



(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)



1-0048487

(51)^{2020.01} C07K 14/54; C07K 1/107

(13) B

(21) 1-2020-05478

(22) 26/02/2019

(86) PCT/US2019/019637 26/02/2019

(87) WO2019/165453 A1 29/08/2019

(30) 62/635,133 26/02/2018 US

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/02/2021 395A

(73) SYNTHORX, INC. (US)

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

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

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

(54) POLYPEPTIT INTERLEUKIN 15 (IL-15) ĐÃ ĐƯỢC CẢI BIẾN VÀ ĐƯỢC
PHẨM CHỨA POLYPEPTIT INTERLEUKIN 15 (IL-15) NÀY

(21) 1-2020-05478

(57) Sáng chế bộc lộ thể liên hợp interleukin (IL) 15 và sử dụng trong việc điều trị một hoặc nhiều chỉ định. Sáng chế còn mô tả dược phẩm và bộ kit có chứa một hoặc nhiều thể liên hợp IL-15.

Tham khảo chéo đến đơn liên quan

Đơn này yêu cầu hưởng quyền lợi của đơn tạm thời Mỹ số 62/635,133, nộp ngày 26 tháng 2 năm 2018, mà được kết hợp vào bản mô tả này để tham khảo.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế này liên quan đến các thể liên hợp IL-15 và sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư, phương pháp điều biến sự tương tác giữa IL-15 và thụ thể IL-15 để kích thích hoặc mở rộng các quần thể tế bào T cụ thể, dược phẩm và bộ kit có chứa một hoặc nhiều thể liên hợp IL-15.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các quần thể khác biệt của tế bào T điều biến hệ miễn dịch để duy trì nội cân bằng miễn dịch và độ dung nạp miễn dịch. Ví dụ như, tế bào T điều hòa (Treg) ngăn ngừa các đáp ứng không thích hợp bởi hệ miễn dịch bằng cách ngăn chặn khả năng tự phản ứng bệnh lý trong khi tế bào T gây độc tế bào nhắm đích và tiêu diệt tế bào bị nhiễm bệnh và/hoặc tế bào ung thư. Theo một số phương án, sự điều biến của các quần thể khác nhau của tế bào T mang lại sự lựa chọn để điều trị bệnh hoặc chỉ định.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ thể liên hợp IL-15 và sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư. Theo một số phương án, sáng chế cũng mô tả phương pháp điều biến sự tương tác giữa IL-15 và thụ thể IL-15 để kích thích hoặc mở rộng các quần thể tế bào T cụ thể. Trong các trường hợp khác, sáng chế còn mô tả dược phẩm và bộ kit có chứa một hoặc nhiều thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này.

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ polypeptit interleukin 15 (IL-15) được cải biến có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên được cải biến

sau dịch mã, trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên này là ở vị trí gốc mà làm giảm có chọn lọc ái lực liên kết của polypeptit IL-15 đã được cải biến với thụ thể interleukin 15 α (IL-15R α), trong đó sự giảm đi của ái lực liên kết có liên quan đến ái lực liên kết giữa polypeptit IL-15 dạng tự nhiên và IL-15R α , và trong đó sự tương tác của polypeptit IL-15 đã được cải biến với interleukin 2/thụ thể interleukin 15 $\beta\gamma$ (IL-2/IL-15R $\beta\gamma$) không bị ảnh hưởng đáng kể. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, và S114, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ D22, A23, T24, L25, Y26, L44, E46, Q48, V49, E53, E89, E90, và E93; Y26, E46, V49, E53, và L25; A23, T24, E89, và E93; D22, L44, Q48, và E90; L25, E53, N77, và S83; hoặc L25 và E53. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E89, E53, E93, V49, E46, Y26, L25, T24, A23, D22, I21, và L52, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E46, Y26, V49, E53, T24, N4, K11, N65, L69, S18, H20, và S83, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E46, Y26, V49, E53, và T24, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E46, V49, E53, và T24, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ Y26, V49, E53, và T24, trong đó

các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ V49, E53, và T24, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E46 và Y26, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là E46, trong đó vị trí gốc tương ứng với vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là Y26, trong đó vị trí gốc tương ứng với vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là V49, trong đó vị trí gốc tương ứng với vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là E53, trong đó vị trí gốc tương ứng với vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là T24, trong đó vị trí gốc tương ứng với vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N4, K11, N65, L69, S18, H20, và S83, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên bao gồm p-axetyl-L-phenylalanin, p-iodo-L-phenylalanin, 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 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, isopropyl-L-phenylalanin, hoặc N6-(2-azidoetoxy)-cacbonyl-L-lysin. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên bao gồm axit amin không tự nhiên như nêu trên Hình 2C. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 đã được cải biến bằng cặp tARN synthetaza/tARN trực giao. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến được liên hợp với gốc

liên hợp qua ít nhất một axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, gốc liên hợp có chứa polyme tan trong nước, protein, hoặc polypeptit. Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm: polyetylen glycol (PEG), poly(propylen glycol) (PPG), copolyme của etylen glycol và propylen glycol, poly(polyol đã oxyetyl hóa), poly(rượu olefinic), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin (POZ), poly(N-acryloylmocpholin), hoặc dạng kết hợp của chúng; hoặc polysacarit. Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm PEG. Theo một số phương án, PEG là PEG mạch thẳng hoặc PEG mạch nhánh. Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm glycan. 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, gốc liên hợp có chứa axit béo no. Theo một số phương án, axit béo no bao gồm axit hexadecanoic, axit tetradecanoic, hoặc axit 15-azidopentadecanoic. Theo một số phương án, protein bao gồm albumin, transferrin, transthyretin, hoặc phần Fc của kháng thể. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm peptit XTEN, polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP), polypeptit PAS, polypeptit giống elastin (ELP), peptit CTP, hoặc polyme protein giống gelatin (GLK). Theo một số phương án, gốc liên hợp được liên kết trực tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên của IL-15 đã được cải biến. Theo một số phương án, gốc liên hợp được liên kết gián tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên của IL-15 đã được cải biến thông qua cầu nối. Theo một số phương án, cầu nối bao gồm cầu nối hai chức cùng loại. Theo một số phương án, cầu nối hai chức cùng loại bao gồm chất phản ứng Lomant đithiobis (succinimidylpropionat) DSP, 3'3'-đithiobis(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 cacbonat (DSC), dimetyl adipimidat (DMA), dimetyl pimelimidat (DMP), dimetyl suberimidat

(DMS), dimetyl-3,3'-đithiobispropionimidat (DTBP), 1,4-đi-(3'-(2'-pyridylđithio)propionamido)butan (DPDPB), bismaleimidoheptan (BMH), hợp chất chứa aryl halogenua (DFDNB), ví dụ như 1,5-đifloro-2,4-đinitrobenzen hoặc 1,3-đifloro-4,6-đinitrobenzen, 4,4'-đifloro-3,3'-đinitrophenylsulfon (DFDNPS), bis-[β-(4-azidosalixylamido)etyl]đisulfua (BASED), focmalđehyt, glutaralđehyt, 1,4-butandiol điglyxidyl ete, axit adipic đihyđrazit, cacbohyđrazit, o-toluidin, 3,3'-dimetylbenzidin, benzidin, α,α'-p-điaminodiphenyl, axit điiodo-p-xylen sulfonic, N,N'-etylen-bis(iodoaxetamit), hoặc N,N'-hexametylen-bis(iodoaxetamit). Theo một số phương án, cầu nối bao gồm cầu nối hai chức khác loại. Theo một số phương án, cầu nối hai chức khác loại bao gồm N-succinimidyl 3-(2-pyridylđithio)propionat (sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridylđithio)propionat mạch dài (LC-sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridylđithio)propionat mạch dài tan trong nước (sulfo-LC-sPDP), succinimidylloxycacbonyl-α-metyl-α-(2-pyridylđithio)toluen (sMPT), sulfosuccinimidyl-6-[α-metyl-α-(2-pyridylđithio)toluamido]hexanoat (sulfo-LC-sMPT), succinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-cacboxylat (sMCC), sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-cacboxylat (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 (GMBs), N-(γ-maleimidobutyryloxy)sulfosuccinimit este (sulfo-GMBs), succinimidyl 6-((iodoaxetyl)amino)hexanoat (sIAX), succinimidyl 6-[6-(((iodoaxetyl)amino)hexanoyl)amino]hexanoat (sIAXX), succinimidyl 4-(((iodoaxetyl)amino)metyl)xyclohexan-1-cacboxylat (sIAC), succinimidyl 6-((((4-iodoaxetyl)amino)metyl)xyclohexan-1-cacbonyl)amino hexanoat (sIACX), p-nitrophenyl iodoaxetat (NPIA), cầu nối chéo phản ứng cacbonyl và phản ứng sulfhyđryl chẳng hạn như axit 4-(4-N-maleimidophenyl)butyric

hydrazit (MPBH), 4-(N-maleimidometyl)cyclohexan-1-carboxyl-hydrazit-8 (M₂C₂H), 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-trifloropropionat (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, cầu nối bao gồm cầu nối dipeptit có thể phân tách hoặc cầu nối dipeptit không thể phân tách. Theo một số phương án, cầu nối dipeptit bao gồm Val-Cit, Phe-Lys, Val-Ala, hoặc Val-Lys. Theo một số phương án, cầu nối có chứa nhóm maleimit. Theo một số phương án, cầu nối có chứa đoạn đệm. Theo một số phương án, đoạn đệm bao gồm rượu *p*-aminobenzyl (PAB), *p*-aminobenzyoxycarbonyl (PABC), dẫn xuất, hoặc chất tương tự của chúng. Theo một số phương án, gốc liên hợp có khả năng kéo dài thời gian bán thải trong huyết thanh của polypeptit IL-15 đã được cải biến. Theo một số phương án, sự giảm đi của ái lực liên kết là sự giảm đi khoảng 10%, 20%,

30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, hoặc 99% của ái lực liên kết với IL-15R α so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên. Theo một số phương án, sự giảm đi của ái lực liên kết với IL-15R α là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, hoặc nhiều hơn so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến là mảnh có hoạt tính chức năng của polypeptit IL-15 chiều dài đầy đủ. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến là polypeptit IL-15 tái tổ hợp. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến là polypeptit IL-15 người tái tổ hợp. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến có sự giảm đi của ái lực liên kết với IL-15R α có khả năng mở rộng các quần thể tế bào T tác động (Teff) và tế bào Giết Tự Nhiên (NK).

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ polypeptit interleukin 15 (IL-15) được cải biến có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên được cải biến sau dịch mã, trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên này là ở vị trí gốc mà không ảnh hưởng đáng kể đến ái lực liên kết của polypeptit IL-15 đã được cải biến với thụ thể interleukin 15 α (IL-15R α) hoặc IL-2/thụ thể interleukin 15 $\beta\gamma$ (IL-2/IL-15R $\beta\gamma$). Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến có thời gian bán thải kéo dài. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, và S114, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ D22, A23, T24, L25, Y26, L44, E46, Q48, V49, E53, E89, E90, và E93; Y26, E46, V49, E53, và L25; A23, T24, E89, và E93; D22, L44, Q48, và E90; L25, E53, N77, và S83; hoặc L25 và E53. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một

axit amin không tự nhiên được chọn từ M1, S18, H20, K36, K41, G55, D56, S75, S76, N77, G78, V80, T81, S83, và K86, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên bao gồm p-axetyl-L-phenylalanin, p-iodo-L-phenylalanin, O-metyl-L-tyrosin, p-propargyloxyphenylalanin, p-propargyl-phenylalanin, L-3-(2-naphthyl)alanin, 3-metyl-phenylalanin, O-4-allyl-L-tyrosin, 4-propyl-L-tyrosin, tri-O-axetyl-GlcNAcp-serin, L-Dopa, phenylalanin 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, isopropyl-L-phenylalanin, hoặc N6-(2-azidoethoxy)-cacbonyl-L-lysin. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên bao gồm axit amin không tự nhiên như nêu trên Hình 2C. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 đã được cải biến bằng cặp tARN synthetaza/tARN trực giao. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến được liên hợp với gốc liên hợp qua ít nhất một axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, gốc liên hợp có chứa polyme tan trong nước, protein, hoặc polypeptit. Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm: polyetylen glycol (PEG), poly(propylen glycol) (PPG), copolyme của etylen glycol và propylen glycol, poly(rượu đa chức đã oxyetyl hóa), poly(rượu olefinic), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin (POZ), poly(N-acryloylmocpholin), hoặc dạng kết hợp của chúng; hoặc polysacarit. Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm PEG. Theo một số phương án, PEG là PEG mạch thẳng hoặc PEG mạch nhánh. Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm glycan. 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, gốc liên hợp có chứa axit béo no. Theo một số phương án, axit béo no bao gồm axit hexadecanoic, axit tetradecanoic, hoặc axit 15-azidopentadecanoic.

Theo một số phương án, protein có chứa albumin, transferrin, transthyretin, hoặc phần Fc của kháng thể. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm peptit XTEN, polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP), polypeptit PAS, polypeptit giống elastin (ELP), peptit CTP, hoặc polyme protein giống gelatin (GLK). Theo một số phương án, gốc liên hợp được liên kết trực tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên của IL-15 đã được cải biến. Theo một số phương án, gốc liên hợp được liên kết gián tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên của IL-15 đã được cải biến thông qua cầu nối. Theo một số phương án, cầu nối bao gồm cầu nối hai chức cùng loại. Theo một số phương án, cầu nối hai chức cùng loại bao gồm chất phản ứng Lomant đithiobis (succinimidylpropionat) DSP, 3'3'-đithiobis(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 cacbonat (DSC), dimetyl adipimidat (DMA), dimetyl pimelimidat (DMP), dimetyl suberimidat (DMS), dimetyl-3,3'-đithiobispropionimidat (DTBP), 1,4-đi-(3'-(2'-pyridylđithio)propionamido)butan (DPDPB), bismaleimidohexan (BMH), hợp chất chứa aryl halogenua (DFDNB), ví dụ như 1,5-đifloro-2,4-đinitrobenzen hoặc 1,3-đifloro-4,6-đinitrobenzen, 4,4'-đifloro-3,3'-đinitrophenylsulfon (DFDNPS), bis-[β-(4-azidosalixylamido)etyl]disulfua (BASED), focmalđehyt, glutaralđehyt, 1,4-butandiol diglycidyl ete, axit adipic dihydrazit, cacbohydrazit, o-toluidin, 3,3'-dimetylbenzidin, benzidin, α,α'-p-diaminodiphenyl, axit diiodo-p-xylen sulfonic, N,N'-etylen-bis(iodoaxetamit), hoặc N,N'-hexametylen-bis(iodoaxetamit). Theo một số phương án, cầu nối bao gồm cầu nối hai chức khác loại. Theo một số phương án, cầu nối hai chức khác loại bao gồm N-succinimidyl 3-(2-pyridylđithio)propionat (sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridylđithio)propionat mạch dài (LC-sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridylđithio)propionat mạch dài tan trong nước (sulfo-LC-sPDP), succinimidylloxycacbonyl-α-metyl-α-(2-pyridylđithio)toluen (sMPT), sulfosuccinimidyl-6-[α-metyl-α-(2-pyridylđithio)toluamido]hexanoat (sulfo-LC-sMPT), succinimidyl-4-(N-

maleimidometyl)xyclohexan-1-cacboxylat (sMCC), sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-cacboxylat (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 (GMBs), N-(γ -maleimidobutyryloxy)sulfosuccinimit este (sulfo-GMBs), succinimidyl 6-((iodoaxetyl)amino)hexanoat (sIAX), succinimidyl 6-[6-(((iodoaxetyl)amino)hexanoyl)amino]hexanoat (sIAXX), succinimidyl 4-(((iodoaxetyl)amino)metyl)xyclohexan-1-cacboxylat (sIAC), succinimidyl 6-((((4-iodoaxetyl)amino)metyl)xyclohexan-1-cacboxyl)amino) hexanoat (sIACX), p-nitrophenyl iodoaxetat (NPIA), cầu nối chéo phản ứng cacboxyl và phản ứng sulfhydryl chẳng hạn như axit 4-(4-N-maleimidophenyl)butyric hydrazit (MPBH), 4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-cacboxyl-hydrazit-8 (M_2C_2H), 3-(2-pyridylđithio)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'-đithiopropionat (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'-đithiopropionat (sAND), N-succinimidyl-4-(4-azidophenyl)1,3'-đithiopropionat (sADP), N-sulfosuccinimidyl(4-azidophenyl)-1,3'-đithiopropionat (sulfo-sADP), sulfosuccinimidyl 4-(p-azidophenyl)butyrat (sulfo-sAPB), sulfosuccinimidyl 2-(7-azido-4-methylcoumarin-3-axetamit)etyl-

1,3'-đithiopropionat (sAED), sulfosuccinimidyl 7-azido-4-methylcoumain-3-axetat (sulfo-sAMCA), *p*-nitrophenyl diazopyruvat (pNPDP), *p*-nitrophenyl-2-điazo-3,3,3-trifloropropionat (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, cầu nối bao gồm cầu nối dipeptit có thể phân tách hoặc cầu nối dipeptit không thể phân tách. Theo một số phương án, cầu nối dipeptit bao gồm Val-Cit, Phe-Lys, Val-Ala, hoặc Val-Lys. Theo một số phương án, cầu nối có chứa nhóm maleimit. Theo một số phương án, cầu nối có chứa đoạn đệm. Theo một số phương án, đoạn đệm bao gồm rượu *p*-aminobenzyl (PAB), *p*-aminobenzyloxycarbonyl (PABC), dẫn xuất, hoặc chất tương tự của chúng. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến là mảnh có hoạt tính chức năng của polypeptit IL-15 chiều dài đầy đủ. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến là polypeptit IL-15 tái tổ hợp. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến là polypeptit IL-15 người tái tổ hợp. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến có sự giảm đi của ái lực liên kết với IL-15R α có khả năng mở rộng các quần thể tế bào T tác động (Teff) và tế bào Giết Tự Nhiên (NK).

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ polypeptit interleukin 15 (IL-15) được cải biến có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên được cải biến sau dịch mã, trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên này là ở vị trí gốc mà làm giảm có chọn lọc ái lực liên kết của polypeptit IL-15 đã được cải biến với interleukin 2/thụ thể interleukin 15 β (IL-2/IL-15R β) nhưng không ảnh hưởng đến sự tương tác với thụ thể interleukin 15 α (IL-15R α). Theo một số phương án, trong đó vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ V3, I6, K10, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S102, V104, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, và S114, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ V3, K10, S29, D30, H32, H105, Q108, M109, I111,

N112, T113, và S114; E28, P33, S102, và V104; hoặc I6 và V31. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N1, N4, S7, D8, K11, D61, T62, E64, N65, I68, L69, và N72. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N4, S7, K11, và D61; D8, E64, N65, I68, và N72; hoặc N1, T62, và L69. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên bao gồm p-axetyl-L-phenylalanin, p-iodo-L-phenylalanin, 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 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, isopropyl-L-phenylalanin, hoặc N6-(2-azidoetoxy)-cacbonyl-L-lysin. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên bao gồm axit amin không tự nhiên như nêu trên các Hình 1-3. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 đã được cải biến bằng cặp tARN synthetaza/tARN trực giao. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến được liên hợp với gốc liên hợp qua ít nhất một axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, gốc liên hợp có chứa polyme tan trong nước, protein, hoặc polypeptit. Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm: polyetylen glycol (PEG), poly(propylen glycol) (PPG), copolyme của etylen glycol và propylen glycol, poly(rượu đa chức đã oxyetyl hóa), poly(rượu olefinic), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin (POZ), poly(N-acryloylmocpholin), hoặc dạng kết hợp của chúng; hoặc polysacarit. Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm PEG. Theo một số phương án, PEG là PEG mạch thẳng hoặc PEG mạch nhánh. Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm glycan. 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, gốc liên hợp có chứa axit béo no. Theo một số phương án, axit béo no bao gồm axit hexadecanoic, axit tetradecanoic, hoặc axit 15-azidopentadecanoic. Theo một số phương án, protein bao gồm albumin, transferrin, transthyretin, hoặc phần Fc của kháng thể. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm peptit XTEN, polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP), polypeptit PAS, polypeptit giống elastin (ELP), peptit CTP, hoặc polyme protein giống gelatin (GLK). Theo một số phương án, gốc liên hợp được liên kết trực tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên của IL-15 đã được cải biến. Theo một số phương án, gốc liên hợp được liên kết gián tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên của IL-15 đã được cải biến thông qua cầu nối. Theo một số phương án, cầu nối bao gồm cầu nối hai chức cùng loại. Theo một số phương án, cầu nối hai chức cùng loại 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 cacbonat (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), ví dụ như 1,5-difloro-2,4-dinitrobenzen hoặc 1,3-difloro-4,6-dinitrobenzen, 4,4'-difloro-3,3'-dinitrophenylsulfon (DFDNPS), bis-[β -(4-azidosalixylamido)etyl]disulfua (BASED), focmaldehyt, glutaraldehyt, 1,4-butandiol diglycidyl ete, axit adipic dihydrazit, cacbohydrazit, 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, cầu nối bao gồm cầu nối hai chức khác loại. Theo một số phương án, cầu nối hai chức khác loại 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 tan trong nước (sulfo-LC-sPDP),

succinimidyl oxycarbonyl- α -methyl- α -(2-pyridylthio)toluen (sMPT),
 sulfosuccinimidyl-6-[α -methyl- α -(2-pyridylthio)toluamido]hexanoat (sulfo-LC-sMPT), succinimidyl-4-(N-maleimidomethyl)cyclohexan-1-carboxylat (sMCC),
 sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidomethyl)cyclohexan-1-carboxylat (sulfo-sMCC), m-maleimido benzoyl-N-hydroxysuccinimit este (MBs), m-maleimido benzoyl-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 -maleimido butyryloxy)succinimit este (GMBs), N-(γ -maleimido butyryloxy)sulfosuccinimit este (sulfo-GMBs),
 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-carbonyl)amino) hexanoat (sIACX), p-nitrophenyl iodoaxetat (NPIA), cầu nối chéo phản ứng carbonyl và phản ứng sulfhydryl chẳng hạn như axit 4-(4-N-maleimidophenyl)butyric hydrazit (MPBH), 4-(N-maleimidomethyl)cyclohexan-1-carboxyl-hydrazit-8 (M_2C_2H), 3-(2-pyridylthio)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-azido benzoat (HsAB), N-hydroxysulfosuccinimidyl-4-azido benzoat (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-2-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'-pyridylldithio)propionamit (APDP), benzophenon-4-iodoaxetamit, *p*-azidobenzoyl hydrazit (ABH), 4-(*p*-azidosalixylamido)butylamin (AsBA), hoặc *p*-azidophenyl glyoxal (APG). Theo một số phương án, cầu nối bao gồm cầu nối dipeptit có thể phân tách hoặc cầu nối dipeptit không thể phân tách. Theo một số phương án, cầu nối dipeptit bao gồm Val-Cit, Phe-Lys, Val-Ala, hoặc Val-Lys. Theo một số phương án, cầu nối có chứa nhóm maleimit. Theo một số phương án, cầu nối có chứa đoạn đệm. Theo một số phương án, đoạn đệm bao gồm rượu *p*-aminobenzyl (PAB), *p*-aminobenzyloxycacbonyl (PABC), dẫn xuất, hoặc chất tương tự của chúng. Theo một số phương án, gốc liên hợp có khả năng kéo dài thời gian bán thải trong huyết thanh của polypeptit IL-15 đã được cải biến. Theo một số phương án, sự giảm đi của ái lực liên kết là sự giảm đi khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, hoặc 99% của ái lực liên kết với IL-15 α so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên. Theo một số phương án, sự giảm đi của ái lực liên kết với IL-15 α là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, hoặc nhiều hơn so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến là mảnh có hoạt tính chức năng của polypeptit IL-15 chiều dài đầy đủ. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến là polypeptit IL-15 tái tổ hợp. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến là polypeptit IL-15 người tái tổ hợp. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến có sự giảm đi của ái lực liên kết với IL-15 α có khả năng mở rộng các quần thể tế bào T tác động (Teff) và tế bào Giết Tự Nhiên (NK).

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ thể liên hợp interleukin 15 (IL-15) có chứa: polypeptit IL-15 đã được phân lập và đã được tinh chế; và gốc

liên hợp mà liên kết với polypeptit IL-15 đã được phân lập và đã được tinh chế tại vị trí axit amin được chọn từ N4, E46, D61, E64, N65, I68 và L69, trong đó việc đánh số của các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí axit amin là N4. Theo một số phương án, vị trí axit amin là E46. Theo một số phương án, vị trí axit amin là D61. Theo một số phương án, vị trí axit amin là E64. Theo một số phương án, vị trí axit amin là N65. Theo một số phương án, vị trí axit amin là I68. Theo một số phương án, vị trí axit amin là L69. Theo một số phương án, gốc axit amin được đột biến thành xystein. Theo một số phương án, gốc axit amin được đột biến thành lysin. Theo một số phương án, gốc axit amin được chọn từ N4, E46, N65, và L69 được 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-iodo-L-phenylalanin, 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 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, isopropyl-L-phenylalanin, hoặc N6-(2-azidoetoxy)-cacbonyl-L-lysine. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên bao gồm axit amin không tự nhiên như nêu trên Hình 2C. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có ái lực giảm đi với tiểu đơn vị thụ thể IL-15 α (IL-15R α) so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là sự giảm đi khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, hoặc 99% của ái lực liên kết với IL-15R α so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên. Theo một số phương án, ái lực với IL-15R α giảm đi khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, hoặc nhiều hơn so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên. Theo một số phương án, gốc liên hợp làm suy yếu hoặc phong bế sự liên kết của IL-15 với IL-15R α .

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ được phẩm có chứa: polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15; và tá dược được dụng.

Theo một số phương án, dược phẩm được tạo chế phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa.

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ phương pháp điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh tăng sinh ở đối tượng cần điều trị, bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng hữu hiệu để điều trị của polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15. Theo một số phương án, bệnh hoặc tình trạng bệnh tăng sinh là bệnh ung thư. Theo một số phương án, bệnh ung thư là bệnh ung thư khối u rắn. Theo một số phương án, bệnh ung thư khối u rắn là bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư xương, bệnh ung thư não, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư đại trực tràng, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư mắt, bệnh ung thư đầu và cổ, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư phổi, u melanin, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, hoặc bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Theo một số phương án, bệnh ung thư là bệnh lý huyết học ác tính. Theo một số phương án, bệnh lý huyết học ác tính là bệnh bạch cầu tế bào lympho mạn tính (CLL), u lympho tế bào lympho nhỏ (SLL), u lympho thể nang (FL), u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL), u lympho tế bào vỏ (MCL), bệnh tăng globulin đại phân tử Waldenstrom, đa u tủy, u lympho tế bào B vùng rìa ngoài hạch, u lympho tế bào B vùng rìa hạch, u lympho Burkitt, u lympho tế bào B cấp cao không Burkitt, u lympho tế bào B nguyên phát tại trung thất (PMBL), u lympho tế bào lớn nguyên bào miễn dịch, u lympho nguyên bào lympho B tiền thân, bệnh bạch cầu tiền lympho bào tể bào B, u lympho tương bào lympho, u lympho vùng rìa của lách, u tủy tương bào, u tương bào, u lympho tế bào B lớn trung thất (tuyến ức), u lympho tế bào B lớn trong mạch, u lympho tràn dịch nguyên phát, hoặc u hạt dạng lympho. Theo một số phương án, phương pháp còn bao gồm việc dùng tác nhân trị liệu bổ sung. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 và tác nhân trị liệu bổ sung được dùng đồng thời. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 và tác nhân trị liệu bổ sung được dùng tuần tự. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 được dùng trước tác nhân trị liệu bổ sung. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã

được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 được dùng sau khi dùng tác nhân trị liệu bổ sung. Theo một số phương án, đối tượng này là người.

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ phương pháp mở rộng các quần thể tế bào T tác động (Teff) và tế bào Giết Tự Nhiên (NK), bao gồm: (a) cho tế bào tiếp xúc với polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15; và (b) cho IL-15 tương tác với các tiểu đơn vị IL-15R β và IL-15R γ để tạo thành phức hợp IL-15/IL-15R $\beta\gamma$; trong đó thể liên hợp IL-15 có ái lực với tiểu đơn vị IL-15R α giảm đi, và trong đó phức hợp IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ kích thích sự mở rộng của các tế bào Teff và NK. Theo một số phương án, tế bào là tế bào nhân chuẩn. Theo một số phương án, tế bào là tế bào động vật có vú. Theo một số phương án, tế bào là tế bào người. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có chứa polypeptit IL-15 đã được phân lập và đã được tinh chế và gốc liên hợp mà liên kết với polypeptit IL-2 đã được phân lập và đã được tinh chế ở gốc axit amin được chọn từ N4, E46, N65, và L69, trong đó việc đánh số của các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là sự giảm đi khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, hoặc 99% của ái lực liên kết với IL-15R α so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên. Theo một số phương án, ái lực giảm đi đối với IL-15R α là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, hoặc nhiều hơn so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên. Theo một số phương án, gốc liên hợp làm suy yếu hoặc phong bế sự liên kết của IL-15 với IL-15R α .

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ bộ kit có chứa polypeptit IL-15 đã được cải biến, thể liên hợp IL-15, hoặc được phẩm.

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ bộ kit có chứa phân tử axit polynucleic mã hóa polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc polypeptit IL-15.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các khía cạnh khác nhau của bản mô tả được nêu cụ thể trong các yêu cầu bảo hộ kèm theo. Để hiểu rõ hơn các dấu hiệu và ưu điểm của sáng chế hãy tham chiếu đến phần mô tả chi tiết sau đây mà trình bày về các phương án minh họa,

trong đó các nguyên lý của sáng chế được sử dụng, và các hình vẽ kèm theo của nó:

Hình 1 minh họa các axit amin không tự nhiên để làm ví dụ. Hình vẽ này được phỏng theo Hình 2 của Young et al., "Beyond the canonical 20 amino acids: expanding the genetic lexicon," *J. of Biological Chemistry* 285(15): 11039-11044 (2010);

Hình 2A - Hình 2B minh họa các axit amin không tự nhiên để làm ví dụ. Hình 2A minh họa các dẫn xuất lysin để làm ví dụ. Hình 2B minh họa các dẫn xuất phenylalanin để làm ví dụ.

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

Hình 4 minh họa đồ thị của sắc ký trao đổi anion.

Hình 5 minh họa đồ thị của sắc ký pha đảo.

Hình 6 minh họa giá trị EC50 đối với thể liên hợp IL-15 để làm ví dụ với hiệu lực tự nhiên trong thử nghiệm tăng sinh CTLL2. Kết quả được dựng đồ thị dưới dạng tỉ lệ phần trăm của đáp ứng.

Hình 7 minh họa giá trị EC50 đối với thể liên hợp IL-15 để làm ví dụ với hiệu lực giảm trong thử nghiệm tăng sinh CTLL2. Như thể hiện ở đây, sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí góp phần vào dược lý in vitro. Kết quả được dựng đồ thị dưới dạng tỉ lệ phần trăm của đáp ứng.

Hình 8 minh họa giá trị EC50 đối với IL-15 để làm ví dụ được liên hợp với các kích thước PEG khác nhau. Kết quả được dựng đồ thị dưới dạng tỉ lệ phần trăm của đáp ứng.

Hình 9A - Hình 9C thể hiện đơn vị đáp ứng (RU, trục Y) theo thời gian (giây, trục X) đối với rHuIL-15, hợp chất liên hợp IL-15 liên kết với IL-15R α .

Hình 9A: rHuIL-15; Hình 9B: các thể liên hợp IL15 N77PEG30 và S83PEG30; và Hình 9C: các thể liên hợp IL15 E46PEG30 và E53PEG30.

Hình 10 thể hiện đơn vị đáp ứng (RU, trục Y) theo thời gian (giây, trục X) đối với rHuIL-15, IL-15 N77PEG30 liên kết với IL-15R α và IL-2R β .

Hình 11 thể hiện đơn vị đáp ứng (RU, trục Y) theo thời gian (giây, trục X) đối với rHuIL-15, IL-15 E53PEG30 liên kết với IL-15R α và IL-2R β .

Hình 12A - Hình 12D minh họa sự phosphoryl hóa STAT5 trên tế bào NK và tế bào T CD8+ khi kích thích bằng thể liên hợp IL-15 PEG để làm ví dụ. Hình 12A và Hình 12C: sự kéo dài thời gian bán thải (S83PEG30 và N77PEG30); Hình 12B và Hình 12D: sự tương tác được điều biến với IL-15R α (V49PEG30, E53PEG30 và L25PEG30).

Hình 13 thể hiện biên dạng nồng độ trong huyết tương của rHuIL-15, IL-15 S83PEG30, IL-15 V49PEG30 IL-15 L25 PEG30 và IL-15 N77 PEG30 ở 0,3 mg/kg.

Hình 14A - Hình 14D thể hiện tỉ lệ phần trăm của sự phosphoryl hóa STAT5 ở tế bào T CD8+ (Hình 14A), tế bào ghi nhớ CD8 (Hình 14B), tế bào NK (Hình 14C), và tế bào Treg (Hình 14D) ở chuột nhất được dùng liều lượng của rHuIL-15 hoặc hợp chất được pegyl hóa.

Hình 15A - Hình 15D thể hiện sự biểu hiện tăng của chỉ thị phân tử tăng sinh sớm Ki67 ở tế bào T CD8+ (Hình 15A), tế bào NK (Hình 15B), tế bào Tmem CD8+ (Hình 15C) nhưng không ở tế bào Treg (Hình 15D) ở động vật được dùng liều lượng của hợp chất được pegyl hóa.

Hình 16A - Hình 16C thể hiện sự cảm ứng tăng sinh của tế bào T CD8+ (Hình 16A), tế bào NK (Hình 16B), và tế bào T ghi nhớ CD8 (Hình 16C).

Hình 17A - Hình 17B thể hiện sự biểu hiện Ki67 tăng ở tế bào NK (Hình 17A) và tế bào T CD8+ (Hình 17B) với liều lượng tăng của hợp chất IL-15 L25PEG30 ở chuột nhất.

Mô tả chi tiết sáng chế

Bệnh ung thư là nhóm phức hợp của các bệnh có sự phát triển tế bào bất thường có tiềm năng xâm lấn hoặc lan đến các phần khác của cơ thể. Các liệu pháp ung thư chẳng hạn như chiếu xạ và hóa trị mà nhắm đích chất và con đường gây ung thư có thể thành công. Trong một số trường hợp, tế bào ung thư có thể thích ứng với các liệu pháp này, làm hạn chế hiệu quả của các liệu pháp này. Liệu pháp miễn dịch, không giống như phẫu thuật, hóa trị, hoặc chiếu xạ, kích thích hệ miễn dịch nhận diện và giết chết tế bào khối u.

Một vài xytokin được sử dụng trong liệu pháp miễn dịch nhờ khả năng của chúng để kích hoạt đáp ứng miễn dịch. Tuy nhiên, các liệu pháp miễn dịch hiện nay sử dụng xytokin dẫn đến một vài tác dụng có hại bao gồm sự gây độc và sự tăng sinh tế bào mất kiểm soát. Sáng chế đề xuất xytokin được cải biến hoặc thể liên hợp xytokin để sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư với khả năng kích thích hoặc mở rộng các quần thể tế bào T và NK cụ thể dẫn đến việc điều trị được cải thiện và các tác dụng có hại được giảm đi.

Xytokin có chứa họ protein truyền tín hiệu tế bào chẳng hạn như chemokin, interferon, interleukin, lymphokin, và yếu tố hoại tử khối u. Xytokin được sản xuất bằng tế bào miễn dịch chẳng hạn như đại thực bào, tế bào lympho B, tế bào lympho T và dưỡng bào, tế bào nội mô, nguyên bào sợi, và các tế bào nền khác nhau. Trong một số trường hợp, xytokin điều biến sự cân bằng giữa đáp ứng miễn dịch thể dịch và đáp ứng miễn dịch dựa trên tế bào.

Interleukin là protein truyền tín hiệu mà điều biến sự phát triển và sự biệt hóa của tế bào lympho T và tế bào lympho B và tế bào tạo máu. Interleukin được sản xuất bằng tế bào lympho T CD4 trợ giúp, bạch cầu đơn nhân, đại thực bào, và tế bào nội mô. Trong một số trường hợp, có khoảng 15 interleukin, các interleukin 1-13, interleukin 15, và interleukin 17.

Interleukin-15 (IL-15) là xytokin đa hướng mà cấu trúc của nó là glycoprotein nặng 14-15 kDa. Sự phiên mã, sự dịch mã và sự tiết IL-15 được điều hòa thông qua nhiều cơ chế phức hợp. Các protein IL-15 và thụ thể IL-15 α (IL-15R α , CD215) được đồng biểu hiện chủ yếu là bằng bạch cầu đơn nhân đã được

hoạt hóa và tế bào phân nhánh (DC). Sự phiên mã của dime dị loại IL-15/IL-15R α xảy ra sau sự tương tác của bạch cầu đơn nhân/DC với interferon (IFN) loại 1 hoặc loại 2 hoặc sự nổi CD40 hoặc các tác nhân mà tác động thông qua thụ thể giống Toll (TLR) mà hoạt hóa NF-kB. Hơn nữa, sự biểu hiện protein IL-15/IL-15R α chủ yếu được điều khiển ở cấp độ dịch mã và tiết.

IL-15 truyền tín hiệu qua thụ thể trime dị loại có chứa chuỗi α độc nhất (IL-15R α), tiểu đơn vị β dùng chung (IL-15R β , CD132) với IL-2 (CD122) và tiểu đơn vị γ thông dụng (CD132; IL-15R γ) dùng chung với một vài xytokin. IL-15R α có ái lực cao đối với IL-15 với K_d khoảng 10^{-11} M.

Theo một số phương án, việc truyền tín hiệu IL-15 được sử dụng để điều biến đáp ứng tế bào T và tiếp đó là để điều trị bệnh ung thư. Theo một số phương án, việc truyền tín hiệu IL-15 được sử dụng để kích thích sự tăng sinh của tế bào T CD4 $^-$ CD8 $^-$, CD4 $^+$ CD8 $^+$, CD4 $^+$, và CD8 $^+$ đã được hoạt hóa và sự biệt hóa của chúng trong các tập hợp con tế bào T tác động đã được xác định. Theo một số phương án, việc truyền tín hiệu IL-15 được sử dụng để kích thích sự tạo ra và sự tăng sinh của tế bào Giết Tự Nhiên (NK). Theo một số phương án, việc truyền tín hiệu IL-15 được sử dụng để thúc đẩy sự duy trì và sự sống sót của tế bào T CD8 ghi nhớ, tế bào T CD8 nguyên bản, và tế bào NK. Theo một số phương án, việc truyền tín hiệu IL-15 được sử dụng để gây cảm ứng sự tạo thành của tế bào T CD8 ghi nhớ. Theo một số phương án, việc truyền tín hiệu IL-15 được sử dụng để môi sự hoạt hóa đặc hiệu đích tế bào NK. Theo một số phương án, việc truyền tín hiệu IL-15 không dẫn đến sự mở rộng Treg.

Theo một số phương án, sáng chế mô tả polypeptit IL-15 đã được cải biến để điều biến đáp ứng tế bào T và tiếp đó là để điều trị bệnh ung thư. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến có sự liên kết giảm với thụ thể interleukin 15 α (IL-15R α). Theo một số phương án, sự giảm đi của ái lực liên kết có liên quan đến ái lực liên kết giữa polypeptit IL-15 dạng tự nhiên và IL-15R α . Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến có ít tác dụng hoặc không có tác dụng lên sự tương tác của polypeptit IL-15 đã được cải biến với

interleukin 2/thụ thể interleukin 15 $\beta\gamma$ (IL-2/IL-15R $\beta\gamma$). Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến có chứa một hoặc nhiều sự cải biến mà có ít tác dụng hoặc không có tác dụng lên ái lực liên kết của polypeptit IL-15 đã được cải biến với IL-15R α và IL-15R $\beta\gamma$. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến có sự liên kết giảm với IL-2/IL-15R $\beta\gamma$ và sự tương tác IL-15R α không bị ảnh hưởng.

Sáng chế mô tả polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 có khả năng kích thích đáp ứng kháng khối u được cải thiện. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 có biên dạng an toàn được cải thiện. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 có chứa sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí để làm tăng thời gian bán thải. Theo một số phương án, sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí làm tăng thời gian bán thải và có ít tác dụng hoặc không có tác dụng lên hoạt tính sinh học. Theo một số phương án, việc truyền tín hiệu của polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 thiên về IL-15R $\beta\gamma$. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 có chứa sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí để làm tăng thời gian bán thải và làm giảm sự gây độc. Theo một số phương án, sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí dẫn đến liều lượng nhỏ hơn của polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15. Theo một số phương án, sự gây độc được giảm đi bằng polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 phong bế sự tương tác IL-15R α . Theo một số phương án, hoạt tính của polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 bị giới hạn ở vị trí khối u. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 có chứa sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí sao cho sự trình diện trans của IL-15 không cần thiết đối với sự tăng sinh và chức năng của tế bào giết tự nhiên (NK) và tế bào tác động. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên hợp IL-15 có chứa sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí sao cho sự thanh thải bị ức chế hoặc bị hạn chế.

Polypeptit IL-15 đã được cải biến và thể liên hợp IL-15

Theo một số phương án, sáng chế mô tả polypeptit IL-15 đã được cải biến. Trong một số trường hợp, sự cải biến là sự cải biến thành axit amin tự nhiên. Trong một số trường hợp, sự cải biến là sự cải biến thành axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, sáng chế mô tả polypeptit IL-15 đã được cải biến và đã được phân lập mà có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 là IL-15 động vật có vú đã được phân lập và đã được tinh chế, ví dụ như, protein IL-15 người. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 là protein IL-15 người. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 có độ tương đồng trình tự khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với SEQ ID NO: 1 hoặc 2. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 có chứa hoặc gồm có trình tự SEQ ID NO: 1 hoặc 2.

