(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114728056 A
(43)申请公布日 2022.07.08

(21)申请号 202080078434.7
(22)申请日 2020.09.18
(30)优先权数据
62/903,609 2019.09.20 US
63/062,858 2020.08.07 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.05.11
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/IB2020/058693 2020.09.18
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/053589 EN 2021.03.25
(71)申请人 阿诺基昂股份公司
地址 瑞士埃居布朗
(72)发明人 S.康托斯 D.维塔拉纳
S.A.伊斯罗
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
专利代理师 许斐斐
(51)Int.Cl.
A61K 39/385(2006.01)

权利要求书11页 说明书135页
序列表53页 附图7页

(54)发明名称

用于诱导抗原特异性免疫耐受的化合物

(57)摘要

本发明公开了用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物，所述化合物包含抗原、聚合物接头和肝靶向部分，其中所述聚合物接头包含末端单元，所述末端单元缺乏二硫酯和二硫代苯甲酸酯中的每者，并且其中所述末端单元赋予所述化合物处于溶液中时改善的稳定性。

CN 114728056 A

1.一种用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的抗原特异性致耐受性化合物,所述化合物包含:

期望耐受性的抗原;

其中所述期望耐受性的抗原在单独呈递给所述受试者时能够在所述受试者中诱导不希望的免疫反应;

聚合物接头,所述聚合物接头包含:

包含第一丙烯酰基单元和第二丙烯酰基单元的共聚物,所述第一丙烯酰基单元包含第一C-酰胺基或C-羧基官能团,并且所述第二丙烯酰基单元包含第二C-酰胺基或C-羧基官能团;

其中所述第二C-酰胺基或C-羧基官能团与脂族基团、醇、或脂族醇缀合;

其中所述聚合物接头经由二硫键或二硫烷基乙酯与所述期望耐受性的抗原结合;

其中所述聚合物接头包含末端单元,所述末端单元缺乏二硫酯和二硫代苯甲酸酯(DTB)中的每者,并且其中所述末端单元赋予所述化合物处于溶液中时改善的稳定性;以及

肝靶向部分;

其中所述肝靶向部分通过所述第一C-酰胺基或C-羧基官能团和聚醚与所述第一丙烯酰基单元连接。

2.根据权利要求1所述的化合物,其中相对于包括作为链转移剂(CTA)残余部分的二硫酯部分的化合物而言,所述化合物具有改善的稳定性。

3.根据权利要求1所述的化合物,其中所述末端单元是异丁腈。

4.根据权利要求1所述的化合物,其中所述二硫键或所述二硫烷基乙酯各自被构造成在向所述受试者施用所述化合物时裂解,并且从所述聚合物接头释放所述期望耐受性的抗原。

5.根据权利要求1所述的化合物,其中所述末端单元缺乏三硫代碳酸酯和黄原酸酯中的一种或多种。

6.根据权利要求1所述的化合物,其中当以1mg/mL的化合物浓度处于10mM乙酸钠和274mM山梨糖醇的溶液中时,在23℃至27℃的温度下,所述化合物在28天的时段内降解少于5.0%。

7.根据权利要求1所述的化合物,其中所述末端单元包含与所述聚合物接头的碳键合的碳原子,由此在所述聚合物接头与所述末端单元之间提供碳-碳键。

8.根据权利要求1所述的化合物,其中所述末端单元通过在偶氮化合物与所述聚合物接头的前体之间执行反应来提供,所述前体包含二硫酯、二硫代苯甲酸酯、三硫代碳酸酯、或黄原酸酯。

9.根据权利要求8所述的化合物,其中所述偶氮化合物是偶氮二异丁睛(AIBN)。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的化合物,其中末端单元是异丁腈。

11.根据权利要求1至9中任一项所述的化合物,其中所述末端单元缺乏S原子或芳基中的一种或多种。

12.根据权利要求1至9中任一项所述的化合物,其中所述末端单元通过偶氮化合物与所述化合物的前体之间的反应提供在所述化合物上。

13.根据权利要求12所述的化合物,其中所述偶氮化合物是偶氮二烷基腈。

14.根据权利要求13所述的化合物，其中所述偶氮化合物是偶氮二异丁腈(AIBN)。

15.根据权利要求12所述的化合物，其中所述化合物的前体包含二硫酯。

16.根据权利要求1至9中任一项所述的化合物，其中所述第一丙烯酰基单元包含第一乙基乙酰胺基官能团，并且所述第二丙烯酰基单元包含第二乙基乙酰胺基官能团。

17.根据权利要求16所述的化合物，其中所述肝靶向部分通过所述第一乙基乙酰胺基官能团与所述聚合物接头结合，并且其中所述肝靶向部分直接地或通过包含脂族基团、聚醚、或聚氨基的连接基团与所述第一丙烯酰基单元连接。

18.根据权利要求17所述的化合物，其中所述第二乙基乙酰胺基官能团与脂族基团、醇、或脂族醇连接，并且其中充当间隔基。

19.一种组合物，其包含根据权利要求1至18中任一项所述的化合物。

20.根据权利要求19所述的组合物，其中所述组合物包含药学上可接受的载体。

21.根据权利要求1至18中任一项所述的化合物用于诱导对所述抗原的耐受性的用途。

22.一种诱导对抗原耐受的方法，受试者能够针对该抗原发展不希望的免疫反应，所述方法包括向所述受试者施用根据权利要求1至18中任一项所述的化合物。

23.根据权利要求22所述的方法，其中在所述受试者暴露于所述抗原之前、在所述受试者已暴露于所述抗原之后、或两者，施用所述化合物。

24.根据权利要求1至18中任一项所述的化合物用于制备诱导对抗原的耐受性或者治疗不希望的免疫反应的药物的用途。

25.一种用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物，所述化合物包含抗原、包含聚合物部分的聚合物接头，以及肝靶向部分；

其中所述接头经由二硫键或二硫烷基乙酯与所述抗原结合；

其中所述二硫键或所述二硫烷基乙酯各自被构造成在向所述受试者施用所述化合物时裂解，并且从所述聚合物接头释放所述抗原；

其中所述聚合物接头包含末端单元，所述末端单元缺乏二硫酯和二硫代苯甲酸酯(DTB)中的每者，并且其中所述末端单元赋予所述化合物处于溶液中时改善的稳定性。

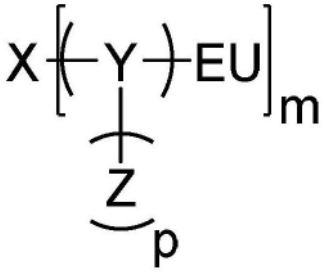
26.根据权利要求25所述的化合物，其中所述聚合物部分是共聚的，并且包含第一重复单元和第二重复单元。

