Cần phải hiểu rằng phần mô tả chi tiết chỉ là ví dụ và giải thích và không nhằm giới hạn đối tượng bất kỳ được yêu cầu bảo hộ. Trong sáng chế này, việc sử dụng số ít bao gồm cả số nhiều, trừ khi có quy định khác. Cần lưu ý rằng, khi được sử dụng trong bản mô tả, dạng số ít “một”, bao gồm cả số nhiều, trừ khi có quy định khác. Trong sáng chế này, việc sử dụng “hoặc” có nghĩa là “và/hoặc”, trừ khi có quy định khác. Hơn nữa, việc sử dụng thuật ngữ “bao gồm” cũng như các dạng khác như “gồm” “chứa”, và “được chứa”, không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Mặc dù các dấu hiệu khác nhau theo sáng chế có thể được mô tả trong nội dung của một phương án duy nhất, các dấu hiệu này cũng có thể được đề xuất riêng biệt hoặc trong tổ hợp phương án thích hợp bất kỳ khác. Ngược lại, mặc dù sáng chế có thể được đề cập trong bản mô tả này trong nội dung các phương án riêng biệt nhằm rõ ràng, sáng chế cũng có thể được thực hiện trong một phương án duy nhất.

Trong bản mô tả, các thuật ngữ “một số phương án”, “phương án”, “một phương án” hoặc “các phương án khác” nghĩa là dấu hiệu, cấu trúc, hoặc đặc điểm cụ thể được mô tả liên quan đến các phương án được bao gồm trong ít nhất một số phương án, nhưng không nhất thiết trong tất cả các phương án, theo sáng chế.

Như được sử dụng ở đây, các khoảng và lượng có thể được biểu diễn dưới dạng “khoảng” giá trị hoặc khoảng cụ thể. Khoảng cũng bao gồm lượng chính xác. Do đó, “khoảng 5 μL ” nghĩa là “khoảng 5 μL ” và cũng có nghĩa là “5 μL .” Nói chung, thuật ngữ “khoảng” bao gồm lượng sẽ được dự tính trong sai số thử nghiệm như, ví dụ, trong 15%, 10%, hoặc 5%.

Các đề mục được sử dụng ở đây chỉ nhằm mục đích tổ chức và không được hiểu là giới hạn phạm vi đối tượng được mô tả.

Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ “(các) cá thể”, “(các) đối tượng” và “(các) bệnh nhân” nghĩa là động vật có vú bất kỳ. Theo một số phương án, động vật có vú là người. Theo một số phương án, động vật có vú không phải là người. Các thuật ngữ này đều không yêu cầu hoặc bị giới hạn ở các trường hợp được đặc trưng bởi sự giám sát (ví dụ, liên tục hoặc không liên tục) của nhân viên chăm sóc sức khỏe (ví dụ, bác sĩ, y tá đã đăng ký, điều dưỡng cao cấp, trợ lý bác sĩ, nhân viên y tế, hộ lý hoặc nhân viên cứu tế).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đáng kể” hoặc “một cách đáng kể” liên quan đến ái lực gắn kết nghĩa là mức thay đổi ái lực gắn kết của xytokin (ví dụ, polypeptit IL-2) đủ để tác động gắn kết của xytokin (ví dụ, polypeptit IL-2) đến thụ thể đích. Trong một số trường hợp, các thuật ngữ này dùng để chỉ mức thay đổi là ít nhất 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, hoặc cao hơn. Trong một số trường hợp, thuật ngữ nghĩa là mức thay đổi là ít nhất 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, 50 lần, 100 lần, 500 lần, 1000 lần, hoặc cao hơn.

Trong một số trường hợp, thuật ngữ “đáng kể” hoặc “một cách đáng kể” liên quan đến sự hoạt hóa một hoặc nhiều quần thể tế bào nhờ phức hợp truyền tín hiệu xytokin nghĩa là sự thay đổi đủ để hoạt hóa quần thể tế bào. Trong một số trường hợp, sự thay đổi để hoạt hóa quần thể tế bào được đo bằng hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể. Trong các trường hợp như vậy, có thể đề xuất giá trị EC50. Trong các trường hợp khác, có thể đề xuất giá trị ED50. Trong các trường hợp bổ sung, có thể đề xuất nồng độ hoặc liều lượng của xytokin.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “hiệu lực” dùng để chỉ lượng của xytokin (ví dụ, polypeptit IL-2) cần để tạo ra hiệu quả đích. Trong một số trường hợp, thuật

ngữ “hiệu lực” dùng để chỉ lượng của xytokin (ví dụ, polypeptit IL-2) cần để hoạt hóa thụ thể xytokin đích (ví dụ, thụ thể IL-2). Trong các trường hợp khác, thuật ngữ “hiệu lực” dùng để chỉ lượng của xytokin (ví dụ, polypeptit IL-2) cần để hoạt hóa quần thể tế bào đích. Trong một số trường hợp, hiệu lực được đo bằng ED50 (Liều hữu hiệu 50), hoặc liều cần để tạo ra 50% hiệu quả tối đa. Trong các trường hợp khác, hiệu lực được đo bằng EC50 (Nồng độ hữu hiệu 50), hoặc liều cần để tạo ra hiệu quả đích trong 50% quần thể.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ này được cung cấp chỉ nhằm mục đích minh họa và không giới hạn phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ được đề xuất theo sáng chế.

Ví dụ 1

Thử nghiệm kinaza và dime hóa thụ thể xytokin

Xử lý tế bào

Dòng tế bào PathHunter được mở rộng từ dung dịch gốc đông lạnh theo quy trình chuẩn. Các tế bào được gieo mầm trong tổng thể tích là 20 μ L vào vi đĩa 384 lỗ, thành màu trắng và ủ trong khoảng thời gian thích hợp trước khi thử nghiệm.

Kiểu chủ vận

Để xác định chất chủ vận, các tế bào được ủ với mẫu để gây ra đáp ứng. Việc pha loãng dung dịch mẫu gốc được thực hiện để tạo ra 5X mẫu trong dung dịch đệm thử nghiệm. Khoảng 5 μ L của 5X mẫu được bổ sung vào tế bào và được ủ ở 37°C trong 6 đến 16 giờ phụ thuộc vào thử nghiệm. Nồng độ chất dẫn thuốc là 1%.

Dò tín hiệu

Tín hiệu thử nghiệm được tạo ra thông qua việc bổ sung một lần duy nhất 12,5 hoặc 15 μ L (50% thể tích/thể tích) của hỗn hợp chất phản ứng PathHunter Detection cho lần lượt các thử nghiệm chất chủ vận và chất đối kháng, tiếp theo là một giờ ủ ở nhiệt độ trong phòng. Đối với một số thử nghiệm, hoạt tính được dò bằng cách sử dụng chất dò có độ nhạy cao (PathHunter Flash Kit) để cải thiện hiệu suất của thử nghiệm. Trong các thử nghiệm này, một lượng bằng nhau của chất dò (25 hoặc 30 μ L) được bổ sung vào các giếng, tiếp theo là một giờ ủ ở nhiệt độ trong phòng. Các vi

đã đã được đọc sau khi tạo tín hiệu bằng thiết bị PerkinElmer Envision™ để dò tín hiệu phát quang hóa học.