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

nhất hoặc khoảng 6 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến có chứa sự làm khuyết đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 7 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến có chứa sự làm khuyết đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 8 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến có chứa sự làm khuyết đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 9 gốc. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến có chứa sự làm khuyết đầu tận cùng N của ít nhất hoặc khoảng 10 gốc.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến là mảnh có hoạt tính chức năng. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức năng có chứa vùng IL-15 5-114, 10-114, 15-114, 20-114, 1-110, 5-110, 10-110, 15-110, 20-110, 1-105, 5-105, 10-105, 15-105, 20-105, 1-100, 5-100, 10-100, 15-100, hoặc 20-100, trong đó các vị trí gốc là tương ứng với các vị trí trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức năng có chứa vùng IL-15 5-114, 10-114, 15-114, hoặc 20-114, trong đó các vị trí gốc là tương ứng với các vị trí trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức năng có chứa vùng IL-15 1-110, 5-110, 10-110, 15-110, hoặc 20-110, trong đó các vị trí gốc là tương ứng với các vị trí trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức năng có chứa vùng IL-15 1-105, 5-105, 10-105, 15-105, hoặc 20-105, trong đó các vị trí gốc là tương ứng với các vị trí trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, mảnh có hoạt tính chức năng có chứa vùng IL-15 1-100, 5-100, 10-100, 15-100, hoặc 20-100, trong đó các vị trí gốc là tương ứng với các vị trí trong SEQ ID NO: 1.

Theo một số phương án, mảnh IL-15 có hoạt tính chức năng có chứa sự làm khuyết bên trong. Trong một số trường hợp, sự làm khuyết bên trong bao gồm vùng vòng lặp. Trong một số trường hợp, sự làm khuyết bên trong bao gồm sự làm khuyết của 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, hoặc nhiều gốc hơn.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N1, W2, V3, N4, I6, S7,

D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, T27, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, A39, K41, L44, L45, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, và S114, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, và S114, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, S51, L52, S54, G55, D56, A57, S58, H60, V63, I67, N71, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, L91, E92, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, và F110. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ D14, Q17, S18, K41, S51, L52, G55, D56, A57, S58, S75, S76, N77, N79, V80, T81, S83, G84, E92, K94, N95, K97, và E98. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N1, N4, S7, D8, K11, D61, T62, E64, N65, I68, L69, và N72. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ V3, I6, K10, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S102, V104, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, và S114. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ D22, A23, T24, L25, Y26, L44, E46, Q48, V49, E53, E89, E90, và E93. Theo một số phương án, vị trí gốc

của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ Y26, E46, V49, E53, và L25. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ V3, K10, S29, D30, H32, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, và S114. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N4, S7, K11, và D61. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ L25, E53, N77, và S83. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ L25 và E53. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E46, Y26, V49, E53, T24, N4, K11, N65, L69, S18, H20, và S83. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E46, Y26, V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E46, V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ Y26, V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E46 và Y26. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là E46. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là L25. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là Y26. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là V49. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là E53. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là T24. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là N77. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N4, K11, N65, L69, S18, H20, và S83. Trình tự axit amin để làm ví dụ đối với IL-15 được minh họa trong Bảng 1 dưới đây.

TÊN	TRÌNH TỰ	SEQ ID NO.
-----	----------	------------

IL-15 (dạng trưởng thành)	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTES DVHPSCKVTAMKCFLLLELQVISLESGDAS IHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKEC EELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	1
IL-15 GenBank: CAA71044.1 (tiền chất)	MDFQVQIFSFL LISASVIMSRANWVNVISD LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLLELQVISLESGDASIHDVTENLII LANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIK EFLQSFVHIVQMFINTS	2

Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở gần đầu tận cùng N. Như dùng trong bản mô tả này, ở gần dùng để chỉ gốc nằm cách ít nhất là 1 gốc từ gốc đầu tận cùng N và cách đến khoảng 50 gốc từ gốc đầu tận cùng N. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 10, 20, 30, 40, hoặc 50 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng N. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 10 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng N. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 20 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng N. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 30 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng N. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 40 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng N. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 50 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng N.

Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên là gốc đầu tận cùng N.

Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở gần đầu tận cùng C. Như dùng trong bản mô tả này, ở gần dùng để chỉ gốc nằm cách ít nhất là 1 gốc từ gốc đầu tận cùng C và cách đến khoảng 50 gốc từ gốc đầu tận cùng C. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở

trong 10, 20, 30, 40, hoặc 50 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng C. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 10 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng C. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 20 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng C. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 30 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng C. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 40 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng C. Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên nằm ở trong 50 gốc đầu tiên từ gốc đầu tận cùng C.

Trong một số trường hợp, ít nhất một axit amin không tự nhiên là gốc đầu tận cùng C.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên, trong đó vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên này là ở vị trí gốc mà làm giảm có chọn lọc ái lực liên kết của polypeptit IL-15 với thụ thể interleukin 15 α (IL-15R α). Theo một số phương án, sự giảm đi của ái lực liên kết có liên quan đến ái lực liên kết giữa polypeptit IL-15 dạng tự nhiên và IL-15R α . Theo một số phương án, sự liên kết của polypeptit IL-15 đã được cải biến với IL-15R α không ảnh hưởng đến sự tương tác của polypeptit IL-15 đã được cải biến với interleukin 2/thụ thể interleukin 15 $\beta\gamma$ (IL-2/IL-15R $\beta\gamma$) hoặc cải thiện sự tương tác của polypeptit IL-15 đã được cải biến với IL-2/IL-15R $\beta\gamma$. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ D22, A23, T24, L25, Y26, L44, E46, Q48, V49, E53, E89, E90, và E93, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ Y26, E46, V49, E53, và L25, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ A23, T24, E89, và E93, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ D22, L44, Q48, và E90, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin

không tự nhiên là Y26. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là E46. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là V49. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là E53. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là L25. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến còn chứa PEG. Trong một số trường hợp, PEG được liên hợp ở vị trí gốc được chọn từ D22, A23, T24, L25, Y26, L44, E46, Q48, V49, E53, E89, E90, và E93. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến còn chứa PEG cho thời gian bán thải tăng lên. Trong một số trường hợp, PEG được liên hợp ở vị trí gốc được chọn từ E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, S51, L52, S54, G55, D56, A57, S58, H60, V63, I67, N71, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, L91, E92, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, và F110, cho thời gian bán thải tăng lên. Trong một số trường hợp, PEG được liên hợp ở vị trí gốc được chọn từ N71, N72, và N77. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp với PEG được đột biến thành axit amin tự nhiên. Trong các trường hợp khác, gốc liên hợp với PEG được đột biến thành axit amin không tự nhiên. Trong các trường hợp khác, đột biến ở N71, N72, hoặc N77 cải thiện thêm tình trạng CMC (ví dụ như, hiệu suất, độ tinh khiết, độ ổn định, sự kết tập giảm đi, và/hoặc cải thiện sự cuộn gập protein), hiệu lực, hoặc dạng kết hợp của chúng.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên, trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên này là ở vị trí gốc mà làm giảm có chọn lọc ái lực liên kết của polypeptit IL-15 đã được cải biến với IL-2/IL-15R β , IL-15R γ , hoặc dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, IL-15 đã được cải biến có ít tác dụng hoặc không có tác dụng lên sự tương tác với IL-15R α . Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N1, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E28, S29, D30, V31, H32, P33, D61, T62, E64, N65, I68, L69, N72, S102, V104, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, và S114, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, ít nhất một

axit amin không tự nhiên là ở vị trí gốc mà làm giảm có chọn lọc ái lực liên kết của polypeptit IL-15 đã được cải biến với IL-2/IL-15R β . Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N1, N4, S7, D8, K11, D61, T62, E64, N65, I68, L69, và N72, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N4, S7, K11, và D61. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ D8, E64, N65, I68, và N72. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N1, T62, và L69. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là N4. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là S7. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là K11. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là D61. Theo một số phương án, ít nhất một axit amin không tự nhiên là ở vị trí gốc mà làm giảm có chọn lọc ái lực liên kết của polypeptit IL-15 đã được cải biến với IL-2/IL-15R γ . Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ V3, I6, K10, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S102, V104, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, và S114, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ V3, K10, S29, D30, H32, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, và S114. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E28, P33, S102, và V104. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ I6 và V31. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là V3. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là K10. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là S29. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là D30. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là H32. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là H105. Trong một số trường hợp,

vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là Q108. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là M109. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là I111. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là N112. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là T113. Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là S114. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến còn chứa PEG. Trong một số trường hợp, PEG được liên hợp ở vị trí gốc được chọn từ N1, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E28, S29, D30, V31, H32, P33, D61, T62, E64, N65, I68, L69, N72, S102, V104, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, và S114. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến còn chứa PEG cho thời gian bán thải tăng lên. Trong một số trường hợp, PEG được liên hợp ở vị trí gốc được chọn từ E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, S51, L52, S54, G55, D56, A57, S58, H60, V63, I67, N71, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, L91, E92, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, và F110 cho thời gian bán thải tăng lên. Trong một số trường hợp, PEG được liên hợp ở vị trí gốc được chọn từ N71, N72, và N77. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp với PEG được đột biến thành axit amin tự nhiên. Trong các trường hợp khác, gốc liên hợp với PEG được đột biến thành axit amin không tự nhiên. Trong các trường hợp khác, đột biến ở N71, N72, hoặc N77 cải thiện thêm tình trạng CMC (ví dụ như, hiệu suất, độ tinh khiết, độ ổn định, sự kết tập giảm đi, và/hoặc cải thiện sự cuộn gập protein), hiệu lực, hoặc dạng kết hợp của chúng.

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên, trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên là ở vị trí gốc mà không ảnh hưởng đến ái lực liên kết của polypeptit IL-15 đã được cải biến với IL-15R α và IL-15R β . Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến còn chứa PEG cho thời gian bán thải tăng lên. Theo một số phương án, IL-15 đã được cải biến có chứa PEG không có sự thay đổi của hoạt tính sinh học. Theo một số phương án, gốc được cải biến để kéo dài thời gian bán thải.

Trong một số trường hợp, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, S51, L52, S54, G55, D56, A57, S58, H60, V63, I67, N71, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, L91, E92, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, và F110, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ D14, Q17, S18, K41, S51, L52, G55, D56, A57, S58, S75, S76, N77, N79, V80, T81, S83, G84, E92, K94, N95, K97, và E98, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ E13, L15, M19, H20, K36, V37, T38, S54, H60, I67, N71, G78, K86, E87, và Q101, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ I21, S34, C35, L44, V63, S73, L74, E82, C85, C88, L91, I96, L100, và F110, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N71, N72, và N77, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên được chọn từ N77 và S83. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là D14. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là Q17. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là S18. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là K41. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là S51. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là L52. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là G55. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là D56. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là A57. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là S58. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không

tự nhiên là S75. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là S76. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là N77. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là N79. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là V80. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là T81. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là S83. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là G84. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là E92. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là K94. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là N95. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là K97. Theo một số phương án, vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên là E98. Trong một số trường hợp, đột biến ở N71, N72, hoặc N77 bao gồm đột biến thành axit amin tự nhiên. Trong một số trường hợp, đột biến ở N71, N72, hoặc N77 cải thiện thêm tình trạng CMC (ví dụ như, hiệu suất, độ tinh khiết, độ ổn định, sự kết tập giảm đi, và/hoặc cải thiện sự cuộn gập protein), hiệu lực, hoặc dạng kết hợp của chúng.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên được liên hợp thêm với gốc liên hợp để tạo ra thể liên hợp IL-15. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin của ít nhất một axit amin không tự nhiên là ở N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, T27, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, A39, K41, L44, L45, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, hoặc S114, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, vị trí axit amin của ít nhất một axit amin không tự nhiên là ở N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24,

L25, Y26, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, hoặc S114. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được liên kết với ít nhất một axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được liên kết với gốc axit amin đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp được liên kết trực tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên hoặc gốc đầu tận cùng. Trong các trường hợp khác, gốc liên hợp được liên kết gián tiếp với ít nhất một axit amin không tự nhiên hoặc gốc đầu tận cùng thông qua cầu nối được mô tả *dưới đây*.

Theo một số phương án, ái lực giảm đi của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 với tiểu đơn vị thụ thể IL-15 α (IL-15R α) so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên là khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, hoặc 99%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 10%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 20%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 40%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 50%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 60%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 80%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 90%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 95%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là 100%.

Theo một số phương án, ái lực giảm đi của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 với tiểu đơn vị thụ thể IL-15 α (IL-15R α) so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, hoặc nhiều hơn. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 1 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 2 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 4 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 5 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 6 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 8 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 10 lần.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 không tương tác với IL-15R α .

Theo một số phương án, ái lực giảm đi của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 với tiểu đơn vị thụ thể IL-2 (IL-2R) so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên là khoảng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, hoặc 99%. Theo một số phương án, tiểu đơn vị IL-2R là IL-2R $\beta\gamma$. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 10%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 20%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 40%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 50%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 60%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 80%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 90%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 95%. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là 100%.

Theo một số phương án, ái lực giảm đi của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 với tiểu đơn vị thụ thể IL-2 (IL-2R) so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên là khoảng 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 6 lần, 7 lần, 8 lần, 9 lần, 10 lần, hoặc nhiều hơn. Theo một số phương án, tiểu đơn vị IL-2R là IL-2R $\beta\gamma$. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 1 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 2 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 4 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 5 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 6 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 8 lần. Theo một số phương án, ái lực giảm đi là khoảng 10 lần.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 không tương tác với IL-2R α .

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có thời gian bán thải được tăng cường. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên.

Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 90 phút, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ,

7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 11 giờ, 12 giờ, 18 giờ, 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 12 ngày, 14 ngày, 21 ngày, 28 ngày, 30 ngày, hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 90 phút hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 2 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 3 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 4 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 5 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 6 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 10 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 12 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 18 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải

được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 24 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 36 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 48 giờ hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 3 ngày hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 4 ngày hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 5 ngày hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 6 ngày hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 7 ngày hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 10 ngày hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 12 ngày hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 14 ngày

hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 21 ngày hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 28 ngày hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 ít nhất là 30 ngày hoặc lâu hơn so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên.

Trong một số trường hợp, thời gian bán thải được tăng cường của polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 là khoảng 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 9 giờ, 10 giờ, 11 giờ, 12 giờ, 18 giờ, 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 12 ngày, 14 ngày, 21 ngày, 28 ngày, hoặc 30 ngày so với thời gian bán thải của protein IL-15 dạng tự nhiên hoặc thể liên hợp IL-15 dạng tự nhiên. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học có thời gian bán thải được tăng cường bằng khoảng 90 phút. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học có thời gian bán thải được tăng cường bằng khoảng 2 giờ. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học có thời gian bán thải được tăng cường bằng khoảng 3 giờ. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học có thời gian bán thải được tăng cường bằng khoảng 4 giờ. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học có thời gian bán thải được tăng cường bằng khoảng 5 giờ. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học có thời gian bán thải được tăng cường bằng khoảng 6 giờ. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học có thời gian bán thải được tăng cường bằng khoảng 7 giờ. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học

40

tăng cường bằng khoảng 14 ngày. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học có thời gian bán thải được tăng cường bằng khoảng 21 ngày. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học có thời gian bán thải được tăng cường bằng khoảng 28 ngày. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 có hoạt tính sinh học có thời gian bán thải được tăng cường bằng khoảng 30 ngày.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến giữ lại hiệu lực truyền tín hiệu đáng kể với phức hợp truyền tín hiệu thụ thể interleukin 15 $\beta\gamma$ (IL-15R $\beta\gamma$). Trong một số trường hợp, hiệu lực truyền tín hiệu được so sánh với hiệu lực truyền tín hiệu giữa polypeptit IL-15 dạng tự nhiên và IL-15R $\beta\gamma$. Trong một số trường hợp, độ chênh lệch của hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể giữa phức hợp IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ đã được cải biến và phức hợp IL-15 dạng tự nhiên/IL-15R $\beta\gamma$ nhỏ hơn 1000 lần, nhỏ hơn 500 lần, nhỏ hơn 200 lần, nhỏ hơn 100 lần, nhỏ hơn 50 lần, nhỏ hơn 10 lần, nhỏ hơn 5 lần, nhỏ hơn 4 lần, nhỏ hơn 3 lần, nhỏ hơn 2 lần, hoặc nhỏ hơn 1 lần. Trong một số trường hợp, độ chênh lệch của hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể giữa phức hợp IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ đã được cải biến và phức hợp IL-15 dạng tự nhiên/IL-15R $\beta\gamma$ lớn hơn 10 lần, lớn hơn 20 lần, lớn hơn 30 lần, lớn hơn 40 lần, lớn hơn 50 lần, lớn hơn 100 lần, lớn hơn 200 lần, lớn hơn 300 lần, lớn hơn 400 lần, hoặc lớn hơn 500 lần. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến là chất chủ vận một phần, ví dụ như, chất chủ vận mà hoạt hóa thụ thể (ví dụ như, phức hợp truyền tín hiệu IL-15 $\beta\gamma$) nhưng chỉ có hiệu quả một phần ở thụ thể so với chất chủ vận toàn vẹn. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến là chất chủ vận toàn vẹn, ví dụ như, chất chủ vận mà hoạt hóa thụ thể (ví dụ như, phức hợp truyền tín hiệu IL-15 $\beta\gamma$) ở đáp ứng lớn nhất.

Trong một số trường hợp, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể được đo bằng giá trị EC50. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến tạo ra giá trị EC50 nhỏ hơn 1000 lần, nhỏ hơn 500 lần, nhỏ hơn 200 lần, nhỏ hơn 100 lần, nhỏ hơn 50 lần, nhỏ hơn 10 lần, nhỏ hơn 5 lần, nhỏ hơn 4 lần, nhỏ hơn 3 lần, nhỏ hơn 2 lần, hoặc nhỏ hơn 1 lần so với giá trị EC50 của phức hợp IL-15 dạng tự

nhiên/IL-15R $\beta\gamma$. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến tạo ra giá trị EC50 lớn hơn 10 lần, lớn hơn 20 lần, lớn hơn 30 lần, lớn hơn 40 lần, lớn hơn 50 lần, lớn hơn 100 lần, lớn hơn 200 lần, lớn hơn 300 lần, lớn hơn 400 lần, hoặc lớn hơn 500 lần so với giá trị EC50 của phức hợp IL-15 dạng tự nhiên/IL-15R $\beta\gamma$.

Trong một số trường hợp, hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể được đo bằng giá trị ED50. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến tạo ra giá trị ED50 nhỏ hơn 1000 lần, nhỏ hơn 500 lần, nhỏ hơn 200 lần, nhỏ hơn 100 lần, nhỏ hơn 50 lần, nhỏ hơn 10 lần, nhỏ hơn 5 lần, nhỏ hơn 4 lần, nhỏ hơn 3 lần, nhỏ hơn 2 lần, hoặc nhỏ hơn 1 lần so với giá trị EC50 của phức hợp IL-15 dạng tự nhiên/IL-15R $\beta\gamma$. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 đã được cải biến tạo ra giá trị ED50 lớn hơn 10 lần, lớn hơn 20 lần, lớn hơn 30 lần, lớn hơn 40 lần, lớn hơn 50 lần, lớn hơn 100 lần, lớn hơn 200 lần, lớn hơn 300 lần, lớn hơn 400 lần, hoặc lớn hơn 500 lần so với giá trị EC50 của phức hợp IL-15 dạng tự nhiên/IL-15R $\beta\gamma$.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được cải biến (ví dụ như, được pegyl hóa) để kéo dài thời gian bán thải, cải thiện độ ổn định, cải thiện hiệu suất tinh chế, cải thiện độ tinh khiết, làm giảm sự kết tập, cải thiện sự cuộn gập protein, hoặc dạng kết hợp của chúng, trong giai đoạn Hóa học, Sản xuất và Kiểm soát (Chemistry, Manufacturing and Controls - CMC). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được cải biến tại vị trí axit amin: N71, N72, hoặc N77, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được cải biến ở gốc N77, ví dụ như, thông qua sự pegyl hóa, để kéo dài thời gian bán thải, cải thiện độ ổn định, cải thiện hiệu suất tinh chế, cải thiện độ tinh khiết, làm giảm sự kết tập, cải thiện sự cuộn gập protein, hoặc dạng kết hợp của chúng, trong giai đoạn CMC. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được cải biến thêm ở vị trí N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67,

I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, hoặc S114. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được cải biến thêm ở vị trí D22, A23, T24, L25, Y26, L44, E46, Q48, V49, E53, E89, E90, hoặc E93, trong đó sự cải biến làm suy yếu sự tương tác với IL-15R α . Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được cải biến thêm ở vị trí N1, N4, S7, D8, K11, D61, T62, E64, N65, I68, L69, hoặc N72, trong đó sự cải biến làm suy yếu sự tương tác với IL-15R β . Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được cải biến thêm ở vị trí V3, I6, K10, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S102, V104, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, hoặc S114, trong đó sự cải biến làm suy yếu sự tương tác với IL-15R γ . Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được cải biến thêm ở vị trí E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, S51, L52, S54, G55, D56, A57, S58, H60, V63, I67, N71, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, L91, E92, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, hoặc F110, trong đó sự cải biến cải thiện sự kéo dài thời gian bán thải. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được cải biến thêm ở một hoặc nhiều vị trí nêu trên để làm suy yếu sự tương tác với IL-15R α , làm suy yếu sự tương tác với IL-15R β , làm suy yếu sự tương tác với IL-15R γ , cải thiện sự kéo dài thời gian bán thải, hoặc dạng kết hợp của chúng.

Tiền chất thể liên hợp IL-15

Sáng chế bộc lộ tiền chất thể liên hợp IL-15, có chứa polypeptit IL-15 đã được cải biến, trong đó một hoặc nhiều axit amin đã được đột biến từ axit amin dạng tự nhiên. Tiền chất này thường được sử dụng với phương pháp được bộc lộ ở đây để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh. Theo một số phương án, tiền chất IL-15 không được liên hợp. Các đột biến này có chứa các đột biến thêm, đột biến mất, hoặc đột biến thể khác nhau. Trong một số trường hợp, đột biến thêm bao gồm kể cả 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, hoặc nhiều gốc hơn ở đầu tận cùng N, đầu tận cùng C, hoặc vùng bên trong của polypeptit IL-15. Trong các trường hợp khác, đột biến mất bao gồm sự loại bỏ của 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, hoặc nhiều gốc

hơn từ đầu tận cùng N, đầu tận cùng C, hoặc ở trong vùng bên trong của polypeptit IL-15.

Axit amin tự nhiên và không tự nhiên

Theo một số phương án, gốc axit amin được bộc lộ ở đây (ví dụ như, ở trong polypeptit IL-15) được đột biến thành lysin, xystein, histidin, arginin, axit aspartic, axit glutamic, serin, threonin, hoặc tyrosin trước khi liên kết với (hoặc phản ứng với) gốc liên hợp. Ví dụ như, chuỗi bên của lysin, xystein, histidin, arginin, axit aspartic, axit glutamic, serin, threonin, hoặc tyrosin có thể liên kết với gốc liên hợp được bộc lộ ở đây. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được đột biến thành xystein, lysin, hoặc histidin. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được đột biến thành xystein. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được đột biến thành lysin. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được đột biến thành histidin. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được đột biến thành tyrosin. Trong một số trường hợp, gốc axit amin được đột biến thành tryptophan. Trong một số trường hợp, gốc axit amin nằm ở gần đầu tận cùng N hoặc C, ở đầu tận cùng N hoặc C, hoặc ở vị trí gốc bên trong. Trong một số trường hợp, gốc axit amin là gốc đầu tận cùng N hoặc C và đột biến là đột biến thành xystein hoặc lysin. Trong một số trường hợp, gốc axit amin nằm ở gần gốc đầu tận cùng N hoặc C (ví dụ như, ở trong 50, 40, 30, 20, hoặc 10 gốc từ gốc đầu tận cùng N hoặc C) và đột biến là đột biến thành xystein hoặc lysin.

Trong một số trường hợp, gốc axit amin được thêm vào gốc đầu tận cùng N hoặc C, tức là, polypeptit IL-15 có chứa gốc axit amin bổ sung ở đầu tận cùng N hoặc C và gốc axit amin bổ sung này là xystein hoặc lysin. Trong một số trường hợp, gốc axit amin bổ sung là xystein. Trong một số trường hợp, axit amin bổ sung được liên hợp với gốc liên hợp.

Theo một số phương án, gốc axit amin được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ như, ở trong polypeptit IL-15) được đột biến thành axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên không được liên hợp với gốc liên hợp. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được bộc lộ ở đây có chứa axit

amin không tự nhiên, trong đó IL-15 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 bộc lộ ở đây (ví dụ như, ở trong polypeptit IL-15) được đột biến thành axit amin không tự nhiên trước khi liên kết với gốc liên hợp. Trong một số trường hợp, sự đột biến thành axit amin không tự nhiên ngăn chặn hoặc giảm thiểu đáp ứng tự kháng nguyên của hệ miễn dịch. Như dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "axit amin không tự nhiên" dùng để chỉ axit amin không phải là 20 axit amin mà có trong tự nhiên trong protein. Các ví dụ không làm giới hạn sáng chế về axit amin không tự nhiên bao gồm: p-axetyl-L-phenylalanin, p-iodo-L-phenylalanin, p-metoxyphenylalanin, 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 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, N6-[(2-azidoetoxy)carbonyl]-L-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; axit amin được thế 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 amino, hoặc dạng kết hợp của chúng; axit amin với cầu nối chéo có thể được hoạt hóa bởi ánh sáng; axit amin được gắn nhãn quay; axit amin huỳnh quang; axit amin liên kết kim loại; axit amin chứa kim loại; axit amin có hoạt tính phóng xạ; axit amin ràng buộc bởi ánh sáng và/hoặc có thể quang isome hóa; axit amin chứa biotin hoặc chất tương tự biotin; axit amin chứa keto; axit amin có chứa polyetylen glycol hoặc polyete; axit amin được thế nguyên tử nặng; axit amin có thể phân tách hóa học hoặc có

thể phân tách bằng ánh sáng; axit amin với chuỗi bên kéo dài; axit amin chứa nhóm gây độc; axit amin được thể bằng đường; axit amin chứa đường được liên kết cacbon; axit amin có hoạt tính oxy hóa khử; axit chứa α -hydroxy; thio axit amin; axit amin được thể hai lần α , α ; β -axit amin; axit amin mạch vòng không phải là prolin hoặc histidin, và axit amin thơm không phải là phenylalanin, tyrosin hoặc tryptophan.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên có chứa nhóm phản ứng chọn lọc, hoặc nhóm phản ứng để gắn nhãn có chọn lọc vị trí của polypeptit đích. Trong một số trường hợp, hóa học là phản ứng song trực giao (ví dụ như, phản ứng tương thích sinh học và chọn lọc). Trong một số trường hợp, hóa học là phản ứng tạo thành alkyn-azit triazol được xúc tác bằng Cu(I) hoặc "không chứa đồng", phản ứng nối Staudinger, phản ứng Diels-Alder như cầu điện tử nghịch đảo (IEDDA), hóa học "click ánh sáng", hoặc quy trình qua trung gian kim loại chẳng hạn như trao đổi olefin và ghép nối chéo Suzuki-Miyaura hoặc Sonogashira.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên có chứa nhóm phản ứng ánh sáng, mà liên kết chéo, khi chiếu xạ bằng, ví dụ như, UV.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên có chứa axit amin ràng buộc bởi ánh sáng.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất axit amin được thể *para*, được thể *meta*, hoặc được thể *ortho*.

Trong một số trường hợp, 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-metoxypheylalanin, p-propargyloxyphenylalanin, p-propargyl-phenylalanin, L-3-(2-naphtyl)alanin, 3-metyl-phenylalanin, O- 4-aryl-L-tyrosin, 4-propyl-L-tyrosin, tri-O-axetyl-GlcNAcp-serin, L-Dopa, phenylalanin 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-đihydroxy-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 dẫn xuất phenylalanin chứa benzophenon, keton, iodua, metoxy, axetyl, benzoyl, hoặc azit.

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

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa chuỗi bên thơm.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên không chứa chuỗi bên thơm.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa nhóm azido.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa nhóm chất nhận Michael. Trong một số trường hợp, nhóm chất nhận Michael bao gồm gốc chưa no có khả năng tạo thành liên kết cộng hóa trị thông qua phản ứng cộng 1,2. Trong một số trường hợp, nhóm chất nhận Michael có chứa alken hoặc alkyn thiếu hụt điện tử. Trong một số trường hợp, nhóm chất nhận Michael bao gồm nhưng không giới hạn ở nhóm chưa no alpha, beta: keton, aldehyt, sulfoxit, sulfon, nitril, imin, hoặc nhóm thơm.

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

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

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

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

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin có chứa nguyên tử O, N, Se, hoặc S ở vị trí gamma.

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

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

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit amin có chứa chuỗi bên, trong đó nguyên tử thứ sáu từ vị trí alpha có chứa nhóm cacbonyl. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit amin có chứa chuỗi bên, trong đó nguyên tử thứ sáu từ vị trí alpha có chứa nhóm cacbonyl, và nguyên tử thứ năm từ vị trí alpha là nitơ. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit amin có chứa chuỗi 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 có chứa selen. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là selenoserin (axit 2-amino-3-hydro-selenopropanoic). 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 có chứa selen, trong đó sự oxy hóa của selen dẫn đến sự tạo thành của axit amin không tự nhiên có chứa alken.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa nhóm xyclooctenyl.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa nhóm transxyclooctenyl.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa nhóm norbornenyl.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa nhóm xyclopropenyl.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa nhóm diazirin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa nhóm tetrazin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin, trong đó nitơ chuỗi bên được cacbamyl hóa. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là dẫn xuất lysin, trong đó nitơ chuỗi bên được axyl hóa. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6- $\{[(\text{tert-butoxy})\text{cacbonyl}]\text{amino}\}$ hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6- $\{[(\text{tert-butoxy})\text{cacbonyl}]\text{amino}\}$ 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-trifloroaxetyllysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6- $\{[(\text{benzyloxy})\text{cacbonyl}]\text{amino}\}$ hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6- $\{[(\text{p-iodobenzyloxy})\text{cacbonyl}]\text{amino}\}$ hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6- $\{[(\text{p-nitrobenzyloxy})\text{cacbonyl}]\text{amino}\}$ 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- $\{[(\text{xyclopentyloxy})\text{cacbonyl}]\text{amino}\}$ hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(xyclopentancacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(tetrahydrofuran-2-cacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(3-ethynyltetrahydrofuran-2-cacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((prop-2-yn-1-yloxy)cacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6- $\{[(2\text{-azidoxyclopentyloxy})\text{cacbonyl}]\text{amino}\}$ hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-[(2-azidoetoxy)cacbonyl]lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6- $\{[(2\text{-$

nitrobenzyloxy)cacbonyl]amino}hexanoic. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-6-{[(2-xyclooctynyloxy)cacbonyl]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-(alyloxycacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(butenyl-4-oxycacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(pentenyl-5-oxycacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((but-3-yn-1-yloxy)cacbonyl)-lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((pent-4-yn-1-yloxy)cacbonyl)-lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(thiazolidin-4-cacbonyl)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)cacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((spiro[2.3]hex-1-en-5-ylmetoxy)cacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-(((4-(1-(triflorometyl)xycloprop-2-en-1-yl)benzyl)oxy)cacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((bixyclo[2.2.1]hept-5-en-2-ylmetoxy)cacbonyl)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]đioxol-5-yl)etoxy)cacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((2-(3-metyl-3H-điazirin-3-yl)etoxy)cacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((3-(3-metyl-3H-điazirin-3-

yl)propoxy)cacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((meta nitrobenyloxy)N6-metylacacbonyl)lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((bixyclo[6.1.0]non-4-yn-9-ylmetoxy)cacbonyl)-lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là N6-((xyclohept-3-en-1-yloxy)cacbonyl)-L-lysin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên là axit 2-amino-3-((((benzyloxy)cacbonyl)amino)metyl)selanyl)propanoic.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 bằng bộ ba kết thúc hở phách, nâu đen, hoặc hoàng thổ đã chuyển đổi mục đích.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 bằng bộ ba mã hóa 4 bazơ.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 bằng bộ ba có nghĩa hiếm gặp đã chuyển đổi mục đích hoặc bộ ba có nghĩa thông thường đã chuyển đổi mục đích.

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 bằng bộ ba tổng hợp có chứa axit nucleic không tự nhiên.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được kết hợp vào IL-15 bằng cặp synthetaza/tARN đã được cải biến, trực giao. Cặp trực giao này có chứa synthetaza không tự nhiên mà có khả năng nạp vào tARN không tự nhiên với axit amin không tự nhiên, trong khi giảm thiểu việc nạp a) axit amin nội sinh khác lên trên tARN không tự nhiên và b) axit amin không tự nhiên lên trên tARN nội sinh khác. Cặp trực giao này có chứa tARN mà có khả năng được nạp bằng synthetaza không tự nhiên, trong khi tránh được việc được nạp với axit amin nội sinh khác bằng synthetaza nội sinh. Theo một số phương án, các cặp này được nhận diện từ các sinh vật khác nhau, chẳng hạn như các nguồn vi khuẩn, nấm men, Vi khuẩn cổ, hoặc người. Theo một số phương án, cặp synthetaza/tARN trực giao có chứa các thành phần từ sinh vật đơn lẻ. Theo một số phương án, cặp synthetaza/tARN trực giao có chứa các thành phần từ hai sinh vật khác nhau. Theo

một số phương án, cặp synthetaza/tARN trực giao có chứa các thành phần mà trước khi cải biến, thúc đẩy sự 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, tARN trực giao là alanin tARN đã được cải biến. Theo một số phương án, tARN trực giao là arginin tARN đã được cải biến. Theo một số phương án, tARN trực giao là asparagin tARN đã được cải biến. Theo một số phương án, tARN trực giao là axit aspartic tARN đã được cải biến. Theo một số phương án, tARN trực giao là xystein tARN đã được cải biến. Theo một số phương án, tARN trực giao là glutamin tARN đã được cải biến. Theo

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

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 bằng cặp aminoaxyl (aaRS hoặc RS)-tARN synthetaza-tARN. Các cặp aaRS-tARN để làm ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, cặp aaRS/tARN *Methanococcus jannaschii* (*Mj-Tyr*), cặp *E. coli* TyrRS (*Ec-Tyr*)/*B. stearothermophilus* tARN_{CUA}, cặp *E. coli* LeuRS (*Ec-Leu*)/*B. stearothermophilus* tARN_{CUA}, và cặp pyrolysyl-tARN. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được kết hợp vào xytokin (ví dụ như, polypeptit IL) bằng cặp *Mj-Tyr*RS/tARN. Các UAA để làm ví dụ mà có thể được kết hợp bằng cặp *Mj-Tyr*RS/tARN bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dẫn xuất phenylalanin đã được thế para chẳng hạn như *p*-aminophenylalanin và *p*-metoxyphenylalanin; dẫn xuất tyrosin đã được thế meta chẳng hạn như 3-aminotyrosin, 3-nitrotyrosin, 3,4-dihydroxyphenylalanin, và 3-iodotyrosin; phenylselenoxystein; *p*-boronophenylalanin; và *o*-nitrobenzyltyrosin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 bằng cặp *Ec-Tyr*/tARN_{CUA} hoặc cặp *Ec-Leu*/tARN_{CUA}. Các UAA

để làm ví dụ mà có thể được kết hợp bằng cặp *Ec-Tyr*/tARN_{CUA} hoặc cặp *Ec-Leu*/tARN_{CUA} bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dẫn xuất phenylalanin chứa các phần tử thể benzophenoe, 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 kết hợp vào polypeptit IL-15 bằng cặp pyrolysyl-tARN. Trong một số trường hợp, PylRS được thu lấy từ vi khuẩn cổ, ví dụ như, từ vi khuẩn cổ sinh metan. Trong một số trường hợp, PylRS được thu lấy từ *Methanosarcina barkeri*, *Methanosarcina mazei*, hoặc *Methanosarcina acetivorans*. Các UAA để làm ví dụ mà có thể được kết hợp bằng cặp pyrolysyl-tARN bao gồm, nhưng không giới hạn ở, lysin đã được thế amit và cacbamat chẳng hạn 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-methylxyclopro-2-enecarboxamido)lysin.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 bằng synthetaza được bộc lộ trong US 9,988,619 và US 9,938,516. Các UAA để làm ví dụ mà có thể được kết hợp bằng các synthetaza này bao gồm các axit amin không tự nhiên para-methylazido-L-phenylalanin, aralkyl, heteroxyclyl, heteroaralkyl, và các axit amin không tự nhiên khác. Theo một số phương án, các UAA này có chứa pyridyl, pyrazinyl, pyrazolyl, triazolyl, oxazolyl, thiazolyl, thiophenyl, hoặc dị vòng khác. Theo một số phương án các axit amin này có chứa azit, tetrazin, hoặc nhóm hóa học khác có khả năng liên hợp với đối tác ghép nối, chẳng hạn như gốc tan trong nước. Theo một số phương án, các synthetaza này được biểu hiện và được sử dụng để kết hợp UAA vào xytokin in-vivo. Theo một số phương án, các synthetaza này được sử dụng để kết hợp UAA vào xytokin bằng cách sử dụng hệ thống dịch mã không chứa tế bào.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15 bằng synthetaza có trong tự nhiên. Theo một số phương án, axit

amin không tự nhiên được kết hợp vào xytokin bằng sinh vật mà dinh dưỡng thụ động đối với một hoặc nhiều axit amin. Theo một số phương án, các synthetaza tương ứng với axit amin dinh dưỡng thụ động có khả năng nạp vào tARN tương ứng với axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên là selenoxystein, hoặc dẫn xuất của chúng. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên là selenomethionin, hoặc dẫn xuất của chúng. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên là axit amin thơm, trong đó axit amin thơm có chứa aryl halogenua, chẳng hạn như ioduua. Theo các phương án, axit amin không tự nhiên 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 **Hình 1**.

Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa dẫn xuất hoặc chất tương tự lysin hoặc phenylalanin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa dẫn xuất lysin hoặc chất tương tự lysin. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa pyrolysin (Pyl). Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên có chứa 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," *Biochim 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 **Hình 2** (ví dụ như, **Hình 2A** và **Hình 2B**).

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

Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên kết hợp vào polypeptit IL-15 được bộc lộ trong US 9,840,493; US 9,682,934; US 2017/0260137; US 9,938,516; hoặc US 2018/0086734. Các UAA để làm ví dụ mà có thể được kết hợp bằng các synthetaza này bao gồm các axit amin không tự nhiên para-

metylazido-L-phenylalanin, aralkyl, heteroxyclyl, và heteroaralkyl, và dẫn xuất lysin. Theo một số phương án, các UAA này có chứa pyridyl, pyrazinyl, pyrazolyl, triazolyl, oxazolyl, thiazolyl, thiophenyl, hoặc dị vòng khác. Theo một số phương án các axit amin này có chứa azit, tetrazin, hoặc nhóm hóa học khác có khả năng liên hợp với đối tác ghép nối, chẳng hạn như gốc tan trong nước. Theo một số phương án, UAA có chứa azit gắn vào gốc thơm thông qua cầu nối alkyl. Theo một số phương án, cầu nối alkyl là cầu nối C₁-C₁₀. Theo một số phương án, UAA có chứa tetrazin gắn vào gốc thơm thông qua cầu nối alkyl. Theo một số phương án, UAA có chứa tetrazin gắn vào gốc thơm thông qua nhóm amino. Theo một số phương án, UAA có chứa tetrazin gắn vào gốc thơm thông qua nhóm alkylamino. Theo một số phương án, UAA có chứa azit gắn vào nitơ đầu tận cùng (ví dụ như, N6 của dẫn xuất lysin, hoặc N5, N4, hoặc N3 của dẫn xuất có chứa chuỗi bên alkyl ngắn hơn) của chuỗi bên axit amin thông qua chuỗi alkyl. Theo một số phương án, UAA có chứa tetrazin gắn vào nitơ đầu tận cùng của chuỗi bên axit amin thông qua chuỗi alkyl. Theo một số phương án, UAA có chứa azit hoặc tetrazin gắn vào amit thông qua cầu nối alkyl. Theo một số phương án, UAA là cacbamat chứa azit hoặc tetrazin hoặc amit của 3-aminoalanin, serin, lysin, hoặc dẫn xuất của chúng. Theo một số phương án, các UAA này được kết hợp vào xytokin in-vivo. Theo một số phương án, các UAA này được kết hợp vào xytokin trong hệ thống không chứa tế bào.

Gốc liên hợp

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ gốc liên hợp mà được liên kết với một hoặc nhiều polypeptit IL-15 đã được cải biến được mô tả ở trên. Theo một số phương án, gốc liên hợp là phân tử mà làm nhiễu loạn sự tương tác của IL-15 với thụ thể của nó. Theo một số phương án, gốc liên hợp là phân tử bất kỳ mà khi liên kết với IL-15, làm cho thụ thể liên hợp IL-15 có thể điều biến đáp ứng miễn dịch. Theo một số phương án, gốc liên hợp được liên kết với IL-15 thông qua liên kết cộng hóa trị. Trong một số trường hợp, IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được gắn vào gốc liên hợp với nhóm triazol. Trong một số trường hợp, IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được gắn vào gốc liên hợp với nhóm

đihydropyridazin hoặc pyridazin. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp có chứa polyme tan trong nước. Trong các trường hợp khác, gốc liên hợp có chứa protein hoặc mảnh liên kết của chúng. Trong các trường hợp khác, gốc liên hợp có chứa peptit. Trong các trường hợp khác, gốc liên hợp có chứa axit nucleic. Trong các trường hợp khác, gốc liên hợp có chứa phân tử nhỏ. Trong các trường hợp khác, gốc liên hợp có chứa thể liên hợp sinh học (ví dụ như, chất chủ vận TLR chẳng hạn như chất chủ vận TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, hoặc TLR9; hoặc phối tử tổng hợp chẳng hạn như Pam3Cys, CFA, MALP2, Pam2Cys, FSL-1, Hib-OMPC, Poly I:C, poly A:U, AGP, MPL A, RC-529, MDF2 β , CFA, hoặc Flagellin). Trong một số trường hợp, gốc liên hợp làm tăng thời gian bán thải trong 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 khác, gốc liên hợp phong bế sự tương tác IL-15 với một hoặc nhiều miền hoặc tiểu đơn vị IL-15 với (các) thụ thể cùng nguồn của nó. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này có chứa nhiều gốc liên hợp. Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn vào axit amin không tự nhiên hoặc tự nhiên trong polypeptit IL-15. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có chứa gốc liên hợp gắn vào axit amin tự nhiên. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được gắn vào axit amin không tự nhiên trong peptit xytokin. Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn vào axit amin đầu tận cùng N hoặc C của polypeptit IL-15. Các vị trí kết hợp khác nhau được bộc lộ ở đây, ví dụ như, gốc liên hợp thứ nhất được gắn vào axit amin không tự nhiên hoặc tự nhiên trong polypeptit IL-15, và gốc liên hợp thứ hai được gắn vào axit amin đầu tận cùng N hoặc C của polypeptit IL-15. Theo một số phương án, gốc liên hợp đơn lẻ được gắn vào nhiều gốc của polypeptit IL-15 (ví dụ như móc hình chữ U). Theo một số phương án, gốc liên hợp được gắn vào cả axit amin đầu tận cùng N và C của polypeptit IL-15.