27.根据权利要求26所述的化合物，其中所述肝靶向部分直接地或通过所述第一单元的连接基团与所述第一单元连接。

28.根据权利要求27所述的化合物，其中所述第一单元包含第一C-酰胺基或第一C-羧基官能团，并且所述连接基团为脂族基团、聚醚、或聚氨基。

29.根据权利要求26至28中任一项所述的化合物，其中所述第一重复单元是第一丙烯酰基单元，并且所述第二重复单元是第二丙烯酰基单元。

30.一种抗原特异性致耐受性化合物，其包含式1：



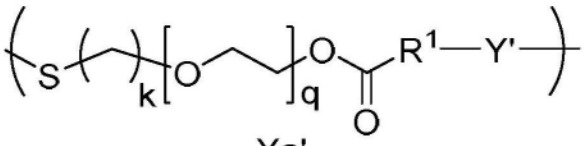
式 1

其中：

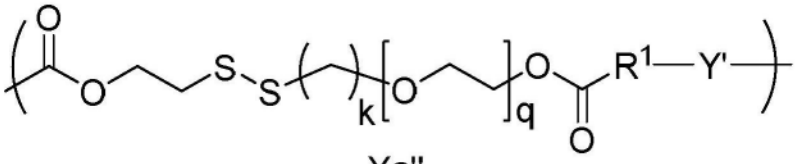
m为约1至100的整数；

X包含抗原；

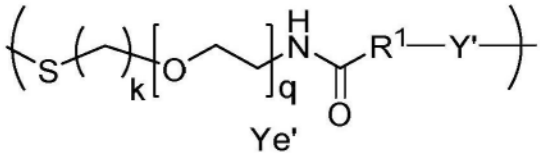
Y为具有选自以下的式的接头部分：



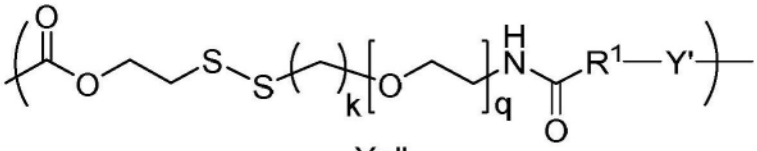
Ya'



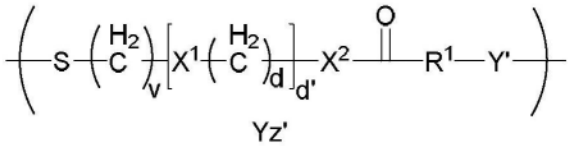
Ya''



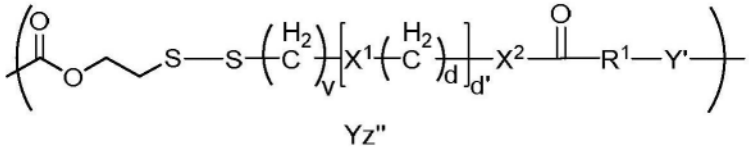
Ye'



Ye''



Yz'



Yz''

其中：

q为0至100的整数；

k为0至10的整数；

R_1选自-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-和-CH

(CH_3)-;并且

X^1和X^2独立地选自直接键、-NR^6-和-O-;

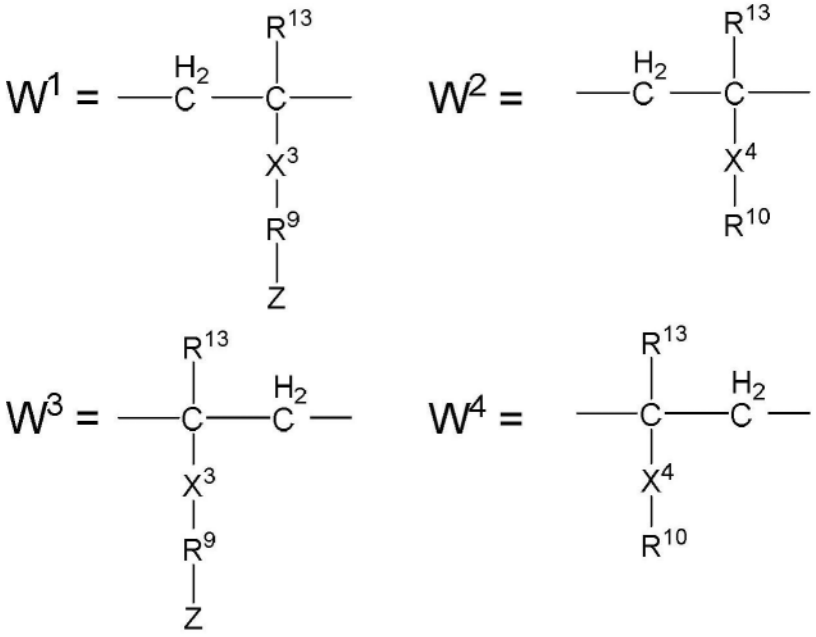
v为0至10的整数;

d为0至5的整数;

d'为0至50的整数;

R^6为H或任选取代的C_{1-6}烷基;

Y'为W^1与W^2或W^3与W^4的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物,其中W^1、W^2、W^3和W^4如下所示:



其中Y中W^1或W^3的重复单元数表示为p,并且其中p为至少约1的整数;

其中Y中W^2或W^4的重复单元数表示为r,并且其中r为至少约1的整数;

其中p和r的总和的范围为100至200;

其中

X^3选自-C(O)-NH-或-C(O)O-;

X^4为-C(O)-NH-、-C(O)O-、或-C(O)-OH;

R^9为直接键或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-;

其中X^5和X^6独立地选自直接键、-$CNR^{6'}$-和-O-;

其中$R^{6'}$的每个实例独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基;

R^{10}不存在,为H,或者为-[$((CH_2)_{h''}X^7)_{t''}$-$((CH_2)_{h''}X^8)_{t''}$]-H;

其中X^7和X^8独立地选自直接键、-$CNR^{6''}$-和-O-;

其中$R^{6''}$的每个实例独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基;

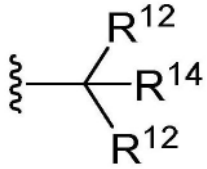
其中t、t'、h、h'、t"、t"'、h"和h"'各自独立地为等于或至少0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、或20的整数;

R^{13}的每个实例独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基;

EU为末端单元,其中EU包含与所述接头的碳键合的碳原子,由此在所述接头与所述末端单元之间形成碳-碳键;并且

Z包含肝靶向部分。

31.根据权利要求30所述的化合物,其中EU由以下表示:



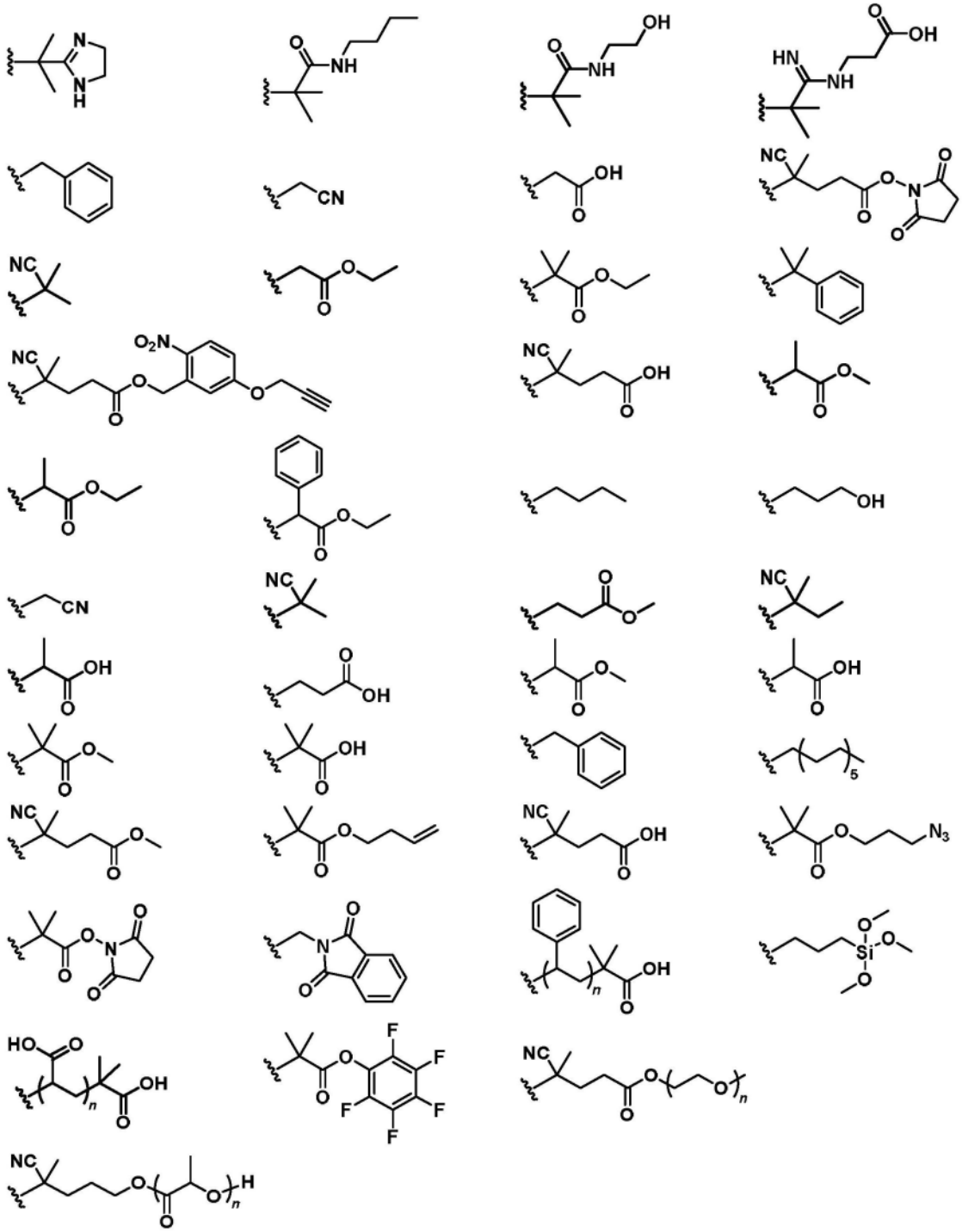
其中R^{14}选自任选取代的C_{1-11}烷基;-CN;任选取代的-C(=NH)NH_2;任选取代的杂环基;任选取代的芳基;任选取代的杂芳基;任选取代的芳烷基;任选取代的杂芳烷基;C-羧基(-C(O)OR),其中R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、或任选取代的苯基;任选取代的C-酰胺基(-C(O)NR_AR_B),其中R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基;任选取代的琥珀酰亚胺酯;任选取代的异吲哚啉-1,3-二酮;烷基硅烷;并且

其中R^{12}的每个实例独立地为氢、任选地被卤素、C-羧基、-氨基、或-OH取代的C_{1-10}烷基,或者R^{12}的每个实例一起提供任选取代的C_{3-6}环烷基。

32.根据权利要求30所述的化合物,其中R^{14}上的每个任选的取代选自C_{1-3}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}亚烷基、羟基、氨基、卤素、C-羧基(其中R为-H、C_{1-6}烷基、或聚乙二醇(PEG))。

33.根据权利要求1所述的化合物,其中EU选自





34.根据权利要求30至33中任一项所述的化合物,其中p与r的比率为约1:1。

35.根据权利要求30至33中任一项所述的化合物,其中p与r的比率为约4:1。

36.根据权利要求30至33中任一项所述的化合物,其中Y为Ya',并且

k为2;

R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-;

X^3为-C(O)-NH-,h为2,X^5为-O-,t为2,并且t'为0,使得X^3和R^9一起为-C(O)-NH-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-。

37.根据权利要求30至33中任一项所述的化合物,其中Y为Ye',并且其中

q为0；

k为2；

R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-；

X^3和R^9一起为-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-$(O-CH_2-CH_2)_t$-；

t为1；并且

Z为半乳糖、葡萄糖、半乳糖胺、葡糖胺、N-乙酰半乳糖胺、或N-乙酰葡糖胺中的一种或多种。

38.根据权利要求36或37所述的化合物，其中q为0。

39.根据权利要求36或37所述的化合物，其中q为3。

40.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中当以1mg/mL的化合物浓度处于10mM乙酸钠和274mM山梨糖醇的溶液中时，在23℃至27℃的温度下，所述化合物在28天的时段内降解少于2.0％。

41.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述肝靶向部分为半乳糖、葡萄糖、半乳糖胺、葡糖胺、N-乙酰半乳糖胺和/或N-乙酰葡糖胺。

42.根据权利要求41所述的化合物，其中Z在其C1、C2或C6处与Y键合。

43.根据权利要求42所述的化合物，其中Z为N-乙酰半乳糖胺或N-乙酰葡糖胺。

44.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述抗原是全长抗原的致耐受性部分。

45.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述抗原包含食物抗原。

46.根据权利要求45所述的化合物，其中所述食物抗原选自伴花生球蛋白(Ara h 1)、变应原II(Ara h 2)、花生凝集素、羽扇豆球蛋白(Ara h 6)、31kda主要变应原/抗病蛋白同源物(Mal d 2)、脂质转移蛋白前体(Mal d 3)、主要变应原Mal d 1.03D(Mal d 1)、a-乳清蛋白(ALA)、乳运铁蛋白、猕猴桃素(Act c 1,Act d 1)、植物半胱氨酸蛋白酶抑制剂、类甜蛋白(Act d 2)、kiwellin(Act d 5)、卵类粘蛋白、卵白蛋白、卵转铁蛋白和溶菌酶、卵黄蛋白、apovitillin、vosvetin、2S白蛋白(Sin a 1)、11S球蛋白(Sin a 2)、脂质转移蛋白(Sin a 3)、抑制蛋白(Sin a 4)、抑制蛋白(Api g 4)、高分子量糖蛋白(Apig 5)、Pen a 1变应原(Pen a 1)、变应原Pen m 2(Pen m 2)、原肌球蛋白快速异构体、高分子量麦谷蛋白、低分子量麦谷蛋白、α-、γ-和ω-麦醇溶蛋白、大麦醇溶蛋白、黑麦醇溶蛋白、燕麦蛋白、主要草莓过敏Fra a 1-E(Fra a 1)、抑制蛋白(Mus xp 1)、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。