Phân tích thử nghiệm

Hoạt tính của hợp chất được phân tích bằng cách sử dụng bộ phân tích thử nghiệm CBIS (ChemInnovation, CA). Đối với thử nghiệm kiểu chủ vận, tỷ lệ phần trăm hoạt tính được tính toán bằng cách sử dụng công thức sau:

$\% \text{ Hoạt tính} = 100\% \times (\text{RLU trung bình của mẫu thử nghiệm} - \text{RLU trung bình của mẫu đối chứng chất dẫn thuốc}) / (\text{phối tử đối chứng MAX RLU trung bình} - \text{RLU trung bình của mẫu đối chứng chất dẫn thuốc})$.

Đối với thử nghiệm kiểu đối kháng, tỷ lệ phần trăm ức chế được tính toán bằng cách sử dụng công thức sau:

$\% \text{ Ức chế} = 100\% \times (1 - (\text{RLU trung bình của mẫu thử nghiệm} - \text{RLU trung bình của mẫu đối chứng chất dẫn thuốc}) / (\text{RLU trung bình của mẫu đối chứng EC80} - \text{RLU trung bình của mẫu đối chứng chất dẫn thuốc}))$.

Ví dụ 2

Xác định profin đáp ứng miễn dịch *ex-vivo* của hợp chất IL-2 được lấy làm ví dụ trong các mẫu PBMC có nguồn gốc từ hệ thống giảm tế bào bạch cầu của người nguyên phát (LRS)

Để xác định mức độ tính đặc hiệu thụ thể biệt hóa của hợp chất IL-2 được lấy làm ví dụ ảnh hưởng đến sự hoạt hóa tiểu quần thể tế bào miễn dịch nguyên phát, việc xác định profin nồng độ-đáp ứng của quá trình hoạt hóa lympho bào ở mẫu tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) có nguồn gốc từ LRS của người được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp đo tế bào theo dòng chảy đa màu. Các nghiên cứu này được thực hiện tại PrimityBio LLC (Fremont, CA). Lympho bào nguyên phát có nguồn gốc từ các mẫu LRS của người được xử lý bằng các chuỗi pha loãng hợp chất IL-2 được lấy làm ví dụ và được định lượng trên cơ sở sự truyền tín hiệu pSTAT5 ở mỗi dạng lympho bào bằng cách sử dụng panen được thể hiện trong Bảng 1.

Gen đánh dấu	Quần thể tế bào
--------------	-----------------

CD3	Tế bào T
CD4	Tế bào Th
CD8	Tế bào hiệu ứng T
CD45RA	Tế bào T nguyên thể
CD56	Tế bào NK
CD14/19	Bạch cầu đơn nhân/Tế bào B
CD25	Tế bào T Tregs hoặc trưởng thành
CD127	Tế bào không phải Treg
CD62L	Tế bào T nhớ hiệu ứng và T nhớ
pSTAT5 (Y694)	Gen đánh dấu hoạt hóa

Dữ liệu đo tế bào theo dòng chảy được phân tích để hoạt hóa các nhóm phụ tế bào T và NK khác nhau theo kiểu nồng độ-đáp ứng, đọc giá trị mức tích tụ pSTAT5 sau khi xử lý bằng biến thể IL-2 được lấy làm ví dụ K9_30kD.

Fig. 4A-Fig. 4B thể hiện đường cong đáp ứng liều lượng để truyền tín hiệu pSTAT5 ở tế bào nguyên phát LRS của người (Fig. 4A) và đáp ứng tăng sinh ở các quần thể CTLL-2 của chuột nhắt (Fig. 4B).

Bảng 2 thể hiện EC50 đáp ứng liều lượng để truyền tín hiệu pSTAT5 (EC50) ở các mẫu LRS của người hoặc mức tăng sinh CTLL-2 được xử lý bằng biến thể IL-2.

Hợp chất	Tế bào NK	Tế bào T CD8+	Tế bào Treg	Tỷ lệ CD8+/Treg	Số lần tăng của EC50 Treg và IL-2 nguyên thể	Mức tăng sinh CTLL-2
IL-2 nguyên thể	4586	31024	75	414	1	455,8
K9_30kD	169578	1100679	2217	496	30	504
H16_30kD	2545257	12070108	34976	345	466	80755
L19_30kD	6756768	22436430	93205	241	1243	3510
D20_30kD	2643930	9505217	1129455	8	15059	689939
M23_30kD	143620	539824	1030	524	14	1102
N26_30kD	258531	1188859	2459	483	33	2594
N88_30kD	3298113	11111537	323201	34	4309	66606

E100_30kD	35088	195823	483	405	6	1676
N119_30kD	34010	143380	535	268	11	1215
T123_30kD	33396	152928	269	569	6	255
Q126_30kD	3676807	19722480	29454	670	393	3584
S127_30kD	20210	92190	150	615	3	123
T131_30kD	24207	132922	258	515	3	641
N88R/D109_30kD	2780819	12503386	175805	71	3663	59577
V91K	20537	102255	142	720	3	99,5
N88R	2312847	15025734	11082	1356	148	363

Giá trị EC50 (pg/ml) được tính toán từ đường cong đáp ứng liều lượng tạo ra từ các đồ thị MFI.

*Mức thay đổi hiệu lực của Treg so với IL-2 nguyên thể (IL-2 tự nhiên) chạy trong mỗi thử nghiệm riêng biệt.

Ví dụ 3

Nghiên cứu PK ở chuột nhắt C57BL/6 có khối u

Chi tiết thử nghiệm được tóm tắt trong Bảng 3.

Nhóm	Số lượng chuột	Vật phẩm thử nghiệm/Vật phẩm đối chứng (liều dùng)	Đường dùng, phác đồ liều lượng	(Các) thời điểm cuối
1	9	IL-2 nguyên thể (tự nhiên) (3,0 mg/kg) Nồng độ: 0,6 mg/mL	IV, một liều duy nhất vào Ngày 0 ở T=0 với nồng độ 5 mL/kg	Thu gom máu tại các thời điểm 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8,12, và 24 giờ sau khi dùng liều
2	9	K35_30kD (3,0 mg/kg) Nồng độ: 0,6 mg/mL	IV, một liều duy nhất vào Ngày 0 ở T=0 với nồng độ 5 mL/kg	
3	9	K35_30kD (0,3 mg/kg) Nồng độ: 0,6 mg/mL	IV, một liều duy nhất vào Ngày 0 ở T=0 với nồng độ 5 mL/kg	
Thêm	6	N/A	N/A	Mẫu thu gom ma trận trống (không tính thời gian)

Tổng	33
------	----

Đặc tính dược động học của hợp chất IL-2 đã được PEG hóa được lấy làm ví dụ K35_30kD ở hai mức liều lượng được đánh giá. Vật phẩm thử nghiệm đông khô được hoàn nguyên trong PBS, và chín con chuột nhắt C57BL/6 được dùng liều 0,3 và 3mg/kg bằng cách tiêm tĩnh mạch đuôi đối với mỗi nhóm liều lượng (xem chi tiết mẫu thu gom dưới đây). Các mẫu máu được thu gom ở các thời điểm 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, và 24 giờ sau khi dùng liều. Kit hIL-2 ELISA từ Abcam (ab100566), không phản ứng chéo với IL-2 của chuột nguyên thể, được sử dụng để dò và định lượng vật phẩm thử nghiệm. Để điều chỉnh sự sai khác đặc hiệu ELISA về độ nhạy của kit dò hợp chất nguyên thể và hợp chất đã được PEG hóa, IL-2 nguyên thể và vật phẩm thử nghiệm K35_30kD, các đường cong chuẩn được tạo ra bằng cách sử dụng dung dịch đậm pha loãng vật phẩm thử nghiệm, và dữ liệu được phân tích liên quan đến các đường cong tiêu chuẩn tương ứng. Dữ liệu được dựng đồ thị là giá trị trung bình và SEM của ba mẫu riêng lẻ (các bản sao sinh học) như được mô tả trên đây, và các thông số PK đối với vật phẩm thử nghiệm K35_30kD được trích xuất và tổng kết trong Bảng 4.