Polyme tan trong nước

Theo một số phương án, gốc liên hợp được mô tả trong bản mô tả này là polyme tan trong nước. Theo một số phương án, polyme tan trong nước không

phải là peptit, không độc, và tương thích sinh học. Như dùng trong bản mô tả này, chất được coi là tương thích sinh học nếu các tác dụng có lợi liên quan đến việc sử dụng chất một mình hoặc với chất khác (ví dụ như, tác nhân hoạt tính chẳng hạn như gốc IL-15) liên quan đến mô sống (ví dụ như, dùng cho bệnh nhân) có giá trị hơn tác dụng có hại bất kỳ như được đánh giá bởi thầy thuốc lâm sàng, ví dụ như, bác sĩ. Theo một số phương án, polyme tan trong nước còn không gây miễn dịch. Theo một số phương án, chất được coi là không gây miễn dịch nếu việc sử dụng dự kiến của chất này in vivo không gây ra đáp ứng miễn dịch không mong muốn (ví dụ như, sự tạo thành của kháng thể) hoặc, nếu đáp ứng miễn dịch được tạo ra, mà đáp ứng này không được cho là đáng kể hoặc quan trọng về mặt lâm sàng như được đánh giá bởi thầy thuốc lâm sàng, ví dụ như, bác sĩ, chuyên gia độc học, hoặc chuyên viên phát triển lâm sàng.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước đặc trưng ở chỗ có từ khoảng 2 đến khoảng 300 đầu cuối. Các polyme tan trong nước ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, poly(alkylen glycol) chẳng hạn như polyetylen glycol ("PEG"), poly(propylen glycol) ("PPG"), copolyme của etylen glycol và propylen glycol và dạng tương tự, poly(rượu đa chức đã oxyetyl hóa), poly(rượu olefinic), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin ("POZ") (mà được mô tả trong WO 2008/106186), poly(N-acryloylmocpholin), và dạng kết hợp của các chất bất kỳ trong số các chất nêu trên.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước không bị giới hạn ở cấu trúc cụ thể. Theo một số phương án, polyme tan trong nước là cấu trúc mạch thẳng (ví dụ như, đầu được gắn mũ, ví dụ như, alkoxy PEG hoặc PEG hai chức), cấu trúc phân nhánh hoặc nhiều nhánh (ví dụ như, PEG hình chạc hoặc PEG gắn vào lõi rượu đa chức), cấu trúc hình cây (hoặc hình sao), mỗi chất có hoặc không có một hoặc nhiều liên kết có thể thoái biến. Ngoài ra, cấu trúc bên trong của polyme tan trong nước có thể được tổ chức theo số mô hình lặp lại khác nhau bất kỳ và có thể được chọn từ nhóm gồm có homopolyme, copolyme luân phiên, copolyme

ngẫu nhiên, copolyme khối, tripolyme luân phiên, tripolyme ngẫu nhiên, và tripolyme khối.

Theo một số phương án, khối lượng phân tử trung bình theo khối lượng của polyme tan trong nước trong thể liên hợp IL-21 nằm trong khoảng từ khoảng 100 Dalton đến khoảng 150000 Dalton. Các khoảng giá trị để làm ví dụ bao gồm, ví dụ như, khối lượng phân tử trung bình theo khối lượng nằm trong khoảng từ lớn hơn 5000 Dalton đến khoảng 100000 Dalton, nằm trong khoảng từ khoảng 6000 Dalton đến khoảng 90000 Dalton, nằm trong khoảng từ khoảng 10000 Dalton đến khoảng 85000 Dalton, nằm trong khoảng từ lớn hơn 10000 Dalton đến khoảng 85000 Dalton, nằm trong khoảng từ khoảng 20000 Dalton đến khoảng 85000 Dalton, nằm trong khoảng từ khoảng 53000 Dalton đến khoảng 85000 Dalton, nằm trong khoảng từ khoảng 25000 Dalton đến khoảng 120000 Dalton, nằm trong khoảng từ khoảng 29000 Dalton đến khoảng 120000 Dalton, nằm trong khoảng từ khoảng 35000 Dalton đến khoảng 120000 Dalton, và nằm trong khoảng từ khoảng 40000 Dalton đến khoảng 120000 Dalton.

Các khối lượng phân tử trung bình theo khối lượng để làm ví dụ đối với polyme 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 1000 Dalton, khoảng 1500 Dalton, khoảng 2000 Dalton, khoảng 2200 Dalton, khoảng 2500 Dalton, khoảng 3000 Dalton, khoảng 4000 Dalton, khoảng 4400 Dalton, khoảng 4500 Dalton, khoảng 5000 Dalton, khoảng 5500 Dalton, khoảng 6000 Dalton, khoảng 7000 Dalton, khoảng 7500 Dalton, khoảng 8000 Dalton, khoảng 9000 Dalton, khoảng 10000 Dalton, khoảng 11000 Dalton, khoảng 12000 Dalton, khoảng 13000 Dalton, khoảng 14000 Dalton, khoảng 15000 Dalton, khoảng 20000 Dalton, khoảng 22500 Dalton, khoảng 25000 Dalton, khoảng 30000 Dalton, khoảng 35000 Dalton, khoảng 40000 Dalton, khoảng 45000 Dalton, khoảng 50000 Dalton, khoảng 55000 Dalton, khoảng 60000 Dalton, khoảng 65000 Dalton, khoảng 70000 Dalton, và khoảng 75000 Dalton. Các phiên bản phân nhánh của polyme tan trong nước (ví dụ như, polyme tan trong nước

phân nhánh 40000 Dalton gồm hai polyme 20000 Dalton) có tổng khối lượng phân tử của các polyme nêu trên cũng có thể được sử dụng. Theo một hoặc nhiều phương án, thể liên hợp sẽ không có gốc PEG bất kỳ được gắn, trực tiếp hoặc gián tiếp, với PEG có khối lượng phân tử trung bình theo khối lượng nhỏ hơn khoảng 6000 Dalton.

PEG thường có chứa một số monome (OCH_2CH_2) [hoặc monome ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), tùy thuộc vào PEG được định nghĩa như thế nào]. Như dùng trong bản mô tả này, số đơn vị lặp được nhận diện bằng chỉ số dưới "n" trong " $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ ". Do đó, giá trị của (n) thường nằm ở trong một hoặc nhiều khoảng giá trị sau đây: từ 2 đến khoảng 3400, từ khoảng 100 đến khoảng 2300, từ khoảng 100 đến khoảng 2270, từ khoảng 136 đến khoảng 2050, từ khoảng 225 đến khoảng 1930, từ khoảng 450 đến khoảng 1930, từ khoảng 1200 đến khoảng 1930, từ khoảng 568 đến khoảng 2727, từ khoảng 660 đến khoảng 2730, từ khoảng 795 đến khoảng 2730, từ khoảng 795 đến khoảng 2730, từ khoảng 909 đến khoảng 2730, và từ khoảng 1200 đến khoảng 1900. Đối với polyme nhất định bất kỳ trong đó khối lượng phân tử đã được biết đến, có thể xác định số đơn vị lặp (tức là, "n") bằng cách chia tổng khối lượng phân tử trung bình theo khối lượng của polyme cho khối lượng phân tử của monome lặp lại.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước là polyme được gắn mũ đầu, tức là, polyme có ít nhất một đầu tận cùng được gắn mũ bằng nhóm tương đối trơ, chẳng hạn như nhóm C_{1-6} alkoxy thấp hơn, hoặc nhóm hydroxyl. Khi polyme là PEG, ví dụ như, metoxy-PEG (thường được đề cập đến dưới dạng mPEG) có thể được sử dụng, mà 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 mà có thể được cải biến hóa học tùy ý.

Theo một số phương án, các polyme tan trong nước ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, PEG riêng rẽ mạch thẳng hoặc mạch nhánh (dPEG) từ Quanta Biodesign, Ltd; PEG mạch thẳng, mạch nhánh, hoặc hình chạc từ Nektar

Therapeutics; dẫn xuất PEG mạch thẳng, mạch nhánh, hoặc hình chữ Y từ JenKem Technology.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được liên hợp với polyme tan trong nước được chọn từ poly(alkylen glycol) chẳng hạn như polyetylen glycol ("PEG"), poly(propylen glycol) ("PPG"), copolyme của etylen glycol và propylen glycol và dạng tương tự, poly(rượu đa chức đã oxyetyl hóa), poly(rượu olefinic), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin ("POZ"), poly(N-acryloylmocpholin), và dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với PEG (ví dụ như, được pegyl hóa). Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với PPG. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với POZ. Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được liên hợp với PVP.

Trong một số trường hợp, polyme tan trong nước bao gồm polyglyxerol (PG). Trong một số trường hợp, polyglyxerol là PG siêu phân nhánh (HPG) (ví dụ như, 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 khác, polyglyxerol là PG có chức ở giữa, PG siêu phân nhánh khối mạch thẳng (ví dụ như, 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 có chức ở chuỗi bên (ví dụ như, 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, polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được liên hợp với PG, ví dụ như, HPG, LPG, PG có chức ở giữa, PG siêu phân nhánh khối mạch thẳng, hoặc PG có chức chuỗi bên.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước là dạng thay thế PEG tổng hợp có thể thoái biến. Các dạng thay thế PEG tổng hợp có thể thoái biến ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, poly[oligo(etylen glycol)metyl metacrylat] (POEGMA); dẫn xuất PEG được cải biến khung được tạo ra bằng cách polyme hóa macromonome dựa trên PEG được chức hóa hai đầu hoặc telechelic; dẫn xuất PEG bao gồm comonome có chứa liên kết có thể thoái biến chẳng hạn như poly[(etylen oxit)-co-(metylen etylen oxit)][P(EO-co-MEO)], keten axetal mạch vòng chẳng hạn như 5,6-benzo-2-metylen-1,3-đioxepan (BMDO), 2-metylen-1,3-đioxepan (MDO), và 2-metylen-4-phenyl-1,3-dioxolan (MPDL) được copolyme hóa với OEGMA; hoặc poly-(ϵ -caprolacton)-graft-poly(etylen oxit) (PCL-g-PEO).

Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được liên hợp với dạng thay thế PEG tổng hợp có thể thoái biến, ví dụ như, POEGM; dẫn xuất PEG được cải biến khung được tạo ra bằng cách polyme hóa macromonome dựa trên PEG được chức hóa hai đầu hoặc telechelic; P(EO-co-MEO); keten axetal mạch vòng chẳng hạn như BMDO, MDO, và MPDL được copolyme hóa với OEGMA; hoặc PCL-g-PEO.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước có chứa poly(ion lưỡng tính). Các poly(ion lưỡng tính) ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, poly(sulfobetain metacrylat) (PSBMA), poly(cacboxybetain metacrylat) (PCBMA), và poly(2-metyacryloyloxyetyl phosphorylcholin) (PMPC). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được liên hợp với poly(ion lưỡng tính) chẳng hạn như PSBMA, PCBMA, hoặc PMPC.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm polycarbonat. Các polycarbon ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, pentaflorophenyl 5-metyl-2-oxo-1,3-đioxan-5-cacboxylat (MTC-OC₆F₅). Trong một số trường hợp, polypeptit

IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được liên hợp với polycarbonat chẳng hạn như MTC-OC₆F₅.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm thể lai polyme, ví dụ như, thể lai polyme polycarbonat/PEG, thể liên hợp polyme peptit/protein, hoặc polyme chứa hydroxyl và/hoặc được tạo dẫn xuất bằng ion lưỡng tính (ví dụ như, polyme PEG chứa hydroxyl và/hoặc được tạo dẫn xuất bằng ion lưỡng tính). Trong một số trường hợp, polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được liên hợp với thể lai polyme chẳng hạn như thể lai polyme polycarbonat/PEG, thể liên hợp polyme peptit/protein, hoặc polyme chứa hydroxyl và/hoặc được tạo dẫn xuất bằng ion lưỡng tính (ví dụ như, polyme PEG chứa hydroxyl và/hoặc được tạo dẫn xuất bằng ion lưỡng tính).

Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm polysacarit. Các polysacarit ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dextran, axit polysialic (PSA), axit hyaluronic (HA), amyloza, heparin, heparan sulfat (HS), dextrans, hoặc hydroxyetyl-tinh bột (HES). Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với dextran. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với PSA. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với HA. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với amyloza. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với heparin. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với HS. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với dextrans. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với HES.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm glycan. Các nhóm glycan để làm ví dụ bao gồm glycan được liên kết *N*, glycan được liên kết *O*, glycolipit, O-GlcNAc, và glycosaminoglycan. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với glycan. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với glycan được liên kết *N*. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với glycan được liên kết *O*. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với glycolipit. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được

liên hợp với O-GlcNAc. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với glycosaminoglycan.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm polyme polyoxazolin. Polyme polyoxazolin là polyme tổng hợp mạch thẳng, và tương tự với PEG, có độ đa phân tán thấp. Theo một số phương án, polyme polyoxazolin là polyme polyoxazolin được đa phân tán, đặc trưng ở khối lượng phân tử trung bình. Theo một số phương án, khối lượng phân tử trung bình của polyme polyoxazolin bao gồm, ví dụ như, 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. Theo một số phương án, polyme polyoxazolin bao gồm poly(2-metyl 2-oxazolin) (PMOZ), poly(2-etyl 2-oxazolin) (PEOZ), hoặc poly(2-propyl 2-oxazolin) (PPOZ). Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với polyme polyoxazolin. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với PMOZ. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với PEOZ. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với PPOZ.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm polyme axit polyacrylic. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với polyme axit polyacrylic.

Theo một số phương án, polyme tan trong nước bao gồm polyamin. Polyamin là polyme hữu cơ có chứa hai hoặc nhiều nhóm amin bậc một. Theo một số phương án, polyamin bao gồm polyamin mạch nhánh, polyamin mạch thẳng, hoặc polyamin mạch vòng. Theo một số phương án, polyamin là polyamin mạch thẳng có khối lượng phân tử thấp. Các polyamin ví dụ bao gồm putresxin, cadaverin, spermidin, spermin, etylen điamin, 1,3-điaminopropan, hexametylendiamin, tetraetylmetylendiamin, và piperazin. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với polyamin. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với putresxin, cadaverin, spermidin, spermin,

etylen điamin, 1,3-điaminopropan, hexametylendiamin, tetraetylmetylendiamin, hoặc piperazin.

Lipit

Theo một số phương án, gốc liên hợp được mô tả trong bản mô tả này là lipit. Trong một số trường hợp, lipit là axit béo. Trong một số trường hợp, axit béo là axit béo no. Trong các trường hợp khác, axit béo là axit béo chưa no. Các axit béo để làm ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các axit béo có chứa từ khoảng 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 khoảng 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. Trong một số trường hợp, lipit liên kết với một hoặc nhiều protein trong huyết thanh, nhờ đó làm tăng độ ổn định trong huyết thanh và/hoặc thời gian bán thải trong huyết thanh.

Theo một số phương án, lipit được liên hợp với polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, lipit là axit béo, ví dụ như, axit béo no hoặc axit béo chưa no. Trong một số trường hợp, axit béo có từ khoảng 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 khoảng 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. Trong một số trường hợp, axit béo có chiều dài khoảng 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, hoặc 26 nguyên tử cacbon. Trong một số trường hợp, axit béo bao gồm axit caproic (axit hexanoic), axit enanthic (axit heptanoic), axit caprylic (axit octanoic), axit

pelargonic (axit nonanoic), axit capric (axit decanoic), axit undecylic (axit undecanoic), axit lauric (axit dodecanoic), axit tridecyllic (axit tridecanoic), axit myristic (axit tetradecanoic), axit pentadecyllic (axit pentadecanoic), axit palmitic (axit hexadecanoic), axit margaric (axit heptadecanoic), axit stearic (axit octadecanoic), axit nonadecyllic (axit nonadecanoic), axit arachidic (axit eicosanoic), axit heneicosyllic (axit heneicosanoic), axit behenic (axit docosanoic), axit tricostyllic (axit tricosanoic), axit lignoxeric (axit tetracosanoic), axit pentacostyllic (axit pentacosanoic), hoặc axit xerotic (axit hexacosanoic).

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 lipit tăng cường độ ổn định trong huyết thanh và/hoặc thời gian bán thải trong huyết thanh.

Protein

Theo một số phương án, gốc liên hợp được mô tả trong bản mô tả này là protein hoặc mảnh liên kết của chúng. Các protein để làm ví dụ bao gồm albumin, transferrin, hoặc transthyretin. Theo một số phương án, protein hoặc mảnh liên kết của chúng có chứa kháng thể, hoặc mảnh liên kết của nó. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có chứa protein hoặc mảnh liên kết của chúng. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có chứa protein hoặc mảnh liên kết của chúng có thời gian bán thải, và/hoặc độ ổn định trong huyết thanh tăng lên. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có chứa protein hoặc mảnh liên kết của chúng có sự tương tác IL-15 với một hoặc nhiều tiểu đơn vị IL-15R/IL-2R giảm đi. Trong các trường hợp khác, protein hoặc mảnh liên kết của chúng phong bế sự tương tác IL-15 với một hoặc nhiều tiểu đơn vị IL-15R/IL-2R.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là albumin. Albumin là họ của protein hình cầu tan trong nước. Nó thường được tìm thấy trong huyết tương, chiếm khoảng 55-60% của tất cả protein huyết tương. Albumin huyết thanh người (HSA) là polypeptit có 585 axit amin trong đó cấu trúc bậc ba được chia thành ba miền, miền I (các gốc axit amin 1-195), miền II (các gốc axit amin 196-383), và miền III (các gốc axit amin 384-585). Mỗi miền còn chứa vị trí liên kết, mà có thể tương tác theo cách có thể đảo ngược hoặc không thể đảo ngược với các phối tử nội sinh

chẳng hạn như các axit béo chuỗi dài và chuỗi trung bình, bilirubin, hoặc hemin, hoặc các hợp chất ngoại sinh chẳng hạn như hợp chất dị vòng hoặc thơm.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với albumin. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với albumin huyết thanh người (HSA). Trong các trường hợp khác, polypeptit IL-15 được liên hợp với mảnh chức năng của albumin.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là transferrin. Transferrin là polypeptit có 679 axit amin mà có kích thước khoảng 80 kDa và có chứa hai vị trí liên kết Fe^{3+} với một vị trí ở miền đầu tận cùng N và vị trí kia ở miền đầu tận cùng C. Theo một số phương án, transferrin người có thời gian bán thải bằng khoảng 7-12 ngày.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với transferrin. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với transferrin người. Trong các trường hợp khác, polypeptit IL-15 được liên hợp với mảnh chức năng của transferrin.

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

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với transthyretin (thông qua một trong số các đầu cuối của nó hoặc thông qua vùng bản lề bên trong). Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với mảnh chức năng của transthyretin.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là kháng thể, hoặc các mảnh liên kết của nó. Theo một số phương án, kháng thể hoặc các mảnh liên kết của nó bao gồm kháng thể được làm cho giống người hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể chuột hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể khảm hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết của nó, các mảnh Fab' hóa trị một, Fab₂ hóa trị hai, F(ab)'₃, mảnh biến đổi đơn chuỗi (scFv), bis-scFv, (scFv)₂, diabody, minibody,

nanobody, triabody, tetrabody, humabody, protein Fv được làm ổn định bằng disulfua (dsFv), kháng thể đơn miền (sdAb), Ig NAR, kháng thể lạc đà hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể đặc hiệu kép hoặc mảnh liên kết của nó, hoặc dẫn xuất được cải biến hóa học của chúng.

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

Theo một số phương án, gốc liên hợp có chứa phần Fc của kháng thể, ví dụ như, của IgG, IgA, IgM, IgE, hoặc IgD. Theo một số phương án, gốc này có chứa phần Fc của IgG (ví dụ như, IgG₁, IgG₃, hoặc IgG₄).

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với kháng thể, hoặc các mảnh liên kết của nó. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với kháng thể được làm cho giống người hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể chuột hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể khảm hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết của nó, các mảnh Fab' hóa trị một, Fab₂ hóa trị hai, F(ab')₃, mảnh biến đổi đơn chuỗi (scFv), bis-scFv, (scFv)₂, diabody, minibody, nanobody, triabody, tetrabody, humabody, protein Fv được làm ổn định bằng disulfua (dsFv), kháng thể đơn miền (sdAb), Ig NAR, kháng thể lạc đà hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể đặc hiệu kép hoặc mảnh liên kết của nó, hoặc dẫn xuất được cải biến hóa học của chúng. Trong các trường hợp khác, polypeptit IL-15 được liên hợp với phần Fc của kháng thể. Trong các trường hợp khác, polypeptit IL-15 được liên hợp với phần Fc của IgG (ví dụ như, IgG₁, IgG₃, hoặc IgG₄).

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với polyme tan trong nước (ví dụ như, PEG) và kháng thể hoặc mảnh liên kết của nó. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh liên kết của nó bao gồm kháng thể được làm cho giống người hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể chuột hoặc mảnh liên

kết của nó, kháng thể khảm hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết của nó, các mảnh Fab' hóa trị một, Fab₂ hóa trị hai, F(ab')₃, mảnh biến đổi đơn chuỗi (scFv), bis-scFv, (scFv)₂, diabody, minibody, nanobody, triabody, tetrabody, humabody, protein Fv được làm ổn định bằng disulfua (dsFv), kháng thể đơn miền (sdAb), Ig NAR, kháng thể lạc đà hoặc mảnh liên kết của nó, kháng thể đặc hiệu kép hoặc mảnh liên kết của nó, hoặc dẫn xuất được cải biến hóa học của chúng. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh liên kết của nó bao gồm scFv, bis-scFv, (scFv)₂, dsFv, hoặc sdAb. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc các mảnh liên kết của nó bao gồm scFv. Trong một số trường hợp, kháng thể hoặc mảnh liên kết của chúng dẫn thể liên hợp IL-15 đến tế bào đích được quan tâm và polyme tan trong nước tăng cường độ ổn định và/hoặc thời gian bán thải trong huyết thanh.

Trong một số trường hợp, một hoặc nhiều thể liên hợp polypeptit IL-15 – polyme tan trong nước (ví dụ như, PEG) được liên kết tiếp với kháng thể hoặc các mảnh liên kết của nó. Trong một số trường hợp, tỉ lệ của thể liên hợp IL-15 với 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, tỉ lệ của thể liên hợp IL-15 với kháng thể là khoảng 1:1. Trong các trường hợp khác, tỉ lệ của thể liên hợp IL-15 với kháng thể là khoảng 2:1, 3:1, hoặc 4:1. Trong các trường hợp khác, tỉ lệ của thể liên hợp IL-15 với kháng thể là khoảng 6:1 hoặc cao hơn.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều thể liên hợp polypeptit IL-15 – polyme tan trong nước (ví dụ như, PEG) được liên kết trực tiếp với kháng thể hoặc các mảnh liên kết của nó. Trong các trường hợp khác, thể liên hợp IL-15 được liên kết gián tiếp với kháng thể hoặc các mảnh liên kết của nó bằng cầu nối. Các cầu nối để làm ví dụ bao gồm cầu nối hai chức cùng loại, cầu nối hai chức khác loại, cầu nối dựa trên maleimit, cầu nối vết không, cầu nối tự sát, đoạn đệm, và dạng tương tự.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc các mảnh liên kết của nó được liên kết trực tiếp hoặc gián tiếp với phần polypeptit IL-15 của thể liên hợp polypeptit

IL-15 – polyme tan trong nước (ví dụ như, PEG). Trong các trường hợp này, vị trí liên hợp của kháng thể với polypeptit IL-15 là ở vị trí mà không cản trở sự liên kết của polypeptit IL-15 với IL-15R. Trong các trường hợp khác, vị trí liên hợp của kháng thể với polypeptit IL-15 là ở vị trí mà phong bế một phần sự liên kết của polypeptit IL-15 với IL-15R. Theo các phương án khác, kháng thể hoặc các mảnh liên kết của nó được liên kết trực tiếp hoặc gián tiếp với polyme tan trong nước phần của thể liên hợp polypeptit IL-15 – polyme tan trong nước (ví dụ như, PEG).

Peptit

Theo một số phương án, gốc liên hợp được mô tả trong bản mô tả này là peptit. Theo một số phương án, peptit là peptit không được tạo cấu trúc. Theo một số phương án, polypeptit xytokin (ví dụ như, interleukin, IFN, hoặc TNF) được liên hợp với peptit. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có chứa peptit có thời gian bán thải, và/hoặc độ ổn định trong huyết thanh tăng lên. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có chứa peptit có sự tương tác IL-15 với một hoặc nhiều tiểu đơn vị IL-15R giảm đi. Trong các trường hợp khác, peptit phong bế sự tương tác IL-15 với một hoặc nhiều tiểu đơn vị IL-15R.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là peptit XTEN™ (Amunix Operating Inc.) và sự cải biến được đề cập đến dưới dạng sự XTEN hóa. Sự XTEN hóa là sự dung hợp di truyền của axit nucleic mã hóa cho polypeptit được quan tâm với axit nucleic mã hóa cho peptit XTEN™ (Amunix Operating Inc.), peptit ưa nước không được tạo cấu trúc dài có chứa tỉ lệ phần trăm khác nhau của sáu axit amin: Ala, Glu, Gly, Ser, và Thr. Theo một số phương án, peptit XTEN™ được chọn lọc dựa trên các tính chất chẳng hạn như sự biểu hiện, độ ổn định di truyền, độ hòa tan, tính kháng kết tập, thời gian bán thải được tăng cường, hiệu lực tăng lên, và/hoặc hoạt tính in vitro tăng lên kết hợp với polypeptit được quan tâm. Theo một số phương án, polypeptit xytokin (ví dụ như, interleukin, IFN, hoặc TNF) được liên hợp với peptit XTEN. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với peptit XTEN.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP) và sự cải biến được đề cập đến dưới dạng sự HAP hóa. Sự HAP hóa là sự dung hợp di truyền của axit nucleic mã hóa cho polypeptit được quan tâm với axit nucleic mã hóa cho polyme của cùng axit amin giàu glyxin (HAP). Theo một số phương án, polyme HAP có chứa mô típ đoạn lặp $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ và đôi khi có chiều dài khoảng 50, 100, 150, 200, 250, 300, hoặc nhiều gốc hơn. Theo một số phương án, polypeptit xytokin (ví dụ như, interleukin, IFN, hoặc TNF) được liên hợp với HAP. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với HAP.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là polypeptit PAS và sự cải biến được đề cập đến dưới dạng sự PAS hóa. Sự PAS hóa là sự dung hợp di truyền của axit nucleic mã hóa cho polypeptit được quan tâm với axit nucleic mã hóa cho polypeptit PAS. Polypeptit PAS là polypeptit không tích điện ưa nước gồm có các gốc Pro, Ala và Ser. Theo một số phương án, chiều dài của polypeptit PAS ít nhất là khoảng 100, 200, 300, 400, 500, hoặc 600 axit amin. Theo một số phương án, polypeptit xytokin (ví dụ như, interleukin, IFN, hoặc TNF) được liên hợp với polypeptit PAS. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với polypeptit PAS.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là polypeptit giống elastin (ELP) và sự cải biến được đề cập đến dưới dạng sự ELP hóa. Sự ELP hóa là sự dung hợp di truyền của axit nucleic mã hóa cho polypeptit được quan tâm với axit nucleic mã hóa cho polypeptit giống elastin (ELP). ELP có chứa mô típ đoạn lặp VPGxG trong đó x là axit amin bất kỳ ngoại trừ prolin. Theo một số phương án, polypeptit xytokin (ví dụ như, interleukin, IFN, hoặc TNF) được liên hợp với ELP. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được liên hợp với ELP.

Theo một số phương án, gốc liên hợp là peptit CTP. Peptit CTP có chứa peptit có 31 gốc axit amin $\text{FQSSSS}^*\text{KAPPPS}^*\text{LPSPS}^*\text{RLPGPS}^*\text{DTPILPQ}$ trong đó S^* chỉ vị trí O-glycosyl hóa (OPKO). Theo một số phương án, peptit CTP được dung hợp di truyền với polypeptit xytokin (ví dụ như, polypeptit IL-15). Theo một

số phương án, polypeptit xytokin (ví dụ như, polypeptit IL-15) được liên hợp với peptit CTP.

Theo một số phương án, xytokin (ví dụ như, polypeptit IL-15) được cải biến bằng sự glutamyl hóa. Sự glutamyl hóa (hoặc sự polyglutamyl hóa) là sự cải biến sau dịch mã có thể đảo ngược của glutamat, trong đó nhóm γ -cacboxy của glutamat tạo thành liên kết giống peptit với nhóm amino của glutamat tự do trong đó nhóm α -cacboxy kéo dài thành chuỗi polyglutamat.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được cải biến bằng polyme protein giống gelatin (GLK). Theo một số phương án, polyme GLK có chứa nhiều đoạn lặp của Gly-Xaa-Yaa trong đó Xaa và Yaa chủ yếu có chứa lần lượt prolin và 4-hydroxyprolin. Theo một số phương án, polyme GLK còn chứa các gốc axit amin Pro, Gly, Glu, Qln, Asn, Ser, và Lys. Theo một số phương án, chiều dài của polyme GLK là khoảng 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 150 gốc hoặc dài hơn.

Các gốc liên hợp khác

Theo một số phương án, gốc liên hợp có chứa chỉ thị sinh học ngoại bào. Theo một số phương án, chỉ thị sinh học ngoại bào là kháng nguyên khối u. Theo một số phương án, chỉ thị sinh học ngoại bào để 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. Theo một số phương án, gốc liên hợp là liên kết hoặc được liên hợp với IL-15. Theo một số phương án, gốc liên hợp được dung hợp di truyền, ví dụ như, ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C, của IL-15.

Theo một số phương án, gốc liên hợp có chứa phân tử từ sự cải biến sau dịch mã. Theo một số phương án, các ví dụ về sự cải biến sau dịch mã bao gồm sự myristoyl hóa, sự palmitoyl hóa, sự isoprenyl hóa (hoặc sự prenyl hóa) (ví dụ như, sự farnesyl hóa hoặc sự geranylgeranyl hóa), sự bổ sung neo GPI, sự axyl hóa (ví dụ như, sự O-axyl hóa, sự N-axyl hóa, sự S-axyl hóa), sự alkyl hóa (ví dụ

như, sự bổ sung các nhóm alkyl chẳng hạn như các nhóm metyl hoặc etyl), sự amit hóa, sự glycosyl hóa, sự hydroxyl hóa, sự iot hóa, sự bổ sung nucleotit, sự oxy hóa, sự phosphoryl hóa, sự succinyl hóa, sự sulfat hóa, sự glycat hóa, sự cacbamyl hóa, sự glutamyl hóa, hoặc sự đeamit hóa. Theo một số phương án, IL-15 được cải biến bằng sự cải biến sau dịch mã chẳng hạn như sự myristoyl hóa, sự palmitoyl hóa, sự isoprenyl hóa (hoặc sự prenyl hóa) (ví dụ như, sự farnesyl hóa hoặc sự geranylgeranyl hóa), sự bổ sung neo GPI, sự axyl hóa (ví dụ như, sự O-axyl hóa, sự N-axyl hóa, sự S-axyl hóa), sự alkyl hóa (ví dụ như, sự bổ sung các nhóm alkyl chẳng hạn như các nhóm metyl hoặc etyl), sự amit hóa, sự glycosyl hóa, sự hydroxyl hóa, sự iot hóa, sự bổ sung nucleotit, sự oxy hóa, sự phosphoryl hóa, sự succinyl hóa, sự sulfat hóa, sự glycat hóa, sự cacbamyl hóa, sự glutamyl hóa, hoặc sự đeamit hóa.

Cầu nối

Theo một số phương án, các nhóm phản ứng chức hữu dụng để liên hợp hoặc liên kết gốc liên hợp với polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này bao gồm, ví dụ như, cầu nối bậc không hoặc bậc cao hơn. Trong một số trường hợp, axit amin không tự nhiên kết hợp vào interleukin được mô tả trong bản mô tả này có chứa nhóm phản ứng chức. Trong một số trường hợp, cầu nối có chứa nhóm phản ứng chức mà phản ứng với axit amin không tự nhiên kết hợp vào interleukin được mô tả trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp có chứa nhóm phản ứng chức mà phản ứng với axit amin không tự nhiên kết hợp vào interleukin được mô tả trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, gốc liên hợp có chứa nhóm phản ứng chức mà phản ứng bằng cầu nối (tùy ý gắn trước với peptit xytokin) được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, cầu nối có chứa nhóm phản ứng mà phản ứng với axit amin tự nhiên trong polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, cầu nối bậc cao hơn bao gồm cầu nối hai chức, chẳng hạn như cầu nối hai chức cùng loại hoặc cầu nối hai chức khác loại. Các cầu nối hai chức cùng loại ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất phản ứng Lomant đithiobis (succinimidylpropionat) DSP, 3'3'-đithiobis(sulfosuccinimidyl propionat

(DTSSP), đisuccinimidyl suberat (DSS), bis(sulfosuccinimidyl)suberat (BS), đisuccinimidyl tartrat (DST), đisulfosuccinimidyl tartrat (sulfo DST), etylen glycobis(succinimidylsuccinat) (EGS), đisuccinimidyl glutarat (DSG), N,N'-đisuccinimidyl cacbonat (DSC), đimetyl adipimidat (DMA), đimetyl pimelimidat (DMP), đimetyl suberimidat (DMS), đimetyl-3,3'-đithiobispropionimidat (DTBP), 1,4-đi-3'-(2'-pyridylđithio)propionamido)butan (DPDPB), bismaleimidohexan (BMH), hợp chất chứa aryl halogenua (DFDNB), ví dụ như 1,5-đifloro-2,4-đinitrobenzen hoặc 1,3-đifloro-4,6-đinitrobenzen, 4,4'-đifloro-3,3'-đinitrophenylsulfon (DFDNPS), bis-[β-(4-azidosalixylamido)etyl]đisulfua (BASED), focmalđehyt, glutaralđehyt, 1,4-butandiol điglycidyl ete, axit adipic dihydrazit, cacbohydrazit, o-toluidin, 3,3'-đimetylbenzidin, benzidin, α,α'-p-điaminodiphenyl, axit diiodo-p-xylen sulfonic, N,N'-etylen-bis(iodoaxetamit), hoặc N,N'-hexametylen-bis(iodoaxetamit).

Theo một số phương án, cầu nối hai chức bao gồm cầu nối hai chức khác loại. Các cầu nối hai chức khác loại ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, cầu nối chéo phản ứng amin và sulfhydryl chẳng hạn như N-succinimidyl 3-(2-pyridylđithio)propionat (sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridylđithio)propionat mạch dài (LC-sPDP), N-succinimidyl 3-(2-pyridylđithio) propionat mạch dài tan trong nước (sulfo-LC-sPDP), succinimidylloxycacbonyl-α-metyl-α-(2-pyridylđithio)toluen (sMPT), sulfosuccinimidyl-6-[α-metyl-α-(2-pyridylđithio)toluamido]hexanoat (sulfo-LC-sMPT), succinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-cacboxylat (sMCC), sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-cacboxylat (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 (GMBs), N-(γ-maleimidobutyryloxy)sulfosuccinimit este (sulfo-GMBs), succinimidyl 6-

((iodoaxetyl)amino)hexanoat (sIAX), succinimidyl 6-[6-
 (((iodoaxetyl)amino)hexanoyl)amino]hexanoat (sIAXX), succinimidyl 4-
 (((iodoaxetyl)amino)metyl)xyclohexan-1-cacboxylat (sIAC), succinimidyl 6-
 (((4-iodoaxetyl)amino)metyl)xyclohexan-1-cacboxylat (sIACX), p-nitrophenyl iodoaxetat (NPIA), cầu nối chéo phản ứng cacboxyl và
 phản ứng sulfhydryl chẳng hạn như axit 4-(4-N-maleimidophenyl)butyric
 hydrazit (MPBH), 4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-cacboxyl-hydrazit-8
 (M_2C_2H), 3-(2-pyridylđithio)propionyl hydrazit (PDPH), phản ứng amin và phản
 ứng ánh sáng cầu nối chéo chẳng hạn 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'-
 đithiopropionat (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'-đithiopropionat (sAND), N-succinimidyl-4(4-
 azidophenyl)1,3'-đithiopropionat (sADP), N-sulfosuccinimidyl(4-azidophenyl)-
 1,3'-đithiopropionat (sulfo-sADP), sulfosuccinimidyl 4-(p-azidophenyl)butyrat
 (sulfo-sAPB), sulfosuccinimidyl 2-(7-azido-4-metylcoumarin-3-axetamit)etyl-
 1,3'-đithiopropionat (sAED), sulfosuccinimidyl 7-azido-4-metylcoumain-3-
 axetat (sulfo-sAMCA), p-nitrophenyl diazopyruvat (pNPDP), p-nitrophenyl-2-
 diazo-3,3,3-trifloropropionat (PNP-DTP), cầu nối chéo phản ứng sulfhydryl và
 phản ứng ánh sáng chẳng hạn như 1-(p-azidosalixylamido)-4-
 (iodoaxetamido)butan (AsIB), N-[4-(p-azidosalixylamido)butyl]-3'-(2'-
 pyridylđithio)propionamit (APDP), benzophenon-4-iodoaxetamit, benzophenon-
 4-maleimit cầu nối chéo phản ứng cacboxyl và phản ứng ánh sáng chẳng hạn như
 p-azidobenzoyl hydrazit (ABH), cầu nối chéo phản ứng cacboxylat và phản ứng
 ánh sáng chẳng hạn như 4-(p-azidosalixylamido)butylamin (AsBA), và cầu nối

chéo phản ứng arginin và phản ứng ánh sáng chẳng hạn như *p*-azidophenyl glyoxal (APG).

Trong một số trường hợp, nhóm chức phản ứng bao gồm nhóm ưa nhân mà phản ứng với nhóm ưa điện tử có mặt trên gốc liên kết (ví dụ như, trên gốc liên hợp hoặc trên IL-15). Các nhóm ưa điện tử để làm ví dụ bao gồm các nhóm cacbonyl — chẳng hạn như aldehyt, keton, axit cacboxylic, este, amit, enon, axyl halogenua hoặc axit anhydrit. Theo một số phương án, nhóm chức phản ứng là aldehyt. Các nhóm ưa nhân để làm ví dụ bao gồm hydrazit, oxim, amino, hydrazin, thiosemicacbazon, hydrazin cacboxylat, và arylhydrazit. Theo một số phương án, axit amin không tự nhiên kết hợp vào interleukin được mô tả trong bản mô tả này có chứa nhóm ưa điện tử.

Theo một số phương án, cầu nối là cầu nối có thể phân tách được. Theo một số phương án, cầu nối có thể phân tách là cầu nối dipeptit. Theo một số phương án, cầu nối dipeptit là valin-xitruilin (Val-Cit), phenylalanin-lysin (Phe-Lys), valin-alanin (Val-Ala) và valin-lysin (Val-Lys). Theo một số phương án, cầu nối dipeptit là valin-xitruilin.

Theo một số phương án, cầu nối là cầu nối peptit có chứa, ví dụ như, ít nhất là 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, hoặc nhiều axit amin hơn. Trong một số trường hợp, cầu nối peptit có chứa nhiều nhất là 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, hoặc ít axit amin hơn. Trong các trường hợp khác, cầu nối peptit có chứa 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, cầu nối có chứa gốc cầu nối tự sát. Theo một số phương án, gốc cầu nối tự sát bao gồm rượu *p*-aminobenzyl (PAB), *p*-aminobenzyoxycarbonyl (PABC), hoặc dẫn xuất hoặc chất tương tự của chúng. Theo một số phương án, cầu nối có chứa gốc cầu nối dipeptit và gốc cầu nối tự sát. Theo một số phương án, gốc cầu nối tự sát là như được mô tả trong Bảng Sáng Chế Mỹ Số 9089614 và Đơn WIPO Số WO2015038426.

Theo một số phương án, cầu nối có thể phân tách là glucuronit. Theo một số phương án, cầu nối có thể phân tách là cầu nối có thể phân tách bằng axit. Theo một số phương án, cầu nối có thể phân tách bằng axit là hydrazin. Theo một số phương án, cầu nối có thể phân tách là cầu nối có thể khử được.

Theo một số phương án, cầu nối có chứa nhóm maleimit. Trong một số trường hợp, nhóm maleimit còn được đề cập đến dưới dạng đoạn đệm maleimit. Trong một số trường hợp, nhóm maleimit còn chứa axit caproic, tạo thành maleimidocaproyl (mc). Trong một số trường hợp, cầu nối có chứa maleimidocaproyl (mc). Trong một số trường hợp, cầu nối là maleimidocaproyl (mc). Trong các trường hợp khác, nhóm maleimit bao gồm nhóm maleimidometyl, chẳng hạn như succinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (sMCC) hoặc sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (sulfo-sMCC) được mô tả ở trên.

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 điaminopropionic (DPR) để kết hợp nhóm amino bazơ liền kề với maleimit để tạo ra sự xúc tác nội phân tử của sự thủy phân vòng tiosuccinimit, nhờ đó loại trừ maleimit khỏi trải qua phản ứng loại trừ 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, cầu nối có chứa maleimit tự làm ổn định. Trong một số trường hợp, cầu nối là maleimit tự làm ổn định.

Hóa học liên hợp

Các phản ứng liên hợp khác nhau được sử dụng để liên hợp cầu nối, gốc liên hợp, và axit amin không tự nhiên kết hợp vào polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này. Các phản ứng liên hợp này thường tương hợp với điều kiện trong nước, chẳng hạn như phản ứng "trực giao sinh học". Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được làm trung gian bằng các chất phản ứng hóa học chẳng

hạn như chất xúc tác, ánh sáng, hoặc nhóm phản ứng hóa học được tìm thấy trên cầu nối, gốc liên hợp, hoặc axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được làm trung gian bằng enzym. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được sử dụng trong bản mô tả này 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 trong bản mô tả này được mô tả trong Chen, X.; Wu, Y-W. *Org. Biomol. Chem.* 2016, 14, 5417.