47.根据权利要求45所述的化合物，其中所述食物抗原选自高分子量麦谷蛋白、低分子量麦谷蛋白、α-、γ-和ω-麦醇溶蛋白、大麦醇溶蛋白、黑麦醇溶蛋白、燕麦蛋白、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。

48.根据权利要求45所述的化合物，其中所述食物抗原与乳糜泻相关联。

49.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述抗原与自身免疫疾病相关联。

50.根据权利要求49所述的化合物，其中所述自身免疫疾病选自I型糖尿病、多发性硬化症、类风湿性关节炎、白癜风、葡萄膜炎、寻常型天疱疮、视神经脊髓炎、古德帕斯彻病、帕金森氏病、重症肌无力、乳糜泻，以及抗中性粒细胞胞浆抗体相关联的血管炎。

51.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述抗原包含自体抗原。

52.根据权利要求51所述的化合物，其中所述自体抗原选自髓鞘碱性蛋白、髓鞘少突胶质细胞糖蛋白和蛋白脂质蛋白、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。

53.根据权利要求51所述的化合物，其中所述自体抗原选自胰岛素、胰岛素原、前胰岛素原、谷氨酸脱羧酶-65(GAD-65)、GAD-67、胰岛素瘤相关蛋白2(IA-2)和胰岛素瘤相关蛋白213(IA-213)、ICA69、ICA12(SOX-13)、羧肽酶H、Imogen 38、GLIMA 38、嗜铬粒蛋白-A、HSP-60、羧肽酶E、外周蛋白、葡萄糖转运蛋白2、肝癌-肠-胰腺/胰腺相关蛋白、S100β、胶质原纤维酸性蛋白、再生基因II、胰腺十二指肠同源盒1、强直性肌营养不良激酶、胰岛特异性葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基相关蛋白、SST G-蛋白偶联受体1-5、髓过氧化物酶(MPO)、蛋白酶-3/成髓细胞素(PR3)，以及任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。

54.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述抗原包含治疗剂。

55.根据权利要求54所述的化合物，其中所述治疗剂选自阿昔单抗、阿达木单抗、α-半乳糖苷酶、β-半乳糖苷酶、阿地白介素、α阿糖苷酶、因子VIII、因子IX、英夫利昔、L-天冬酰胺酶、拉罗尼酶、那他珠单抗、奥曲肽、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、拉布立酶(尿酸酶)、基因治疗载体、或AAV、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。

56.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述抗原包含移植抗原。

57.根据权利要求56所述的化合物，其中所述移植抗原选自MHC I类和MHC II类单倍型蛋白的亚基以及它们与其呈递的抗原的复合物，以及次要血型抗原RhCE、Kell、Kidd、Duffy和Ss。

58.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述抗原或其致耐受性部分是桥粒芯糖蛋白-3、-1和/或-4。

59.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述抗原或其致耐受性部分与寻常型天疱疮相关联。

60.一种组合物，其包含根据前述权利要求中任一项所述的化合物。

61.根据前述权利要求中任一项所述的化合物用于诱导对所述抗原的耐受性的用途。

62.一种诱导对抗原耐受的方法，受试者能够针对该抗原发展不希望的免疫反应，所述方法包括向所述受试者施用根据权利要求至中任一项所述的化合物。

63.根据权利要求62所述的方法，其中在所述受试者暴露于所述抗原之前、在所述受试者已暴露于所述抗原之后、或两者，施用所述化合物。

64.根据前述权利要求中任一项所述的化合物用于制备诱导对抗原的耐受性的药物的用途。

65.根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述抗原包含移植受者针对其发展不希望的免疫反应的外源移植抗原、其致耐受性部分、或其模拟物。

66.根据前述权利要求中任一项所述的化合物或组合物，其中所述抗原包含诱导患者针对其发展不希望的免疫反应的外源食物、动物、植物或环境抗原、任何其致耐受性部分、或任何其模拟物。

67.根据前述权利要求中任一项所述的化合物或组合物，其中所述抗原包含患者针对其发展不希望的免疫反应的外源治疗剂、其致耐受性部分、或其模拟物。

68.根据前述权利要求中任一项所述的化合物或组合物，其中所述抗原包含自体抗原、其致耐受性部分、或患者针对其内源形式发展不希望的免疫反应的其模拟物或其致耐受性

部分。

69.根据前述权利要求中任一项所述的化合物或组合物,其中所述抗原包含抗体、抗体片段或特异性结合循环蛋白或肽或抗体的配体,所述循环蛋白或肽或抗体成因地涉及移植排斥、针对治疗剂的免疫反应、自身免疫疾病、超敏反应和/或变态反应。

70.一种用于在功能类似的天然蛋白的产生不足的受试者中诱导对治疗性蛋白的耐受性的药学上可接受的组合物,其包含根据前述权利要求中任一项所述的化合物。

71.根据前述权利要求中任一项所述的化合物或组合物用于治疗针对抗原的不希望的免疫反应的用途。

72.根据权利要求71所述的用途,其中所述不希望的免疫反应与I型糖尿病、多发性硬化症、类风湿性关节炎、白癜风、葡萄膜炎、寻常型天疱疮、视神经脊髓炎、帕金森氏病、古德帕斯彻病、乳糜泻、或重症肌无力相关联。

73.根据前述权利要求中任一项所述的化合物或组合物,其用于制造用于治疗针对抗原的不希望的免疫反应的药物。

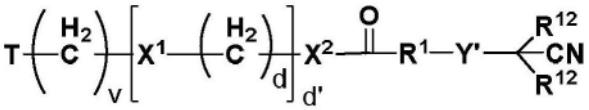
74.一种制造抗原特异性致耐受性化合物的方法,其包括:

使用可逆加成断裂链转移反应(RAFT)制备聚合物接头的聚合物部分;

用末端单元置换所述聚合物部分的链转移剂残余部分;以及

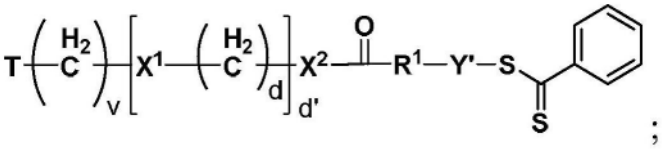
使抗原与所述聚合物接头缀合。

75.一种制造具有以下结构的化合物的方法:



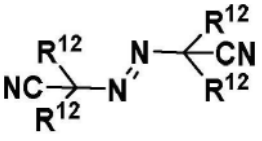
其包括:

提供以下结构的含二硫代苯甲酸酯的化合物:



;

提供以下结构的末端单元:



;

使所述末端单元试剂与所述含二硫代苯甲酸酯的化合物混合,以形成所述化合物;

