

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido de interleucina 2 (IL-2) modificado que comprende al menos un aminoácido unido covalentemente a un resto de conjugación, en donde la posición del al menos un aminoácido no natural se selecciona de K35, T37, R38, T41, F42, K43, F44, Y45, E60, E61, E62, K64, P65, E68, V69, N71, L72, M104, C105 e Y107, donde las posiciones de los residuos corresponden a las posiciones 35, 37, 38, 41, 42, 43, 44, 45, 61, 62, 64, 65, 68, 69, 71, 72, 104, 105 y 107 como se establece en SEQ ID NO: 1;
en el que el resto de conjugación es un polímero soluble en agua; y
en el que el polipéptido de IL-2 modificado comprende al menos un 80% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1.
2. El polipéptido IL-2 y modificado de la reivindicación 1, en donde la posición del al menos un aminoácido no natural se selecciona de T37, R38, T41, F42, K43, F44, Y45, E61, E62, P65, E68 y L72, en donde las posiciones de los residuos corresponden a las posiciones 37, 38, 41, 42, 43, 44, 45, 61, 62, 65, 68 y 72 como se establece en SEQ ID NO: 1.
3. El polipéptido IL-2 modificado de la reivindicación 1, en donde la posición del al menos un aminoácido no natural se selecciona de K35, K64, V69, N71, M104, C105 e Y107, en donde las posiciones de los residuos corresponden a las posiciones 35, 64, 69, 71, 104, 105 y 107 como se establece en SEQ ID NO: 1.
4. El polipéptido IL-2 modificado de la reivindicación 1, en donde la posición del al menos un aminoácido no natural se selecciona de T37, R38, T41, Y45, E61, E68 y L72, en donde las posiciones de los residuos corresponden a las posiciones 37, 38, 41, 45, 61, 68 y 72 como se establece en SEQ ID NO: 1.

P-2020/1306 –
 Reivindicaciones presentadas como modificación voluntaria
 Septiembre 30, 2020

5. El polipéptido IL-2 aislado de la reivindicación 1, en donde la posición del al menos un aminoácido no natural se selecciona de F42, K43, F44, E62 y P65, en donde las posiciones de los residuos corresponden a las posiciones 42, 43, 44, 62 y 65 como se establece en SEQ ID NO: 1.
6. El polipéptido IL-2 modificado de la reivindicación 5, en el que la posición del al menos un aminoácido no natural es P65, en el que la posición del residuo corresponde a la posición 65 como se establece en SEQ ID NO: 1.
7. El polipéptido IL-2 modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el al menos un aminoácido no natural:
 - es un análogo de lisina, o
 - comprende una cadena lateral aromática.
8. El polipéptido IL-2 modificado de la reivindicación 7, en donde el al menos un aminoácido no natural comprende, N6-azidoetoxi-L-lisina (AzK), N6-propargiletoxi-L-lisina (PraK), BCN-L-lisina, norborneno lisina, TCO-lisina, metiltetrazina lisina, aliloxicarbonilisina, , p-acetil-L-fenilalanina, p-azidometil-L-fenilalanina (pAMF), p-yodo-L-fenilalanina, m-acetilfenilalanina, ácido oxononanoico, p-propargiloxifenilalanina, p-propargil-fenilalanina, 3-metil-fenilalanina, fenilalanina fluorada, isopropil-L-fenilalanina, p-azido-L-fenilalanina, p-acil-L-fenilalanina, p-benzoil-L-fenilalanina, p-bromofenilalanina, p-amino-L-fenilalanina, isopropil-L-fenilalanina, O-aliltirosina, O-metil-L-tirosina, O-4-alil-L-tirosina, 4-propil-L-tirosina, fosfoniotirosina, , L-3-(2-naftil)alanina, ácido propanoico 2-amino-3-((2-((3-(benziloxi)-3-oxopropil)amino)etil)selanil), o 2-amino-3-(fenilselanil)propanoico.
9. El polipéptido IL-2 aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el polímero soluble en agua comprende polietilenglicol (PEG), poli(propilenglicol) (PPG), copolímeros de etilenglicol y propilenglicol,

P-2020/1306 –
Reivindicaciones presentadas como modificación voluntaria
Septiembre 30, 2020

poli(poliol oxietilado), poli(alcohol olefínico), poli(vinilpirrolidona), poli(hidroxialquilmetacrilamida), poli(metacrilato de hidroxialquil), poli(sacáridos), poli(α -hidroxiácido), poli(alcohol vinílico), polifosfenceno, polioxazolinás (POZ), poli(N-acrilóilmorfolina), o una combinación de los mismos.