Theo một số phương án được mô tả 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 thành oxim. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng của keton với nhóm aryl hoặc heteroaryl amin để tạo thành imin. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm phản ứng của aldehyt với nhóm aryl hoặc heteroaryl amin để tạo thành imin. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này dẫn đến polypeptit IL-15 có chứa cầu nối hoặc gốc liên hợp được gắn thông 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 mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả 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 có chứa nhóm ortho este. Theo một số phương án, phosphin có chứa cấu trúc metyl 2-(điphenylphosphaneyl)benzoat. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này dẫn đến polypeptit IL-15 có chứa cầu nối hoặc gốc liên hợp được gắn thông qua arylamit. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này dẫn đến polypeptit IL-15 có chứa cầu nối hoặc gốc liên hợp được gắn thông qua amit.

Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng cộng vòng hai cực 1,3. Theo một số phương án, phản ứng cộng vòng hai cực 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 mô tả trong bản mô tả này dẫn đến polypeptit IL-15 có chứa cầu nối hoặc gốc liên hợp được gắn thông qua triazol. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của azit với olefin bị kéo căng. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của azit với alkyn bị kéo căng. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của azit với xycloalkyn, ví dụ như, OCT, DIFO, DIFBO, DIBO, BARAC, TMTH, hoặc xycloalkyn bị kéo căng 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 hai cực 1,3 được xúc tác bằng ánh sáng ("click ánh sáng"). Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả 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 mô tả 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 mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của O-allyl axit amin với tetrazin và ánh sáng. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của O-allyl tyrosin với tetrazin và ánh sáng.

Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng cộng vòng nhu cầu điện tử nghịch đảo có chứa dien và dienophil. Theo một số phương án, dien bao gồm tetrazin. Theo một số phương án, dienophil bao gồm alken. Theo một số phương án, dienophil bao gồm alkyn. Theo một số phương án, alkyn là alkyn bị kéo căng. Theo một số phương án, alken là dien bị kéo căng. 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

floroxyclopropen. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này dẫn đến sự tạo thành của polypeptit IL-15 gắn vào cầu nối hoặc gốc liên hợp thông qua dị vòng của vòng 6 cạnh có chứa hai nguyên tử nitơ ở trong vòng.

Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng trao đổi olefin. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả 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 mô tả 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 mô tả 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 mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của alken hoặc alkyn với chất xúc tác ruteni và axit amin có chứa nhóm alyl. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của alken hoặc alkyn với chất xúc tác ruteni và axit amin có chứa alyl sulfua hoặc selenua. Theo một số phương án, chất xúc tác ruteni là chất xúc tác thế hệ thứ 2 Hoveda-Grubbs. Theo một số phương án, phản ứng trao đổi olefin bao gồm phản ứng của một hoặc nhiều alken hoặc alkyn bị kéo căng.

Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng cộng vòng ($4+2+$ với alken).

Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng ghép nối chéo. Theo một số phương án, phản ứng ghép nối chéo có chứa chất xúc tác kim loại chuyển tiếp, chẳng hạn như iriđi, vàng, ruteni, rođi, 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 tan trong nước. Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng ghép nối chéo Suzuki-Miyaura. Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm

phản ứng của aryl halogenua (hoặc triflat, hoặc tosylat), axit aryl hoặc alkenyl boronic, và chất xúc tác paladi. Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng ghép nối chéo Sonogashira. Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của aryl halogenua (hoặc triflat, hoặc tosylat), alkyn, và chất xúc tác paladi. Theo một số phương án, phản ứng ghép nối chéo dẫn đến sự gắn của cầu nối hoặc gốc liên hợp với polypeptit IL-15 thông qua liên kết cacbon-cacbon.

Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng khử bảo vệ hoặc “giải phóng khỏi ràng buộc” của nhóm phản ứng trước khi liên hợp. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm việc giải phóng khỏi ràng buộc của nhóm phản ứng bằng ánh sáng, sau đó là phản ứng liên hợp. Theo một số phương án, nhóm phản ứng được bảo vệ bằng gốc aralkyl có chứa một hoặc nhiều nhóm nitro. Theo một số phương án, việc giải phóng khỏi ràng buộc của nhóm phản ứng dẫn đến nhóm phản ứng amin, sulfua tự do, hoặc nhóm phản ứng khác. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm việc giải phóng khỏi ràng buộc của nhóm phản ứng bằng chất xúc tác kim loại chuyển tiếp, sau đó là phản ứng liên hợp. Theo một số phương án, chất xúc tác kim loại chuyển tiếp có chứa paladi và một hoặc nhiều phối tử. Theo một số phương án, nhóm phản ứng được bảo vệ bằng gốc alyl. Theo một số phương án, nhóm phản ứng được bảo vệ bằng allylic cacbamat. 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 cacbamat. Theo một số phương án, nhóm phản ứng được bảo vệ bằng dienophil, trong đó sự tiếp xúc với dien (chẳng hạn như tetrazin) dẫn đến sự khử bảo vệ của nhóm phản ứng.

Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng được định hướng bằng phối tử, trong đó phối tử (tùy ý) gắn với nhóm phản ứng) làm thuận lợi cho vị trí liên hợp giữa nhóm phản ứng và polypeptit IL-15. Theo một số phương án, phối tử

được phân tách trong hoặc sau phản ứng của polypeptit IL-15 bằng nhóm phản ứng. Theo một số phương án, vị trí liên hợp của polypeptit IL-15 là axit amin tự nhiên. Theo một số phương án, vị trí liên hợp của polypeptit IL-15 là lysin, xystein, hoặc serin. Theo một số phương án, vị trí liên hợp của polypeptit IL-15 là axit amin không tự nhiên được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án nhóm phản ứng bao gồm nhóm rời chuyển, chẳng hạn như nhóm aryl hoặc heteroaryl nghèo điện tử. Theo một số phương án nhóm phản ứng bao gồm nhóm rời chuyển, chẳng hạn như nhóm alkyl nghèo điện tử mà được thay thế bằng polypeptit IL-15. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng của tác nhân bẫy gốc với loại gốc. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm phản ứng cộng gốc oxy hóa. Theo một số phương án, tác nhân bẫy gốc là arylamin. Theo một số phương án, loại gốc là gốc tyrosyl. Theo một số phương án, loại gốc được tạo ra bằng chất xúc tác ruteni (chẳng hạn như $[Ru(bpy)_3]$) và ánh sáng.

Phản ứng enzyme tùy ý được sử dụng cho phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này. Sự liên hợp enzyme để làm ví dụ bao gồm sự liên hợp qua trung gian SortA, sự liên hợp qua trung gian TGs, hoặc sự liên hợp qua trung gian FGE. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp được mô tả trong bản mô tả này bao gồm sự nối protein tự nhiên (NPL) của nhóm 1-amino-2-thio đầu tận cùng với thioeste để tạo thành liên kết amit.

Các phản ứng liên hợp khác nhau được mô tả trong bản mô tả này để cho cầu nối hoặc gốc liên hợp phản ứng với polypeptit IL-15, trong đó phản ứng xảy ra với axit amin tự nhiên ("chính tắc") trong polypeptit IL-15. Theo một số phương án, axit amin tự nhiên được tìm thấy ở vị trí liên hợp được tìm thấy trong trình tự dạng tự nhiên, hoặc theo cách khác vị trí đã được đột biến. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm sự tạo thành của liên kết disulfua ở gốc IL-15. 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 IL-15. Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm việc liên kết chéo với gốc axeton, chẳng hạn như 1,3-điclolo-2-propionon.

Theo một số phương án, phản ứng liên hợp bao gồm sự cộng 1,4 Michael vào dehydroalanin, được tạo thành bằng phản ứng của cystein 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 rhodi cacbenoit.

Phương pháp sử dụng

Bệnh hoặc tình trạng bệnh tăng sinh

Theo một số phương án, được mô tả trong bản mô tả này là phương pháp điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh tăng sinh ở đối tượng cần điều trị, mà bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng hữu hiệu để điều trị của thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có chứa polypeptit IL-15 đã được phân lập và đã được tinh chế và gốc liên hợp, trong đó thể liên hợp IL-15 có ái lực giảm đi với tiểu đơn vị thụ thể IL-15 α (IL-15R α) so với polypeptit IL-15 dạng tự nhiên. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có chứa polypeptit IL-15 đã được phân lập và đã được tinh chế; và gốc liên hợp mà liên kết với polypeptit IL-15 đã được phân lập và đã được tinh chế tại vị trí axit amin được chọn từ N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, T27, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, A39, K41, L44, L45, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, và S114, trong đó việc đánh số của các gốc axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 có chứa polypeptit IL-15 đã được phân lập và đã được tinh chế; và gốc liên hợp mà liên kết với polypeptit IL-15 đã được phân lập và đã được tinh chế tại vị trí axit amin được chọn từ N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26,

E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, và S114.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 ưu tiên tương tác với các tiểu đơn vị IL-15R β và IL-15R $\beta\gamma$ để tạo thành phức hợp IL-15/IL-15R $\beta\gamma$. Theo một số phương án, phức hợp IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ kích thích và/hoặc tăng cường sự mở rộng của tế bào Teff (ví dụ như, tế bào Teff CD8⁺) và/hoặc tế bào NK. Trong các trường hợp khác, sự mở rộng của tế bào Teff làm lệch tỉ lệ Teff:Treg về phía quần thể Teff.

Theo một số phương án, bệnh hoặc tình trạng bệnh tăng sinh là bệnh ung thư. Theo một số phương án, bệnh ung thư là khối u rắn. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được dùng cho đối tượng cần điều trị, để điều trị khối u rắn. Trong các trường hợp này, đối tượng mắc bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư xương, bệnh ung thư não, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư đại trực tràng, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư mắt, bệnh ung thư đầu và cổ, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư phổi, u melanin, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tụy, hoặc bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư bàng quang. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư vú. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư đại trực tràng. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư thực quản. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư đầu và cổ. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư thận. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư phổi. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị u melanin. Theo một số

phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư buồng trứng. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư tụy. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư di căn. Trong các trường hợp khác, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh ung thư tái phát hoặc khó chữa.

Theo một số phương án, bệnh ung thư là bệnh lý huyết học ác tính. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được dùng cho đối tượng cần điều trị, để điều trị bệnh lý huyết học ác tính. Theo một số phương án, đối tượng mắc bệnh bạch cầu tế bào lympho mạn tính (CLL), u lympho tế bào lympho nhỏ (SLL), u lympho thể nang (FL), u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL), u lympho tế bào vỏ (MCL), bệnh tăng globulin đại phân tử Waldenstrom, đa u tủy, u lympho tế bào B vùng rìa ngoài hạch, u lympho tế bào B vùng rìa hạch, u lympho Burkitt, u lympho tế bào B cấp cao không Burkitt, u lympho tế bào B nguyên phát tại trung thất (PMBL), u lympho tế bào lớn nguyên bào miễn dịch, u lympho nguyên bào lympho B tiền thân, bệnh bạch cầu tiền lympho bào tế bào B, u lympho tương bào lympho, u lympho vùng rìa của lách, u tủy tương bào, u tương bào, u lympho tế bào B lớn trung thất (tuyến ức), u lympho tế bào B lớn trong mạch, u lympho tràn dịch nguyên phát, hoặc u hạt dạng lympho. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị CLL. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị SLL. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị FL. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị DLBCL. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị MCL. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh tăng globulin đại phân tử Waldenstrom. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị đa u tủy. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị u lympho Burkitt. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng cho

đối tượng để điều trị bệnh lý huyết học ác tính di căn. Trong các trường hợp khác, thể liên hợp IL-15 được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh lý huyết học ác tính tái phát hoặc khó chữa.

Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung được dùng thêm cho đối tượng. Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung được dùng đồng thời với thể liên hợp IL-15. Trong các trường hợp khác, tác nhân trị liệu bổ sung và thể liên hợp IL-15 được dùng tuần tự, ví dụ như, thể liên hợp IL-15 được dùng trước tác nhân trị liệu bổ sung hoặc thể liên hợp IL-15 được dùng sau khi dùng tác nhân trị liệu bổ sung.

Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung bao gồm tác nhân hóa trị liệu, tác nhân trị liệu miễn dịch, trị liệu nhắm đích, trị liệu chiếu xạ, hoặc dạng kết hợp của chúng. Các tác nhân trị liệu bổ sung minh họa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tác nhân alkyl hóa chẳng hạn như altretamin, busulfan, cacboplatin, carmustin, chlorambucil, cisplatin, xyclophosphamit, đacacbazin, lomustin, melphalan, oxalaplamin, temozolomit, hoặc thiotepa; chất chống chuyển hóa chẳng hạn như 5-florouraxin (5-FU), 6-mercaptopurin (6-MP), capecitabin, cytarabin, floxuridin, fludarabin, gemcitabin, hydroxyure, metotrexat, hoặc pemetrexed; các anthracyclin chẳng hạn như daunorubicin, doxorubicin, epirubicin, hoặc idarubicin; chất ức chế topoisoмераза I chẳng hạn như topotecan hoặc irinotecan (CPT-11); chất ức chế topoisoмераза II chẳng hạn như etoposid (VP-16), teniposid, hoặc mitoxantron; chất ức chế phân bào chẳng hạn như doxetaxel, estramustin, ixabepilon, paclitaxel, vinblastin, vincristin, hoặc vinorelbin; hoặc corticosteroid chẳng hạn như prednison, metylprednisolon, hoặc dexametason.

Trong một số trường hợp, tác nhân trị liệu bổ sung bao gồm trị liệu tuyến thứ nhất. Như dùng trong bản mô tả này, "trị liệu tuyến thứ nhất" bao gồm việc điều trị sơ cấp đối với đối tượng mắc bệnh ung thư. Trong một số trường hợp, bệnh ung thư là bệnh ung thư nguyên phát hoặc cục bộ. Trong các trường hợp khác, bệnh ung thư là bệnh ung thư di căn hoặc tái diễn. Trong một số trường hợp, trị liệu tuyến thứ nhất bao gồm hóa trị. Trong các trường hợp khác, việc điều trị

tuyến thứ nhất bao gồm liệu pháp miễn dịch, trị liệu nhắm đích, hoặc trị liệu chiếu xạ. Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực sẽ dễ dàng hiểu được rằng các điều trị tuyến thứ nhất khác nhau có thể áp dụng được cho các loại bệnh ung thư khác nhau.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng với tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ tác nhân alkyl hóa chẳng hạn như altretamin, busulfan, cacboplatin, carmustin, chlorambucil, cisplatin, xyclophosphamit, đacacbazin, lomustin, melphalan, oxalaplatin, temozolomit, hoặc thiotepa; chất chống chuyển hóa chẳng hạn như 5-florouraxin (5-FU), 6-mercaptopurin (6-MP), capecitabin, cytarabin, floxuridin, fludarabin, gemcitabin, hydroxyure, metotrexat, hoặc pemetrexed; anthracyclin chẳng hạn như daunorubicin, doxorubicin, epirubicin, hoặc idarubicin; chất ức chế topoisomeraza I chẳng hạn như topotecan hoặc irinotecan (CPT-11); chất ức chế topoisomeraza II chẳng hạn như etoposít (VP-16), teniposit, hoặc mitoxantron; chất ức chế phân bào chẳng hạn như docetaxel, estramustin, ixabepilone, paclitaxel, vinblastin, vincristin, hoặc vinorelbin; hoặc corticosteroid chẳng hạn như prednison, methylprednisolon, hoặc dexametason.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được dùng với chất ức chế của enzym poly ADP ribosa polymeraza (PARP). Các chất ức chế PARP ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, olaparib (AZD-2281, Lynparza®, từ Astra Zeneca), rucaparib (PF-01367338, Rubraca®, từ Clovis Oncology), niraparib (MK-4827, Zejula®, từ Tesaro), talazoparib (BMN-673, từ BioMarin Pharmaceutical Inc.), veliparib (ABT-888, từ AbbVie), CK-102 (trước đây gọi là CEP 9722, từ Teva Pharmaceutical Industries Ltd.), E7016 (từ Eisai), iniparib (BSI 201, từ Sanofi), và pamiparib (BGB-290, từ BeiGene). Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 được dùng kết hợp với chất ức chế PARP chẳng hạn như olaparib, rucaparib, niraparib, talazoparib, veliparib, CK-102, E7016, iniparib, hoặc pamiparib.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được dùng với chất ức chế tyrosin kinaza (TKI). Các TKI để làm ví dụ bao gồm,

nhưng không giới hạn ở, afatinib, alectinib, axitinib, bosutinib, cabozantinib, ceritinib, cobimetinib, crizotinib, dabrafenib, dasatinib, erlotinib, gefitinib, ibrutinib, imatinib, lapatinib, lenvatinib, nilotinib, nintedanib, osimertinib, pazopanib, ponatinib, regorafenib, ruxolitinib, sorafenib, sunitinib, tofacitinib, và vandetanib.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được dùng với chất điều biến điểm kiểm tra miễn dịch. Các chất điều biến điểm kiểm tra để làm ví dụ bao gồm:

chất điều biến PD-L1 chẳng hạn như MPDL3280A của Genentech (RG7446), Avelumab (Bavencio) từ Merck/Pfizer, durvalumab (Imfinzi) từ AstraZeneca, Kháng thể PD-L1 kháng chuột Dòng 10F.9G2 (Cat # BE0101) từ BioXcell, kháng thể đơn dòng kháng-PD-L1 MDX-1105 (BMS-936559), BMS-935559 và BMS-986192 từ Bristol-Meyer's Squibb, MSB0010718C, Dòng kháng-PD-L1 chuột 29E.2A3, CX-072 từ XytomX Therapeutics, FAZ053 từ Novartis Pharmaceuticals, KN035 từ 3D Medicine, LY3300054 từ Eli Lilly, và MEDI4736 của AstraZeneca;

chất điều biến PD-L2 chẳng hạn như AMP-224 của GlaxoSmithKline (Amplimmune), và rHIgM12B7;

chất điều biến PD-1 chẳng hạn như kháng thể kháng-PD-1 chuột Dòng J43 (Cat # BE0033-2) từ BioXcell, kháng thể kháng-PD-1 chuột Dòng RMP1-14 (Cat # BE0146) từ BioXcell, kháng thể kháng-PD-1 chuột Dòng EH12, kháng thể kháng-PD-1 chuột MK-3475 của Merck (Keytruda, pembrolizumab, lambrolizumab), kháng thể kháng-PD-1 của AnaptysBio đã biết dưới dạng ANB011, kháng thể MDX-1 106 (ONO-4538), kháng thể đơn dòng IgG4 người của Bristol-Myers Squibb nivolumab (Opdivo®, BMS-936558, MDX1106), AMP-514 và AMP-224 của AstraZeneca, sintilimab (IBI-308) từ Eli Lilly/Innovent Biologics, AGEN 2034 từ Agenus, BGB-A317 từ BeiGene, BI-754091 từ Boehringer-Ingelheim Pharmaceuticals, CBT-501 (genolimzumab) từ CBT Pharmaceuticals, INCSHR1210 từ Incyte, JNJ-63723283 từ Janssen

Research & Development, MEDI0680 từ MedImmune, PDR001 từ Novartis Pharmaceuticals, PF-06801591 từ Pfizer, REGN2810 từ Regeneron Pharmaceuticals, và Pidilizumab (CT-011) từ CureTech Ltd;

chất điều biến CTLA-4 chẳng hạn như kháng thể kháng-CTLA-4 của Bristol Meyers Squibb ipilimumab (còn được biết dưới dạng Yervoy®, MDX-010, BMS-734016 và MDX-101), kháng thể kháng-CTLA4 dòng 9H10 từ Millipore, tremelimumab của Pfizer (CP-675,206, ticilimumab), AGEN 1884 từ Agenus, và kháng thể kháng-CTLA4 dòng BNI3 từ Abcam;

chất điều biến LAG3 chẳng hạn như kháng thể kháng-Lag-3 dòng eBioC9B7W (C9B7W) từ eBioscience, kháng thể kháng-Lag3 LS-B2237 từ LifeSpan Biosciences, IMP701 và LAG525 từ Novartis Pharmaceuticals, IMP321 (ImmuFact) từ Immuteq, kháng thể kháng-Lag3 BMS-986016, BMS-986016 từ Bristol-Myers Squibb, REGN3767 từ Regeneron Pharmaceuticals, và kháng thể kháng LAG-3 A9H12;

chất điều biến B7-H3 chẳng hạn như MGA271;

chất điều biến KIR chẳng hạn như Lirilumab (IPH2101) từ Bristol-Myers Squibb;

chất điều biến CD137 chẳng hạn như urelumab (BMS-663513, Bristol-Myers Squibb), PF-05082566 (kháng-4-1BB, PF-2566, Pfizer), hoặc XmAb-5592 (Xencor);

chất điều biến PS chẳng hạn như Bavituximab;

chất điều biến OX40 chẳng hạn như BMS-986178 từ Bristol-Myers Squibb, GSK3174998 từ GlaxoSmithKline, INCAGN1949 từ Agenus, MEDI0562 từ MedImmune, PF-04518600 từ Pfizer, hoặc RG7888 từ Genentech;

chất điều biến GITR chẳng hạn như GWN323 từ Novartis Pharmaceuticals, INCAGN1876 từ Agenus, hoặc TRX518 từ Leap Therapeutics;

chất điều biến TIM3 chẳng hạn như MBG453 từ Novartis Pharmaceuticals, hoặc TSR-042 từ TESARO;

và chất điều biến chẳng hạn như kháng thể hoặc các mảnh (ví dụ như, kháng thể đơn dòng, kháng thể người, được làm cho giống người, hoặc khảm) của nó, phân tử ARNi, hoặc phân tử nhỏ đối với CD52, CD30, CD20, CD33, CD27, ICOS, BTLA (CD272), CD160, 2B4, LAIR1, TIGHT, LIGHT, DR3, CD226, CD2, hoặc SLAM.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 được dùng kết hợp với pembrolizumab, nivolumab, tremelimumab, hoặc ipilimumab.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được dùng với kháng thể chẳng hạn như alemtuzumab, trastuzumab, ibritumomab tiuxetan, brentuximab vedotin, ado-trastuzumab emtansin, hoặc blinatumomab.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 được dùng với tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ kháng thể kháng-VEGFR. Các kháng thể kháng-VEGFR để làm ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bevacizumab hoặc ramucirumab. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 tăng cường tác dụng ADCC của tác nhân trị liệu bổ sung.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 được dùng với tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ cetuximab, imgatuzumab, matuzumab (EMD 72000), tomuzotuximab, hoặc panitumumab. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 tăng cường tác dụng ADCC của tác nhân trị liệu bổ sung.

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 được dùng với tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ xytokin bổ sung (ví dụ như, xytokin tự nhiên hoặc xytokin được thiết kế chẳng hạn như xytokin được pegyl hóa và/hoặc dung hợp). Trong một số trường hợp, xytokin bổ sung tăng cường và/hoặc hiệp trợ sự mở rộng và/hoặc sự tăng sinh tế bào tác động T. Trong một số trường hợp, xytokin bổ sung bao gồm IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-18, IL-21, hoặc TNF α . Trong một số trường hợp, xytokin bổ sung là IL-2. Trong một số trường hợp, xytokin bổ sung là IL-21. Trong một số trường hợp, xytokin bổ sung là IL-10. Trong một số trường hợp, xytokin bổ sung là TNF α .

Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 được dùng với tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ chất chủ vận thụ thể. Trong một số trường hợp, chất chủ vận thụ thể có chứa phối tử thụ thể giống Toll (TLR). Trong một số trường hợp, phối tử TLR bao gồm TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, hoặc TLR9. Trong một số trường hợp, phối tử TLR bao gồm phối tử tổng hợp chẳng hạn như, ví dụ như, Pam3Cys, CFA, MALP2, Pam2Cys, FSL-1, Hib-OMPC, Poly I:C, poly A:U, AGP, MPL A, RC-529, MDF2 β , CFA, hoặc Flagellin. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-21 được dùng với một hoặc nhiều chất chủ vận TLR được chọn từ TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, và TLR9. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-15 được dùng với một hoặc nhiều chất chủ vận TLR được chọn từ Pam3Cys, CFA, MALP2, Pam2Cys, FSL-1, Hib-OMPC, Poly I:C, poly A:U, AGP, MPL A, RC-529, MDF2 β , CFA, và Flagellin.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được sử dụng kết hợp với trị liệu truyền tế bào T thích ứng (ACT). Theo một phương án, ACT bao gồm sự nhận diện của tế bào lympho T tự thân ở đối tượng với, ví dụ như, hoạt tính kháng-khối u, sự mở rộng của tế bào lympho T tự thân *in vitro*, và sự truyền lại sau đó của tế bào lympho T đã được mở rộng vào đối tượng. Theo phương án khác, ACT bao gồm việc sử dụng tế bào lympho T dị sinh với, ví dụ như, hoạt tính kháng-khối u, sự mở rộng của tế bào lympho T *in vitro*, và sự truyền sau đó của tế bào lympho T dị sinh đã được mở rộng vào đối tượng cần điều trị. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được sử dụng kết hợp với tế bào lympho T tự thân dưới dạng một phần của liệu pháp ACT. Trong các trường hợp khác, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được sử dụng kết hợp với tế bào lympho T dị sinh dưới dạng một phần của liệu pháp ACT. Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng đồng thời với liệu pháp ACT cho đối tượng cần điều trị. Trong các trường hợp khác, thể liên hợp IL-15 được dùng tuần tự với liệu pháp ACT cho đối tượng cần điều trị.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được sử dụng cho sự hoạt hóa và/hoặc sự mở rộng ex vivo của sự truyền tế bào T tự thân và/hoặc dị sinh. Trong các trường hợp này, thể liên hợp IL-15 được sử dụng để hoạt hóa và/hoặc mở rộng mẫu có chứa tế bào T tự thân và/hoặc dị sinh và thể liên hợp IL-15 tùy ý được loại bỏ khỏi mẫu trước khi dùng mẫu cho đối tượng cần điều trị.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được mô tả trong bản mô tả này được dùng với vắc xin. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-21 được sử dụng kết hợp với virus phân giải tế bào ung thư. Trong các trường hợp này, thể liên hợp IL-21 tác động dưới dạng tác nhân kích thích để điều biến đáp ứng miễn dịch. Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-21 được sử dụng với virus phân giải tế bào ung thư dưới dạng một phần của liệu pháp tá dược. Các virus phân giải tế bào ung thư ví dụ bao gồm T-Vec (Amgen), G47 Δ (Todo et al.), JX-594 (Sillajen), CG0070 (Cold Genesys), và Reolysin (Oncolytics Biotech). Trong một số trường hợp, thể liên hợp IL-21 được sử dụng kết hợp với virus phân giải tế bào ung thư chẳng hạn như T-Vec, G47 Δ , JX-594, CG0070, hoặc Reolysin.

Theo một số phương án, thể liên hợp IL-15 được dùng kết hợp với trị liệu chiếu xạ.

Phương pháp mở rộng quần thể tế bào

Theo một số phương án, sáng chế còn mô tả phương pháp mở rộng các quần thể tế bào lympho, ví dụ như, các quần thể tế bào T tác động (Teff), tế bào T ghi nhớ (Tmem), và/hoặc tế bào Giết Tự Nhiên (NK). Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm việc cho tế bào tiếp xúc với thể liên hợp xytokin được mô tả trong bản mô tả này, và cho xytokin phản ứng với thụ thể xytokin để tạo thành phức hợp, trong đó phức hợp này kích thích sự mở rộng của quần thể tế bào lympho khác biệt.

Theo một số phương án, phương pháp mở rộng các quần thể tế bào T tác động (Teff), tế bào T ghi nhớ (Tmem), và/hoặc tế bào Giết Tự Nhiên (NK), bao gồm: (a) cho tế bào tiếp xúc với polypeptit IL-15 đã được cải biến hoặc thể liên

hợp IL-15; và cho IL-15 tương tác với các tiểu đơn vị IL-15R β và IL-15R γ để tạo thành phức hợp IL-15/IL-15R $\beta\gamma$; trong đó thể liên hợp IL-15 có ái lực với tiểu đơn vị IL-15R α giảm đi, và trong đó phức hợp IL-15/IL-15R $\beta\gamma$ kích thích sự mở rộng của tế bào Teff, Tmem, và NK. Như được mô tả trong bản mô tả này, theo một số phương án, polypeptit IL-15 đã được cải biến có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên được cải biến sau dịch mã ở vị trí gốc được chọn từ N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, T27, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, A39, K41, L44, L45, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, và S114, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, và S114. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, S51, L52, S54, G55, D56, A57, S58, H60, V63, I67, N71, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, L91, E92, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, và F110. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ D14, Q17, S18, K41, S51, L52, G55, D56, A57, S58, S75, S76, N77, N79, V80, T81, S83, G84, E92, K94, N95, K97, và E98. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ N1, N4, S7, D8, K11, D61, T62, E64, N65, I68, L69, và N72. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ V3, I6, K10, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S102, V104, H105, Q108, M109, I111, N112,

T113, và S114. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ D22, A23, T24, L25, Y26, L44, E46, Q48, V49, E53, E89, E90, và E93. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ Y26, E46, V49, E53, và L25. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ V3, K10, S29, D30, H32, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, và S114. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ N4, S7, K11, và D61. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ L25, E53, N77, và S83. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ L25 và E53. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ E46, Y26, V49, E53, T24, N4, K11, N65, L69, S18, H20, và S83. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ E46, Y26, V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ E46, V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ Y26, V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ E46 và Y26. Theo một số phương án, vị trí gốc là E46. Theo một số phương án, vị trí gốc là L25. Theo một số phương án, vị trí gốc là Y26. Theo một số phương án, vị trí gốc là V49. Theo một số phương án, vị trí gốc là E53. Theo một số phương án, vị trí gốc là T24. Theo một số phương án, vị trí gốc là N77. Theo một số phương án, vị trí gốc là S83.

Phương pháp mở rộng các quần thể tế bào T tác động (Teff), tế bào T ghi nhớ (Tmem), và/hoặc tế bào Giết Tự Nhiên (NK) như được mô tả trong bản mô tả này, theo một số phương án, bao gồm việc cho tế bào tiếp xúc với thể liên hợp IL-15. Như được mô tả trong bản mô tả này, theo một số phương án, thể liên hợp interleukin 15 (IL-15) có chứa: polypeptit IL-15 đã được phân lập và đã được tinh chế; và gốc liên hợp mà liên kết với polypeptit IL-15 đã được phân lập và đã được tinh chế tại vị trí axit amin được chọn từ N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, T27, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, A39, K41, L44, L45, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112,

T113, và S114, trong đó các vị trí gốc tương ứng với các vị trí như nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ N1, W2, V3, N4, I6, S7, D8, K10, K11, E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, D22, A23, T24, L25, Y26, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, E46, Q48, V49, S51, L52, E53, S54, G55, D56, A57, S58, H60, D61, T62, V63, E64, N65, I67, I68, L69, N71, N72, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, E89, E90, L91, E92, E93, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, S102, V104, H105, Q108, M109, F110, I111, N112, T113, và S114. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ E13, D14, L15, Q17, S18, M19, H20, I21, S34, C35, K36, V37, T38, K41, L44, S51, L52, S54, G55, D56, A57, S58, H60, V63, I67, N71, S73, L74, S75, S76, N77, G78, N79, V80, T81, E82, S83, G84, C85, K86, E87, C88, L91, E92, K94, N95, I96, K97, E98, L100, Q101, và F110. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ D14, Q17, S18, K41, S51, L52, G55, D56, A57, S58, S75, S76, N77, N79, V80, T81, S83, G84, E92, K94, N95, K97, và E98. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ N1, N4, S7, D8, K11, D61, T62, E64, N65, I68, L69, và N72. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ V3, I6, K10, E28, S29, D30, V31, H32, P33, S102, V104, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, và S114. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ D22, A23, T24, L25, Y26, L44, E46, Q48, V49, E53, E89, E90, và E93. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ Y26, E46, V49, E53, và L25. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ V3, K10, S29, D30, H32, H105, Q108, M109, I111, N112, T113, và S114. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ N4, S7, K11, và D61. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ L25, E53, N77, và S83. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ L25 và E53. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ E46, Y26, V49, E53, T24, N4, K11, N65, L69, S18, H20, và S83. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ E46, Y26, V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ E46, V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ Y26, V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn từ V49, E53, và T24. Theo một số phương án, vị trí gốc được chọn

từ E46 và Y26. Theo một số phương án, vị trí gốc là E46. Theo một số phương án, vị trí gốc là L25. Theo một số phương án, vị trí gốc là Y26. Theo một số phương án, vị trí gốc là V49. Theo một số phương án, vị trí gốc là E53. Theo một số phương án, vị trí gốc là T24. Theo một số phương án, vị trí gốc là N77. Theo một số phương án, vị trí gốc là S83.

Sản xuất polypeptit IL-15

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này, chứa đột biến axit amin tự nhiên hoặc đột biến axit amin không tự nhiên, được tạo ra theo cách tái tổ hợp hoặc được tổng hợp theo cách hóa học. Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được mô tả ở đây được tạo ra theo cách tái tổ hợp, ví dụ như, bằng hệ thống tế bào chủ, hoặc trong hệ thống không chứa tế bào.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được tạo ra theo cách tái tổ hợp qua hệ thống tế bào chủ. Theo một số phương án, tế bào chủ là tế bào nhân chuẩn (ví dụ như, tế bào động vật có vú, tế bào côn trùng, tế bào nấm men hoặc tế bào thực vật), tế bào nhân sơ (ví dụ như, vi khuẩn gram-dương hoặc vi khuẩn gram-âm), hoặc tế bào vi khuẩn cổ. Trong một số trường hợp, tế bào chủ nhân chuẩn là tế bào chủ động vật có vú. Trong một số trường hợp, tế bào chủ động vật có vú là dòng tế bào ổn định, hoặc dòng tế bào mà kết hợp vật liệu di truyền được quan tâm vào hệ gen của bản thân 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 chủ động vật có vú là dòng tế bào tạm thời, hoặc dòng tế bào mà không kết hợp vật liệu di truyền được quan tâm vào hệ gen của bản thân nó và không có khả năng biểu hiện sản phẩm của vật liệu di truyền sau nhiều thế hệ phân chia tế bào.

Các tế bào chủ động vật có vú để làm ví dụ bao gồm dòng tế bào 293T, dòng tế bào 293A, dòng tế bào 293FT, tế bào 293F, tế bào 293 H, 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 chủ nhân chuẩn là tế bào chủ côn trùng. Tế bào chủ côn trùng để 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 chủ nhân chuẩn là tế bào chủ nấm men. Các tế bào chủ nấm men ví dụ bao gồm các chủng nấm men *Pichia pastoris* chẳng hạn như GS115, KM71H, SMD1168, SMD1168H, và X-33, và chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* chẳng hạn như INVSc1.

Theo một số phương án, tế bào chủ nhân chuẩn là tế bào chủ thực vật. Theo một số phương án, tế bào thực vật bao gồm tế bào từ tảo. Các dòng tế bào thực vật ví dụ bao gồm các chủng từ *Chlamydomonas reinhardtii* 137c, hoặc *Synechococcus elongatus* PPC 7942.

Theo một số phương án, tế bào chủ là tế bào chủ nhân sơ. Các tế bào chủ nhân sơ để 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™.

Theo một số phương án, phân tử axit polynucleic hoặc vector thích hợp để sản xuất polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này bao gồm vector thích hợp bất kỳ có nguồn gốc từ các nguồn nhân chuẩn hoặc nhân sơ. Các phân tử axit polynucleic hoặc vector để làm ví dụ bao gồm vector từ nguồn vi khuẩn (ví dụ như, *E. coli*), côn trùng, nấm men (ví dụ như, *Pichia pastoris*), tảo, hoặc động vật có vú. Vector vi khuẩn bao gồm, ví dụ như, pACYC177, pASK75, dãy vector pBAD, dãy vector pBADM, dãy vector pET, dãy vector pETM, dãy vector pGEX, pHAT, pHAT2, pMal-c2, pMal-p2, dãy vector pQE, pRSET A, pRSET B, pRSET C, dãy pTrcHis2, pZA31-Luc, pZE21-MCS-1, pFLAG ATS, pFLAG CTS, pFLAG MAC, pFLAG Shift-12c, pTAC-MAT-1, pFLAG CTC, hoặc pTAC-MAT-2.

Vector côn trùng bao gồm, ví dụ như, các vector 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, FLAG chẳng hạn như pPolh-FLAG1 hoặc pPolh-MAT 2, hoặc các vector MAT chẳng hạn như pPolh-MAT1, hoặc pPolh-MAT2.

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

Vector tảo bao gồm, ví dụ như, vector pChlamy-4 hoặc vector MCS.

Vector động vật có vú bao gồm, ví dụ như, vector biểu hiện tạm thời hoặc vector biểu hiện ổn định. Các vector biểu hiện tạm thời động vật có vú để 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. Các vector biểu hiện ổn định động vật có vú để 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.

Theo một số phương án, hệ thống không chứa tế bào được sử dụng để sản xuất polypeptit IL-15 được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, hệ thống không chứa tế bào có chứa hỗn hợp của các thành phần tế bào chất và/hoặc nhân từ tế bào (ví dụ như, gồm có các thành phần tái tổ hợp được tinh chế toàn bộ hoặc các thành phần được tinh chế một phần) và thích hợp để tổng hợp

axit nucleic in vitro. Trong một số trường hợp, hệ thống không chứa tế bào sử dụng các thành phần tế bào nhân sơ. Trong các trường hợp khác, hệ thống không chứa tế bào sử dụng các thành phần tế bào nhân chuẩn. Sự tổng hợp axit nucleic thu được trong hệ thống không chứa tế bào dựa trên, ví dụ như, tế bào *Drosophila*, trứng *Xenopus*, Vi khuẩn cổ, hoặc tế bào HeLa. Các hệ thống không chứa tế bào ví dụ bao gồm hệ thống *E. coli* S30 Extract, hệ thống *E. coli* T7 S30, hoặc PURExpress®, XpressCF, và XpressCF+.

Hệ thống dịch mã không chứa tế bào khác nhau có chứa các thành phần chẳng hạn như plasmit, mARN, ADN, tARN, synthetaza, yếu tố giải phóng, ribosom, protein chaperon, yếu tố mở đầu và kéo dài dịch mã, axit amin tự nhiên và/hoặc không tự nhiên, và/hoặc các thành phần khác được sử dụng cho sự biểu hiện protein. Các thành phần này tùy ý được cải biến để cải thiện hiệu suất, làm tăng tốc độ tổng hợp, làm tăng độ tin cậy sản phẩm protein, hoặc kết hợp axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, xytokin được mô tả ở đây được tổng hợp bằng cách sử dụng hệ thống dịch mã không chứa tế bào được mô tả trong 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 chứa tế bào có chứa yếu tố giải phóng được cải biến, hoặc thậm chí sự loại bỏ của một hoặc nhiều yếu tố giải phóng khỏi hệ thống này. Theo một số phương án, hệ thống dịch mã không chứa tế bào có chứa nồng độ proteaza giảm. Theo một số phương án, hệ thống dịch mã không chứa tế bào có chứa tARN được cải biến với các bộ ba mã hóa được gán lại được sử dụng để mã hóa cho axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, các synthetaza được mô tả trong bản mô tả này để kết hợp axit amin không tự nhiên được sử dụng trong hệ thống dịch mã không chứa tế bào. Theo một số phương án, tARN được tải sẵn với axit amin không tự nhiên bằng cách sử dụng phương pháp enzym hoặc hóa học trước khi được bổ sung vào hệ thống dịch mã không chứa tế bào. Theo một số phương án, các thành phần đối với hệ thống dịch mã không chứa tế bào được thu lấy từ sinh vật đã được cải biến, chẳng hạn như vi khuẩn, nấm men, hoặc sinh vật khác đã được cải biến.

Theo một số phương án, polypeptit IL-15 được tạo ra dưới dạng hoán vị vòng quanh, thông qua hệ thống vật chủ biểu hiện hoặc thông qua hệ thống không chứa tế bào.

Sản xuất polypeptit IL-15 có chứa axit amin không tự nhiên

Mã di truyền trực giao hoặc đã được mở rộng có thể được sử dụng trong sáng chế, trong đó một hoặc nhiều bộ ba cụ thể có mặt trong trình tự axit nucleic của polypeptit IL-15 được chỉ định mã hóa cho axit amin không tự nhiên sao cho nó có thể được kết hợp về mặt di truyền vào IL-15 bằng cách sử dụng cặp tARN synthetaza/tARN trực giao. Cặp tARN synthetaza/tARN trực giao có khả năng nạp vào tARN với axit amin không tự nhiên và có khả năng kết hợp axit amin không tự nhiên đó vào chuỗi polypeptit trong đáp ứng với bộ ba này.

Theo một số phương án, bộ ba này là bộ ba hỏ phách, hoàng thổ, nâu đen hoặc codon bộ bốn. Trong một số trường hợp, bộ ba này tương ứng với tARN trực giao mà sẽ được sử dụng để mang axit amin không tự nhiên. Trong một số trường hợp, bộ ba này là hỏ phách. Trong các trường hợp khác, bộ ba này là bộ ba trực giao.

Trong một số trường hợp, bộ ba này là codon bộ bốn, mà có thể được giải mã bằng ribosom trực giao ribo-Q1. Trong một số trường hợp, codon bộ bốn 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, bộ ba mã hóa được sử dụng trong sáng chế là bộ ba được mã hóa lại, ví dụ như, bộ ba đồng nghĩa hoặc bộ ba hiếm gặp mà được thay thế bằng bộ ba thay thế. Trong một số trường hợp, bộ ba được mã hóa lại 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, bộ ba được mã hóa lại như được mô tả trong Ostrov *et al.*, "Design, synthesis, and testing toward a 57-codon genome," *Science* **353**(6301): 819-822 (2016).