其中T在存在时为PDS或羧酸;

X^1和X^2独立地选自直接键、-NR^6-和-O-;

R^6为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的C_{1-6}烷基;

v为0至10的整数;

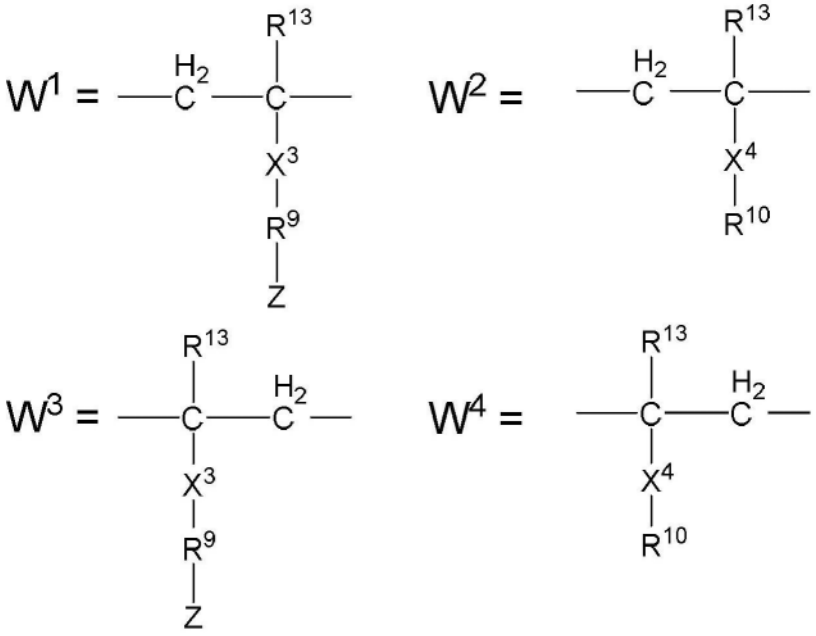
d为0至5的整数;

d'为0至50的整数;

其中R^{12}的每个实例独立地为氢或任选取代的烷基;

其中R_1选自-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-和-CH(CH_3)-

其中Y'为W^1与W^2或W^3与W^4的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物，其中W^1、W^2、W^3和W^4如下所示：



其中Y'中W^1或W^3的重复单元数表示为p，并且其中p为至少约1的整数；

其中Y'中W^2或W^4的重复单元数表示为r，并且其中r为至少约1的整数；

其中

X^3选自-C(O)-NH-或-C(O)O-；

X^4为-C(O)-NH-、-C(O)O-、或-C(O)-OH；

R^9为直接键或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-；

其中X^5和X^6独立地选自直接键、-$CNR^{6'}$-和-O-；

其中$R^{6'}$的每个实例独立地为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的-C_{1-6}烷基；

R^{10}不存在，或者为-[$((CH_2)_{h''}X^7)_{t''}$-$((CH_2)_{h'''}X^8)_{t'''}$]-H；

其中X^7和X^8独立地选自直接键、-$CNR^{6''}$-和-O-；

其中$R^{6''}$的每个实例独立地为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的-C_{1-6}烷基；

其中t、t'、h和h'各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20；

其中t''、t'''、h''和h'''各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20；

R^{13}的每个实例独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基；并且

Z包含肝靶向部分。

76.一种制造抗原特异性致耐受性化合物的方法，其包括：

使肝靶向部分与第一丙烯酰基单体偶联；

使用至少所述第一丙烯酰基单体和第二丙烯酰基单体的可逆加成断裂链转移反应(RAFT)制备聚合物接头的聚合物部分，所述聚合物部分包含共聚物，所述共聚物包含第一

丙烯酰基单元和第二丙烯酰基单元，所述第一丙烯酰基单元包含第一C-酰胺基或C-羧基官能团，并且所述第二丙烯酰基单元包含第二C-酰胺基或C-羧基官能团；

用末端单元置换所述聚合物部分的链转移剂残余部分，其中所述末端单元赋予所述化合物处于溶液中时改善的稳定性；并且

使抗原与所述聚合物接头缀合，其中所述期望耐受性的抗原在单独呈递给所述受试者时能够在所述受试者中诱导不希望的免疫反应。

77.根据权利要求76所述的方法，其中所述末端单元通过使用双偶氮化合物的反应加入到所述聚合物部分。

78.根据权利要求76或77所述的方法，其中所述第二丙烯酰基单体与脂族基团、醇、或脂族醇偶联。

79.一种用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物，所述化合物包含抗原、包含聚合物部分的聚合物接头，以及肝靶向部分；

其中所述接头经由二硫键或二硫烷基乙酯与所述抗原结合；

其中所述二硫键或所述二硫烷基乙酯各自被构造成在向所述受试者施用所述化合物时裂解，并且从所述聚合物接头释放所述抗原；

其中所述聚合物接头包含末端单元，所述末端单元赋予所述化合物处于溶液中时改善的稳定性；并且

其中所述末端单元不为-H、二硫酯、二硫代苯甲酸酯、三硫代碳酸酯、或黄原酸酯。

80.根据权利要求1至48中任一项所述的化合物，其中所述抗原包含SEQ ID NO:54、55、56、57、60、或61的全部或免疫原性片段。

81.根据权利要求1至44或49至52中任一项所述的化合物，其中所述抗原包含SEQ ID NO:21、27、28、30、32、43、44、或46的全部或免疫原性片段。

82.根据权利要求1至44、49至51或53中任一项所述的化合物，其中所述抗原包含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:19的全部或免疫原性片段。

用于诱导抗原特异性免疫耐受的化合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2020年8月7日提交的美国临时专利申请号63/062,858以及于2019年9月20日提交的美国临时专利申请号62/903,609的优先权的权益,它们各自的公开内容据此全文以引用方式并入本文。

[0003] 序列表的引用

[0004] 根据35 U.S.C.§1.52(e),经由EFS-Web以ASCII文本文件提交的序列表据此以引用方式并入。序列表的ASCII文本文件的名称是ANOK037WO_ST25.TXT,ASCII文本文件的创建日期是2020年9月16日,并且ASCII文本文件的大小是104KB。

技术领域

[0005] 本文所公开的若干实施方案总体涉及用于诱导对所关注的特异性抗原的免疫耐受的化合物和组合物(包括药学上可接受的组合物)、生成这样的组合物的方法,以及用于诱导抗原特异性耐受的方法/用途。

背景技术

[0006] 肝脏涉及多种致耐受性过程。例如,其在对从肠道流出的血液中吸收的无害非自体抗原或者肝代谢活动所致的新形成的抗原的免疫耐受发展中发挥着作用。像这样的无害抗原无法在健康个体中诱导免疫反应。针对CD4+和CD8+ T细胞的抗原特异性免疫耐受和交叉耐受诱导分别归因于肝脏中的各种细胞类型,包括肝细胞和肝窦内皮细胞(LSEC)。肝细胞是构成肝实质的主要细胞类型,并且它们可以处理和呈递MHC-I-和MHC-II上的抗原,以分别向CD8+和CD4+ T细胞发信号。LSEC有效地清除、处理并将来自血流的MHC-I和MHC-II上的可溶性抗原呈递给循环淋巴细胞,通常导致诱导CD4+调节性T细胞或无能CD8+ T细胞。