Chất phân tích	Thông số	Đơn vị	Liều dùng	
			0,3 mg/kg	3 mg/kg
			Giá trị ước lượng	
IL-2 K35-mPEG30kD	T _{max}	Giờ	0,250	0,250
	C _{max}	ng/mL	6080	57700
	AUC _{0-t}	giờ*ng/mL	38500	425000
	R ²		0,994	0,947
	AUC _{1/2extrap}	%	35,3	37,4
	AUC _{0-∞}	giờ*ng/mL	59600	679000
	t _{1/2}	giờ	18,2	19,5
	C _{max} /D	kg*ng/mL/mg	20300	19200
	AUC _{0-t} /D	giờ*ng/mL	128000	142000

Fig. 5 thể hiện profin PK đã được tăng cường của K35_30kD ở hai nồng độ khác nhau. Các profin PK của chúng được so sánh với IL-2 tự nhiên.

Ví dụ 4

Bảng 5 minh họa trình tự IL-2 được đề cập trong bản mô tả này.

Tên	Trình tự	SEQ ID NO:
IL-2 (homo sapiens) (dạng trưởng thành)	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKN PKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	1
IL-2 (homo sapiens) (dạng tiền thân) Số truy nhập NCBI: AAB46883,1	MYRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQ LEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	2

Mặc dù các phương án được ưu tiên theo sáng chế đã được thể hiện và được đề cập trong bản mô tả này, hiển nhiên đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này rằng các phương án như vậy được đề xuất chỉ bằng cách ví dụ. Các biến thể, các thay đổi, và các thay thế khác nhau sẽ có thể được thực hiện bởi chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không tách rời khỏi phạm vi của sáng chế. Cần phải hiểu rằng các dạng thay thế khác nhau đối với các phương án theo sáng chế được đề cập trong bản mô tả này có thể được dùng trong ứng dụng thực tế sáng chế. Dự định rằng các điểm yêu cầu bảo hộ sau xác định phạm vi của sáng chế và các phương pháp và các cấu trúc trong phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ này và các dạng tương đương của chúng cũng bao hàm trong phạm vi bảo hộ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Polypeptit interleukin-2 (IL-2) được cải biến có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên gắn kết cộng hóa trị với gốc liên hợp, trong đó vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên là K9, H16, L19, V91, E100, hoặc T123, liên quan đến vị trí của axit amin nêu trong SEQ ID NO:1; và trong đó polypeptit IL-2 được cải biến có chứa mức tương đồng trình tự ít nhất là 90% với trình tự được nêu trong SEQ ID NO:1.
2. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 1, trong đó gốc liên hợp có chứa polyme hòa tan trong nước, lipit, protein, hoặc peptit.
3. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 1, trong đó polypeptit IL-2 có chứa khuyết đoạn đầu tận cùng N, trong đó khuyết đoạn đầu tận cùng N có chứa khuyết đoạn của 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, hoặc 12 gốc đầu tiên từ đầu tận cùng N, trong đó các vị trí gốc liên quan đến các vị trí được nêu trong SEQ ID NO: 1.
4. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 1, trong đó vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên là K9, H16, hoặc L19.
5. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 4, trong đó vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên là H16.
6. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 1, trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên là chất tương tự lysin hoặc có chứa mạch bên thơm.
7. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 1, trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên có chứa p-axetyl-L-phenylalanin, p-azidometyl-L-phenylalanin (pAMF), p-iodo-L-phenylalanin, m-axetylphenylalanin, p-propargyloxyphenylalanin, p-propargyl-phenylalanin, 3-metyl-phenylalanin, phenylalanin đã được flo hóa, isopropyl-L-phenylalanin, p-azido-L-phenylalanin, p-axyl-L-phenylalanin, p-benzoyl-L-phenylalanin, p-bromophenylalanin, p-amino-L-phenylalanin, O-allyl-tyrosin, O-metyl-L-tyrosin, O-4-allyl-L-tyrosin, 4-propyl-L-tyrosin, phosphotyrosin, L-3-(2-naphtyl)alanin, axit 2-amino-3-((2-((3-(benzyloxy)-3-

oxopropyl)amin)etyl)selanyl)propanoic, hoặc axit 2-amino-3-(phenylselanyl)propanoic.

8. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 2, trong đó gốc liên hợp có chứa polyme hòa tan trong nước.

9. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 8, trong đó polyme hòa tan trong nước có chứa polyetylen glycol (PEG), poly(propylen glycol) (PPG), copolyme của etylen glycol và propylen glycol, poly(polyol đã được oxyetyl hóa), poly(rượu olefin), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin (POZ), poly(N-acryloylmorpholin), hoặc hỗn hợp của chúng.

10. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 9, trong đó polyme hòa tan trong nước có chứa PEG.

11. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 10, trong đó PEG có trọng lượng phân tử trung bình trọng từ khoảng 10 kDa đến khoảng 85 kDa.

12. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 11, trong đó PEG có trọng lượng phân tử trung bình trọng vào khoảng 20 kDa, khoảng 25 kDa, khoảng 30 kDa, khoảng 35 kDa, khoảng 40 kDa, khoảng 45 kDa, khoảng 50 kDa, khoảng 55 kDa, hoặc khoảng 60 kDa.

13. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 12, trong đó PEG có trọng lượng phân tử trung bình trọng vào khoảng 50 kDa.

14. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 1, trong đó gốc liên hợp được liên kết với ít nhất một axit amin không tự nhiên của IL-2 polypeptit được cải biến qua liên kết cầu nối.

15. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 14, trong đó liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối hai nhóm chức giống nhau, liên kết cầu nối hai nhóm chức khác

nhau, liên kết cầu nối dipeptit bị đứt gãy hoặc không bị đứt gãy, phần đệm, hoặc kết hợp của chúng.

16. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 1, trong đó polypeptit IL-2 được cải biến có chứa ít nhất 95% mức tương đồng trình tự với SEQ ID NO: 1.

17. Dược phẩm chứa polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 1, và tá dược được dụng.

18. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 1, trong đó polypeptit IL-2 được cải biến có chứa ít nhất 97% mức tương đồng trình tự với SEQ ID NO: 1.

19. Polypeptit IL-2 được cải biến theo điểm 1, trong đó gốc liên hợp có chứa PEG, trong đó vị trí của ít nhất một axit amin không tự nhiên là H16 liên quan đến vị trí của axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 1, và trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên là chất tương tự lysin.