Theo một số phương án, axit nucleic không tự nhiên được sử dụng dẫn đến sự kết hợp của một hoặc nhiều axit amin không tự nhiên vào IL-15. Các axit nucleic không tự nhiên để làm ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, uraxin-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 dẫn xuất alkyl khác của adenin và guanin, 2-propyl và dẫn xuất alkyl khác của adenin và guanin, 2-thiouraxin, 2-thiothymin và 2-thioxytosin, 5-halouraxin và xytosin, 5-propynyl uraxin và xytosin, 6-azo uraxin, xytosin và thymin, 5-uraxin (giả uraxin), 4-thiouraxin, 8-halo, 8-amino, 8-thiol, 8-thioalkyl, 8-hydroxyl và adenin và guanin đã được thế ở vị trí 8 khác, 5-halo cụ thể là 5-bromo, 5-triflorometyl và uraxin và xytosin đã được thế ở vị trí 5 khác, 7-metylguanin và 7-metyl adenin, 8-azaguanin và 8-azaadenin, 7-deazaguanin và 7-deazaadenin và 3-deazaguanin và 3-deazaadenin. Các axit nucleic không tự nhiên nhất định, chẳng hạn như pyrimidin đã được thế ở vị trí 5, 6-azapyrimidin và purin đã được thế N-2, purin đã được thế N-6, purin đã được thế O-6, 2-aminopropyladenin, 5-propynyluraxin, 5-propynylxytosin, 5-metylxytosin, các axit nucleic không tự nhiên mà làm tăng độ ổn định của sự tạo thành bộ đôi, axit nucleic vạn năng, axit nucleic kỵ nước, axit nucleic pha tạp, axit nucleic mở rộng kích thước, axit nucleic được flo hóa, pyrimidin đã được thế ở vị trí 5, 6-azapyrimidin và purin đã được thế N-2, N-6 và O-6, bao gồm 2-aminopropyladenin, 5-propynyluraxin và 5-propynylxytosin. 5-metylxytosin (5-me-C), 5-hydroxymetyl xytosin, xanthin, hypoxanthin, 2-aminoadenin, 6-metyl, dẫn xuất alkyl khác của adenin và guanin, 2-propyl và dẫn xuất alkyl khác của adenin và guanin, 2-thiouraxin, 2-thiothymin và 2-thioxytosin, 5-halouraxin, 5-haloxytosin, 5-propynyl ($-C\equiv C-CH_3$) uraxin, 5-propynyl xytosin, dẫn xuất alkynyl khác của axit nucleic pyrimidin, 6-azo uraxin, 6-azo xytosin, 6-azo thymin, 5-uraxin (giả uraxin), 4-thiouraxin, 8-halo, 8-amino, 8-thiol, 8-thioalkyl, 8-hydroxyl và adenin và guanin đã được thế ở vị trí 8 khác, 5-halo cụ thể là 5-bromo, 5-triflorometyl, uraxin và xytosin đã được thế ở vị trí 5 khác, 7-metylguanin, 7-metyl adenin, 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 G, phenoxazin xytidin (ví dụ như 9-(2-aminoetoxy)-H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzoxazin-2(3H)-on), cacbazol xytidin (2H-pyrimido[4,5-b]indol-2-on), pyridoindol xytidin (H-pyrido[3',2':4,5]pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2-on), các chất trong đó bazơ purin hoặc pyrimidin được thay thế bằng dị vòng khác, 7-đezaadenin, 7-đezaguanosin, 2-aminopyridin, 2-pyridon, azaxytosin, 5-bromoxytosin, bromouraxin, 5-cloroxytosin, xytosin đã clo hóa, xycloxytosin, xytosin arabinosit, 5-floroxytosin, floropyrimidin, florouraxin, 5,6-đihydroxytosin, 5-iodoxytosin, hydroxyure, iodouraxin, 5-nitroxytosin, 5-bromouraxin, 5-clorouraxin, 5-florouraxin, và 5-iodouraxin, 2-amino-adenin, 6-thio-guanin, 2-thio-thymin, 4-thio-thymin, 5-propynyl-uraxin, 4-thio-uraxin, N4-etylxytosin, 7-đezaguanin, 7-đeza-8- azaguanin, 5-hydroxyxytosin, 2'-deoxyuridin, 2-amino-2'-deoxyadenosin, và các chất được mô tả trong các Bảng 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; và Sanghvi, Chapter 15, Antisense Research and Applications, Crooke and Lebleu Eds., CRC Press, 1993, 273-288. Sự cải biến bazơ khác có thể được tìm thấy, ví dụ như, trong Bảng 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 có chứa các bazơ dị vòng khác nhau và các gốc đường khác nhau (và chất tương tự đường) có sẵn trong lĩnh vực, và axit nucleic trong một số trường hợp bao gồm một hoặc một vài bazơ dị vòng không phải là

nằm thành phần bazơ chính của axit nucleic có trong tự nhiên. Ví dụ như, bazơ dị vòng bao gồm, trong một số trường hợp, các nhóm uraxin-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 các purin được gắn vào gốc đường của axit nucleic thông qua vị trí 9, pyrimidin thông qua vị trí 1, pyrolopyrimidin thông qua vị trí 7 và pyrazolopyrimidin thông qua vị trí 1.

Theo một số phương án, chất tương tự nucleotit cũng được cải biến ở gốc photphat. Các gốc photphat đã được cải biến bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các gốc photphat có sự cải biến ở liên kết giữa hai nucleotit và chứa, ví dụ như, phosphorothioat, phosphorothioat bất đối xứng, phosphorodithioat, phosphotrieste, aminoalkylphosphotrieste, metyl và các alkyl phosphonat khác bao gồm 3'-alkylen phosphonat và phosphonat bất đối xứng, phosphinat, phosphoramidat bao gồm 3'-amino phosphoramidat và aminoalkylphosphoramidat, thionophosphoramidat, thionoalkylphosphonat, thionoalkylphosphotrieste, và boranophosphat. Cần hiểu rằng các liên kết photphat hoặc photphat đã được cải biến giữa hai nucleotit là thông qua liên kết 3'-5' hoặc liên kết 2'-5', và liên kết chứa sự phân cực đảo ngược chẳng hạn như từ 3'-5' thành 5'-3' hoặc từ 2'-5' thành 5'-2'. Các muối, muối hỗn hợp và các dạng axit tự do khác nhau cũng được bao gồm. Nhiều bằng sáng chế Mỹ hướng dẫn việc tạo ra và sử dụng nucleotit chứa photphat đã được cải biến như thế nào và bao gồm nhưng không giới hạn ở, 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'-đidehydro-nucleosit (PCT/US2002/006460), dẫn xuất ADN và ARN đã được thế 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., Nucleosides & Nucleotides, 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 monome đã được thế 5' được tạo ra dưới dạng monophotphat với 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 sự cải biến ở vị trí 5' và vị trí 2' của vòng đường (PCT/US94/02993), chẳng hạn như nucleosit được bảo vệ bằng 2'-O đã được thế bằng 5'-CH₂ (Wu et al., *Helvetica Chimica Acta*, 2000, 83, 1127-1143 và Wu et al., *Bioconjugate Chem.* 1999, 10, 921-924). Trong một số trường hợp, axit nucleic không tự nhiên bao gồm các đime nucleosit được liên kết bằng amit đã được điều chế để kết hợp vào oligonucleotit trong đó nucleosit được liên kết 3' trong đime (5' với 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 được cải biến 5'-CH₂ (hoặc O) đã được thế 2' (PCT/US92/01020). Axit nucleic không tự nhiên có thể bao gồm monome, và đime ADN và ARN 5'-metylenphosphonat (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 monome 5'-phosphonat có sự thế 2' (US2006/0074035) và monome 5'-phosphonat được cải biến khác (WO1997/35869). Axit nucleic không tự nhiên có thể bao gồm monome metylenphosphonat được cải biến 5' (EP614907 và EP629633). Axit nucleic không tự nhiên có thể bao gồm chất tương tự của ribonucleosit 5' hoặc 6'-phosphonat có chứa 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 monome và đime 5'-phosphonat deoxyribonucleosit có nhóm 5'-photphat (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' hoặc/và 6' không được thế hoặc được thế bằng nhóm thio-tert-butyl ($\text{SC}(\text{CH}_3)_3$) (và chất tương tự của chúng); nhóm metylenamino (CH_2NH_2) (và chất tương tự của chúng) hoặc nhóm xyano (CN) (và chất tương tự của 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 còn bao gồm sự 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 này có thể mang lại độ ổn định nucleaza được tăng cường, ái lực liên kết được tăng lên, hoặc một số tính chất sinh học có lợi khác. Theo các phương án nhất định, axit nucleic có chứa gốc vòng ribofuranoza đã được cải biến theo cách hóa học. Các ví dụ về vòng ribofuranoza đã được cải biến theo cách hóa học bao gồm, mà không giới hạn ở, sự bổ sung nhóm thế (bao gồm nhóm thế 5' và/hoặc 2'; bắc cầu hai nguyên tử vòng để tạo thành axit nucleic hai vòng (BNA); sự thay thế của nguyên tử oxy vòng ribosyl bằng S, N(R), hoặc $\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)$ ($\text{R} = \text{H}$, $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ alkyl hoặc nhóm bảo vệ); và dạng kết hợp của chúng. Các ví dụ về đường đã được cải biến theo cách 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 có chứa đường đã được cải biến hoặc chất tương tự đường. Do đó, ngoài riboza và deoxyriboza, gốc đường có thể là pentoza, deoxypentoza, hexoza, deoxyhexoza, glucoza, arabinoza, xyloza, lyxoza, hoặc nhóm xyclopentyl "chất tương tự" đường. Đường có thể ở dạng pyranosyl hoặc furanosyl. Gốc đường có thể là furanosit của riboza, deoxyriboza, arabinoza hoặc 2'-O-alkylriboza, và đường có thể được gắn vào bazo dị vòng tương ứng ở cấu hình $[\alpha]$ hoặc $[\beta]$ anomer. Sự cải biến đường bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất tương tự 2'-alkoxy-ARN, chất tương tự 2'-amino-ARN, 2'-floro-ADN, và thể khảm 2'-alkoxy- hoặc amino-ARN/ADN. Ví

dụ như, sự cải biến đường có thể bao gồm 2'-O-metyl-uridin hoặc 2'-O-metyl-xytidin. Sự cải biến đường bao gồm deoxyribonucleosit đã được thế 2'-O-alkyl và ribonucleosit giống 2'-O-ethylenglycol. Việc điều chế các đường này hoặc chất tương tự đường và "nucleosit" tương ứng trong đó đường hoặc chất tương tự này được gắn vào bazơ dị vòng (bazơ axit nucleic) đã được biết đến. Sự cải biến đường cũng có thể được tạo ra và được kết hợp với sự cải biến khác.

Sự cải biến đối với gốc đường bao gồm sự cải biến tự nhiên của riboza và deoxy riboza cũng như là sự cải biến không tự nhiên. Sự cải biến đường bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sự cải biến sau đây 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 là C₁ đến C₁₀, alkyl hoặc C₂ đến C₁₀ alkenyl và alkynyl được thế hoặc không được thế. Sự cải biến đường 2' còn bao gồm nhưng không 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.

Sự cải biến khác ở vị trí 2' bao gồm nhưng không giới hạn ở: C₁ đến C₁₀ alkyl bậc thấp, alkyl bậc thấp đã được thế, alkaryl, aralkyl, O-alkaryl, O-aralkyl, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, heteroxycloalkyl, heteroxycloalkaryl, aminoalkylamino, polyalkylamino, silyl đã được thế, nhóm phân tách ARN, nhóm báo cáo, chất xen giữa, nhóm để cải thiện các tính chất động học của oligonucleotit, hoặc nhóm để cải thiện các tính chất dược lực học của oligonucleotit, và các phần tử thế khác có các tính chất tương tự. Sự cải biến tương tự cũng có thể được tạo ra ở các vị trí khác trên đường, cụ thể 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 còn bao gồm đường mà chứa sự cải biến ở oxy vòng bắc cầu, chẳng hạn như CH₂ và S. Chất tương tự đường nucleotit cũng có thể có chất bắt chước đường chẳng hạn như gốc xyclobutyl thay cho đường pentofuranosyl. Có nhiều bằng sáng chế Mỹ mà hướng dẫn việc điều chế các cấu trúc đường đã được cải biến và chi tiết và mô tả phạm vi cải biến bazơ, chẳng hạn như các Bằng 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, mỗi tài liệu này được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó.

Các ví dụ về axit nucleic có gốc đường đã được cải biến bao gồm, mà không giới hạn ở, axit nucleic có chứa các nhóm thế 5'-vinyl, 5'-metyl (R hoặc S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH₃, và 2'-O(CH₂)₂OCH₃. Phần tử thế ở vị trí 2' cũng có thể được chọn từ alyl, amino, azido, thio, O-alyl, O-(C₁-C₁₀ alkyl), OCF₃, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), và O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n), trong đó mỗi R_m và R_n độc lập là H hoặc C₁-C₁₀ alkyl đã được thế hoặc không được thế.

Theo các phương án nhất định, axit nucleic được mô tả trong bản mô tả này bao gồm một hoặc nhiều axit nucleic hai vòng. Theo các phương án nhất định này, axit nucleic hai vòng có chứa cầu nối giữa các nguyên tử vòng ribosyl 4' và 2'. Theo các phương án nhất định, axit nucleic được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm một hoặc nhiều axit nucleic hai vòng trong đó cầu nối có chứa axit nucleic hai vòng từ 4' đến 2'. Các ví dụ về axit nucleic hai vòng từ 4' đến 2' này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, một trong các công thức: 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' và 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2', và chất tương tự của chúng (xem, Bằng Sáng Chế Mỹ Số 7,399,845); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' và chất tương tự của chúng, (xem WO2009/006478, WO2008/150729, US2004/0171570, Bằng Sáng Chế Mỹ Số 7,427,672, Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 209, 74, 118-134, và WO2008/154401). Cũng xem, ví dụ như: 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 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 Quốc Tế Số WO2004/106356, WO1994/14226, WO2005/021570, WO2007/090071, và WO2007/134181; các Công Bố Bằng 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 các phương án nhất định, axit nucleic bao gồm axit nucleic được liên kết. Các axit nucleic có thể được liên kết với nhau bằng cách sử dụng liên kết giữa các axit nucleic bất kỳ. Hai nhóm chính của các nhóm liên kết giữa các axit nucleic được xác định bởi sự có mặt hoặc không có mặt của nguyên tử photpho. Các liên kết chứa photpho giữa các axit nucleic đại diện bao gồm, nhưng không giới hạn ở, phosphodiester, phosphotriester, methylphosphonat, phosphoramidat, và phosphorothioat (P=S). Các nhóm liên kết không chứa photpho giữa các axit nucleic đại diện bao gồm, nhưng không giới hạn ở, metylenmetylimino (-CH₂-N(CH₃)-O-CH₂-), thiodiester (-O-C(O)-S-), thionocacbammat (-O-C(O)(NH)-S-); siloxan (-O-Si(H)₂-O-); và N,N*-dimetylhydrazin (-CH₂-N(CH₃)-N(CH₃)). Theo các phương án nhất định, liên kết giữa các axit nucleic có nguyên tử bất đối xứng có thể được điều chế dưới dạng hỗn hợp triệt quang, dưới dạng các chất đồng phân đối ảnh riêng rẽ, *ví dụ như*, alkylphosphonat và phosphorothioat. Axit nucleic không tự nhiên có thể chứa sự cải biến đơn lẻ. Axit nucleic không tự nhiên có thể chứa nhiều sự cải biến ở trong một trong các gốc hoặc giữa các gốc khác nhau.

Sự cải biến photphat khung đối với axit nucleic bao gồm, nhưng không giới hạn ở, methyl phosphonat, phosphorothioat, phosphoramidat (bắt cầu hoặc không bắt cầu), phosphotriester, phosphorodithioat, phosphodithioat, và boranophotphat, và có thể được sử dụng ở dạng kết hợp bất kỳ. Các liên kết không photphat khác cũng có thể được sử dụng.

Theo một số phương án, sự cải biến khung (*ví dụ như*, các liên kết giữa các nucleotit metylphosphonat, phosphorothioat, phosphoramidat và phosphorodithioat) có thể mang lại hoạt tính điều biến miễn dịch trên axit nucleic đã được cải biến và/hoặc tăng cường độ ổn định của chúng *in vivo*.

Trong một số trường hợp, dẫn xuất chứa photpho (hoặc nhóm photphat đã được cải biến) được gắn vào gốc đường hoặc chất tương tự đường trong và có thể là monophotphat, diphotphat, triphotphat, alkylphosphonat, phosphorothioat, phosphorodithioat, phosphoramidat hoặc dạng tương tự. Polynucleotit để làm ví dụ chứa liên kết photphat hoặc liên kết không photphat đã được cải biến 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; và 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; Bảng Sáng Chế Mỹ Số 5,453,496; và Micklefield, 2001, *Curr. Med. Chem.* 8: 1157-1179.

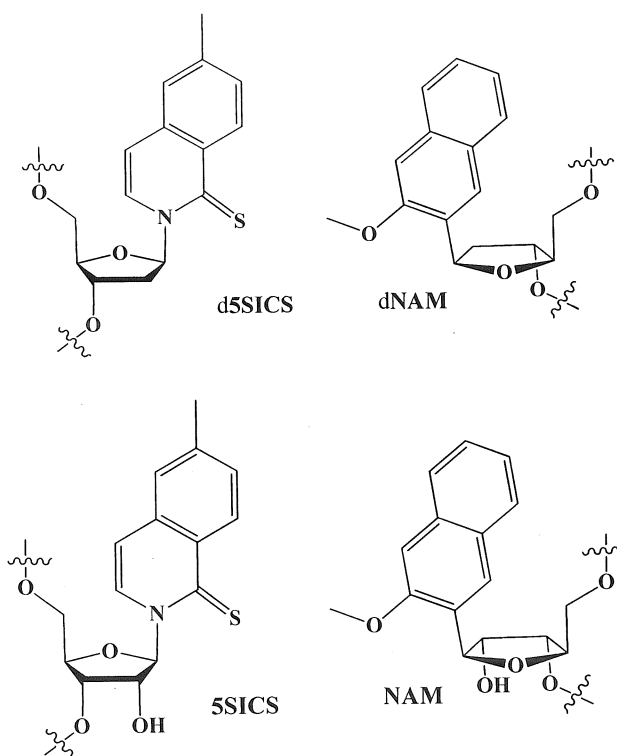
Trong một số trường hợp, sự cải biến khung có chứa việc thay thế liên kết phosphodiester bằng gốc thay thế chẳng hạn như nhóm anion, trung tính hoặc cation. Các ví dụ về sự cải biến này bao gồm: liên kết anion giữa các nucleosit; sự cải biến phosphoramidat N3' thành P5'; ADN boranophotphat; prooligonucleotit; liên kết trung tính giữa các nucleosit chẳng hạn như metylphosphonat; ADN được liên kết amit; liên kết metylen(metylimino); liên kết formaxetal và thioformaxetal; khung chứa nhóm sulfonyl; oligo mocpholino; peptit axit nucleic (PNA); và oligo deoxyribonucleic guanidin (DNG) tích điện dương (Micklefield, 2001, *Current Medicinal Chemistry* 8: 1157-1179). Axit nucleic đã được cải biến có thể có chứa khung khảm hoặc hỗn hợp có chứa một

hoặc nhiều sự cải biến, *ví dụ như* dạng kết hợp của liên kết photphat chẳng hạn như dạng kết hợp của các liên kết phosphodiester và phosphorothioat.

Các phân tử thể đối với photphat bao gồm, ví dụ như, liên kết giữa các nucleosit alkyl hoặc xycloalkyl mạch ngắn, liên kết giữa các nucleosit nguyên tử khác loại và alkyl hoặc xycloalkyl hỗn hợp, hoặc một hoặc nhiều liên kết giữa các nucleosit nguyên tử khác loại hoặc dị vòng mạch ngắn. Chúng bao gồm các phân tử thể có các liên kết morpholino (được tạo thành một phân tử phần đường của nucleosit); khung siloxan; khung sulfua, sulfoxit và sulfon; khung formaxetyl và thioformaxetyl; khung metylen formaxetyl và thioformaxetyl; khung chứa alken; khung sulfamat; khung metylenimino và metylenhydrazino; khung sulfonat và sulfonamit; khung amit; và các phân tử thể khác có các phần thành phần N, O, S và CH₂ hỗn hợp. Nhiều bằng sáng chế Mỹ bộc lộ việc làm thế nào để tạo ra và sử dụng các kiểu thay thế photphat này và bao gồm nhưng không giới hạn ở các Bằng 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 được hiểu trong phân tử thể nucleotit rằng cả đường và gốc photphat của nucleotit có thể được thay thế, bằng ví dụ như liên kết kiểu amit (aminoethylglyxin) (PNA). Các Bằng Sáng Chế Mỹ Số 5,539,082; 5,714,331; và 5,719,262 hướng dẫn việc làm cách nào để tạo ra và sử dụng phân tử PNA, mỗi tài liệu này được kết hợp ở đây để tham khảo. Cũng xem Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500. Cũng có thể liên kết các loại phân tử khác (thể liên hợp) vào nucleotit hoặc chất tương tự nucleotit để tăng cường ví dụ như, sự hấp thụ tế bào. Thể liên hợp có thể được liên kết theo cách hóa học vào nucleotit hoặc chất tương tự nucleotit. Thể liên hợp này bao gồm nhưng không giới hạn ở gốc lipid chẳng hạn như gốc cholesterol (Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556), axit cholic (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Let., 1994, 4, 1053-1060), thioete, *ví dụ như*, hexyl-S-tritylthiol (Manoharan et al., Ann. KY. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Let., 1993,

3, 2765-2770), thiocholesterol (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538), chuỗi béo, ví dụ như, 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 như, 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), polyamin hoặc chuỗi polyetylen glycol (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973), hoặc adamantan axit axetic (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654), gốc palmityl (Mishra et al., Biochem. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237), hoặc gốc octadexylamin hoặc hexylamino-cacbonyl-oxycholesterol (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937). Nhiều bằng sáng chế Mỹ hướng dẫn việc điều chế thể liên hợp này và bao gồm, nhưng không giới hạn ở các Bằng 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.

Theo một số phương án, các axit nucleic không tự nhiên còn tạo thành cặp bazơ không tự nhiên. Các nucleotit không tự nhiên để làm ví dụ có khả năng tạo thành cặp bazơ ADN hoặc ARN không tự nhiên (UBP) trong điều kiện *in vivo* bao gồm, nhưng không giới hạn ở, 5SICS, d5SICS, NAM, dNaM, TPT3TP, dTPT3TP, và dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, các 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 chủ mà cấu trúc hoặc vector được bộc lộ ở đây được đưa vào trong được nuôi cấy hoặc duy trì trong môi trường thích hợp sao cho tARN, tARN synthetaza và protein được quan tâm được sản xuất. Môi trường này còn chứa (các) axit amin không tự nhiên sao cho protein được quan tâm kết hợp (các) axit amin không tự nhiên.

Cặp tARN synthetaza/tARN trực giao nạp cho tARN với axit amin không tự nhiên và kết hợp axit amin không tự nhiên này vào chuỗi polypeptit trong đáp ứng với bộ ba này. Các cặp aaRS-tARN để làm ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, cặp aaRS/tARN *Methanococcus jannaschii* (Mj-Tyr), cặp *E. coli* TyrRS (*Ec-Tyr*)/*B. stearothermophilus* tARN_{CUA}, cặp *E. coli* LeuRS (*Ec-Leu*)/*B. stearothermophilus* tARN_{CUA}, và cặp pyrolysyl-tARN.

Polypeptit IL-15 có chứa (các) axit amin không tự nhiên được điều chế bằng cách đưa cấu trúc axit nucleic được mô tả trong bản mô tả này có chứa tARN và

tARN synthetaza và có chứa trình tự axit nucleic được quan tâm với một hoặc nhiều bộ ba trực giao (kết thúc) trong khung vào trong tế bào chủ. Tế bào chủ được phơi nhiễm với dung dịch sinh lý có chứa (các) axit amin không tự nhiên, và sau đó tế bào chủ được duy trì trong điều kiện mà cho phép sự biểu hiện của protein có trình tự mã hóa được quan tâm. (Các) axit amin không tự nhiên được kết hợp vào chuỗi polypeptit trong đáp ứng với bộ ba này. Ví dụ như, một hoặc nhiều axit amin không tự nhiên được kết hợp vào polypeptit IL-15. Theo cách khác hai hoặc nhiều axit amin không tự nhiên có thể được kết hợp vào polypeptit IL-15 ở hai hoặc nhiều vị trí trong protein.

Khi nhiều axit amin không tự nhiên cần được kết hợp vào polypeptit IL-15, cần hiểu rằng nhiều bộ ba phải được kết hợp vào trình tự axit nucleic mã hóa ở các vị trí mong muốn sao cho cặp tARN synthetaza/tARN có thể định hướng sự kết hợp của axit amin không tự nhiên trong đáp ứng với (các) bộ ba này. Axit nucleic mã hóa có ít nhất là 1, 2, 3, 4, hoặc nhiều bộ ba hơn có thể được kết hợp vào trình tự axit nucleic được quan tâm.

Khi mong muốn kết hợp nhiều hơn một loại axit amin không tự nhiên vào trong protein được quan tâm thành protein đơn lẻ, cặp tARN-tARN synthetaza trực giao thứ hai hoặc thêm nữa có thể được sử dụng để kết hợp axit amin không tự nhiên thứ hai hoặc thêm nữa; thích hợp là cặp tARN-tARN synthetaza trực giao thứ hai hoặc thêm nữa này nhận diện bộ ba khác trong axit nucleic mã hóa cho protein được quan tâm sao cho hai hoặc nhiều axit amin không tự nhiên có thể được kết hợp đặc hiệu vào các vị trí được xác định khác nhau trong protein trong bước sản xuất đơn lẻ. Theo các phương án nhất định, do đó, hai hoặc nhiều cặp tARN-tARN synthetaza trực giao có thể được sử dụng.

Khi polypeptit IL-15 kết hợp (các) axit amin không tự nhiên được sản xuất trong tế bào chủ nó có thể được chiết từ đó bằng nhiều kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực, bao gồm sự dung giải enzym, hóa học và/hoặc thẩm thấu và sự phá vỡ vật lý. Polypeptit IL-15 có thể được tinh chế bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn đã biết

trong lĩnh vực chẳng hạn như sắc ký điều chế, tinh chế ái lực hoặc kỹ thuật thích hợp khác bất kỳ.

Tế bào chủ thích hợp có thể bao gồm tế bào vi khuẩn (ví dụ như, *E. coli*), nhưng tế bào chủ thích hợp nhất là tế bào nhân chuẩn, ví dụ như tế bào côn trùng (ví dụ như *Drosophila* chẳng hạn như *Drosophila melanogaster*), tế bào nấm men, tế bào giun tròn (ví dụ như *Caenorhabditis elegans*), tế bào chuột nhắt (ví dụ như *Mus musculus*), hoặc tế bào động vật có vú (chẳng hạn như tế bào trứng chuột đồng Trung Quốc (CHO) hoặc tế bào COS, tế bào 293T người, tế bào HeLa, tế bào NIH 3T3, và tế bào chứng tăng hồng cầu-bạch cầu ở chuột (MEL)) hoặc tế bào người hoặc tế bào nhân chuẩn khác. Các tế bào chủ thích hợp khác là đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực. Thích hợp là, tế bào chủ là tế bào động vật có vú - chẳng hạn như tế bào người hoặc tế bào côn trùng.

Các tế bào chủ thích hợp khác mà có thể được sử dụng chung trong các phương án của sáng chế là các tế bào chủ được đề cập đến trong phần ví dụ thực hiện sáng chế. ADN vector có thể được đưa vào trong tế bào chủ thông qua các kỹ thuật biến nạp hoặc chuyển nạp thông thường. Như dùng trong bản mô tả này, các thuật ngữ "biến nạp" và "chuyển nạp" được dự định dùng để chỉ nhiều kỹ thuật đã được biết rõ để đưa phân tử axit nucleic lạ (ví dụ như, ADN) vào trong tế bào chủ, bao gồm đồng kết tủa canxi photphat hoặc canxi clorua, chuyển nạp qua trung gian DEAE-dextran, chuyển nhiễm liposom, hoặc điện di. Các phương pháp thích hợp để biến nạp hoặc chuyển nạp tế bào chủ đã được biết rõ trong lĩnh vực.

Khi tạo ra các dòng tế bào, thường ưu tiên là dòng tế bào ổn định được điều chế. Để chuyển nạp ổn định tế bào động vật có vú ví dụ như, đã biết rằng, tùy thuộc vào vector biểu hiện và kỹ thuật chuyển nạp được sử dụng, chỉ tỉ lệ nhỏ của tế bào có thể tích hợp ADN lạ vào trong hệ gen của chúng. Để nhận diện và chọn lọc các thể tích hợp này, gen mà mã hóa cho chỉ thị chọn lọc (ví dụ như, tính kháng với chất kháng sinh) thường được đưa vào trong tế bào chủ cùng với gen được quan tâm. Các chỉ thị chọn lọc được ưu tiên bao gồm các chỉ thị mà mang lại tính kháng đối với thuốc, chẳng hạn như G418, hygromycin, hoặc metotrexat.

Phân tử axit nucleic mã hóa cho chỉ thị chọn lọc có thể được đưa vào trong tế bào chủ trên cùng vector hoặc có thể được đưa vào trên vector riêng rẽ. Tế bào đã được chuyển nạp ổn định với phân tử axit nucleic đã được đưa vào có thể được nhận diện bằng sự chọn lọc thuốc (ví dụ như, tế bào mà đã kết hợp gen chỉ thị chọn lọc sẽ sống sót, trong khi các tế bào khác chết).

Theo một phương án, các cấu trúc được mô tả ở đây được tích hợp vào trong hệ gen của tế bào chủ. Ưu điểm của sự tích hợp ổn định là đạt được tính đồng đều giữa các tế bào hoặc các dòng riêng lẻ. Ưu điểm khác là có thể thực hiện sự chọn lọc của các nguồn sản xuất tốt nhất. Theo đó, điều mong muốn là tạo ra các dòng tế bào ổn định. Theo phương án khác, các cấu trúc được mô tả ở đây được chuyển nạp vào trong tế bào chủ. Ưu điểm của việc chuyển nạp các cấu trúc vào trong tế bào chủ là năng suất protein có thể được tối đa hóa. Theo một khía cạnh, sáng chế mô tả tế bào có chứa cấu trúc axit nucleic hoặc vector được mô tả trong bản mô tả này.

Dược phẩm và chế phẩm

Theo một số phương án, dược phẩm và chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này được dùng cho đối tượng bằng nhiều đường dùng, bao gồm nhưng không giới hạn ở, các đường dùng ngoài đường tiêu hóa, qua đường miệng, hoặc qua da. Trong một số trường hợp, việc dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm việc dùng trong tĩnh mạch, dưới da, trong cơ, trong não, trong mũi, trong động mạch, trong khớp, trong da, trong thủy tinh thể, truyền trong xương, trong màng bụng, hoặc nội tủy mạc. Trong một số trường hợp, dược phẩm được tạo chế phẩm để dùng cục bộ. Trong các trường hợp khác, dược phẩm được tạo chế phẩm để dùng toàn thân.

Theo một số phương án, chế phẩm được bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dịch phân tán lỏng trong nước, dịch phân tán tự nhũ hóa, dịch phân tán liposom, sol khí, chế phẩm giải phóng tức thì, chế phẩm giải phóng có kiểm soát, chế phẩm giải phóng trễ, chế phẩm giải phóng kéo dài, chế phẩm giải phóng theo nhịp, và chế phẩm giải phóng tức thì và có kiểm soát hỗn hợp.

Theo một số phương án, chế phẩm được bao gồm chất mang hoặc nguyên liệu chất mang được chọn trên cơ sở sự tương thích với dược phẩm được bọc lộ ở đây, và các tính chất biên dạng giải phóng của dạng liều lượng mong muốn. Các nguyên liệu chất mang để làm ví dụ bao gồm, ví dụ như, chất gắn kết, chất hoạt động bề mặt, chất làm tan, chất làm ổn định, chất làm trơn, chất làm ẩm, chất pha loãng, và chất tương tự. Nguyên liệu chất mang tương thích với dược phẩm bao gồm, nhưng không giới hạn ở, acacia, gelatin, silic đioxit keo, canxi glycerophosphat, canxi lactat, maltodextrin, glycerin, magie silicat, polyvinylpyrrolidon (PVP), cholesterol, cholesterol este, natri caseinat, lecithin đậu tương, axit taurocholic, phosphatidylcholin, natri clorua, tricanxi photphat, đikali photphat, xenluloza và thể liên hợp xenluloza, đường natri stearyl lactylat, carrageenan, monoglycerit, diglycerit, tinh bột được gelatin hóa sơ bộ, và dạng tương tự. Xem, ví dụ như, *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. and 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 tạo chế phẩm dưới dạng liposom miễn dịch, mà có chứa một số lượng các thể liên hợp IL-15 liên kết trực tiếp hoặc gián tiếp với lớp lipid kép của liposom. Các lipid để làm ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các axit béo; phospholipit; sterol chẳng hạn như cholesterol; sphingolipit chẳng hạn như sphingomyelin; glycosphingolipit chẳng hạn như gangliosit, globosit, và cerebrosit; amin hoạt động bề mặt chẳng hạn 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. Các phospholipit ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, axit phosphatidic ("PA"), phosphatidylcholin ("PC"), phosphatidylglycerol ("PG"), phosphatidyletanolamin ("PE"), phosphatidylinositol ("PI"), và phosphatidylserin ("PS"), sphingomyelin

(bao gồm sphingomyelin não), lexithin, lysolexithin, lysophosphatidyletanolamin, cerebrosit, diarachidoylphosphatidylcholin ("DAPC"), đidecanoyl-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"), đidecanoyl-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"), đidecanoyl-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"), đidecanoyl-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"), đidecanoyl-L-alpha-phosphatidylserin ("DDPS"), dielaidoylphosphatidylserin ("DEPS"), dilauroylphosphatidylserin ("DLPS"), dilinoleoylphosphatidylserin, dimyristoylphosphatidylserin

("DMPS"), dioleoylphosphatidylserin ("DOPS"), dipalmitoylphosphatidylserin ("DPPS"), distearoylphosphatidylserin ("DSPS"), 1-palmitoyl-2-oleoylphosphatidylserin ("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.

Theo một số phương án, chế phẩm dược còn bao gồm chất điều chỉnh pH hoặc chất đệm mà bao gồm các axit chẳng hạn như axit axetic, axit boric, axit xitric, axit lactic, axit phosphoric và axit clohydric, các bazơ chẳng hạn như natri hydroxit, natri photphat, natri borat, natri xitrat, natri axetat, natri lactat và tris-hydroxymethylaminometan, và các chất đệm chẳng hạn như xitrat/dextroza, natri bicarbonat và amoni clorua. Các axit, bazơ và chất đệm này được bao gồm ở lượng cần để duy trì pH của dược phẩm trong phạm vi chấp nhận được.

Trong một số trường hợp, chế phẩm dược bao gồm một hoặc nhiều muối ở lượng cần để đưa độ thẩm thấu của dược phẩm vào phạm vi chấp nhận được. Các muối này bao gồm các muối có các cation natri, kali hoặc amoni và các anion clorua, xitrat, ascorbat, borat, photphat, bicarbonat, sulfat, thiosulfat hoặc bisulfít, muối thích hợp bao gồm natri clorua, kali clorua, natri thiosulfat, natri bisulfít và amoni sulfat.

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

Theo một số phương án, chế phẩm dược còn bao gồm chất pha loãng mà được sử dụng để làm ổn định hợp chất bởi vì chúng có thể tạo ra môi trường ổn định hơn. Muối hòa tan trong dung dịch đệm (mà cũng có thể tạo ra sự kiểm soát hoặc sự duy trì độ pH) được sử dụng làm chất pha loãng trong lĩnh vực, bao gồm, nhưng không giới hạn ở dung dịch nước muối đệm photphat.

Chất làm ổn định bao gồm hợp chất chẳng hạn như chất chống oxy hóa bất kỳ, chất đệm, axit, chất bảo quản và chất tương tự. Các chất làm ổn định để làm ví dụ bao gồm L-arginin hydroclorua, trometamin, albumin (người), axit xitric, rượu benzyl, phenol, đinatri biphosphat dehydrat, propylen glycol, metacresol hoặc m-cresol, kẽm axetat, polysorbate-20 hoặc Tween® 20, hoặc trometamol.

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

Phác đồ trị liệu

Theo một số phương án, dược phẩm được mô tả 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, hai ngày một lần, năm ngày một tuần, một lần một tuần, hai tuần một lần, hai tuần mỗi tháng, ba tuần mỗi tháng, một lần một tháng, hai lần một tháng, ba lần mỗi tháng, hoặc nhiều hơn. Dược phẩm được dùng trong ít nhất là 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 lâu hơn.

Trong trường hợp mà tình trạng của bệnh nhân cải thiện, theo sự suy xét của bác sĩ việc dùng dược phẩm được thực hiện liên tục, theo cách khác, liều lượng của dược phẩm được dùng được tạm thời giảm đi hoặc tạm thời ngừng lại trong khoảng thời gian nhất định (tức là, "thời gian tạm nghỉ thuốc"). Theo một số phương án, khoảng thời gian tạm nghỉ thuốc thay đổi từ 2 ngày đến 1 năm, bao

gồm chỉ để làm 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. Sự giảm liều lượng trong thời gian tạm nghỉ thuốc là từ 10% đến 100%, bao gồm, chỉ để làm ví dụ, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, hoặc 100%.

Khi sự cải thiện của tình trạng của bệnh nhân xảy ra, liều lượng duy trì được dùng nếu cần. Tiếp đó, liều lượng hoặc tần suất dùng, hoặc cả hai, có thể được giảm đi, dưới dạng hàm số của các triệu chứng, đến mức mà ở đó bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh đã được cải thiện được giữ lại.

Theo một số phương án, lượng của chất nhất định mà tương ứng với lượng thay đổi tùy thuộc vào các yếu tố chẳng hạn như hợp chất cụ thể, mức độ nghiêm trọng của bệnh, đặc điểm nhận dạng (ví dụ như, khối lượng) của đối tượng hoặc vật chủ cần điều trị, tuy nhiên thường được xác định theo phương thức đã biết trong lĩnh vực theo hoàn cảnh cụ thể xung quanh trường hợp này, bao gồm, ví dụ như, chất cụ thể được dùng, đường dùng, và đối tượng hoặc vật chủ được điều trị. Theo một số phương án, liều lượng mong muốn được trình bày thuận tiện trong liều đơn lẻ hoặc dưới dạng các liều được chia nhỏ được dùng đồng thời (hoặc trong khoảng thời gian ngắn) hoặc ở sự cách quãng thích hợp, ví dụ như hai, ba, bốn hoặc nhiều liều nhỏ hơn mỗi ngày.

Các khoảng giá trị nêu trên chỉ là gợi ý, vì số lượng biến số liên quan đến phác đồ điều trị cụ thể là lớn, và độ lệch đáng kể từ các giá trị khuyến nghị này không phải là hiếm gặp. Các liều lượng này được thay đổi tùy thuộc vào số lượng của biến số, không giới hạn ở hoạt tính của hợp chất được sử dụng, bệnh hoặc tình trạng bệnh cần điều trị, phương thức sử dụng, các yêu cầu của đối tượng cụ thể, mức độ nghiêm trọng của bệnh hoặc tình trạng bệnh được điều trị, và đánh giá của bác sĩ.

Theo một số phương án, sự gây độc và hiệu quả trị liệu của phác đồ trị liệu này được xác định bằng các quy trình được tiêu chuẩn trong nuôi cấy tế bào hoặc

động vật thí nghiệm, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sự xác định của LD50 (liều lượng gây chết 50% quần thể) và ED50 (liều lượng hữu hiệu để điều trị ở 50% quần thể). Tỷ lệ liều lượng giữa tác dụng gây độc và tác dụng trị liệu là chỉ số trị liệu và nó được biểu diễn dưới dạng tỷ lệ giữa LD50 và ED50. Hợp chất thể hiện chỉ số trị liệu cao được ưu tiên. Dữ liệu thu được từ thử nghiệm nuôi cấy tế bào và nghiên cứu động vật được sử dụng trong việc tạo chế phẩm khoảng liều lượng để sử dụng ở người. Liều lượng của hợp chất này tốt hơn là nằm trong khoảng nồng độ tuần hoàn mà bao gồm ED50 với sự gây độc tối thiểu. Liều lượng thay đổi trong khoảng giá trị này tùy thuộc vào dạng liều lượng được dùng và đường dùng được sử dụng.

Bộ kit/vật phẩm sản xuất

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ bộ kit và vật phẩm sản xuất để sử dụng với một hoặc nhiều phương pháp và được phẩm được mô tả trong bản mô tả này. Bộ kit này bao gồm chất mang, bao gói, hoặc vật chứa mà được chia ngăn để đựng một hoặc nhiều vật chứa chẳng hạn như lọ, ống, và dạng tương tự, mỗi vật chứa này có chứa một trong các thành phần riêng rẽ để được sử dụng trong phương pháp được mô tả trong bản mô tả này. Vật chứa thích hợp bao gồm, ví dụ như, chai, lọ, xy lanh, và ống nghiệm. Theo một phương án, vật chứa được tạo thành từ nhiều nguyên liệu chẳng hạn như thủy tinh hoặc chất dẻo.

Vật phẩm sản xuất được đề xuất trong bản mô tả này chứa nguyên liệu bao gói. Các ví dụ về nguyên liệu bao gói được phẩm bao gồm, nhưng không giới hạn ở, gói phòng, chai, ống, túi, vật chứa, chai, và nguyên liệu bao gói bất kỳ thích hợp cho chế phẩm được chọn và phương thức dùng và điều trị dự kiến.

Ví dụ như, (các) vật chứa bao gồm một hoặc nhiều polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15 được bộc lộ ở đây, và tùy ý một hoặc nhiều tá được phẩm được mô tả trong bản mô tả này để làm thuận lợi cho sự phân phối polypeptit IL-15 hoặc thể liên hợp IL-15. Bộ kit này tùy ý còn bao gồm mô tả nhận dạng hoặc nhãn hoặc hướng dẫn sử dụng liên quan đến việc sử dụng nó trong phương pháp được mô tả trong bản mô tả này.

Bộ kit thường bao gồm nhãn trình bày nội dung và/hoặc hướng dẫn sử dụng, và vật gài bao gói với hướng dẫn sử dụng. Bộ hướng dẫn sử dụng cũng thường được bao gồm.