发明内容

[0007] 本文所公开的一些实施方案涉及致耐受性分子(例如致耐受性构建体、致耐受性化合物等)和/或致耐受性分子在诱导患者的免疫耐受的方法中的用途。在一些实施方案中,致耐受性分子令人惊奇地显示出改善的稳定性。在一些实施方案中,致耐受性分子包含一种或多种抗原(例如,诱导体内免疫反应和/或不希望的免疫反应的物质)。在若干实施方案中,抗原为全长蛋白(例如天然抗原)、其片段(例如免疫原性部分)、其模拟表位等(为简明起见,统称为抗原,除非另外指明为特定类型,例如片段)。在若干实施方案中,本文所公开的致耐受性分子被构造成诱导对期望免疫耐受的抗原的免疫耐受。在若干实施方案中,致耐受性分子包含期望免疫耐受的抗原。在若干实施方案中,致耐受性分子包含一个或多个靶向部分(例如肝靶向部分)。在若干实施方案中,靶向部分和抗原经由连接基团彼此结合。在若干实施方案中,肝靶向部分与期望耐受性的抗原共价结合(例如通过连接基团)。

[0008] 在若干实施方案中,如本文别处所公开,构建体包含期望耐受性的抗原、包含聚合物部分的接头、一个或多个肝靶向部分,以及与聚合物部分连接的末端单元。在若干实施方

案中，末端单元缺乏二硫酯官能团(例如二硫代苯甲酸酯(DTB)基团)。在若干实施方案中，抗原在构建体内与接头的一端(例如末端)结合(例如共价地)，并且末端单元与接头的另一端(例如末端)结合(例如共价地)。在若干实施方案中，靶向剂沿着接头的聚合物部分(例如接头的聚合物部分的一部分)结合和/或修饰接头的聚合物部分。在若干实施方案中，接头的聚合物部分可以通过可逆加成断裂链转移反应(RAFT)形成。这些RAFT反应使用RAFT试剂来执行，该RAFT试剂生成和/或作为链转移剂(CTA)。在若干实施方案中，官能化二硫酯为CTA片段(例如DTB等)，并且在反应(例如聚合)完成之后，其在构建体内形成封端基团(作为CTA残余部分)。令人惊奇地，尽管总体构建体本身的较小特征，现已发现，使用末端单元(非二硫酯)从构建体置换CTA残余部分(例如，二硫酯部分)使整个构建体稳定化，给予构建体用于例如药物组合物的尤其有利的特性。

[0009] 例如，在若干实施方案中，与具有封端基团的分子(例如，CTA的二硫酯残余部分)相比，具有末端单元和抗原封端的接头的构建体在储存期间(例如，处于缓冲溶液或用于使构建体递送至患者的一些其他媒介物中)具有更好的稳定性。在其中接头的端基是抗原和缺乏二硫酯的末端单元(例如缺乏DTB的末端单元)的若干实施方案中，构建体具有增强的稳定性。在若干实施方案中，在5天、14天和/或28天的时段内，当储存于缓冲溶液中时，具有末端单元和抗原封端的接头的构建体降解小于或等于约：0.1％、0.5％、1.0％、2.0％、2.5％、5％、或跨越和/或包括前述值的范围。在若干实施方案中，构建体的降解可以通过HPLC或其他常规方式由主峰面积损失来测量。在若干实施方案中，在5天、14天和/或28天的时段内，相对于具有二硫酯封端基团(例如DTB)的构建体而言，具有末端单元和抗原封端的接头的构建体的稳定性(例如，如通过HPLC等由主峰面积损失所测量)改善5％、10％、15％、或20％(或跨越和/或包括前述值的范围)。

[0010] 在若干实施方案中，接头的聚合物部分由不同的重复单元构成。在若干实施方案中，如本文别处所公开，沿着接头的聚合物部分的长度的某些重复单元可以与肝靶向部分结合。在若干实施方案中，肝靶向部分包含一个或多个半乳糖基化部分、葡糖基化部分、或它们的组合。在若干实施方案中，肝靶向部分可包含一种类型的多个肝靶向部分，或者多于一种类型的多个肝靶向部分(例如，2、3、4、或更多种类型的不同肝靶向剂的混合物)例如，在其中构建体包含一种类型的肝靶向部分(例如N-乙酰半乳糖胺)的若干实施方案中，肝靶向部分的多个单元可以沿着接头的聚合物部分在重复单元上分布(例如，随机地，以嵌段，或按梯度)。在其中构建体包含多于一种类型的肝靶向部分(例如，半乳糖、葡萄糖、半乳糖胺、葡糖胺、N-乙酰半乳糖胺和/或N-乙酰葡糖胺靶向剂中的两种或更多种)的若干实施方案中，这些不同的肝靶向部分也可以沿着接头的聚合物部分在重复单元上分布(例如，随机地，以嵌段，或按梯度)。

[0011] 在若干实施方案中，如本文别处所公开，接头的聚合物部分可以包含共聚物(例如，无规共聚物、梯度共聚物、嵌段共聚物、或前述的混合物)。如本文别处所公开，例如，聚合物可以包含多于一种类型的重复单元。例如，在若干实施方案中，共聚物包括与不同肝靶向部分(例如，多于一种类型的肝靶向部分)结合的不同重复单元，和/或与肝靶向剂结合的重复单元以及缺乏肝靶向剂的其他间隔重复单元的混合物。为了举例说明，在若干实施方案中，聚合物部分可以包含并且/或者是基于丙烯酰基的聚合物(例如，基于丙烯酸酯的单元或其衍生物、基于丙烯酰胺的单元或其衍生物等、或任何前述的组合)。在若干实施方案

中，丙烯酰基部分包含一个或多个丙烯酰基单元(例如，丙烯酰基衍生物，包括丙烯酸酯、丙烯酰胺、甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酰胺、任何前述的衍生物、或类似的丙烯酰基结构)。在一些实施方案中，一些丙烯酰基单元与肝靶向部分(例如，具有肝靶向剂作为侧基)结合(例如共价地)，并且其他丙烯酰基单元可缺乏(和/或可以不结合)肝靶向剂。在若干实施方案中，肝靶向部分可为单一类型或多种类型。在一些实施方案中，缺乏肝靶向部分的丙烯酰基充当沿着聚合物链的间隔单元(例如间隔基)，其可改变肝靶向部分之间的距离。