FIG. 1

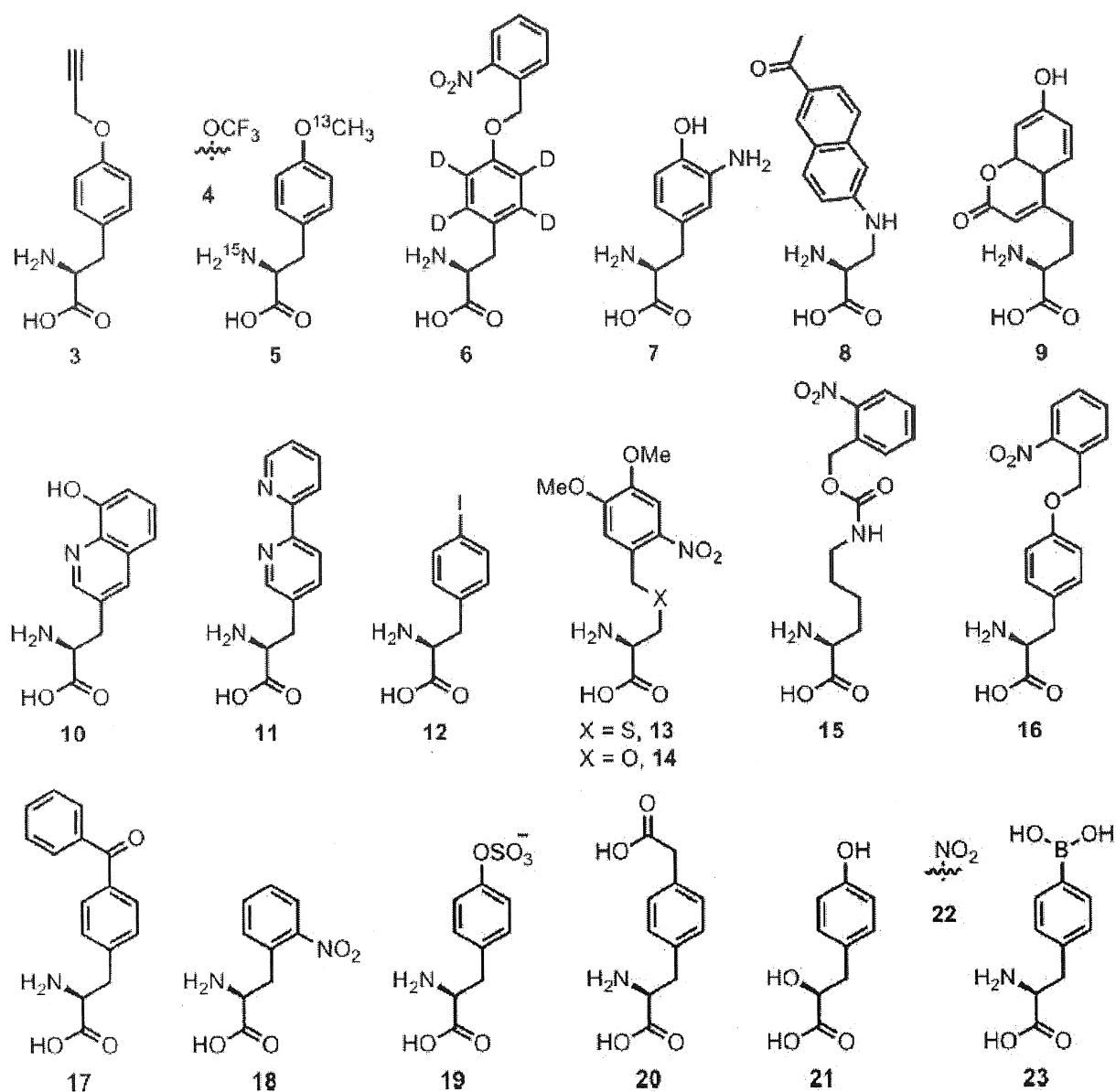


FIG. 2A

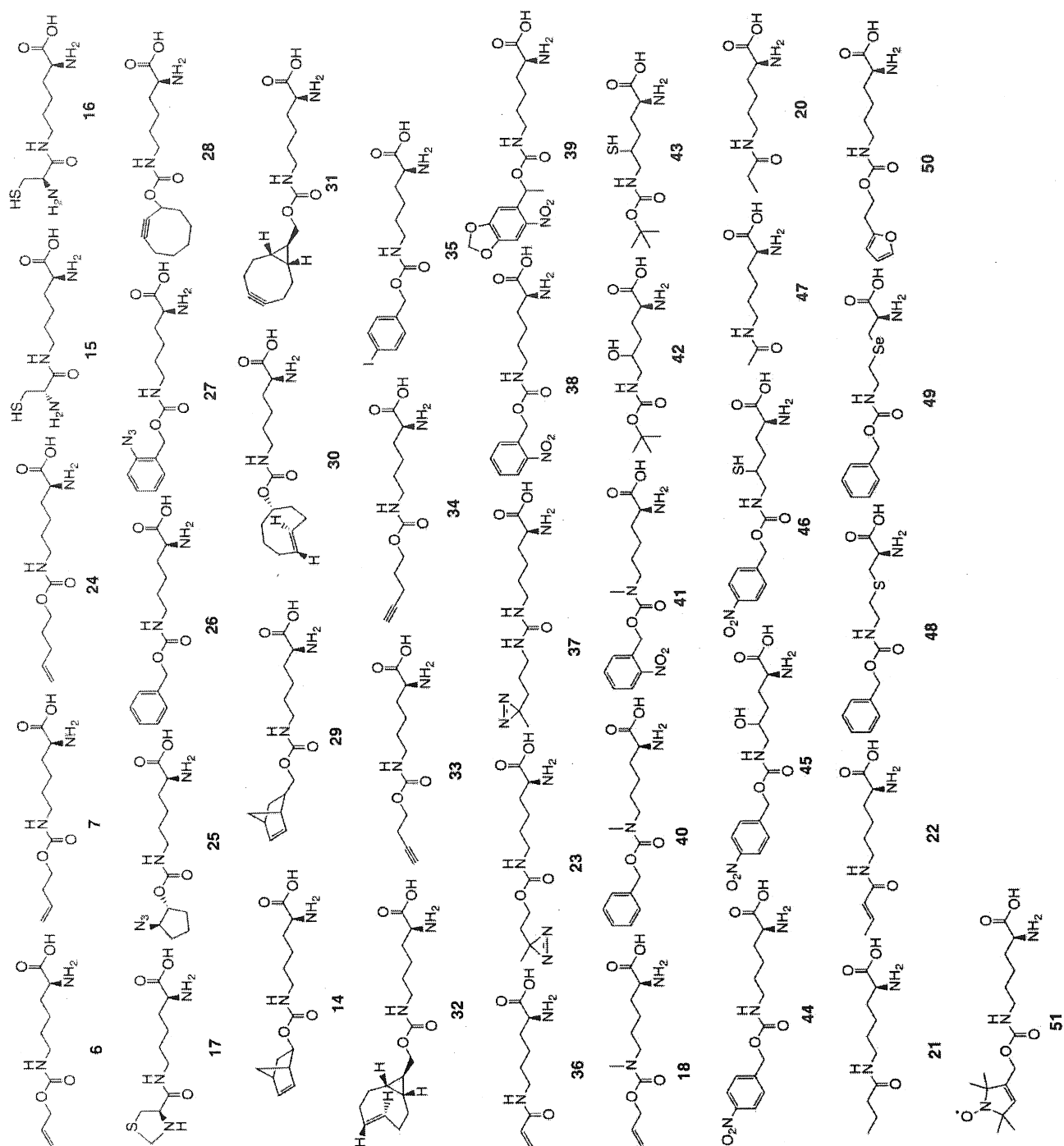


FIG. 2B

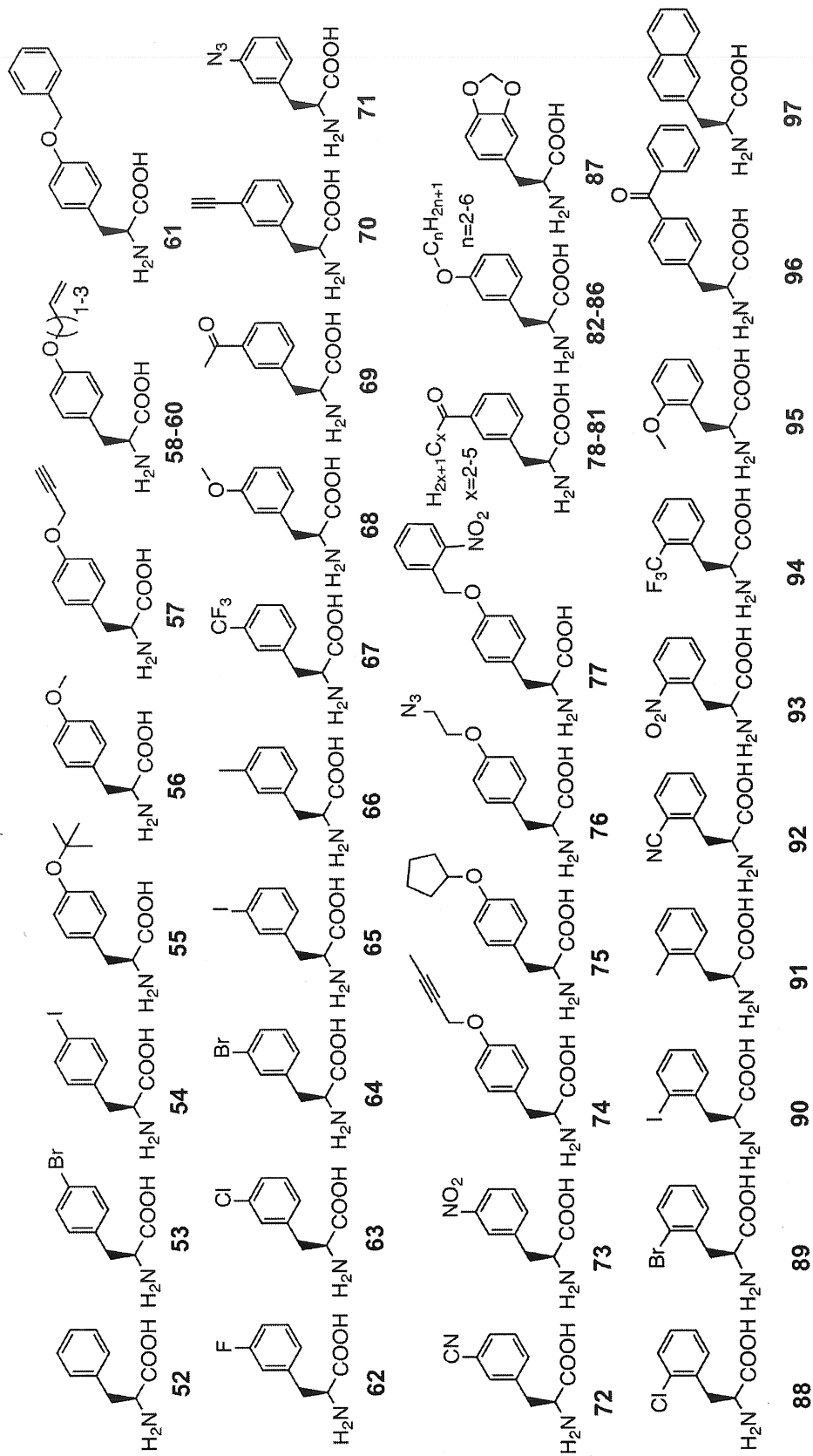


FIG. 3A

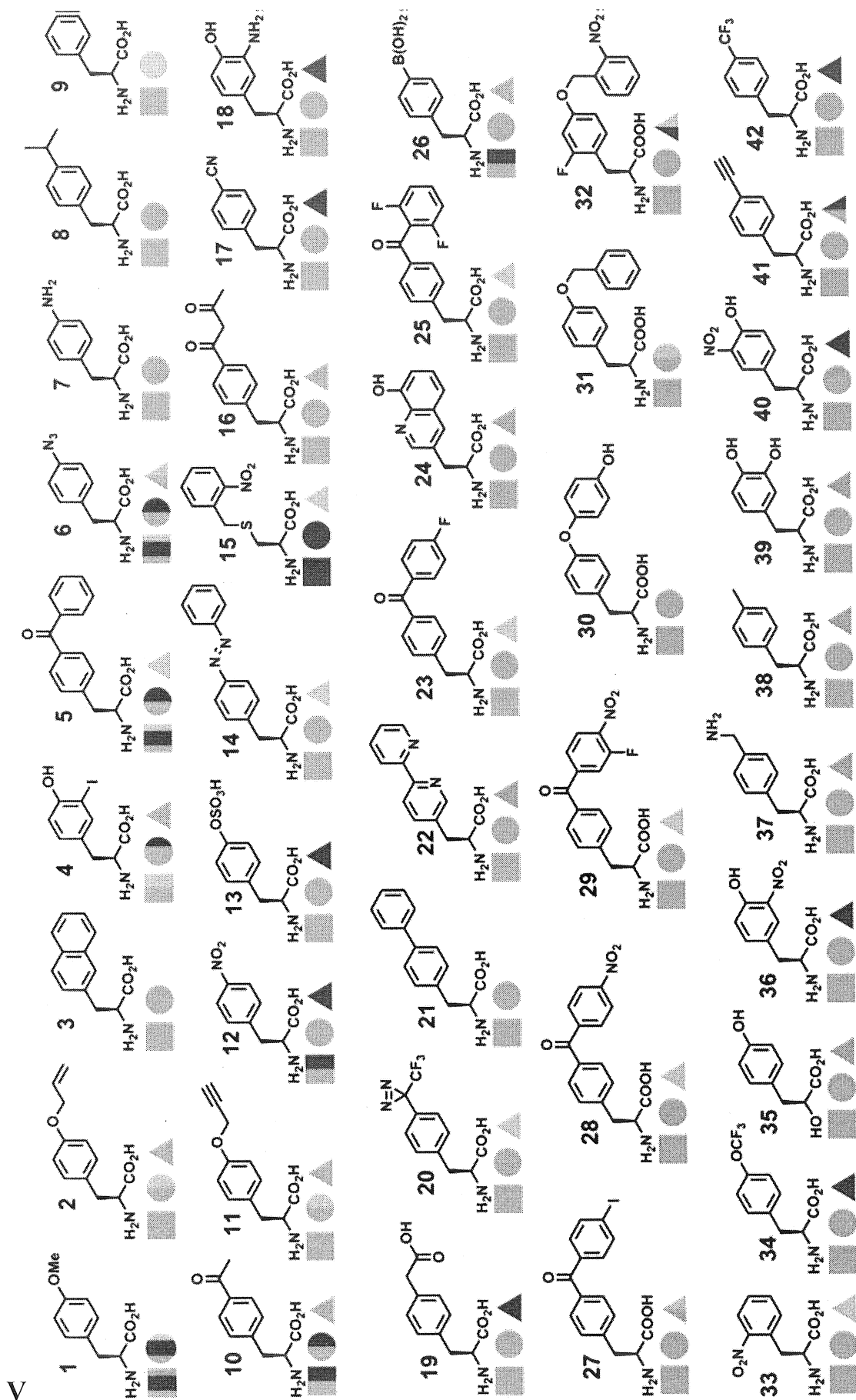


FIG. 3B

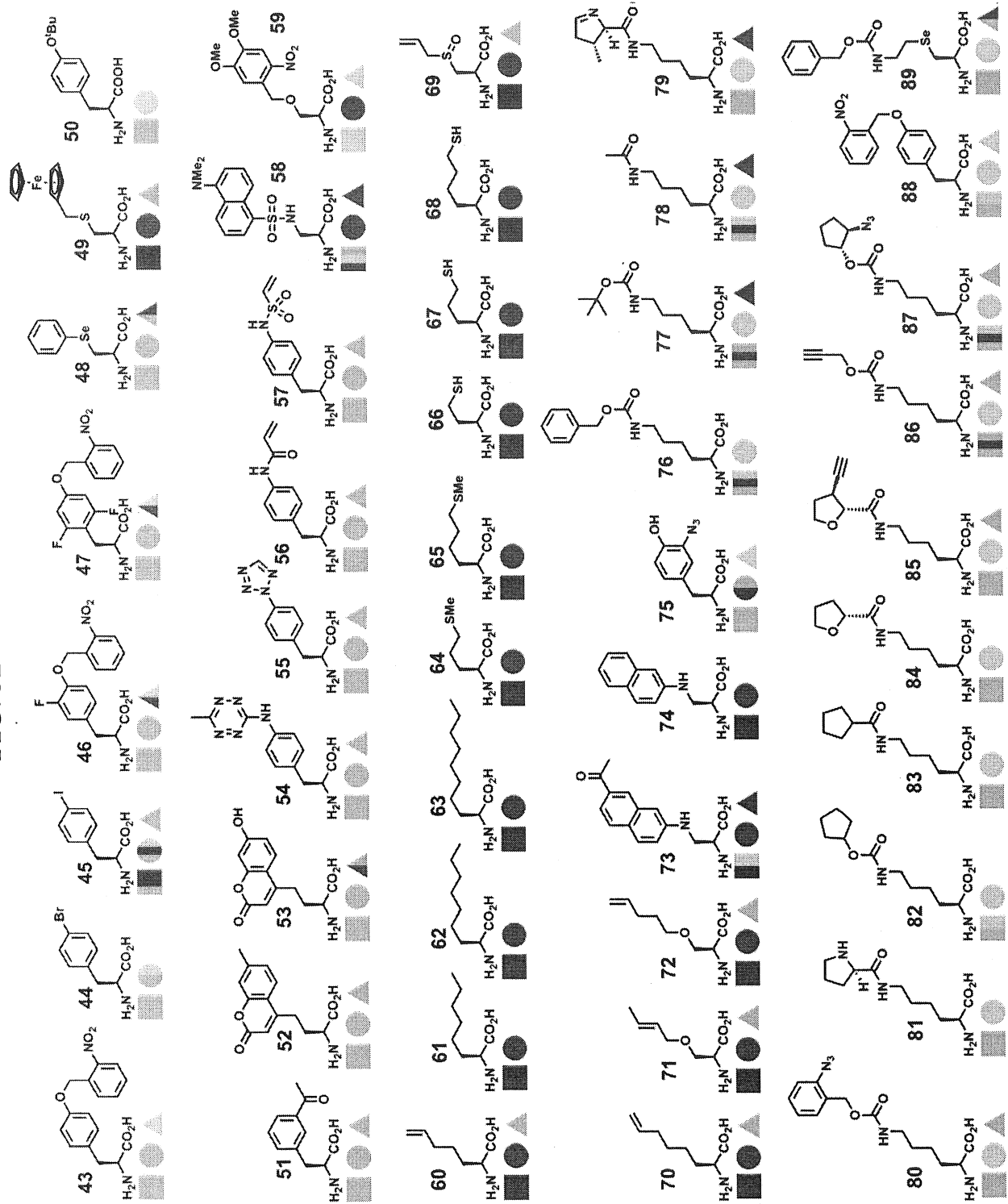


FIG. 3C

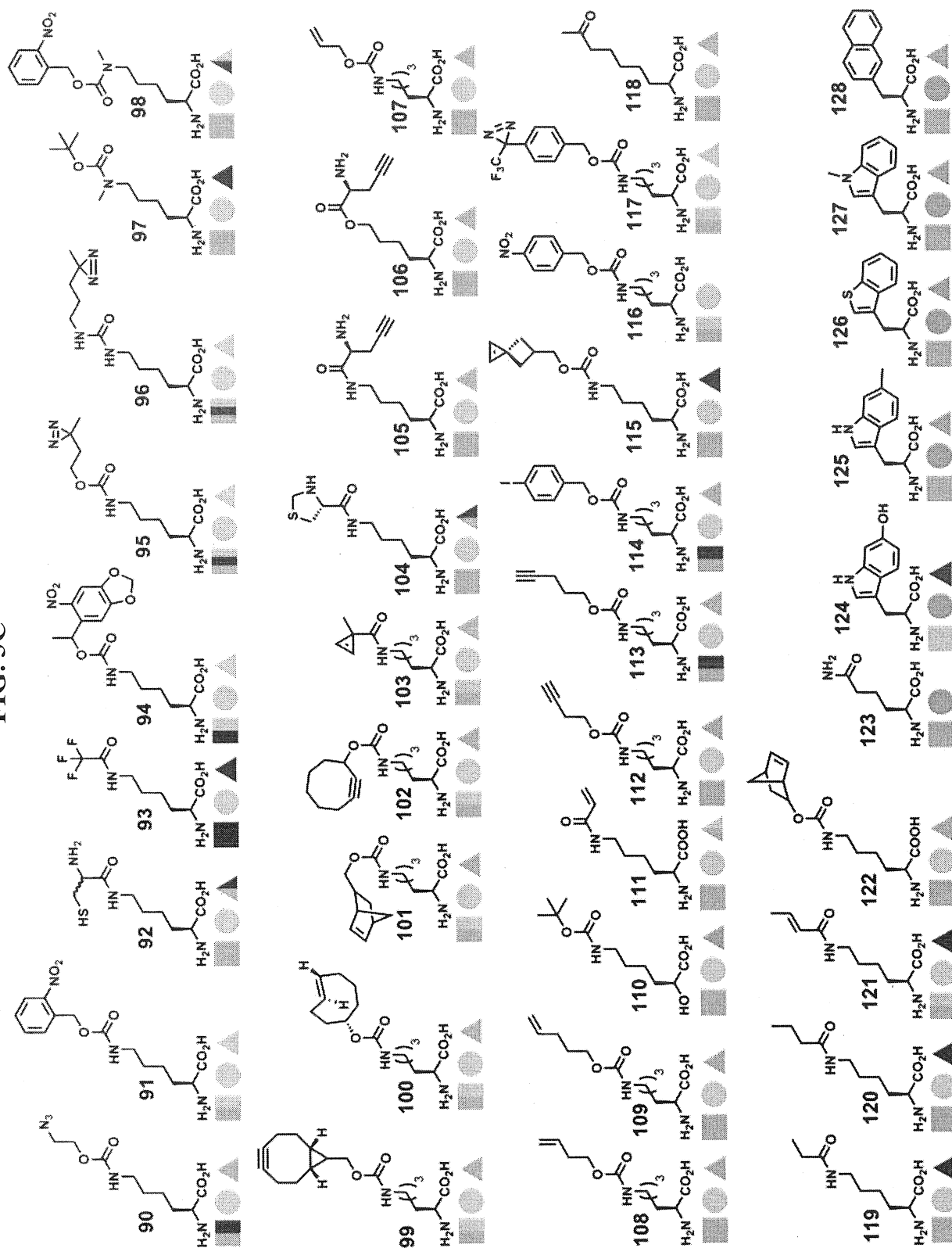


FIG. 3D