Theo một phương án, nhãn ở trên hoặc kèm theo vật chứa. Theo một phương án, nhãn ở trên vật chứa khi chữ cái, số hoặc các ký tự khác tạo thành nhãn được gắn, được đúc hoặc được khắc vào bản thân vật chứa, nhãn được kết hợp vào vật chứa khi nó có mặt ở trong đồ đựng hoặc vật mang mà cũng giữ vật chứa, ví dụ như, dưới dạng vật gài bao gói. Theo một phương án, nhãn được sử dụng để chỉ ra rằng các chất chứa bên trong là để sử dụng cho ứng dụng trị liệu cụ thể. Nhãn cũng chỉ ra hướng dẫn để sử dụng các chất chứa bên trong, chẳng hạn như trong phương pháp được mô tả trong bản mô tả này.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm được trình bày trong gói hoặc dụng cụ pha chế mà chứa một hoặc nhiều dạng liều đơn vị chứa hợp chất được đề xuất trong bản mô tả này. Gói, ví dụ như, chứa lá kim loại hoặc lá chất dẻo, chẳng hạn như gói phòng. Theo một phương án, gói hoặc dụng cụ pha chế được kèm theo với hướng dẫn sử dụng. Theo một phương án, gói hoặc bộ pha chế cũng được kèm theo với thông báo về vật chứa ở dạng được quy định bởi cơ quan chính quyền quản lý việc sản xuất, sử dụng, hoặc mua bán dược phẩm, thông báo này phản ánh sự chấp thuận của cơ quan này về dạng của thuốc để dùng cho người hoặc thú y. Thông báo này, ví dụ như, là sự gắn nhãn được chấp thuận bởi Cơ Quan Quản Lý Thực Phẩm và Dược Phẩm Hoa Kỳ đối với thuốc, hoặc vật gài sản phẩm được chấp thuận. Theo một phương án, dược phẩm chứa hợp chất được đề xuất trong bản mô tả này được tạo chế phẩm trong chất mang dược tương thích cũng được điều chế, được cho vào vật chứa phù hợp, và được gắn nhãn để điều trị tình trạng bệnh được chỉ định.

Thuật ngữ nhất định

Trừ khi có chỉ dẫn khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học dùng trong bản mô tả này có cùng nghĩa như thường được hiểu bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực mà đối tượng được yêu cầu bảo hộ này thuộc về. Cần

hiểu rằng phần mô tả chi tiết sáng chế chỉ để làm ví dụ và giải thích và không làm giới hạn đối tượng bất kỳ được yêu cầu bảo hộ. Trong đơn này, việc sử dụng danh từ số ít bao gồm nghĩa số nhiều trừ khi có chỉ dẫn cụ thể khác. Cần phải lưu ý rằng, như dùng trong bản mô tả này, các dạng số ít bao gồm việc đề cập đến số nhiều trừ khi ngữ cảnh rõ ràng chỉ ra điều khác. Trong đơn này, việc sử dụng "hoặc" có nghĩa là "và/hoặc" trừ khi được quy định khác. Ngoài ra, việc sử dụng thuật ngữ "bao gồm" cũng như là các dạng khác, chẳng hạn như "việc bao gồm", "sự bao gồm," và "được bao gồm," không làm giới hạn sáng chế.

Mặc dù các dấu hiệu khác nhau của sáng chế có thể được mô tả trong ngữ cảnh của phương án đơn lẻ, các dấu hiệu này cũng có thể được nêu một cách riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp thích hợp bất kỳ. Ngược lại, mặc dù sáng chế có thể được mô tả trong bản mô tả này trong ngữ cảnh của các phương án riêng rẽ để cho rõ ràng, sáng chế cũng có thể được thực hiện trong phương án đơn lẻ.

Trong bản mô tả này việc đề cập đến "một số phương án", "phương án", "một phương án" hoặc "phương án khác" có nghĩa là dấu hiệu, cấu trúc, hoặc đặc điểm cụ thể được mô tả liên quan đến các phương án này được bao gồm trong ít nhất một số phương án, nhưng không nhất thiết là tất cả các phương án, của sáng chế.

Như dùng trong bản mô tả này, khoảng giá trị và lượng có thể được diễn đạt dưới dạng "khoảng" giá trị hoặc khoảng giá trị cụ thể. Khoảng còn bao gồm lượng chính xác. Vì vậy "khoảng 5 μ l" có nghĩa là "khoảng 5 μ l" và cũng có nghĩa là "5 μ l." Nhìn chung, thuật ngữ "khoảng" bao gồm lượng mà được mong đợi là nằm trong sai số thí nghiệm.

Các đề mục được sử dụng trong bản mô tả này chỉ nhằm mục đích tổ chức và không được hiểu là làm giới hạn đối tượng được mô tả.

Như dùng trong bản mô tả này, các thuật ngữ "(các) cá thể", "(các) đối tượng" và "(các) bệnh nhân" có 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. Không có thuật ngữ nào trong số các thuật ngữ này đòi hỏi

hoặc bị giới hạn ở tình huống đặc trưng bởi sự giám sát (ví dụ như liên tục hoặc từng đợt) của người chăm sóc sức khỏe (ví dụ như bác sĩ, y tá đã đăng ký, người thực hành nghiệp vụ y tá, trợ lý bác sĩ, hộ lý hoặc nhân viên nhà tế bần).

Như dùng trong bản mô tả này, các thuật ngữ "đáng kể" và "một cách đáng kể" khi đề cập đến thụ thể liên kết có nghĩa là sự thay đổi đủ để ảnh hưởng đến sự liên kết của polypeptit IL-15 với thụ thể đích. Trong một số trường hợp, thuật ngữ dùng để chỉ sự thay đổi bằng ít nhất là 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, thuật ngữ này có nghĩa là sự thay đổi bằng ít nhất là 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 lớn hơn.

Trong một số trường hợp, thuật ngữ "một cách đáng kể" khi đề cập đến sự hoạt hóa của một hoặc nhiều quần thể tế bào thông qua phức hợp truyền tín hiệu xytokin có 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 dưới dạng hiệu lực truyền tín hiệu thụ thể. Trong các trường hợp này, giá trị EC50 có thể được cung cấp. Trong các trường hợp khác, giá trị ED50 có thể được cung cấp. Trong các trường hợp khác, nồng độ hoặc liều lượng của xytokin có thể được cung cấp.

Như dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "hiệu lực" dùng để chỉ lượng của xytokin (ví dụ như, polypeptit IL-15) cần để tạo ra tác dụng đích. Trong một số trường hợp, thuật ngữ "hiệu lực" dùng để chỉ lượng xytokin (ví dụ như, polypeptit IL-15) cần để hoạt hóa thụ thể xytokin đích (ví dụ như, thụ thể IL-15). Trong các trường hợp khác, thuật ngữ "hiệu lực" dùng để chỉ lượng xytokin (ví dụ như, polypeptit IL-15) cần để hoạt hóa quần thể tế bào đích. Trong một số trường hợp, hiệu lực được đo dưới dạng ED50 (Liều Hữu Hiệu 50), hoặc liều lượng cần để tạo ra 50% của tác dụng lớn nhất. Trong các trường hợp khác, hiệu lực được đo dưới dạng EC50 (Nồng Độ Hữu Hiệu 50), hoặc nồng độ cần để tạo ra tác dụng đích ở 50% quần thể.

Như dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "(các) tế bào miễn dịch thâm nhập khối u" dùng để chỉ tế bào miễn dịch mà đã thâm nhập vào trong khu vực có chứa

tế bào khối u (ví dụ như, trong vi môi trường khối u). Trong một số trường hợp, tế bào miễn dịch thâm nhập khối u liên quan đến sự phá hủy tế bào khối u, sự giảm đi của sự tăng sinh tế bào khối u, sự giảm đi của tải trọng khối u, hoặc dạng kết hợp của chúng. Trong một số trường hợp, tế bào miễn dịch thâm nhập khối u có chứa tế bào lympho thâm nhập khối u (TIL). Trong một số trường hợp, tế bào miễn dịch thâm nhập khối u có chứa tế bào T, tế bào B, tế bào giết tự nhiên, đại thực bào, bạch cầu trung tính, tế bào phân nhánh, dưỡng bào, bạch cầu ưa axit hoặc bạch cầu ưa bazơ. Trong một số trường hợp, tế bào miễn dịch thâm nhập khối u có chứa tế bào T CD4+ hoặc CD8+.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ này được nêu ra chỉ nhằm mục đích minh họa và không làm giới hạn phạm vi của các yêu cầu bảo hộ được đề xuất trong bản mô tả này.

VÍ DỤ 1.

Sự biểu hiện của polypeptit IL-15 đã được cải biến

Polypeptit IL-16 đã được cải biến được phát triển ở nhiệt độ 37°C, 250 vòng/phút, và sự cảm ứng 5 giờ. Thành phần môi trường như được minh họa trong Bảng 2.

Bảng 2.

Tên	Hợp phần
Môi trường sinh trưởng	2xYT
Cho 1 l: Viên 2x 2xYT, kali photphat monobazơ, kali photphat đibazơ	30,8 mM Kali photphat đibazơ 19,2 mM Kali photphat monobazơ
Nồi hấp trên chu trình lỏng để tiệt trùng	100 ug/ml Ampixilin 5 ug/ml Chloramphenicol 50 ug/ml Zeocin

	37,5 uM dTPT3TP
	150 uM dNAMTP

Khi môi trường nuôi cấy biểu hiện đạt đến OD₆₀₀ 0,85-0,9, môi trường nuôi cấy được tải trước với NaMTP (ở nồng độ cuối cùng bằng 250 uM), TPT3TP (ở nồng độ cuối cùng bằng 25 uM), và azido-lysine (ở nồng độ cuối cùng bằng 15 mM). Khoảng 15-20 phút sau khi tải trước với ribonucleotit và axit amin, IPTG được bổ sung và protein được biểu hiện trong thời gian khoảng 5 giờ.

Thể vùi

Khi thu gom viên tế bào, các viên được xử lý thêm đối với thể vùi. Một cách vắn tắt, viên tế bào 1 l được tái tạo huyền phù trong 10 ml chất đệm dung giải (20 mM Tris-HCl, độ pH 8,0; 150 mM NaCl; 1 mM DTT; và Chất ức chế proteaza (1 viên/50 ml)). Sau khi tái tạo huyền phù, thể tích của viên 1 l được tăng lên đến 45 ml bằng chất đệm dung giải và được chạy qua kênh dẫn vi lưu trong 2x. Sau đó mẫu được chuyển vào ống ly tâm 50 ml và ly tâm ở tốc độ 16k vòng/phút trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 4°C. Tiếp theo, viên được tái tạo huyền phù viên trong 5 ml chất đệm dung giải và tổng thể tích được tăng lên đến 30 ml bằng chất đệm dung giải. Khoảng 10% Triton X-100 được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 0,5 %. Sau đó dung dịch được ly tâm ở tốc độ 16k vòng/phút trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 4°C, và sau đó viên được thu gom và được rửa 3x bằng 30 ml chất đệm dung giải. Xy lạnh 5 ml với kim tiêm được dùng để tái tạo huyền phù đầy đủ với mỗi lần rửa. Sau lần quay cuối cùng, gạn dịch nổi bề mặt và viên được kết đông nhanh để lưu trữ ở nhiệt độ -80°C.

Làm tan và tái cuộn gấp

Khoảng 5 ml chất đệm làm tan được bổ sung vào viên thể vùi. Sau khi tái tạo huyền phù, thể tích được tăng lên đến 30 ml trong chất đệm làm tan. Tiếp theo, mẫu được ủ ở nhiệt độ 4°C trong thời gian 30-60 phút. Sau đó, mẫu được chuyển vào 2 x ống ly tâm 50 ml (15 ml/ống) và 15 ml chất đệm pha loãng được bổ sung

vào mỗi ống. Sau đó mẫu được thẩm tách tiếp đó là trong chất đệm A1 qua đệm ở nhiệt độ 4°C, sau đó là chất đệm thẩm tách A2, chất đệm thẩm tách A3, chất đệm thẩm tách A4, và chất đệm thẩm tách A5. Sau khi thẩm tách, mẫu được ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ 4°C và cô đến khoảng 5 ml.

Bảng 3 minh họa chất đệm làm tan.

Tên	Hợp phần
Chất đệm làm tan	6 M Guanidin-HCl 20 mM Tris-HCl, độ pH 8,0 1 mM DTT 20 mM Imidazol
Chất đệm pha loãng	3 M Guanidin-HCl 20 mM Tris-HCl, độ pH 8,0 1 mM DTT 20 mM Imidazol
Chất đệm thẩm tách A1	2 M Guanidin-HCl 20 mM Tris-HCl, độ pH 8,5 150 mM NaCl 1 mM GSH (glutathion đã khử) 0,1 mM GSSG (glutathion đã oxy hóa) 0,4 M L-Arginin
Chất đệm thẩm tách A2	0,75 M Guanidin-HCl 20 mM Tris-HCl, độ pH 8,5

	150 mM NaCl 1 mM GSH (glutathion đã khử) 0,1 mM GSSG (glutathion đã oxy hóa) 0,4 M L-Arginin
Chất đệm thẩm tách A3	20 mM Tris-HCl, độ pH 8,5 150 mM NaCl 1 mM GSH (glutathion đã khử) 0,1 mM GSSG (glutathion đã oxy hóa) 0,1 M L-Arginin
Chất đệm thẩm tách A4	20 mM Tris-HCl, độ pH 8,5 150 mM NaCl
Chất đệm thẩm tách A5	20 mM Tris-HCl, độ pH 7,5 12,5 mM NaCl

Tinh chế

Mẫu được tinh chế trước hết là trên cột lọc GE HiLoad 16/600 Superdex 200 pg gel với 1x chất đệm rửa giải PBS, sau đó là cột trao đổi anion GE HiTrapQ để loại bỏ PEG tự do, và sau đó sắc ký pha đảo với sự rửa giải gradien của 30%-70% chất đệm rửa giải trong 20 thể tích cột.

Bảng 4 minh họa chất đệm được sử dụng cho sắc ký trao đổi anion. Bảng 5 minh họa chất đệm được sử dụng cho sắc ký pha đảo.

Bảng 4

Tên	Hợp phần
-----	----------

Chất đệm chạy	20 mM Tris-HCl, độ pH 7,5
Chất đệm rửa giải	20 mM Tris-HCl, độ pH 7,5 500 mM NaCl

Bảng 5

Tên	Hợp phần
Chất đệm chạy	4,5% Axetonitril 0,043% TFA
Chất đệm rửa giải	90% Axetonitril 0,028% TFA

Hình 4 thể hiện lần chạy để làm ví dụ của sắc ký trao đổi anion.

Hình 5 thể hiện lần chạy để làm ví dụ của sắc ký pha đảo.

VÍ DỤ 2

Sàng lọc dựa trên tế bào để nhận diện hợp chất IL-15 được pegyl hóa với sự ăn khớp IL-15R α hoặc không có sự ăn khớp IL-15R α .

Dữ liệu cấu trúc của phức hợp truyền tín hiệu IL-15/ thụ thể trime dị loại (PDB: 4GS7) được sử dụng để hướng dẫn thiết kế của vị trí pegyl hóa nAA để giữ lại sự tương tác tự nhiên với thụ thể trime dị loại hoặc phá hủy đặc hiệu sự tương tác của IL-15 và tiểu đơn vị α thụ thể IL-15 (IL-15R α). Thử nghiệm hợp IL-15 để làm ví dụ được đưa đi phân tích chức năng: S18, A23, T24, L25, Y26, E46, V49, L52, E53, N77, S83, E89, E90. Thử nghiệm hợp IL-15 được biểu hiện dưới dạng thể vùi trong *E. coli*, được tinh chế và được tái cuộn gấp bằng cách sử dụng quy trình tiêu chuẩn trước khi pegyl hóa đặc hiệu vị trí sản phẩm IL-15 bằng cách sử dụng

dụng hóa học click không chứa đồng qua trung gian DBCO để gắn các gốc mPEG cộng hóa trị, ổn định vào AzK. Thử nghiệm liên hợp IL-15 được sàng lọc về hoạt tính chức năng bằng cách sử dụng thử nghiệm tăng sinh CTLL2 đo màu. CTLL2 là dòng phụ của tế bào T chuột nhất mà biểu hiện cả ba tiểu đơn vị thụ thể IL-15 và cần IL-2/IL-15 để sinh trưởng. Các thí nghiệm sơ bộ được thực hiện để xác định mật độ tế bào tối ưu, khoảng giá trị của chuẩn IL-15 hoặc thử nghiệm liên hợp IL-15 đối với đường cong đáp ứng liều lượng tương xứng cũng như là thời gian ủ. IL-15 người tái tổ hợp nội bộ (rHuIL-15) được so sánh với chuẩn IL-15 thương mại (R&D, thư mục # 247-IL). Trong điều kiện xác định, EC50 đối với chuẩn IL-15 thương mại là khoảng 10,7 pM và 9,7 pM đối với rHuIL-15 nội bộ.

Bảng 6 thể hiện dữ liệu EC50 đối với thử nghiệm liên hợp IL-15 đã PEGyl hóa mạch thẳng 30 kDa được thiết kế để giữ lại sự tương tác tự nhiên với thụ thể IL-15 trimeric. Số lượng giá trị được bao gồm trong giá trị trung bình được chỉ ra ở giữa dấu ngoặc. Kết quả cho thấy rằng sự liên hợp sinh học với PEG 30 kDa không gây trở ngại cho hiệu lực ở thụ thể dạng trimeric với EC50 bị giảm đi nhỏ hơn 5 lần so với IL-15 tự nhiên.

Bảng 6

Vị trí	EC50 trung bình (pg/ml)	EC50 trung bình (pM)	Tỉ lệ EC50 IL-15 PEG30/rHuIL-15
R&D IL-15	136,80±36,84 (6)	10,7	
rHuIL-15	124,62±73,75 (6)	9,7	
S18 PEG30	414,10 (2)	32,1	3,3
S83 PEG30	199,80 (2)	15,5	1,6
N77 PEG30	236,05 (2)	18,3	1,9

Bảng 7 thể hiện dữ liệu EC50 đối với thể liên hợp IL-15 đã PEGyl hóa mạch thẳng 30 kDa và mạch nhánh 40 kDa được thiết kế để phá hủy đặc hiệu sự tương tác của IL-15 và tiểu đơn vị α thụ thể IL-15 (IL-15R α). Số lượng giá trị được bao gồm trong giá trị trung bình được chỉ ra ở giữa dấu ngoặc. Kết quả cho thấy rằng sự liên hợp sinh học với PEG 30 kDa làm giảm hiệu lực ở thụ thể dạng trime so với IL-15 tự nhiên. Sự liên hợp sinh học của PEG mạch thẳng 30 kDa hoặc PEG mạch nhánh 40 kDa với V49 làm giảm nhẹ hiệu lực với thụ thể dạng trime so với rHuIL-15 (~6-8 lần, lần lượt 814,4 pg/ml lên 1.029 pg/ml so với 124,62 pg/ml). Ngoài ra, hiệu lực của L25 PEG39 được giảm mạnh hơn so với rHuIL-15 (~54 lần, lần lượt 6.827 pg/ml so với 124,62 pg/ml).

Bảng 7

Vị trí	EC50 trung bình (pg/ml)	EC50 trung bình (pM)	Tỉ lệ EC50 IL-15 PEG/rHuIL-15
R&D IL-15	136,80 $\pm$ 36,84 (6)	10,7	
rHuIL-15	124,62 $\pm$ 73,75 (6)	9,7	1
L25 PEG30	6.827 (2)	529,0	54
V49 PEG30	814,45 (2)	63,1	6
V49 PEG(40b)	1.019	79,0	8
E46 PEG30	65.893	5.106	526
E53 PEG30	22.766	1.764	182

Hình 6 minh họa giá trị EC50 đối với thể liên hợp IL-15 để làm ví dụ với hiệu lực tự nhiên trong thử nghiệm tăng sinh CTLL2. Kết quả được dựng đồ thị dưới dạng tỉ lệ phần trăm của đáp ứng.

Hình 7 minh họa giá trị EC50 đối với thể liên hợp IL-15 để làm ví dụ. Như thể hiện ở đây, sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí góp phần vào dược lý in vitro. Kết quả được dựng đồ thị dưới dạng tỉ lệ phần trăm của đáp ứng.

Hình 8 minh họa giá trị EC50 đối với IL-15 để làm ví dụ được liên hợp với các kích thước PEG khác nhau. Kết quả được dựng đồ thị dưới dạng tỉ lệ phần trăm của đáp ứng.

VÍ DỤ 3

Sự tương tác sinh hóa của IL-15 đã PEGyl hóa với tiểu đơn vị thụ thể IL-15 người

Động học của sự tương tác hợp chất IL-15 được PEGyl hóa với tiểu đơn vị thụ thể IL-15 người được đo bằng cách sử dụng Cộng Hưởng Plasmon Bề Mặt (SPR) ở Biofizik (San Diego, CA). Đối với các nghiên cứu này, các miền ngoại bào IL-15 R α (Sino Biological #18366-H02H, R&D # 7194-IR) và IL-2 R β (Sino Biological #10696-H02H) dung hợp Fc IgG1 người được bắt giữ trên bề mặt của chip cảm biến CM3 hoặc CM4 được phủ Protein A Biacore. Protein A được ghép nối bằng cách ghép nối amin ở tỉ trọng bằng xấp xỉ 1500 RU trên chip CM3 ở nhiệt độ 25 °C. Xấp xỉ 400 RU của thể dung hợp IL15R α -Fc được bắt giữ trên đó bằng cách sử dụng thời gian tiếp xúc 4 phút sau đó là thời gian đợi 20 phút trước khi phun chất phân tích. Sự tái tạo của bề mặt giữa các lần phun được thực hiện bằng cách sử dụng axit phosphoric 100 mM. Thụ thể mới được bắt giữ mỗi chu kỳ sau khi tái tạo. Các bề mặt này được dò trong ba bản sao ở nhiệt độ 25 °C. Trong thí nghiệm thông thường 10 liều lượng của chất phân tích với nồng độ cao nhất bằng 500 nM được phun. Trong một số trường hợp, khoảng giá trị nồng độ cao là cần thiết và trong các trường hợp khác liều lượng cao hơn được bỏ qua khỏi phân tích.

Do sự liên kết yếu hơn của hợp chất với IL2R β , sự tái tạo là không cần thiết và nghiên cứu liên kết trực giao được tiến hành mà không có bước tái tạo. Xấp xỉ 600 -700 RU của thể dung hợp IL2R β Fc được bắt giữ trên đó bằng cách sử dụng thời gian tiếp xúc 1-2 phút của độ pha loãng 1/100 của dịch dự trữ trong chất đệm chạy. Đối với hợp chất thử nghiệm 10 liều lượng của chất phân tích với nồng độ cao nhất bằng 1000 nM được phun. Dữ liệu thô được phân tích bằng cách sử dụng chương trình Scrubber2 bằng cách sử dụng quy trình tham chiếu kép trong đó tín hiệu hợp chất được hiệu chỉnh đối với bề mặt trống và sự phun chất đệm trên bề mặt protein. Xem các Bảng 8 -10.

Bảng 8. Các thông số động học đối với các hợp chất đã PEGyl hóa rHuIL-15 và IL-15 với các bề mặt tiêu đơn vị IL-15R α .

Hợp chất	$k_{on}(M^{-1}s^{-1})$	$k_{off}(s^{-1})$	K_D (nM)
rHuIL-15	2,409E+05	5,105E-04	0,2117
	2,450E+06	4,763E-04	0,1943
	1,988E+06	4,184E-04	0,2103
IL15 N77PEG30	2,249E+05	4,146E-04	1,845
	2,404E+05	3,613E-04	1,502
	2,206E+05	2,926E-04	1,328
IL15 S83PEG30	3,669E+05	2,137E-04	0,5833
	3,543E+05	2,560E-04	0,7227
	3,215E+05	1,905E-04	0,5909

Bảng 9. Các thông số động học đối với các hợp chất được pegyl hóa rHuIL-15 và IL-15 với sự liên kết giảm với bề mặt tiểu đơn vị IL-15R α .

Hợp chất	$k_{on}(M^{-1}s^{-1})$	$k_{off}(s^{-1})$	K_D (nM)
rHuIL-15	2,409E+05	5,105E-04	0,2117
	2,450E+06	4,763E-04	0,1943
	1,988E+06	4,184E-04	0,2103
IL15 L25PEG30	5,07E+03	1,19E-03	233,6
	3990	1,04E-03	260,9
	4930	1,22E-03	248,1
IL15 E46PEG30	3,83E+03	4,01E-04	104,6
	2805	3,01E-04	107,3
	3,17	3,25E-04	102,4
IL15 V49PEG30	1,73E+05	5,30E-04	3,066
	1,54E+05	5,76E-04	3,75
	1,50E+05	4,22E-04	2,823
IL15 V49PEG40b	1,51E+05	6,11E-04	4,059
	1,26E+05	5,70E-04	4,522
	1,32E+05	4,60E-04	3,483
	8,76E+04	0,01484	169,4

IL15	8,39E+04	0,01614	192,4
E53PEG30	1,42E+05	0,02439	171

Bảng 10. Các thông số động học đối với các hợp chất được pegyl hóa rHuIL-15 và IL-15 với các bề mặt tiêu đơn vị IL-2R β .

Hợp chất	$k_{on}(M^{-1}s^{-1})$	$k_{off}(s^{-1})$	K_D (nM)
rHuIL-15	4,161E+05	3,095E-02	74,4
	4,223E+05	3,251E-02	77
	3,632E+05	2,863E-02	78,8
IL15 N77PEG30	1,101E+05	2,220E-02	201,6
	1,158E+05	2,361E-02	204
	1,099E+05	2,309E-02	210,2
IL15 S83PEG30	1,214E+05	2,517E-02	207
	1,153E+05	2,458E-02	213
	1,386E+05	2,962E-02	213,8
IL15 V49PEG30	1,061E+05	3,212E-02	302,7
	9,810E+04	3,045E-02	310,5
	9,700E+04	2,710E-02	279,5
IL15 V49PEG40b	1,187E+05	3,091E-02	260,5

	1,071E+05	2,690E-02	251,2
	1,061E+05	2,552E-02	240,5
IL15 E53PEG30	5,770E+05	3,350E-02	58
	6,010E+05	3,525E-02	58,6
	6,300E+05	3,348E-02	53,1
IL 15 E46PEG30	2,01E+04	1,650E-02	823
IL 15 L25PEG30	2,06E+04	4,460E-02	2,160

Trên bề mặt cảm biến chứa IL-15R α đã được giữ cố định, IL-15 tự nhiên (rHuIL-15 và IL-15 thương mại từ R&D) thể hiện động học kết hợp nhanh và phân ly rất chậm, chứng tỏ ái lực liên kết rất cao (Hình 9A). Biến thể được pegyl hóa IL-15 được thiết kế để kéo dài thời gian bán thải mà không phong bế sự tương tác với thụ thể IL-15 thể hiện động học liên kết tương tự đối với IL-15 tự nhiên. Sự khác biệt vừa phải của K_D (K_D giảm đi ~ 10 và ~ 3 lần lần lượt đối với IL-15 N77PEG30 và IL-15 S83PEG30) được quan sát thấy giữa các hợp chất đối với tiêu đơn vị là do tốc độ on giảm đi của hợp chất liên hợp IL-15 so với rHuIL-15, được mong đợi từ hệ số khuếch tán thấp hơn của hợp chất được pegyl hóa và tác dụng che chắn không đặc hiệu của gốc PEG lớn trên bề mặt liên kết ở xa (Hình 9B). Ngược lại, IL-15 E46PEG30 tương tác với IL-15 R α với sự kết hợp chậm và sự phân ly chậm trong khi IL-15 E53PEG30 thể hiện sự kết hợp nhanh và sự phân ly nhanh (Hình 9C) do sự định vị cụ thể của gốc PEG trên bề mặt liên kết IL-15R α .

Bề mặt chứa IL-2 R β đã được giữ cố định thể hiện đáp ứng kết hợp và phân ly có thể so sánh được với cả IL-15 tự nhiên và hợp chất được thiết kế để kéo dài thời gian bán thải với sự ăn khớp thụ thể tự nhiên. Hợp chất trong đó gốc PEG được định vị vào bề mặt liên kết IL-15R α thể hiện động học liên kết khác biệt đối

với bề mặt IL-2R β . Trong khi IL-15 E46PEG30 và IL-15 L25PEG thể hiện liên kết giảm ~10 và ~30 lần với bề mặt này, IL-15 E53PEG30 giữ lại liên kết "tự nhiên" với IL-2R β . Kết quả này gợi ý rằng sự định vị cụ thể của gốc PEG có thể mang lại các phương thức khác biệt đối với sự tương tác IL-15 với thụ thể của nó.

Hình 9A - Hình 9C thể hiện đơn vị đáp ứng (RU, trục Y) theo thời gian (giây, trục X) đối với rHuIL-15, hợp chất liên hợp IL-15 liên kết với IL-15R α . Phân tích động học liên kết xác nhận sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí điều biến sự tương tác với IL-15R α .

Hình 10 thể hiện đơn vị đáp ứng (RU, trục Y) theo thời gian (giây, trục X) đối với rHuIL-15, IL-15 N77PEG30 liên kết với IL-15R α và IL-2R β . Phân tích động học liên kết xác nhận sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí ở vị trí N77 giữ lại sự tương tác tự nhiên với IL-15R α và IL-2R β .

Hình 11 thể hiện đơn vị đáp ứng (RU, trục Y) theo thời gian (giây, trục X) đối với rHuIL-15, IL-15 E53PEG30 liên kết với IL-15R α và IL-2R β . Phân tích động học liên kết xác nhận sự pegyl hóa đặc hiệu vị trí ở vị trí E53 làm giảm liên kết với IL-15R α trong khi giữ lại sự tương tác tự nhiên với IL-2R β .

VÍ DỤ 4

Biên dạng đáp ứng miễn dịch *ex-vivo* của thể liên hợp IL-15 PEG trong mẫu PBMC có nguồn gốc từ hệ thống làm giảm tế bào bạch cầu (LRS) người sơ cấp

Để xác định làm thế nào độ đặc hiệu thụ thể khác biệt của thể liên hợp IL-15 PEG ảnh hưởng đến sự hoạt hóa của các quần thể con tế bào miễn dịch sơ cấp, biên dạng đáp ứng nồng độ của sự hoạt hóa tế bào lympho trong mẫu tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) có nguồn gốc từ LRS người được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp đếm tế bào theo dòng đa màu. Các nghiên cứu này được thực hiện ở PrimityBio LLC (Fremont, CA). Các mẫu có nguồn gốc từ LRS mới được xử lý bằng rHuIL-15 hoặc hợp chất được pegyl hóa IL-15 khác trong dãy pha loãng 5 lần bắt đầu với nồng độ trên bằng 30 $\mu\text{g/ml}$. Quần thể tế bào đã xử lý được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 45 phút trước khi bổ sung chất đệm Dung

giải/Cố định BD và nhuộm màu bằng bảng kháng thể huỳnh quang được thể hiện trong Bảng 11. Phương pháp đếm tế bào theo dòng đa màu được dùng để phát hiện và định lượng sự hoạt hóa pSTAT5 trong các tập hợp con tế bào T và tế bào NK khác nhau. Dữ liệu đếm tế bào theo dòng được phân tích về sự hoạt hóa của các tập hợp con tế bào T và tế bào NK khác nhau ở chế độ đáp ứng nồng độ, đọc sự tích lũy pSTAT5 sau khi xử lý bằng các hợp chất được pegyl hóa rHuIL-15 hoặc IL-15.

Bảng 11. Bảng nhuộm màu cho nghiên cứu đếm tế bào theo dòng của mẫu PBMC có nguồn gốc từ LRS

Bảng	Người
Pan-T	CD3
CD4	CD4
CD8	CD8
Chỉ thị NK	CD7
Treg	FoxP3
Treg	CD25 (hoặc CD127)
CD45RA	CD45RA
C62L	C62L
CD14/CD19	CD14/CD19
Phospho	STAT5 (pY694)

Trong các quần thể tế bào NK và T tác động (CD3+ CD8+), IL-15 N77PEG30 và IL-15 S83PEG30 giữ lại hiệu lực so với rHuIL-15, với giá trị EC₅₀

đối với sự sản xuất pSTAT5 ở trong phạm vi 2 lần của xytokin tự nhiên. Ngược lại, giá trị EC_{50} đối với sự cảm ứng pSTAT5 đối với IL-15 L25PEG30 trong các quần thể tế bào T CD8+ và NK được giảm đi lần lượt là ~14 và ~18 lần so với rHuIL-15. Sự tăng lên đáng kể của EC_{50} đối với IL-15 L25PEG30 chỉ ra rằng sự pegyl hóa của IL-15 ở vị trí này làm giảm hiện tượng chủ vận của thụ thể IL-15. Giá trị EC_{50} đối với sự cảm ứng pSTAT5 đối với IL-15 E53PEG30 trong các quần thể tế bào T CD8+ và NK được giảm đi chỉ bằng ~2 lần so với rHuIL-15. Coi rằng hợp chất này thể hiện động học liên kết kết hợp nhanh và phân ly nhanh đối với IL-15R α .

Bảng 12 thể hiện đáp ứng liều lượng đối với việc truyền tín hiệu STAT5 (EC_{50}) ở các mẫu LRS người được xử lý bằng các thể liên hợp rHuIL-15 hoặc IL-15.

Hợp chất	Tế bào T CD8+ EC_{50} (ng/ml)	Tế bào NK EC_{50} (ng/ml)	Tế bào T CD4+ EC_{50} (ng/ml)	Treg EC_{50} (ng/ml)
rHuIL-15	63,6	88,3	73,7	34,7
IL-15 S83PEG30	59,4	137,8	83,3	19,2
IL-15 N77PEG30	74,0	156,2	95,6	18,2
IL-15 V49PEG30	100,9	180,2	135,1	32,6
IL-15 V49PEG40b	205,8	261,8	264,0	57,4
IL-15 E53PEG30	117,3	82,4	186,8	37,1
IL-15 L25PEG30	896,1	1.654	1.232,1	267,3

Hình 12A - Hình 12D minh họa sự phosphoryl hóa STAT5 trên tế bào NK và tế bào T CD8+ khi kích thích bằng thể liên hợp IL-15 PEG để làm ví dụ.

VÍ DỤ 5

Nghiên cứu dược lý in vivo của thể liên hợp IL-15 để làm ví dụ

Nghiên cứu PK ở chuột nhắt C57BL/6 nguyên bản (E3826-U1821)

Các con chuột nhắt được dùng liều lượng của một trong số các thể liên hợp rHuIL-15 và IL-15 S83-PEG 30kDa, V49-PEG 30kDa, L25-PEG 30kDa hoặc N77-PEG 30kDa ở 0,3 mg/Kg. Lấy máu ở các thời điểm sau đây: 0,25, 0,5, 2, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144 và 192 giờ.

Bảng 13 thể hiện thiết lập thí nghiệm. Mỗi con chuột nhận liều IV đơn lẻ của một trong số tá được lỏng, rHuIL-15, hoặc một trong ba thể liên hợp IL-15.

Nhóm	Điều Trị	Liều lượng (mg/kg)
1	Tá được lỏng	0
2	rHuIL-15	0,3
3	L25 PEG30	0,3
4	N77 PEG30	0,3
5	V49 PEG30	0,3
6	S83 PEG30	0,3

Nồng độ của các hợp chất được pegyl hóa rHuIL-15, IL-15 và nội chuẩn trong các mẫu có nguồn gốc từ huyết tương được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm ELISA. Phân tích dữ liệu PK được thực hiện ở NW Solutions (Seattle, WA). Dữ liệu PK được nhập vào Phoenix WinNonlin v6.4 (Certara/Pharsight, Princeton, NJ) để phân tích. Dữ liệu nồng độ trong huyết tương trung bình của

nhóm theo thời gian được phân tích bằng phương pháp 3 ngăn bằng cách sử dụng mô hình dùng liều bolus IV.

Bảng 14 thể hiện thời gian bán thải kéo dài của thể liên hợp IL-15 ở chuột nhắt so với rHuIL-15.

Liều lượng (mg/kg)	Tham số	Đơn Vị	Nhóm 2	Nhóm 3	Nhóm 4	Nhóm 5	Nhóm 6
			rHuIL -15	L25PE G	N77PE G	V49PE G	S83PE G
			Ước lượng				
0,3	alpha $t_{1/2}$	giờ	0,305	2,89	0,0349	0,242	0,381
	beta $t_{1/2}$	giờ	1,08	15,8	13,1	7,77	11,4
	gamma $a t_{1/2}$	giờ	32,1	167	58,4	19,8	71,6
	MRT	giờ	3,81	21,2	20,5	20,6	18,7
	CL ₁	ml/giờ/kg	1590	6,16	5,17	4,69	9,13
	CL ₂	ml/giờ/kg	333	5,68	56,4	52,4	65,4
	CL ₃	ml/giờ/kg	108	0,0317	0,157	1,03	0,213
	V ₁	ml/kg	978	82,3	3,20	32,8	79,0
	V ₂	ml/kg	397	40,7	89,8	44,9	70,1

	V ₃	ml/kg	4680	7,59	12,8	19,1	21,4
	V _{ss}	ml/kg	6050	131	106	96,8	170
	C _{lớn nhất}	ng/ml	307	3650	93700	9140	3800
	AUC	giờ*ng/ml	189	48700	58100	64000	32900

Hình 13 thể hiện biên dạng nồng độ trong huyết tương của rHuIL-15, IL-15 S83PEG30, IL-15 V49PEG30, IL-15 N77PEG30 và IL-15 L25 PEG30 ở 0,3 mg/kg.

Như mong đợi, hợp chất được pegyl hóa thể hiện biên dạng PK tốt hơn so với rHuIL-15 như tóm tắt trên Bảng 14. MRT (thời gian lưu trung bình) thể hiện thời gian trung bình phân tử vật phẩm thử nghiệm ở trong cơ thể và có tính đến biên dạng PK tổng thể. Hợp chất được pegyl hóa thể hiện sự tăng lên ~5 lần của MRT so với rHuIL-15. IL-15 S18PEG30 chứng tỏ beta t_{1/2} được kéo dài ~15 lần (15,8 giờ so với 1,08 giờ) và CL₂ được giảm đi khoảng 59 lần (5,68 so với 333 ml/giờ/Kg) so với rHuIL-15. Thể tích phân bố đối với hợp chất được pegyl hóa được giảm đi so với rHuIL_15 gợi ý rằng hợp chất được pegyl hóa được phân bố chủ yếu ở trong hệ tuần hoàn toàn thân.

VÍ DỤ 6

Quan sát động lực học trong khoang máu ngoại vi

Nghiên cứu PD ở chuột nhắt C57BL/6 nguyên bản (E3826-U1821)

Các con chuột nhắt được dùng liều lượng của một trong số rHuIL-15, thể liên hợp IL-15 S18-PEG 30kDa, thể liên hợp IL-15 V49-PEG 30kDa hoặc thể liên hợp IL-15 S83-PEG 30kDa ở 0,1, 0,3 hoặc 1 mg/Kg (Bảng 10). Lấy máu ở các thời điểm sau đây: 0,25, 0,5, 2, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144 và 192 giờ. Thời điểm 0,13 khác nữa được bao gồm đối với rHuIL-15 cho thời gian bán thải ngắn đã

biết. Kết quả đọc PD bao gồm theo dõi pSTAT5 nội bào, và kiểu hình của tế bào T CD8+ đối với tất cả các thời điểm.

Bảng 15 thể hiện thiết lập thí nghiệm. Mỗi con chuột nhận liều IV đơn lẻ của một trong số tá dược lỏng, rHuIL-15, hoặc một trong ba thể liên hợp IL-15.

Nhóm	Điều Trị	Liều lượng (mg/kg)
1	Tá dược lỏng	0
2	rHuIL-15	0,3
3	S18 PEG30	0,1
4	S18 PEG30	0,3
5	V49 PEG30	0,1
6	V49 PEG30	0,3
7	L25 PEG30	0,3
8	L25 PEG30	1,0

Sự phosphoryl hóa STAT5 và sự cảm ứng của sự tăng sinh tế bào (chỉ thị phân tử sớm Ki-67 và số đếm tế bào) được dùng làm kết quả đọc dược lực học để đánh giá biên dạng dược lý của IL-15 S18PEG30, IL-15 V49PEG30 và IL-15 L25 PEG30. Mặc dù sự đánh giá thấp hơn hoặc tương tự của pSTAT5 được quan sát thấy ở chuột nhất được dùng liều lượng của hợp chất đã được pegyl hóa, sự phosphoryl hóa STAT5 chuyển thành sự tăng sinh cao hơn và duy trì (từ ngày 1 đến ngày 7 sau khi dùng liều lượng) của tế bào NK và tế bào T tác động CD8+ và ghi nhớ nhưng không phải tế bào Treg. (Các Hình 14-17).

Hình 14A - Hình 14D thể hiện % pSTAT5 trong các quần thể tế bào máu ngoại vi khác nhau.

Hình 15A - Hình 15D thể hiện sự biểu hiện tăng của chỉ thị phân tử tăng sinh sớm Ki67 ở tế bào T CD8+, tế bào Tmem CD8+ và tế bào NK chứ không phải tế bào Treg ở động vật được dùng liều lượng của hợp chất đã được pegyl hóa.

Hình 16A - Hình 16C thể hiện tế bào T CD8+, Tmem CD8+ và NK ngoại vi bụng nở chứ không phải tế bào Treg ở động vật được dùng liều lượng của hợp chất đã được pegyl hóa.

Hình 17A - Hình 17B thể hiện sự biểu hiện Ki67 tăng lên ở tế bào T CD8+ và NK với liều lượng tăng của hợp chất IL-15 L25PEG30 ở chuột nhắt.

Mặc dù các phương án ưu tiên của sáng chế đã được thể hiện và mô tả trong bản mô tả này, người có trình độ trung bình trong lĩnh vực hiểu rõ rằng các phương án này được nêu ra chỉ để làm ví dụ. Nhiều biến đổi, thay đổi, và thay thế có thể xảy ra đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực mà không nằm ngoài phạm vi bộc lộ này. Cần hiểu rằng các dạng thay thế khác nhau đối với các phương án của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng khi thực hành sáng chế. Dự định rằng các yêu cầu bảo hộ sau đây xác định phạm vi của sáng chế và các phương pháp và cấu trúc ở trong phạm vi của các yêu cầu bảo hộ này và dạng tương đương của chúng được bao hàm bởi chúng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Polypeptit interleukin 15 (IL-15) đã được cải biến có chứa ít nhất một axit amin không tự nhiên và gốc liên hợp được gắn cộng hóa trị vào ít nhất một axit amin không tự nhiên này, trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên này có vị trí gốc được chọn từ L25, E46, V49, E53, N77, và S83, trong đó vị trí gốc tương ứng với các vị trí như được nêu trong SEQ ID NO: 1, trong đó polypeptit IL-15 đã được cải biến có độ tương đồng trình tự ít nhất là khoảng 90% so với SEQ ID NO: 1.

2. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên này:

- là chất tương tự lysin;
- có chứa chuỗi bên thơm;
- có chứa nhóm azido;
- có chứa nhóm alkyn; hoặc
- có chứa nhóm aldehyt hoặc keton.

3. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 2, trong đó ít nhất một axit amin không tự nhiên này bao gồm N6-azidoethoxy-L-lysine (AzK), N6-propargylethoxy-L-lysine (PraK), BCN-L-lysine, norbornene lysine, TCO-lysine, methyltetrazine lysine, allyloxycarbonyllysine, axit 2-amino-8-oxononanoic, axit 2-amino-8-oxooctanoic, p-acetyl-L-phenylalanine, p-azidomethyl-L-phenylalanine (pAMF), p-iodo-L-phenylalanine, m-acetylphenylalanine, axit 2-amino-8-oxononanoic, p-propargyloxyphenylalanine, p-propargyl-phenylalanine, 3-methyl-phenylalanine, L-Dopa, phenylalanine được flo hóa, isopropyl-L-phenylalanine, p-azido-L-phenylalanine, p-axyl-L-phenylalanine, p-benzoyl-L-phenylalanine, p-bromophenylalanine, p-amino-L-phenylalanine, isopropyl-L-phenylalanine, O-allyltyrosine, O-methyl-L-tyrosine, O-4-allyl-L-tyrosine, 4-propyl-L-tyrosine, phosphonotyrosine, tri-O-acetyl-GlcNAc-serine, L-phosphoserine, phosphoserine, L-3-(2-naphthyl)alanine, axit 2-amino-3-((2-((3-(benzyloxy)-3-

oxopropyl)amino)ethyl)selanyl)propanoic, 2-amino-3-(phenylselanyl)propanoic, hoặc selenoxystein.

4. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó gốc liên hợp có chứa polyme tan trong nước, lipid, protein, hoặc peptit.

5. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 4, trong đó gốc liên hợp có chứa polyme tan trong nước, và trong đó polyme tan trong nước bao gồm polyetylen glycol (PEG), poly(propylen glycol) (PPG), copolyme của etylen glycol và propylen glycol, poly(rượu đa chức đã oxyetyl hóa), poly(rượu olefinic), poly(vinylpyrrolidon), poly(hydroxyalkylmetacrylamit), poly(hydroxyalkylmetacrylat), poly(sacarit), poly(axit α -hydroxy), poly(rượu vinyl), polyphosphazen, polyoxazolin (POZ), poly(N-acryloylmocpholin), hoặc dạng kết hợp của chúng.

6. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 4, trong đó gốc liên hợp có chứa polyme tan trong nước, và trong đó polyme tan trong nước bao gồm PEG.

7. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 6, trong đó PEG là PEG mạch thẳng.

8. Polypeptit IL-15 được cải biến theo điểm 6, trong đó PEG có khối lượng phân tử trung bình theo khối lượng nằm trong khoảng từ 20 kDa đến khoảng 85 kDa.

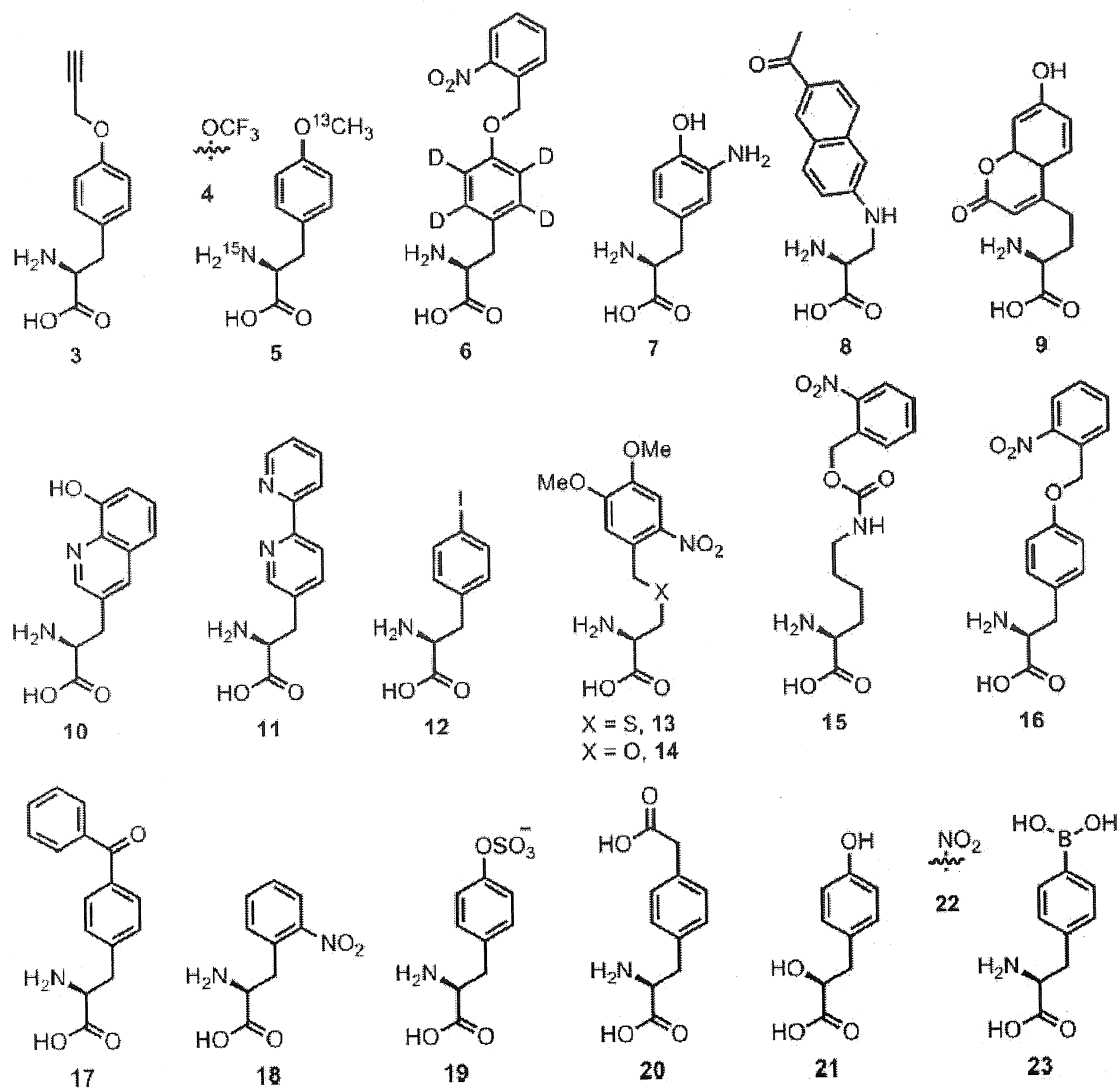
9. Polypeptit IL-15 được cải biến theo điểm 8, trong đó PEG có khối lượng phân tử trung bình theo khối lượng là khoảng 20 kDa, khoảng 25 kDa, khoảng 30 kDa, khoảng 35 kDa, khoảng 40 kDa, khoảng 45 kDa, hoặc khoảng 50 kDa.

10. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó gốc liên hợp được liên kết với ít nhất một axit amin không tự nhiên của polypeptit IL-15 đã được cải biến thông qua cầu nối.

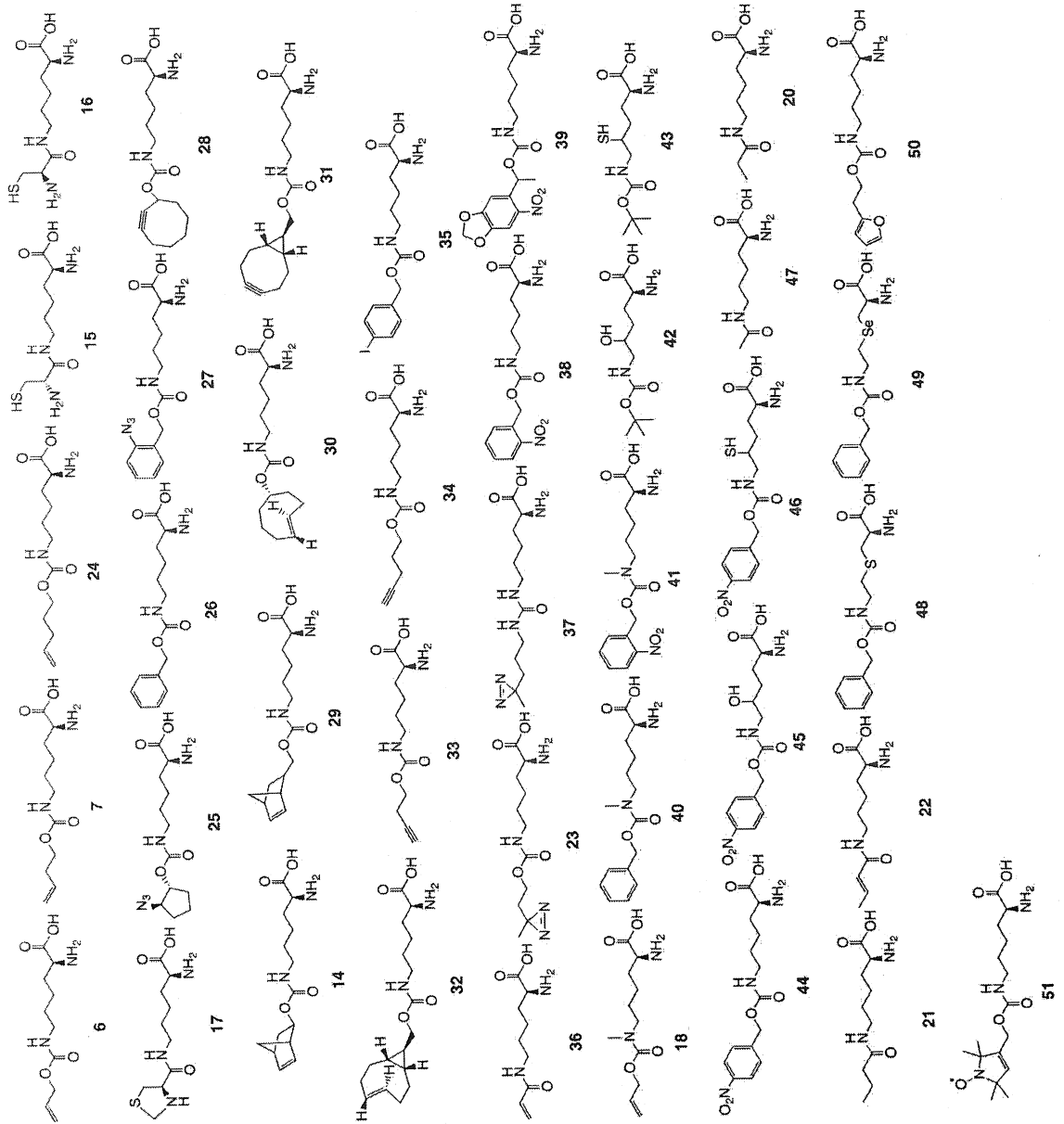
11. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 10, trong đó cầu nối bao gồm cầu nối hai chức cùng loại, cầu nối hai chức khác loại, cầu nối dipeptit có thể phân tách hoặc cầu nối dipeptit không thể phân tách, đoạn đệm, hoặc dạng kết hợp của chúng.

12. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó polypeptit IL-15 đã được cải biến có sự làm khuyết đầu tận cùng N của 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, hoặc 10 gốc đầu tiên từ đầu tận cùng N, trong đó các vị trí gốc là tương ứng với các vị trí trong SEQ ID NO: 1.
13. Dược phẩm có chứa polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1 và tá dược được dụng.
14. Dược phẩm theo điểm 13, trong đó dược phẩm này được tạo chế phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa.
15. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó polypeptit IL-15 đã được cải biến có chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1, trong đó một axit amin được thay thế bằng ít nhất một axit amin không tự nhiên.
16. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên này là E46.
17. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên này là V49.
18. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên này là E53.
19. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên này là L25.
20. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên này là S83.
21. Polypeptit IL-15 đã được cải biến theo điểm 1, trong đó vị trí gốc của ít nhất một axit amin không tự nhiên này là N77.

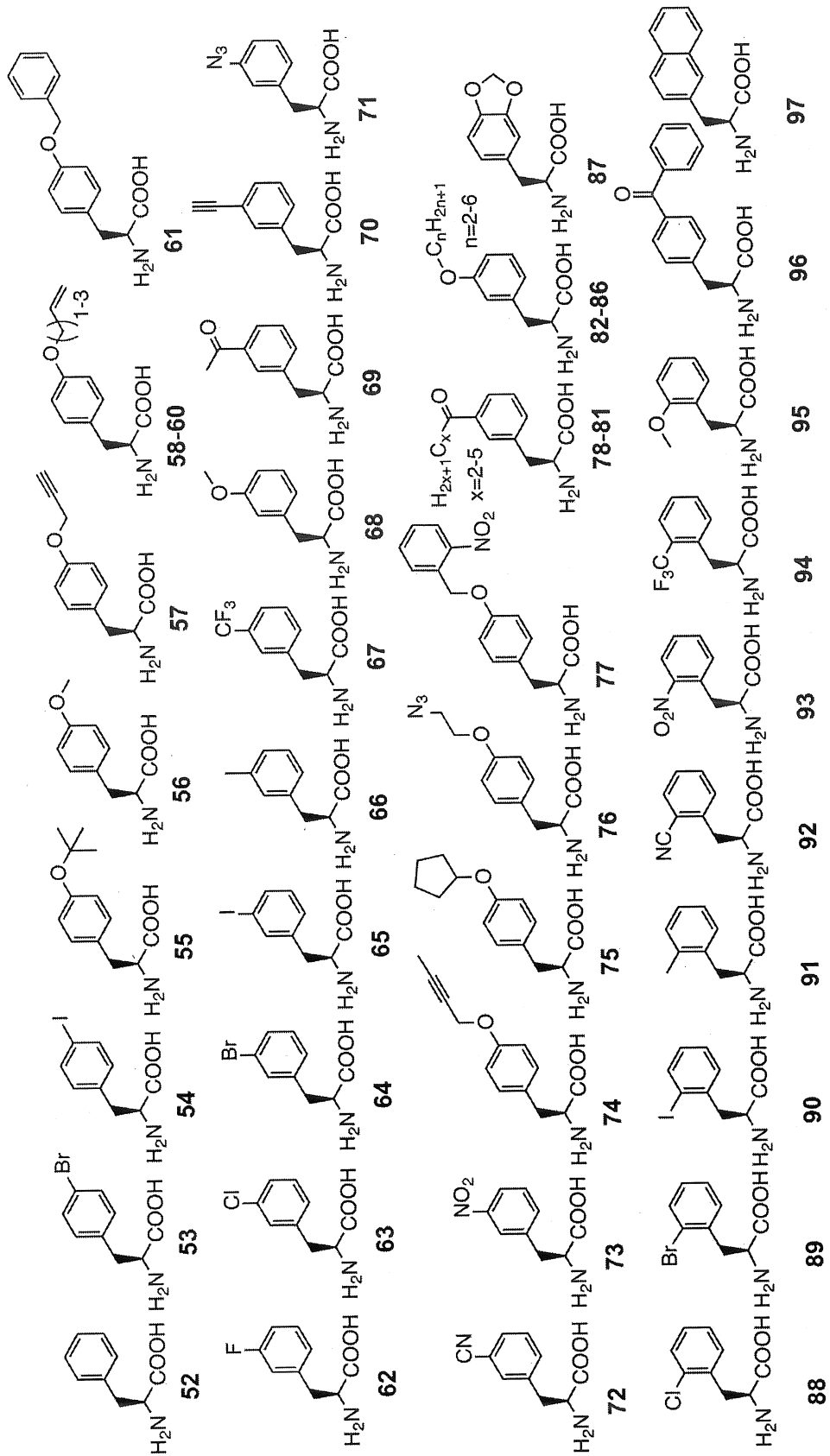
HÌNH 1



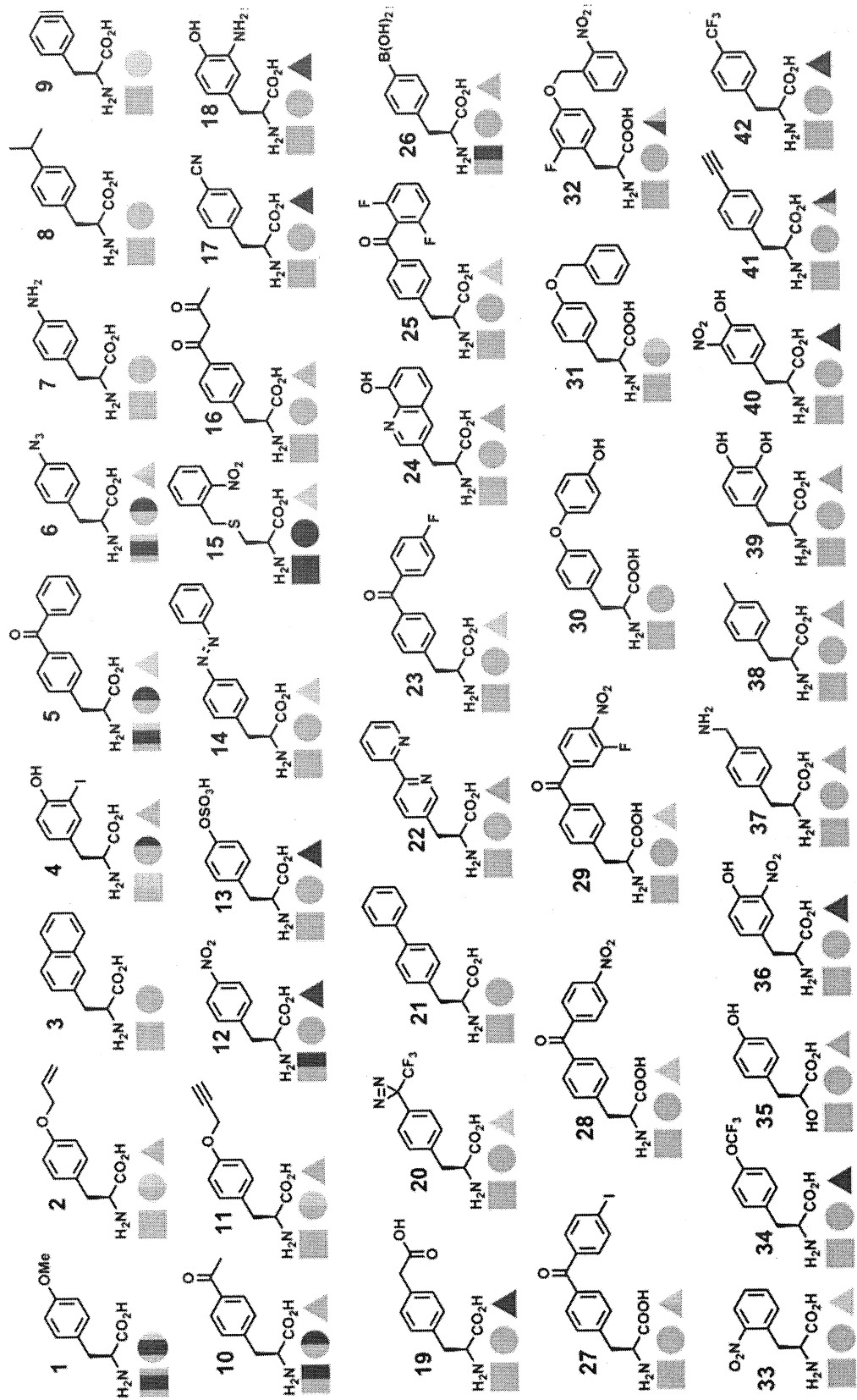
HÌNH 2A



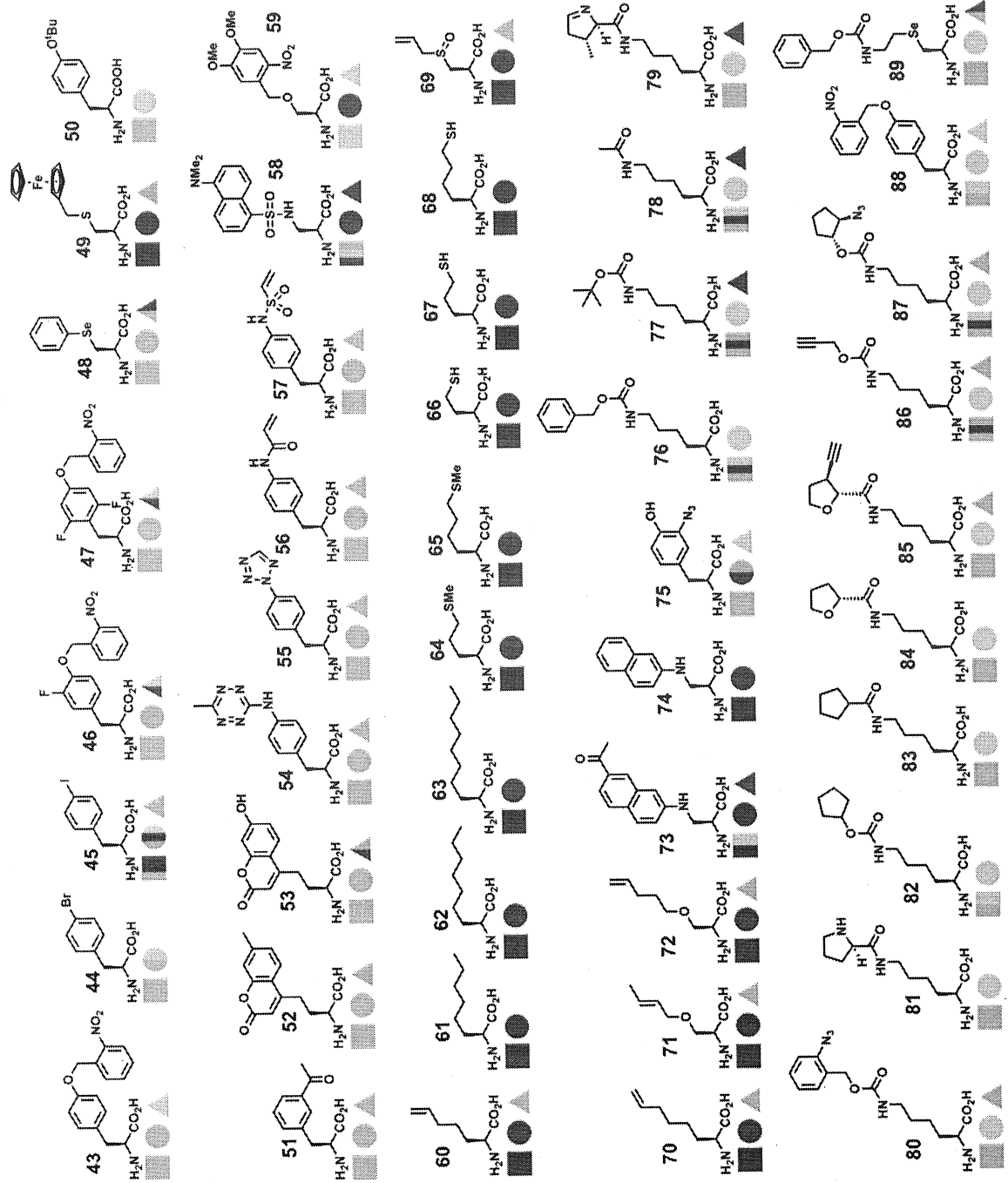
HÌNH 2B



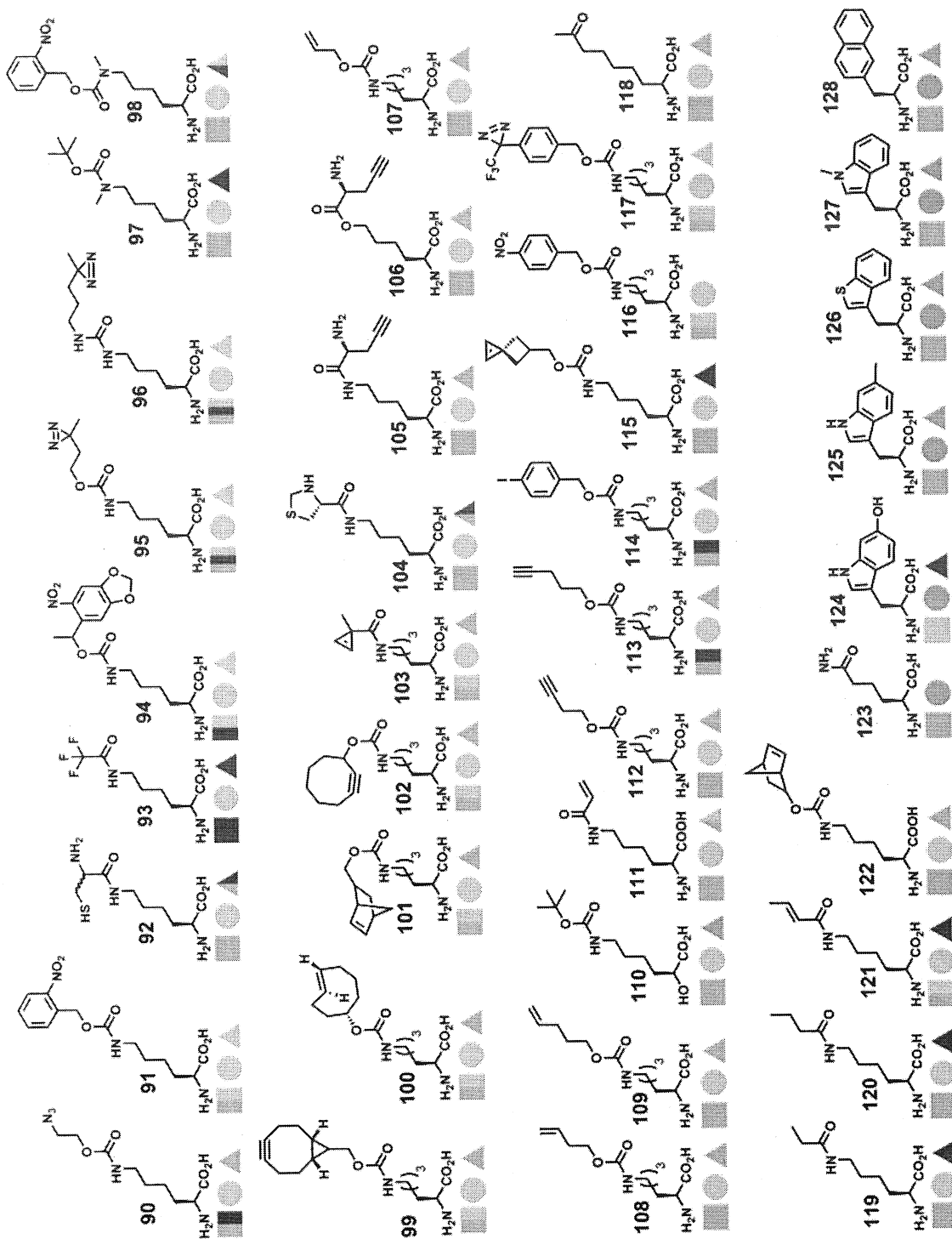
HÌNH 3A



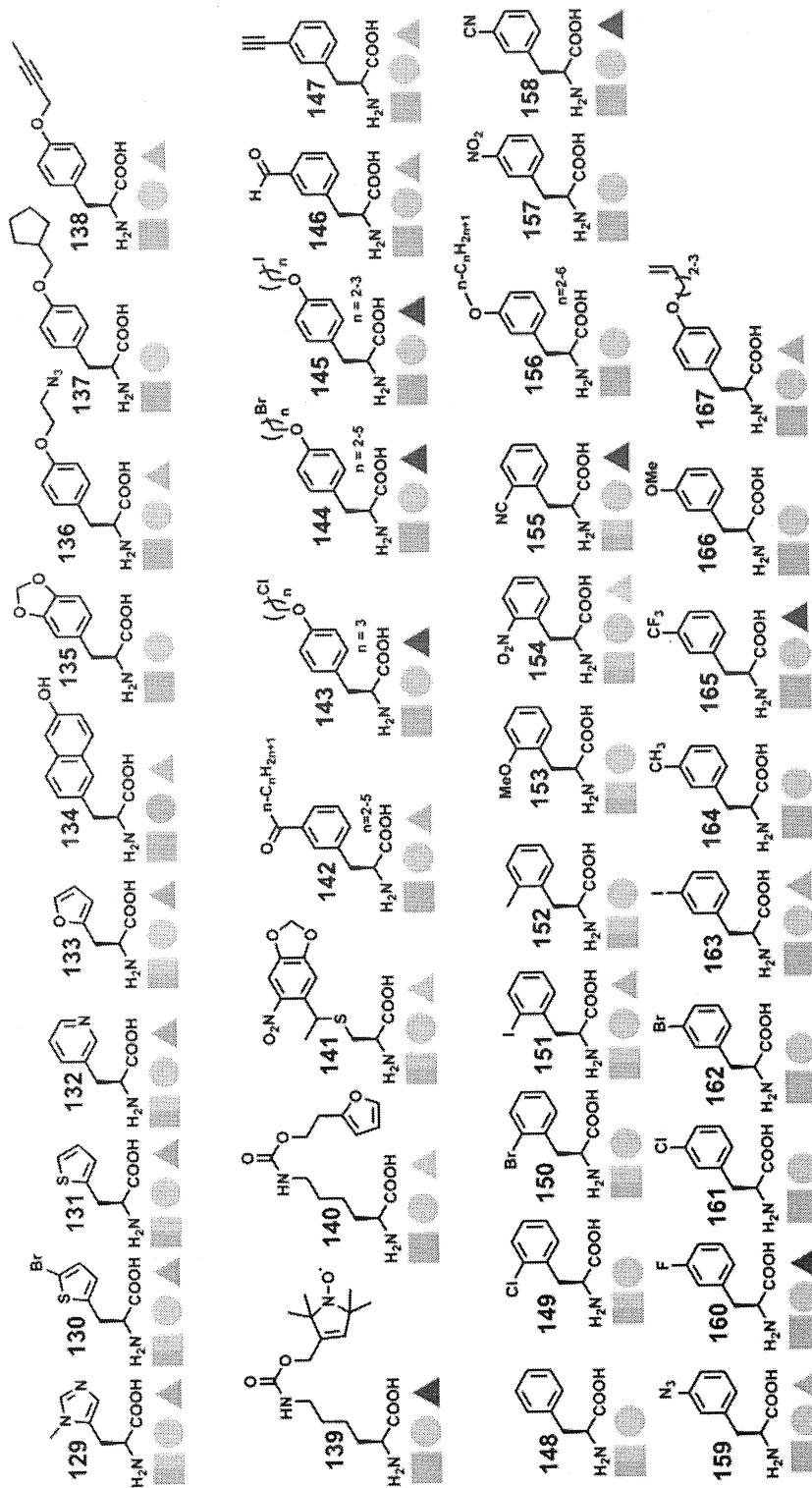
HÌNH 3B



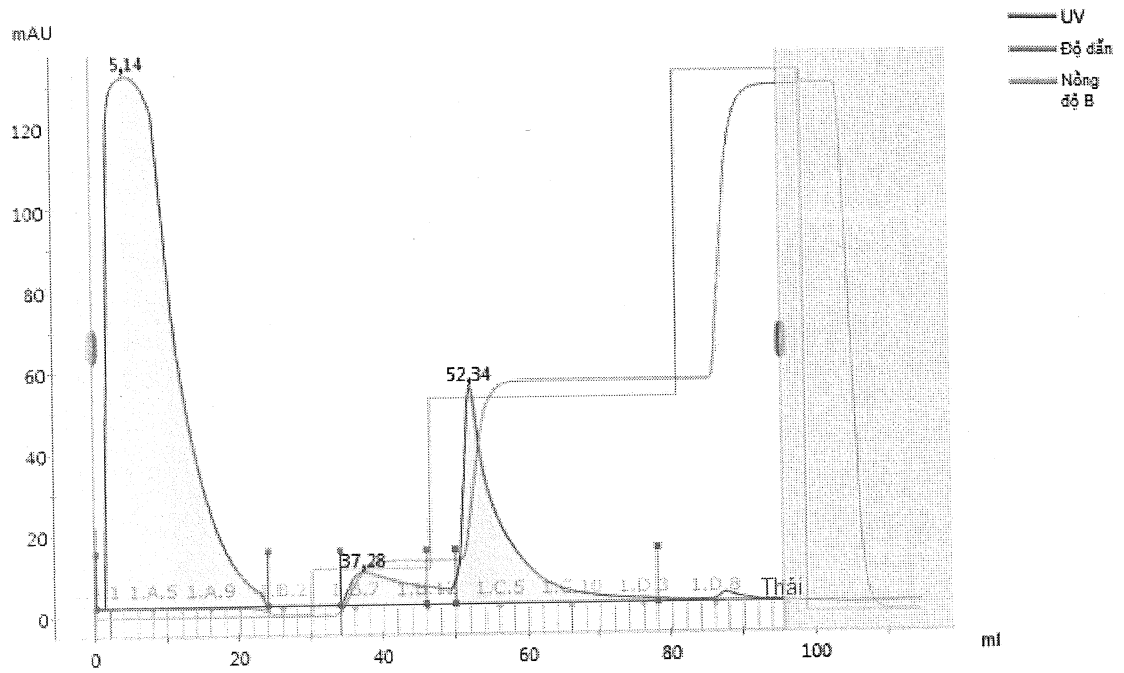
HÌNH 3C



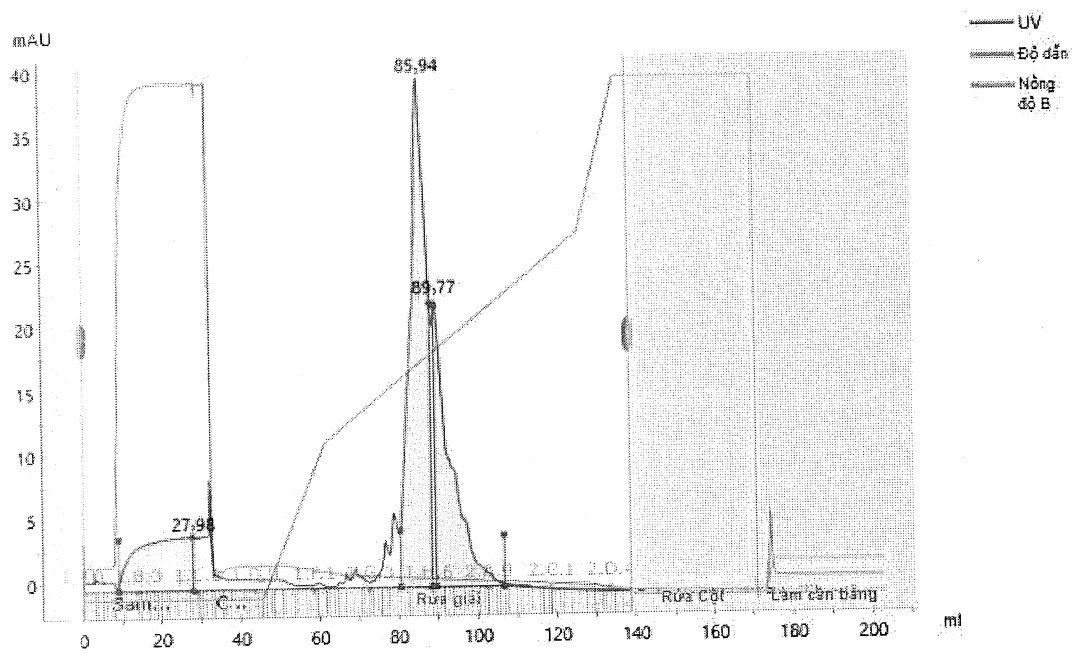
HÌNH 3D



HÌNH 4
/

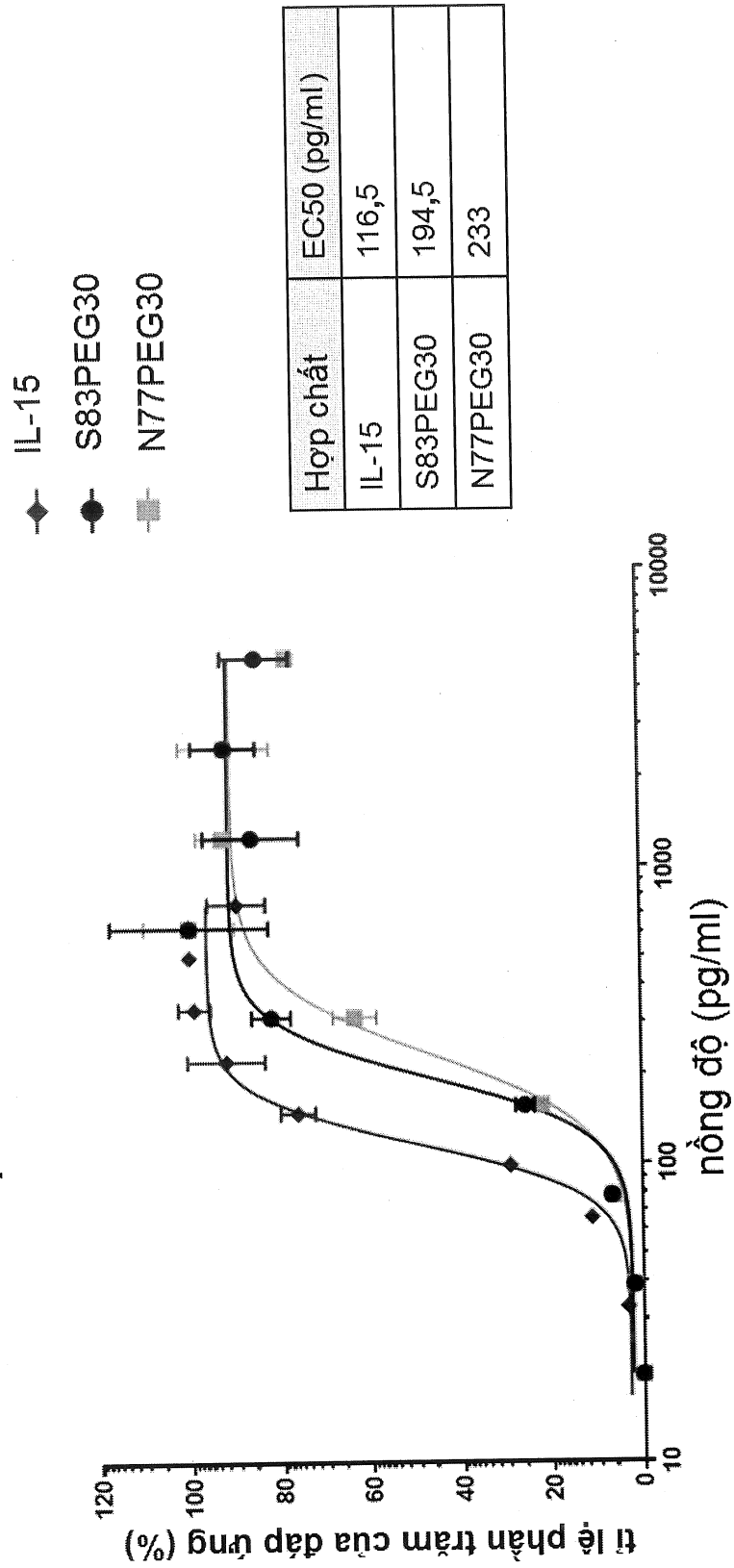


HÌNH 5



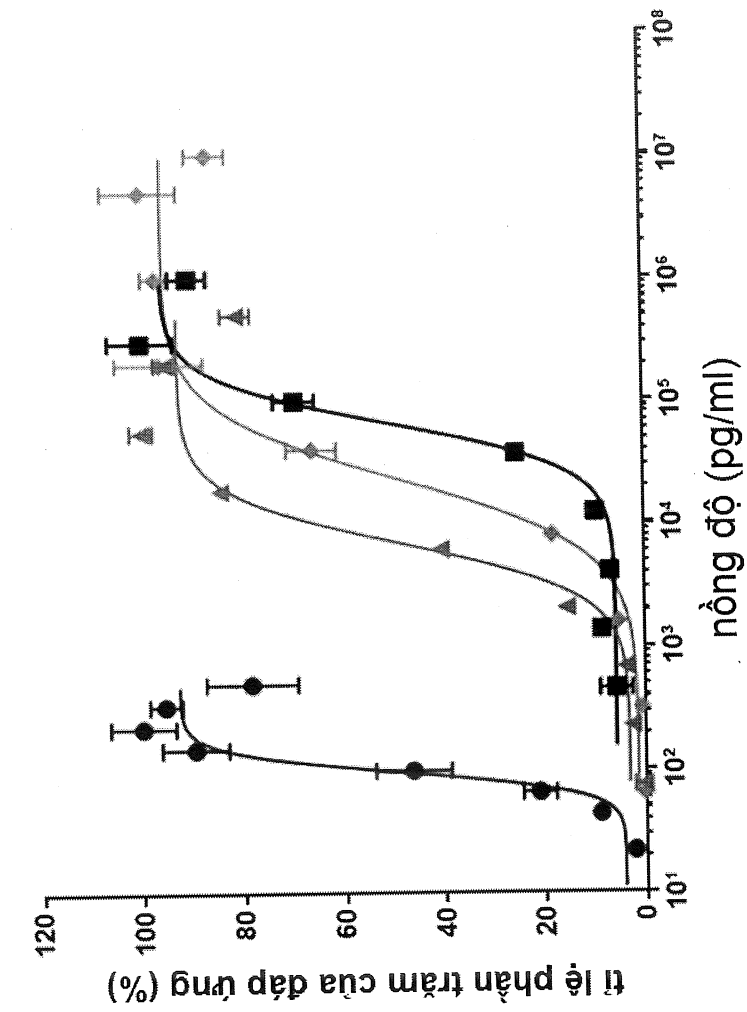
HÌNH 6

Kết quả kéo dài thời gian bán thải



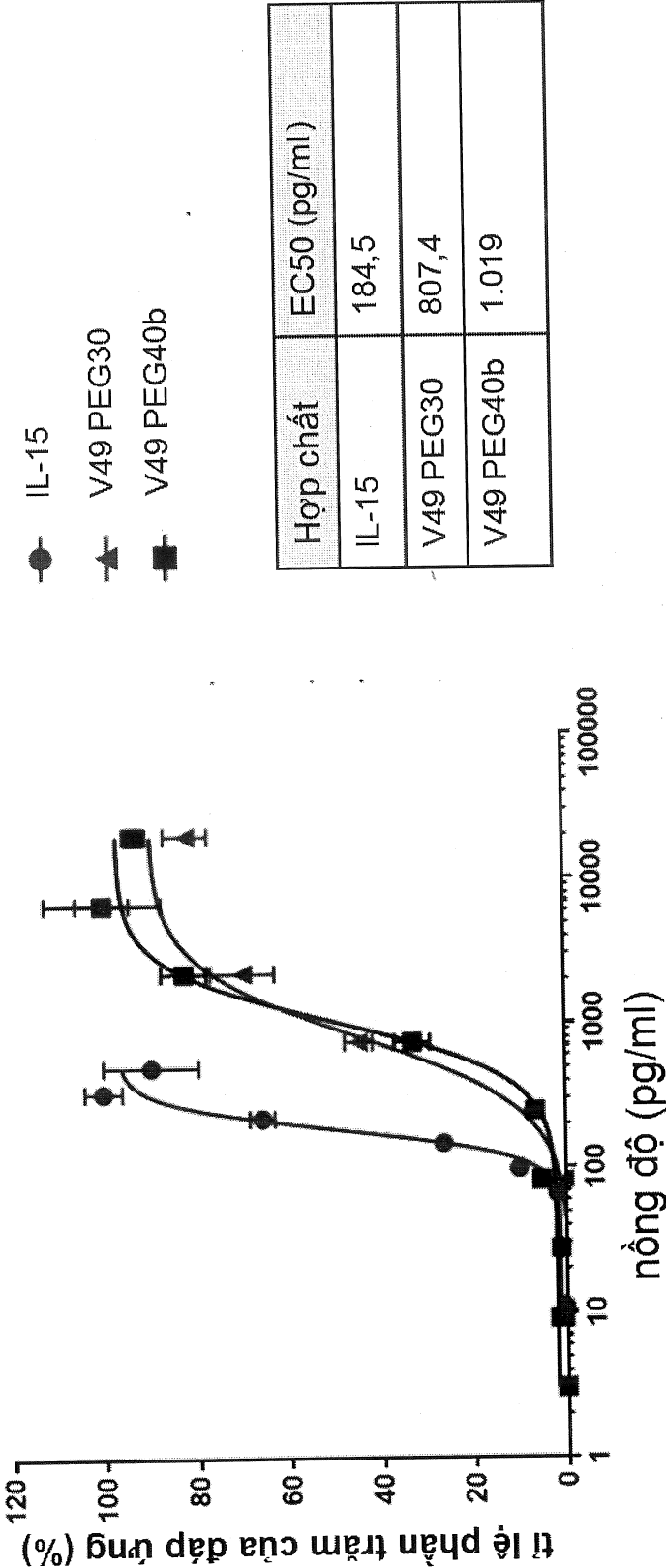
HÌNH 7

Kết quả "không phải alpha"