[0012] 在若干实施方案中，共聚物(例如，无规共聚物、梯度共聚物、嵌段共聚物、或前述的混合物)包含一个或多个第一丙烯酰基单元和第二丙烯酰基单元。在若干实施方案中，第一丙烯酰基单元可以与肝靶向剂结合，而第二丙烯酰基单元缺乏肝靶向部分。在若干实施方案中，通过在聚合期间使用相对于第二丙烯酰基部分的较高比率的第一丙烯酰基部分，在接头(和构建体)的聚合物部分内提供额外密度和/或量的侧基式靶向剂。在一些实施方案中，丙烯酰基单元是甲基丙烯酰基单元。在若干实施方案中，聚合物部分包含第一甲基丙烯酸类单元和第二甲基丙烯酸类单元。在若干实施方案中，第一乙基乙酰胺基官能团与肝靶向部分连接(例如，直接地或通过连接基团共价结合)(例如，以提供肝靶向重复单元)。在若干实施方案中，第二乙基乙酰胺基官能团与脂族基团、醇、或脂族醇缀合(例如，连接或共价结合)(例如，以提供间隔单元)。在若干实施方案中，第二乙基乙酰胺基官能团与脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇缀合(例如共价结合)。在若干实施方案中，第一甲基丙烯酸类单元包含第一乙基乙酰胺基官能团(例如侧链，如连接基团)，并且第二甲基丙烯酸类单元包含第二乙基乙酰胺基官能团。在若干实施方案中，乙基乙酰胺基将肝靶向部分和/或间隔基团(例如，脂族基团、醇、或脂族醇)与接头的聚合物部分接合。在若干实施方案中，通过在聚合期间使第三、第四、第五(或额外的)甲基丙烯酸类单元聚合，可以将多于一个间隔基团和/或多于一个肝靶向部分加入到接头的聚合物部分内。在若干实施方案中，肝靶向部分包含一种或多种类型的半乳糖基化部分、一种或多种类型的葡糖基化部分、或它们的混合物。

[0013] 在若干实施方案中，如本文别处所指出，接头在一端由抗原封端。在若干实施方案中，接头经由可降解键(例如，可生物降解键和/或处于靶细胞中时降解的键)与期望耐受性的抗原结合。在若干实施方案中，可降解键为二硫键或二硫烷基乙酯。在若干实施方案中，二硫键或二硫烷基乙酯各自被构造成在向受试者施用组合物后裂解，并且从接头释放期望耐受性的抗原。在一些实施方案中，抗原以其原始形式(例如，其在构建体内功能化之前的形式)释放。在一些实施方案中，抗原以其活性形式释放(例如，能够诱导免疫耐受)。在一些实施方案中，抗原在目标部位释放。

[0014] 若干实施方案涉及抗原特异性致耐受性化合物。在若干实施方案中，化合物可用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受。在若干实施方案中，化合物包含(或基本上由其组成)期望耐受性的抗原、聚合物接头和肝靶向部分。在若干实施方案中，期望耐受性的抗原在单独呈递给受试者时能够在受试者中诱导不希望的免疫反应。在若干实施方案中，聚合物接头包含(或基本上由其组成)共聚物，该共聚物包含第一丙烯酰基单元和第二丙烯酰基单元，第一丙烯酰基单元包含第一C-酰胺基或C-羧基官能团，并且第二丙烯酰基单元包含第二C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二C-酰胺基或C-羧基官能团与脂族基团、醇、或脂族醇缀合。在若干实施方案中，聚合物接头经由可降解键(例如二硫键或二硫

烷基乙酯)与期望耐受性的抗原结合(例如缀合)。在若干实施方案中,聚合物接头包含缺乏二硫酯和二硫代苯甲酸酯(DTB)中每者的末端单元。在若干实施方案中,末端单元赋予化合物处于溶液中时改善的稳定性。在若干实施方案中,肝靶向部分通过第一C-酰胺基或C-羧基官能团和聚醚与第一丙烯酰基单元连接。

[0015] 在若干实施方案中,相对于包括作为链转移剂(CTA)的残余部分的二硫酯部分的化合物而言,该化合物具有改善的稳定性。

[0016] 在若干实施方案中,末端单元为异丁腈。

[0017] 在若干实施方案中,可降解键(例如二硫键或二硫烷基乙酯)被构造成在向受试者施用化合物时裂解,并且从聚合物接头释放期望耐受性的抗原。

[0018] 在若干实施方案中,末端单元缺乏三硫代碳酸酯以及黄原酸酯中的一种或多种。

[0019] 在若干实施方案中,当以1mg/mL的化合物浓度处于10mM乙酸钠和274mM山梨糖醇的溶液中时,在23℃至27℃的温度下,化合物在28天的时段内降解少于5.0%。

[0020] 在若干实施方案中,末端单元包含与聚合物接头的碳键合的碳原子,由此在聚合物接头与末端单元之间提供碳-碳键。

[0021] 在若干实施方案中,末端单元通过在偶氮化合物与聚合物接头的前体之间执行反应来提供,前体包含二硫酯、二硫代苯甲酸酯、三硫代碳酸酯、或黄原酸酯。在若干实施方案中,偶氮化合物为偶氮二异丁腈(AIBN)。

[0022] 在若干实施方案中,末端单元缺乏S原子或芳基中的一种或多种。

[0023] 在若干实施方案中,末端单元通过偶氮化合物与化合物的前体之间的反应提供在化合物上。在若干实施方案中,偶氮化合物为偶氮二烷基腈。

[0024] 在若干实施方案中,偶氮化合物为偶氮二异丁腈(AIBN)。

[0025] 在若干实施方案中,化合物的前体包含二硫酯。

[0026] 在若干实施方案中,第一丙烯酰基单元包含第一乙基乙酰胺基官能团,并且第二丙烯酰基单元包含第二乙基乙酰胺基官能团。

[0027] 在若干实施方案中,肝靶向部分通过第一乙基乙酰胺基官能团与聚合物接头结合。在若干实施方案中,肝靶向部分直接地或通过包含脂族基团、聚醚、或聚氨基的连接基团与第一丙烯酰基单元连接。在若干实施方案中,第二乙基乙酰胺基官能团与脂族基团、醇、或脂族醇连接,并且其中充当间隔基。

[0028] 若干实施方案涉及包含化合物的组合物。在若干实施方案中,组合物包含药学上可接受的载体。

[0029] 若干实施方案涉及如本文所公开的化合物用于诱导对抗原的耐受性的用途。

[0030] 若干实施方案涉及诱导对抗原耐受的方法,受试者能够针对该抗原发展不希望的免疫反应。在若干实施方案中,该方法包括向受试者施用如本文所公开的化合物。在若干实施方案中,在受试者暴露于抗原之前、在受试者已暴露于抗原之后、或两者,施用化合物。

[0031] 若干实施方案涉及如本文所公开的化合物用于制备诱导对抗原的耐受性或者治疗不希望的免疫反应的药物的用途。

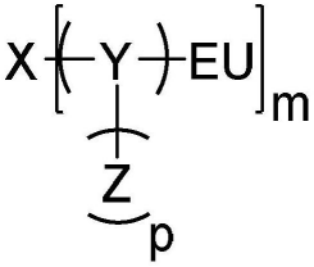
[0032] 若干实施方案涉及用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的如本文所公开的化合物,该化合物包含(或基本上由其组成)抗原、包含聚合物部分的聚合物接头,以及肝靶向部分。在若干实施方案中,接头经由可降解键(例如,经由二硫键或二硫烷基乙酯)与抗原