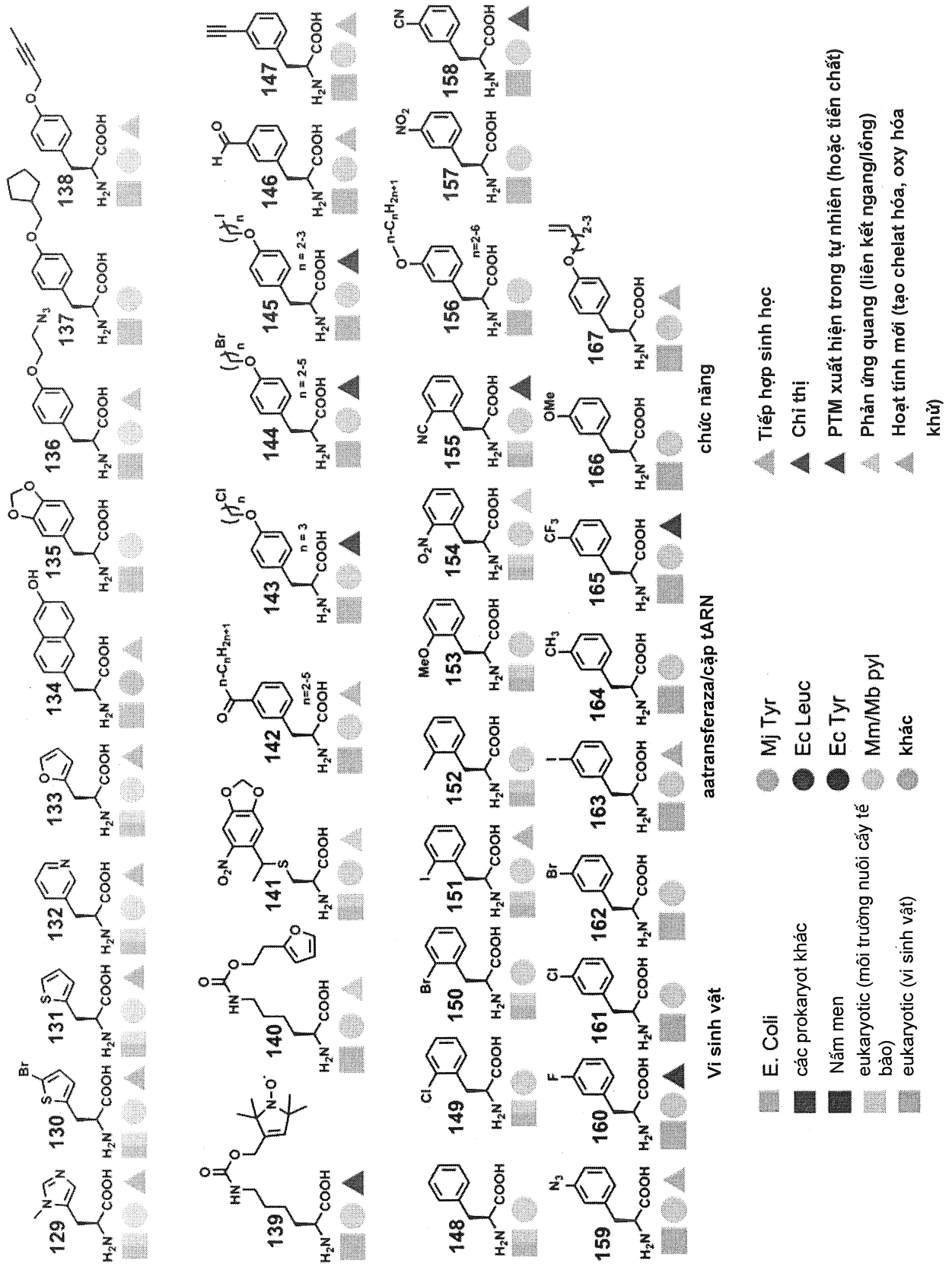


FIG. 4A

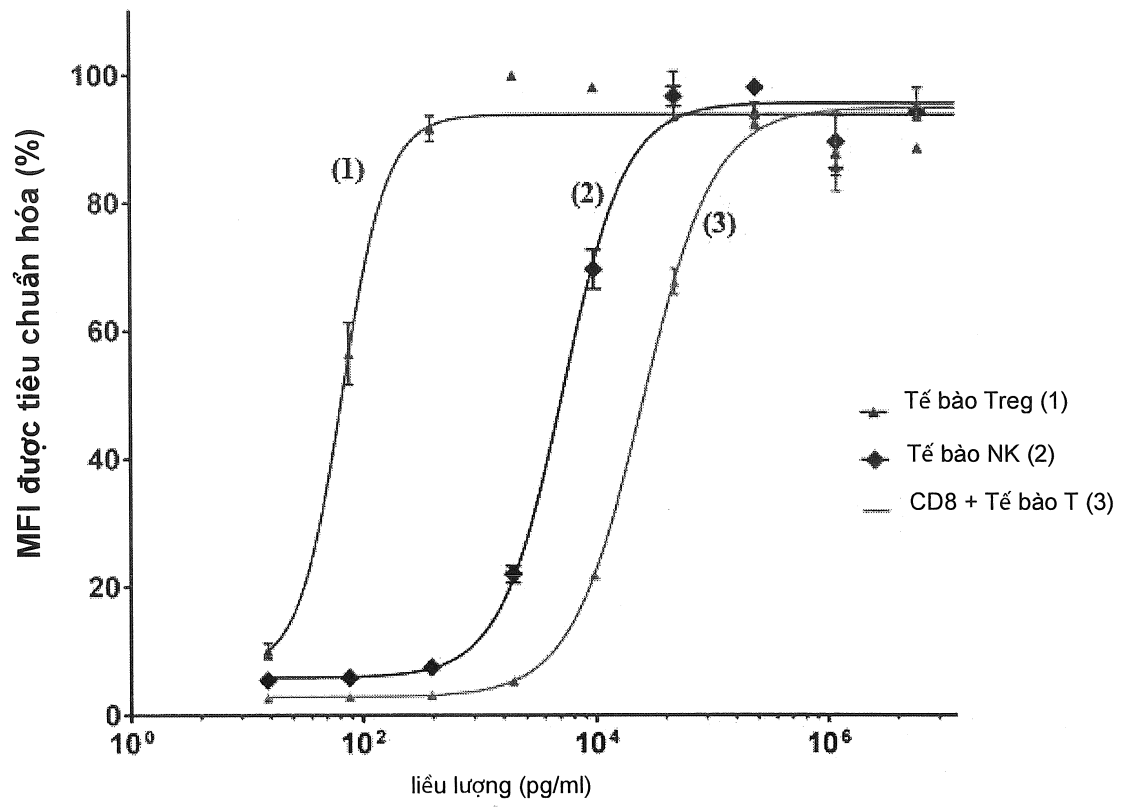
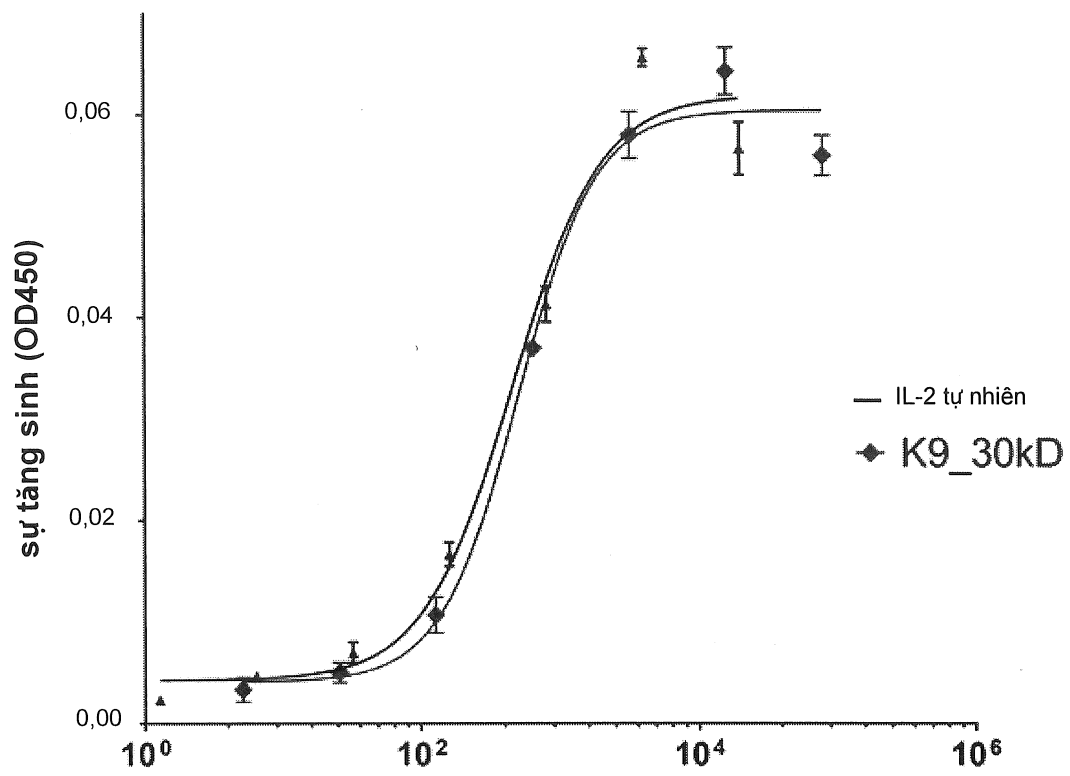
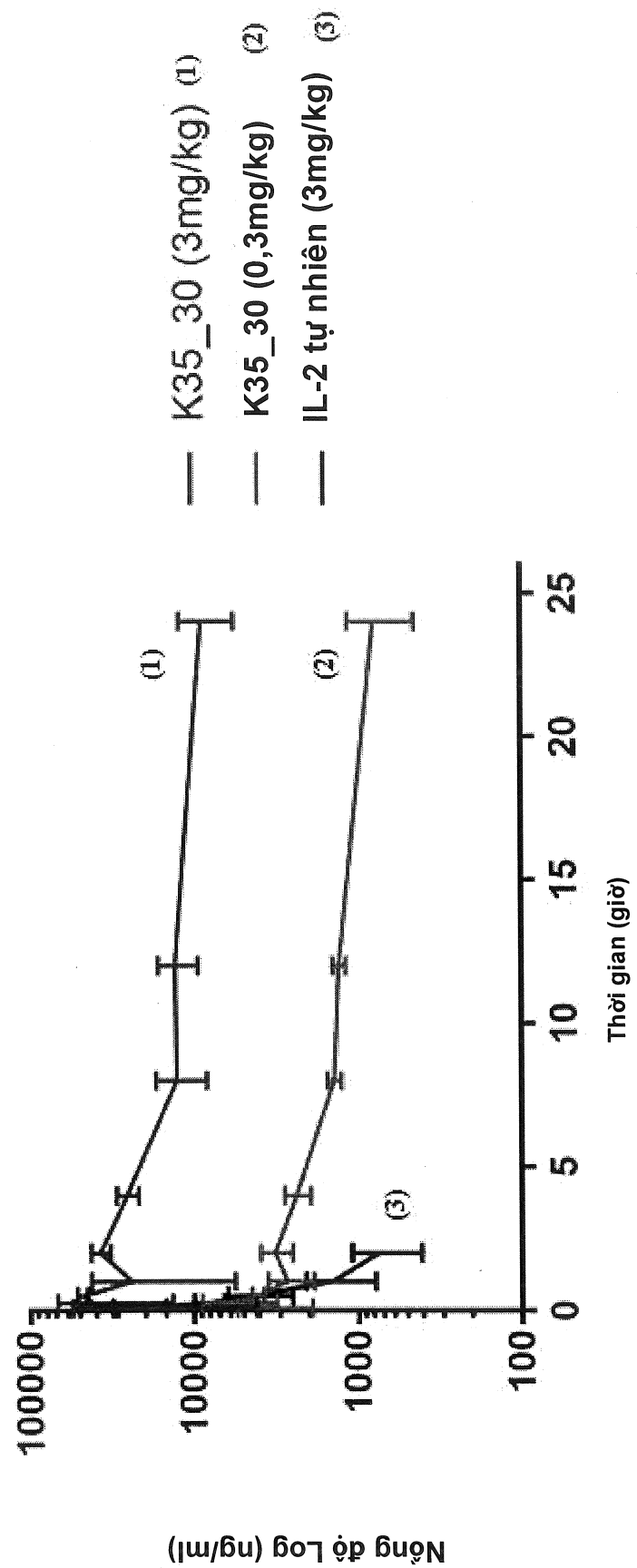


FIG. 4B





DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> SYNTHORX INC.

<120> POLYPEPTIT INTERLEUKIN-2 (IL-2) ĐƯỢC CẢI BIẾN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA POLYPEPTIT IL-2 NÀY

<130> 46085-710.602

<140>

<141>

<150> 62/540,781

<151> 2017-08-03

<160> 5

<170> PatentIn version 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> 153

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 2

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
 100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
 130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 145 150

<210> 3
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp

<400> 3
 Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5

<210> 4
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Axit amin bất kỳ ngoại trừ prolin

<400> 4
 Val Pro Gly Xaa Gly
 1 5

<210> 5
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp

<400> 5
 Phe Gln Ser Ser Ser Ser Lys Ala Pro Pro Pro Ser Leu Pro Ser Pro
 1 5 10 15

Ser Arg Leu Pro Gly Pro Ser Asp Thr Pro Ile Leu Pro Gln
 20 25 30