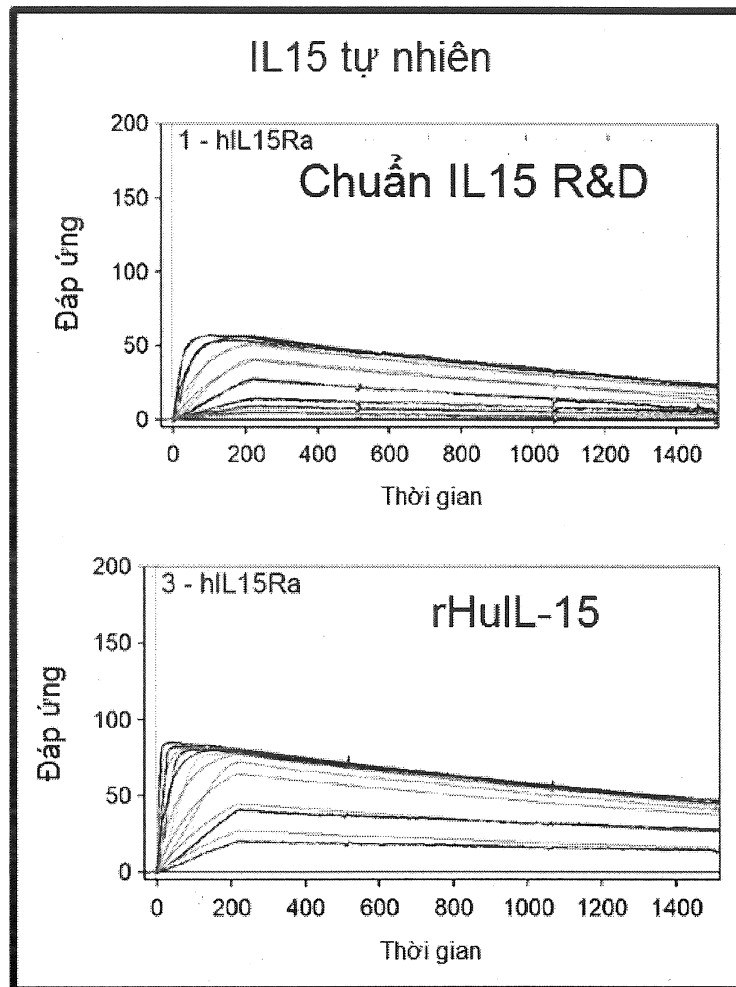


HÌNH 8

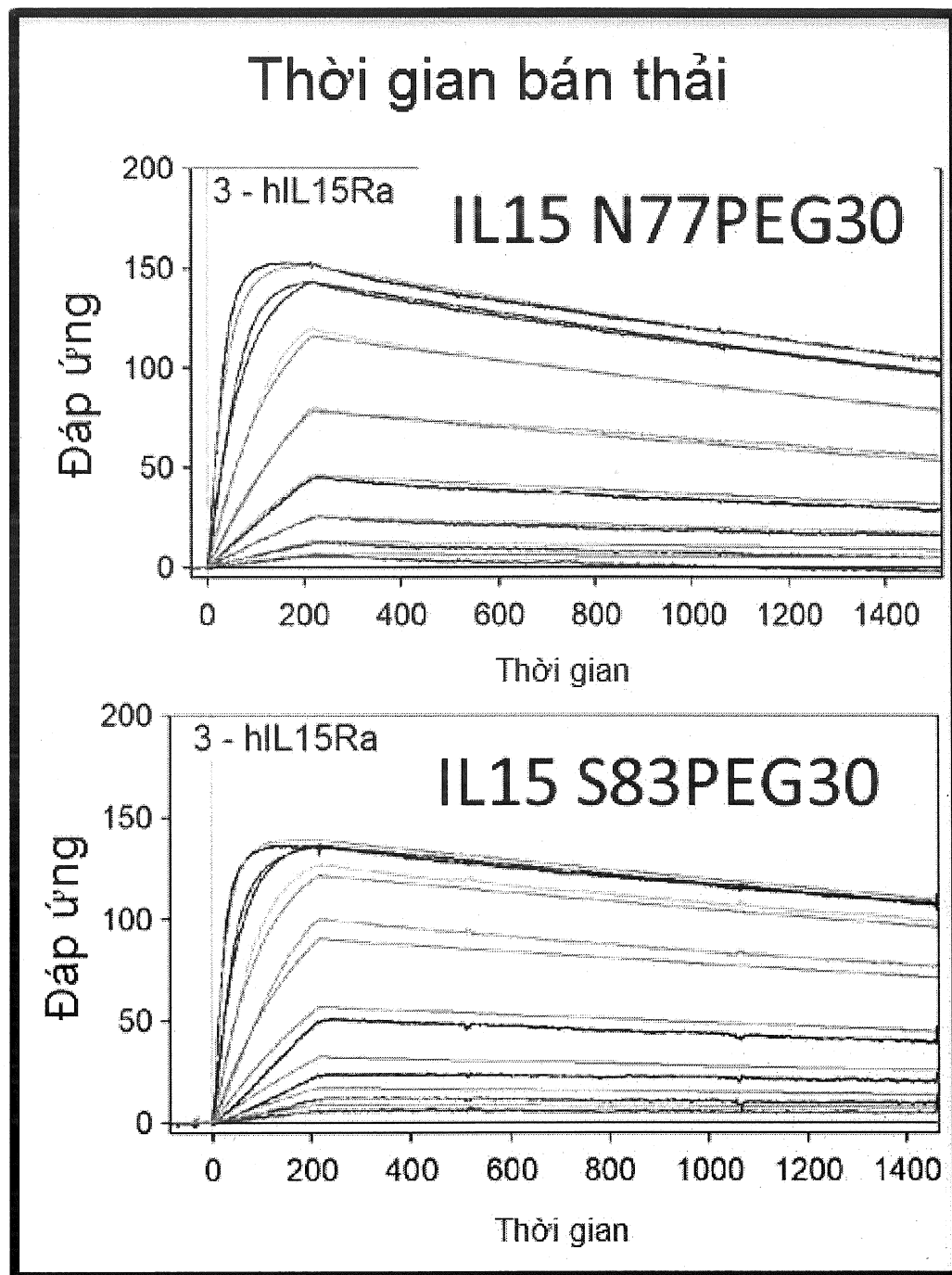
Sự tạo thể liên hợp sinh học bằng cách sử dụng PEG khác nhau có kích thước khác nhau



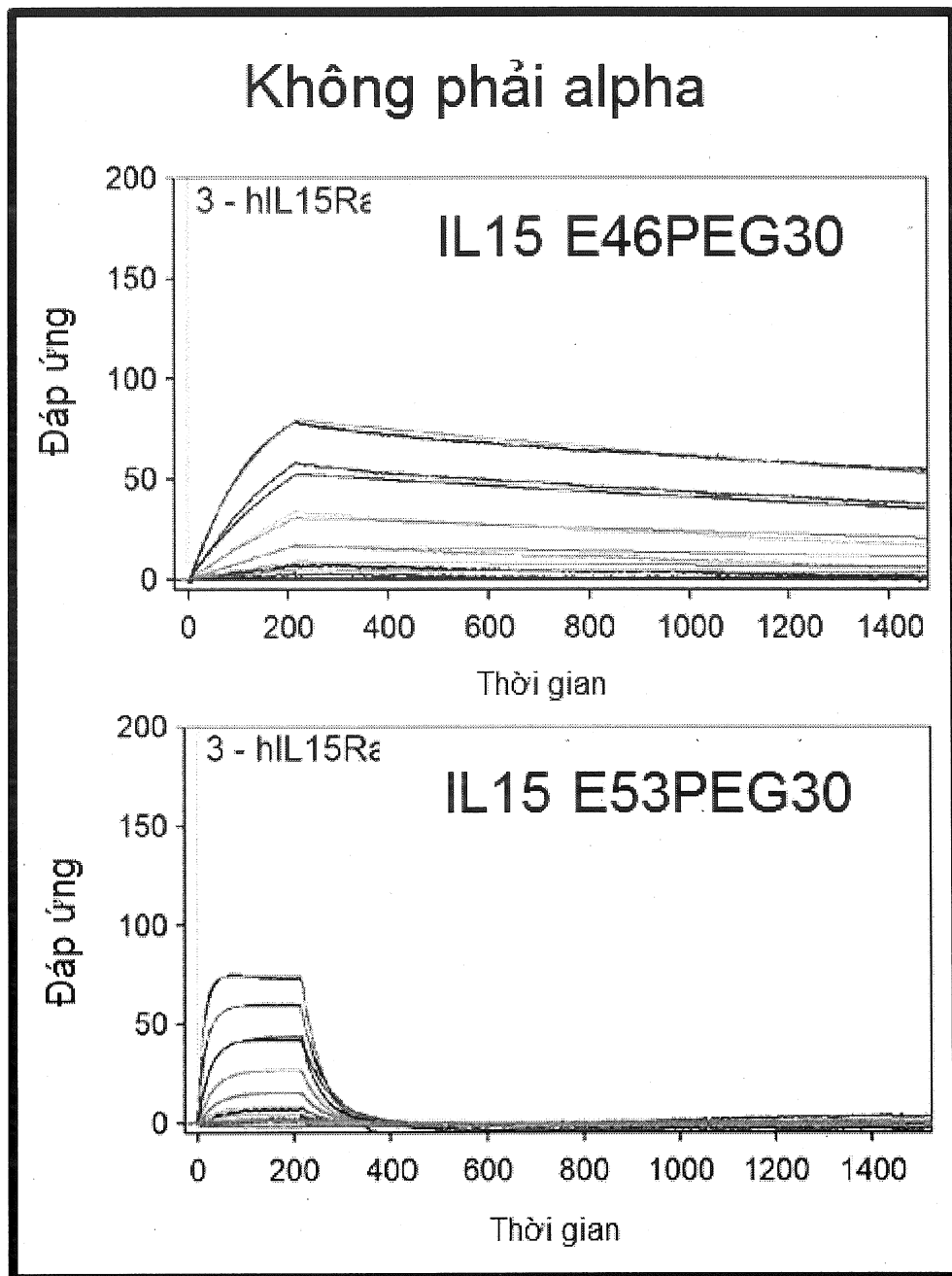
HÌNH 9A



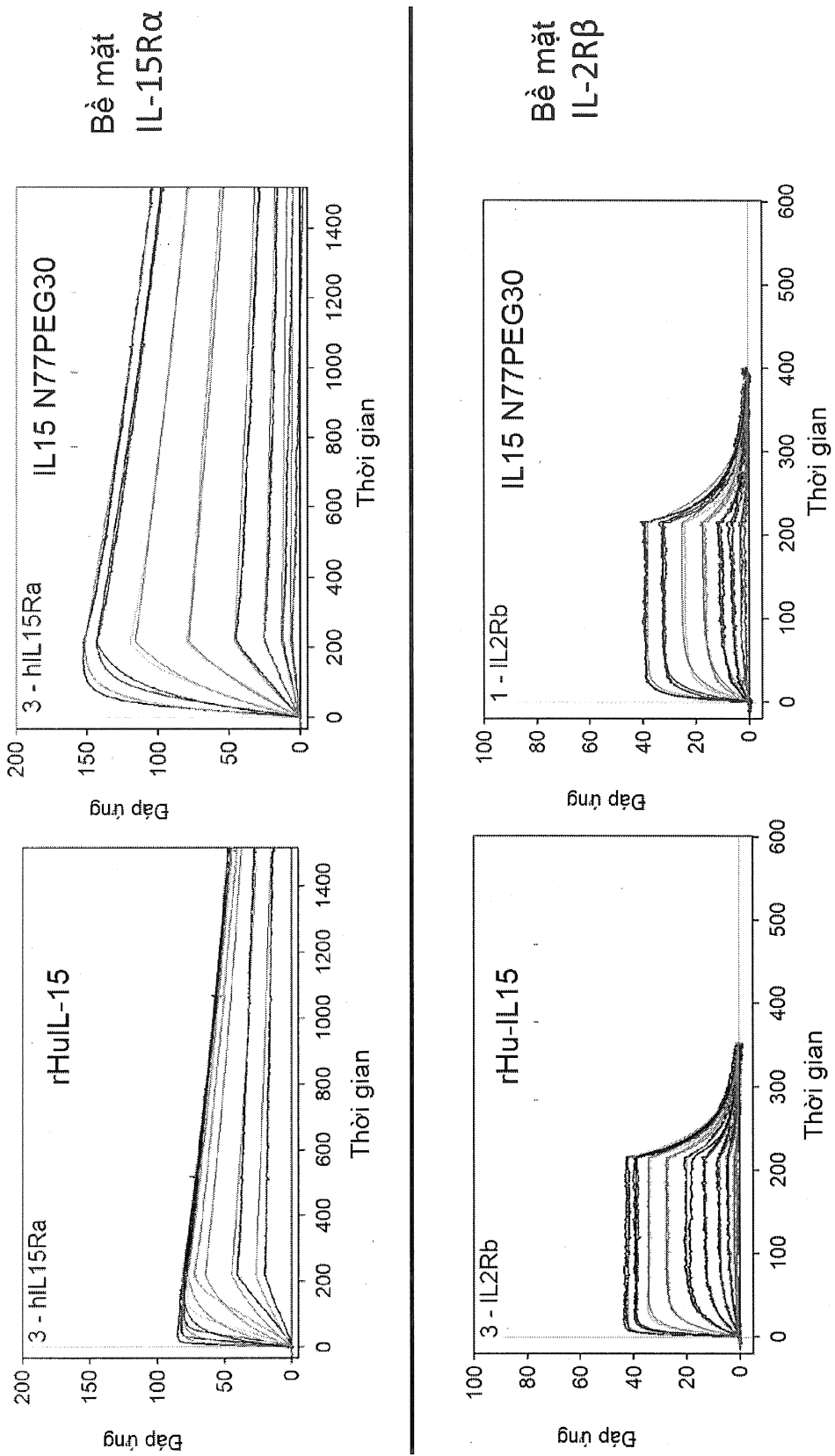
HÌNH 9B



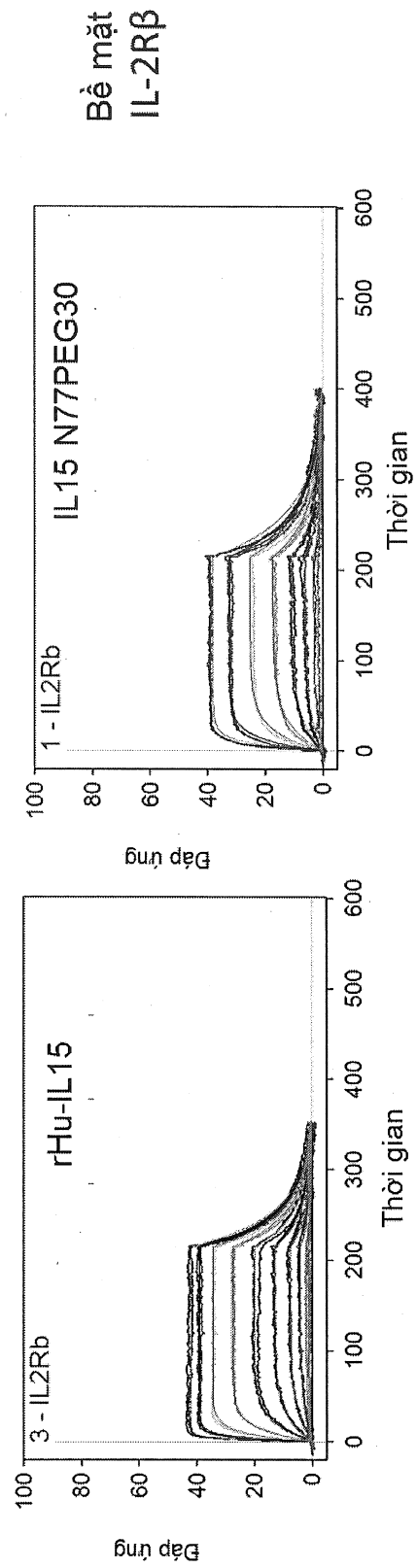
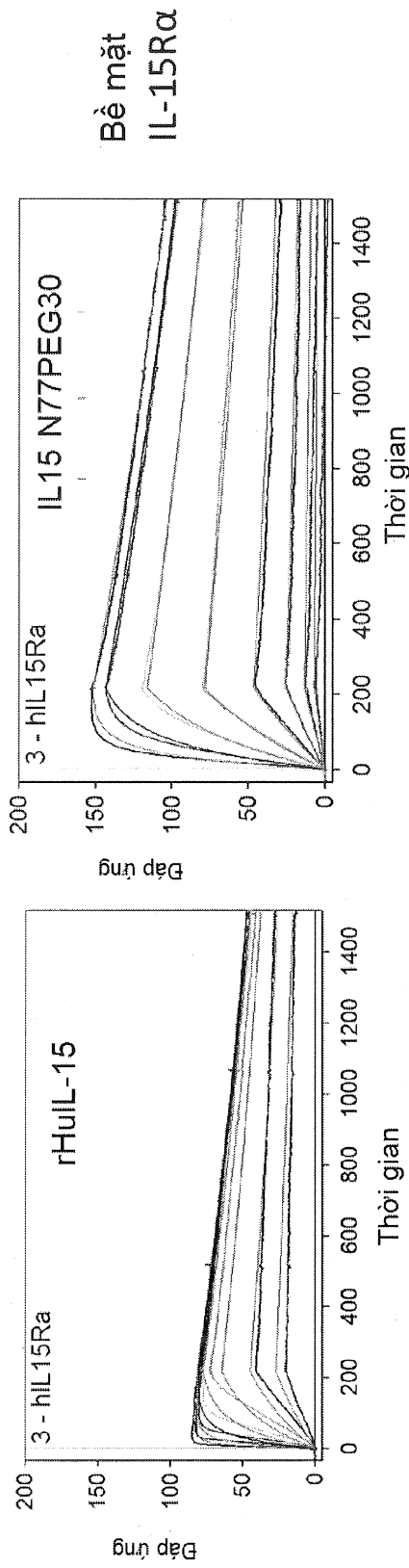
HÌNH 9C



HÌNH 10



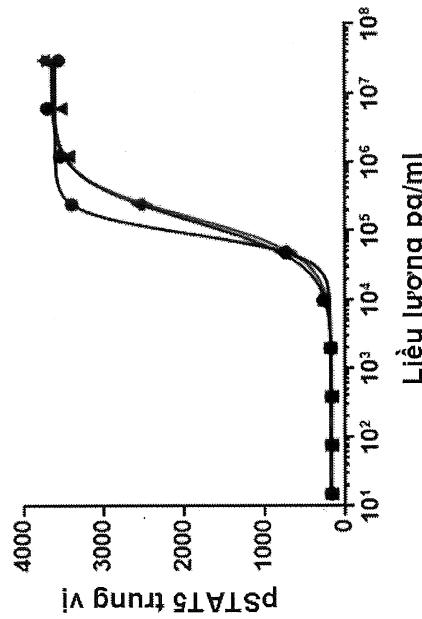
HÌNH 11



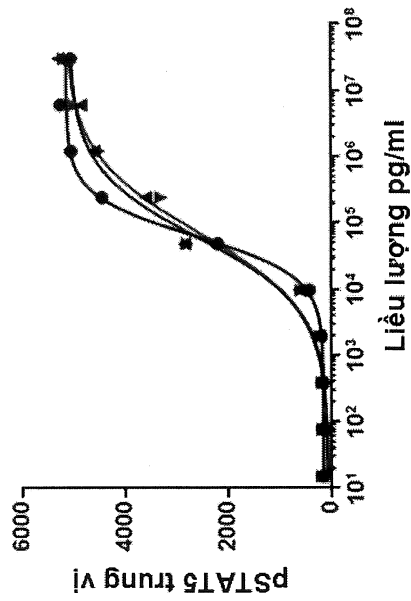
HÌNH 12A

Kết quả kéo dài thời gian bán thải

Tế bào NK



Tế bào T CD8+

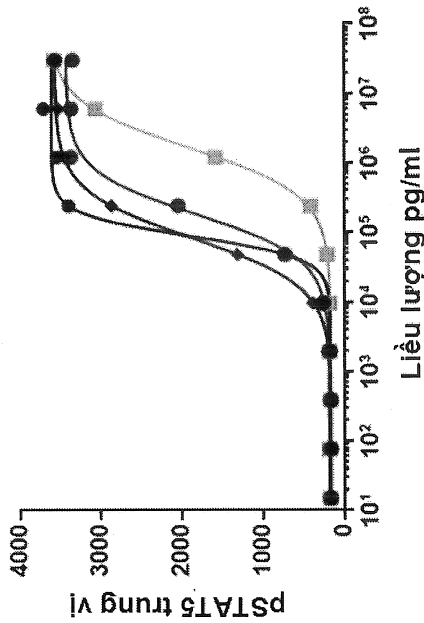


HÌNH 12C

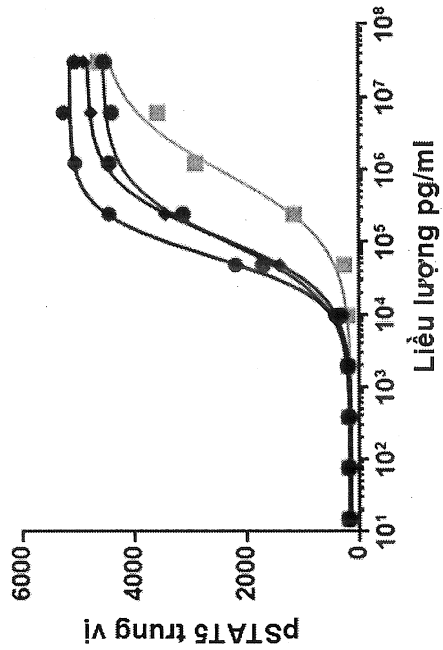
HÌNH 12B

Kết quả "không phải alpha"

Tế bào NK

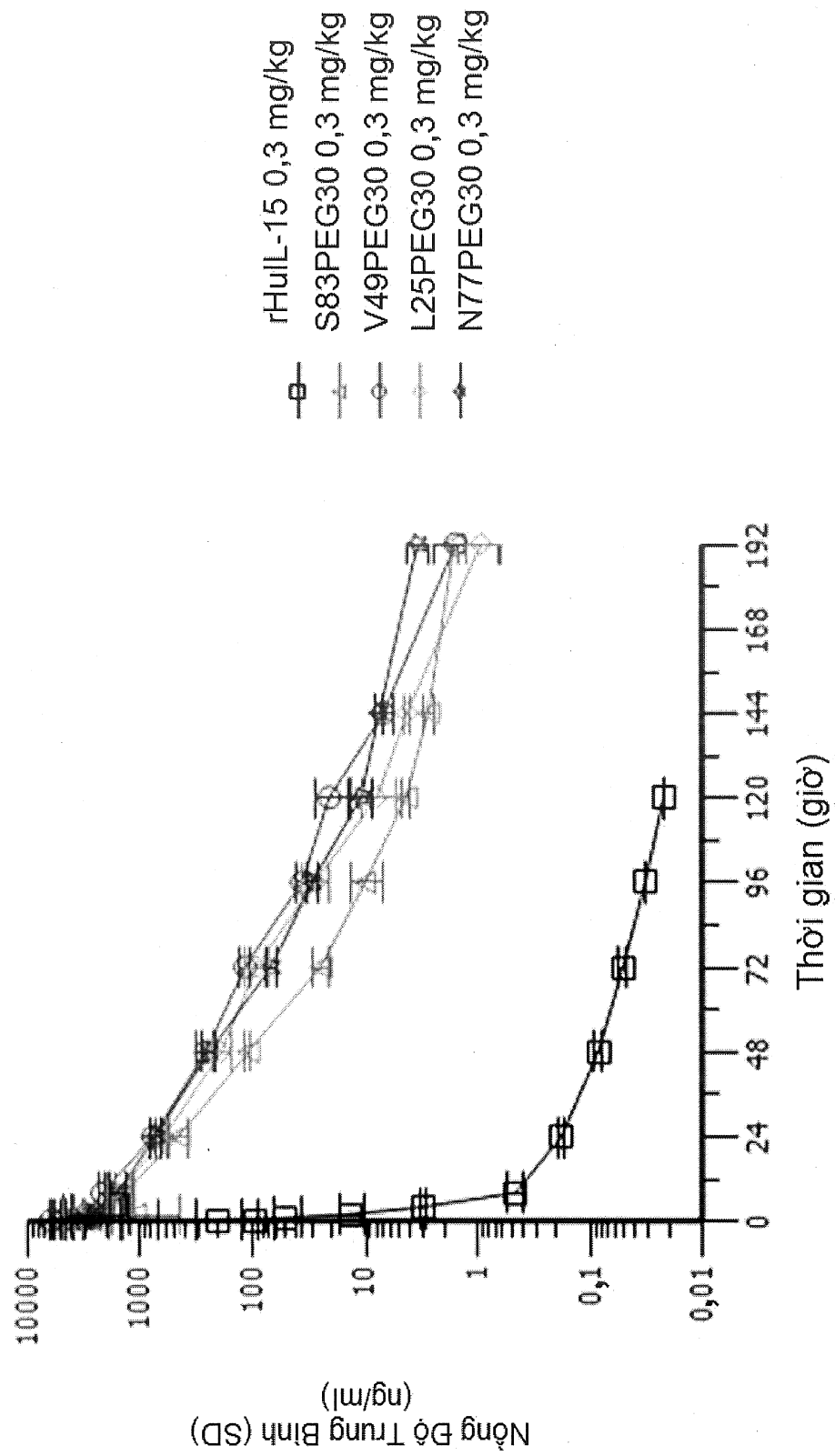


Tế bào T CD8+

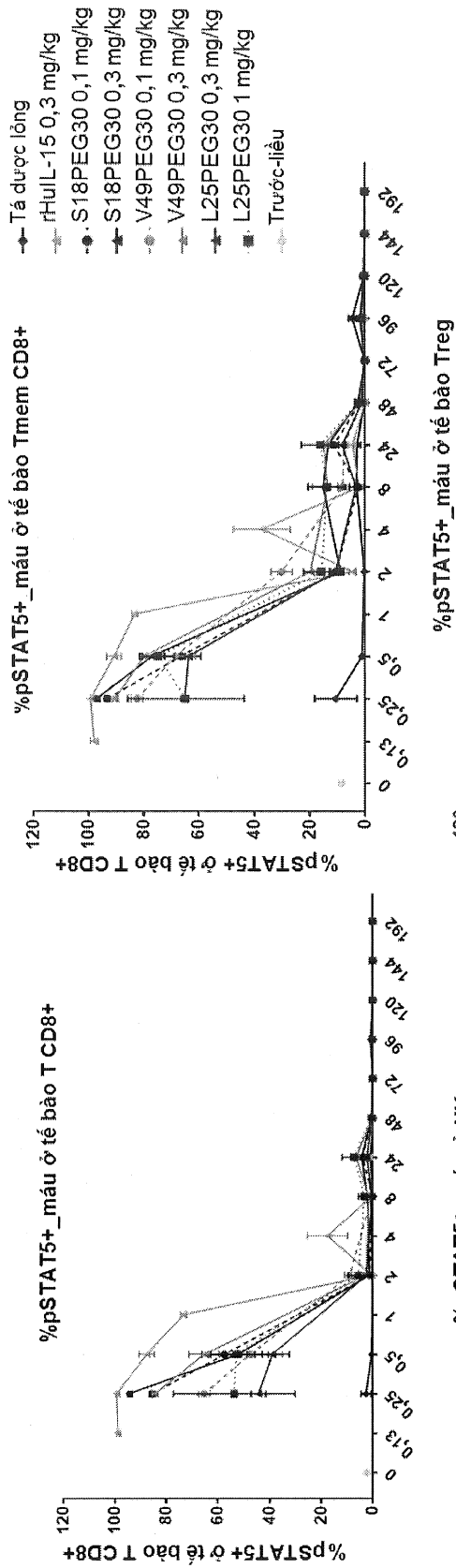


HÌNH 12D

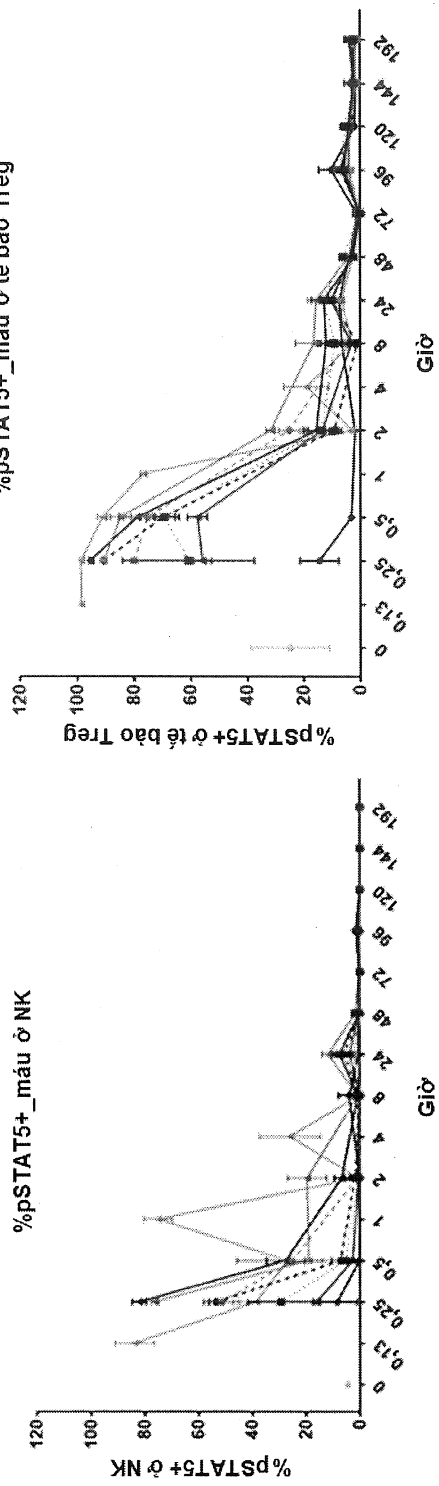
HÌNH 13



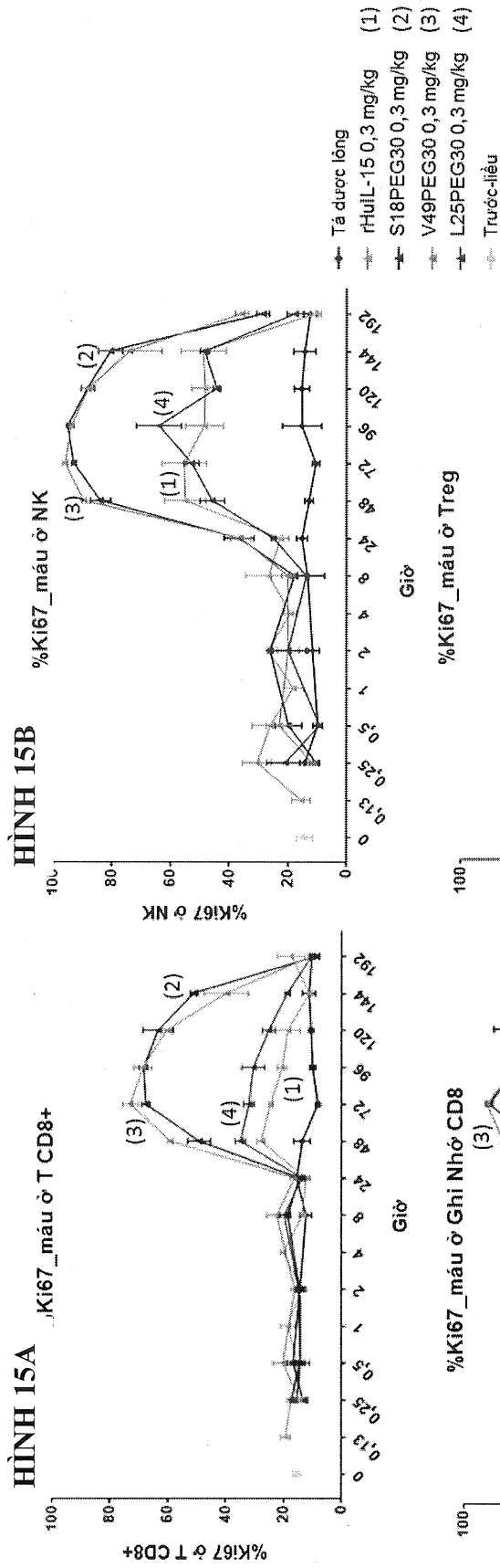
HÌNH 14A

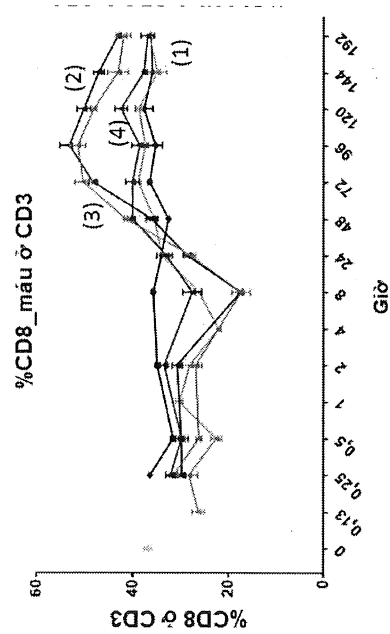
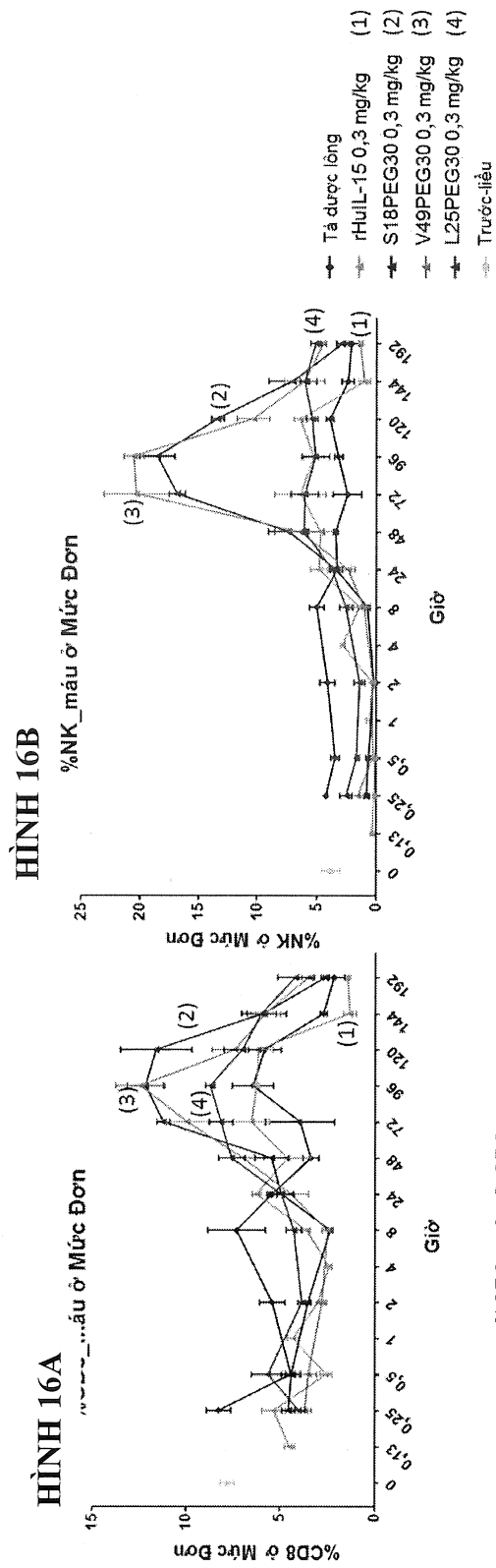


HÌNH 14D

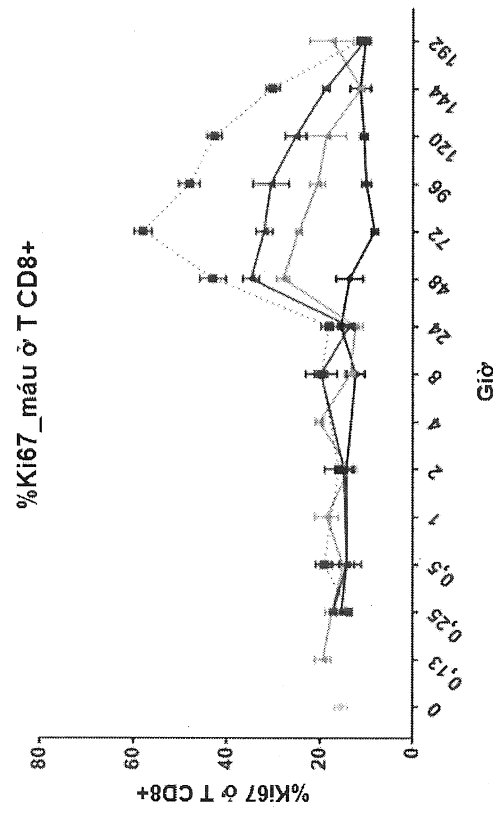


HÌNH 14C

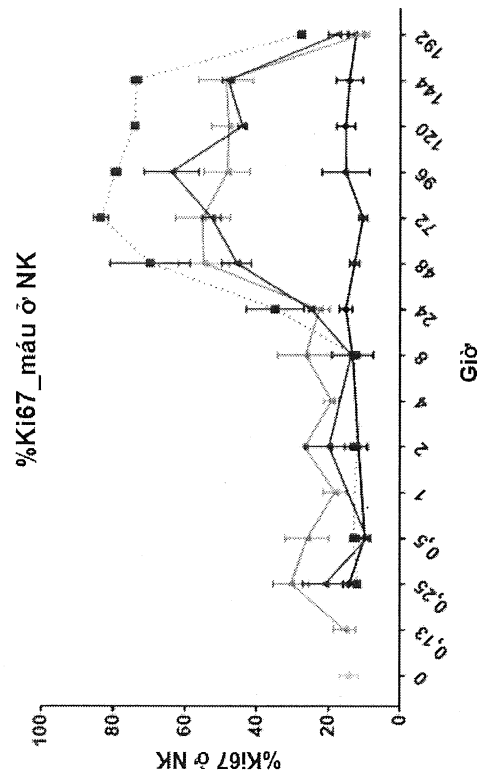




HÌNH 17B



HÌNH 17A



Tá dược lỏng
rHuIL-15 0,3 mg/kg
L25PEG300 0,3 mg/kg
L25PEG300 1 mg/kg
Trước-liều

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> SYNTHORX, INC.

<120> POLYPEPTIT INTERLEUKIN 15 (IL-15) ĐÃ ĐƯỢC CẢI BIẾN VÀ
DƯỢC PHẨM CHỨA POLYPEPTIT INTERLEUKIN 15 (IL-15) NÀY

<130> 46085-713.601

<140> PCT/US2019/019637

<141> 26/02/2019

<150> 62/635,133

<151> 2018-02-26

<160> 5

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

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

Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln
		35					40					45			

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

Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val
65					70				75					80	

Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile
				85					90					95	

Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn
			100					105						110	

Thr Ser

<210> 2

<211> 136

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

Val Ile Met Ser Arg Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys
20 25 30

Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr
35 40 45

Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys
50 55 60

Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser
65 70 75 80

Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu
85 90 95

Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu
100 105 110

Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile
115 120 125

Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
130 135

<210> 3

<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 Pro

<400> 3
Val Pro Gly Xaa Gly
1 5

<210> 4
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

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

<400> 4
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

<210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

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

<400> 5
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5