- 10.El polipéptido IL-2 modificado de la reivindicación 9, en donde el polímero soluble en agua comprende PEG.
- 11.El polipéptido IL-2 modificado de la reivindicación 10, en donde el PEG tiene un peso molecular medio ponderado de aproximadamente 20.000 Dalton a aproximadamente 85.000 Dalton.
- 12.El polipéptido IL-2 modificado de la reivindicación 11, en donde el PEG tiene un peso molecular medio ponderado de aproximadamente 20.000 Dalton, aproximadamente 25.000 Dalton, aproximadamente 30.000 Dalton, aproximadamente 35.000 Dalton, aproximadamente 40.000 Dalton, aproximadamente 45.000 Dalton o aproximadamente 50.000 Dalton.
- 13.El polipéptido IL-2 modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el residuo conjugado se une i al menos un aminoácido no natural de polipéptido IL-2 modificado a través de un conector.
- 14.El polipéptido IL-2 modificado de la reivindicación 13, en el que el enlazador comprende un enlazador homobifuncional, un enlazador heterobifuncional, un enlazador dipéptido escindible o no escindible, un grupo maleimida, un espaciador o una combinación de los mismos.
- 15.El polipéptido IL-2 modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde el polipéptido IL-2 modificado comprende una eliminación de N-terminal.

P-2020/1306 –
Reivindicaciones presentadas como modificación voluntaria
Septiembre 30, 2020

- 16.El polipéptido IL-2 modificado de la reivindicación 15, en donde la eliminación de N-C-terminal comprende una eliminación de los primeros 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25 o 30 residuos del extremo N, en donde las posiciones de los residuos son en referencia a las posiciones en la SEQ ID NO: 1.
- 17.El polipéptido IL-2 modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en donde el polipéptido IL-2 modificado comprende aproximadamente el 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de secuencia identidad con la SEQ ID NO: 1.
- 18.Una composición farmacéutica que comprende el polipéptido IL-2 modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1-17 y un excipiente farmacéuticamente aceptable
- 19.La composición farmacéutica de la reivindicación 18, en la que la composición farmacéutica está formulada para administración sistémica.
- 20.La composición farmacéutica de la reivindicación 18, en la que la composición farmacéutica está formulada para administración parenteral.
- 21.Un método para expandir una célula auxiliar CD4+, una célula nativa CD8, una célula efectora e ingenua CD8+, una célula asesina natural (NK) o una población de células T asesinas naturales (NKT), que comprende poner en contacto una población de células con un polipéptido IL-2 modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1-17 o una composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 18-20 durante un tiempo suficiente para inducir la formación de un complejo con un IL-2R $\beta\gamma$, estimulando así expansión de la población de células Teff o NK.
- 22.El método de la reivindicación 21, en donde el polipéptido IL-2 modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1-17, o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 18-20 expande las células

P-2020/1306 –
Reivindicaciones presentadas como modificación voluntaria
Septiembre 30, 2020

reguladoras CD4+ T (Treg) en menos del 20%, 15%, 10%, 5% o 1% en la población de células CD3+ en comparación con una expansión de las células Treg CD4+ en la población de células CD3+ en contacto con un polipéptido IL-2 tipo salvaje.

23.El método de la reivindicación 21, en donde el polipéptido IL-2 modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1-17, o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 18-20 no expande las células CD4+ Treg en la población de células.

24.El método de la reivindicación 21, en donde la relación de células Teff con las células Treg en la población de células, después de la incubación con el polipéptido IL-2 modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1-17 o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 18-20 es aproximadamente o al menos 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 20:1, 50:1, o 100: 1.

25.El método de la reivindicación 15, en donde el método es un método *in vitro*.

26.El método de la reivindicación 21, en donde el método es un método *ex vivo*.