结合。在若干实施方案中，可降解键(例如二硫键或二硫烷基乙酯)被构造成在向受试者施用化合物时裂解，并且从聚合物接头释放抗原。在若干实施方案中，聚合物接头包含(或基本上由其组成)缺乏二硫酯和二硫代苯甲酸酯(DTB)中每者的末端单元。在若干实施方案中，末端单元赋予化合物处于溶液中时改善的稳定性。

[0033] 在若干实施方案中，聚合物部分是共聚的，并且包含(或基本上由其组成)第一重复单元和第二重复单元。在若干实施方案中，肝靶向部分直接地或通过第一单元的连接基团与第一单元连接。在若干实施方案中，第一单元包含(或基本上由其组成)第一C-酰胺基或第一C-羧基官能团以及连接基团。在若干实施方案中，连接基团为脂族基团、聚醚、或聚氨基。

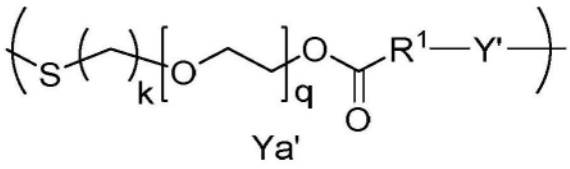
[0034] 在若干实施方案中，第一重复单元为第一丙烯酰基单元，并且第二重复单元为第二丙烯酰基单元。

[0035] 若干实施方案涉及抗原特异性致耐受性化合物。在若干实施方案中，化合物包含(或基本上由其组成)式1：

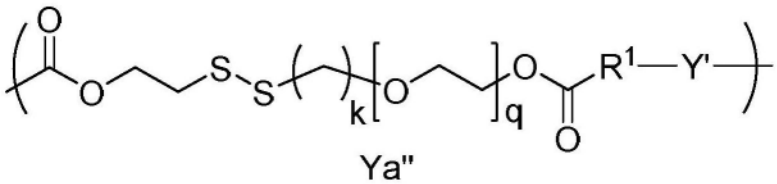
[0036] 

式 1.

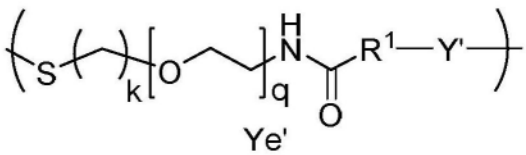
[0037] 在若干实施方案中，m为约1至100的整数。在若干实施方案中，X包含抗原。在若干实施方案中，Y为接头部分。在若干实施方案中，Y为具有选自以下的式的接头部分：



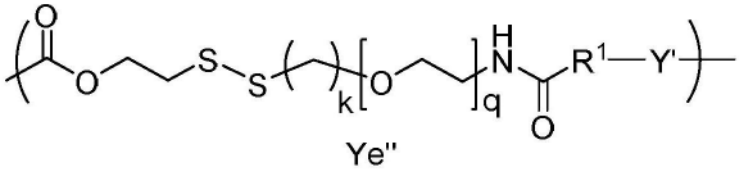
Ya'

[0038] 

Ya"

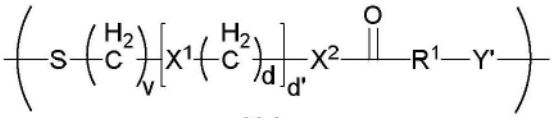


Ye'

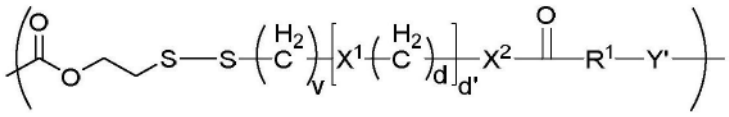


Ye''

[0039]



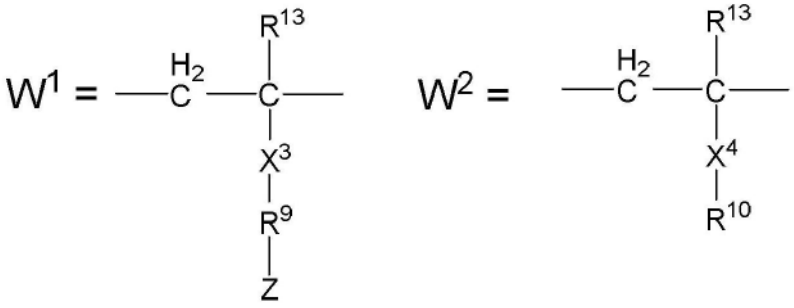
Yz'



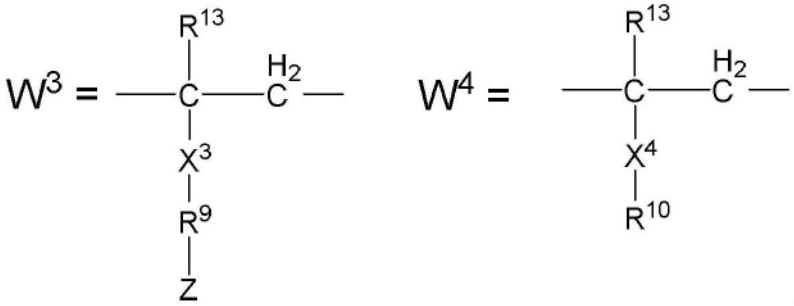
Yz''

[0040] 在若干实施方案中，q为0至100的整数。在若干实施方案中，k为0至10的整数。在若干实施方案中，R_1选自-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-和-CH(CH_3)-。在若干实施方案中，X^1和X^2独立地选自直接键、-NR^6-和-O-。在若干实施方案中，v为0至10的整数。在若干实施方案中，d为0至5的整数。在若干实施方案中，d'为0至50的整数。在若干实施方案中，R^6为H或任选取代的C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，Y'为W^1与W^2或W^3与W^4的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物，其中W^1、W^2、W^3和W^4如下所示：

[0041]



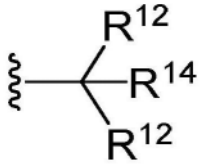
[0042]



[0043] 在若干实施方案中，Y中W^1或W^3的重复单元数表示为p。在若干实施方案中，p为至少约1的整数。在若干实施方案中，Y中W^2或W^4的重复单元数表示为r。在若干实施方案中，r为至少约1的整数。在若干实施方案中，其中p和r的总和的范围为100至200。在若干实施方案中，X^3选自-C(O)-NH-或-C(O)O-。在若干实施方案中，X^4为-C(O)-NH-、-C(O)O-、或-C(O)-OH。在若干实施方案中，R^9为直接键(例如，介于X^3与Z之间的键)或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_hX^6)_{t'}$]-。在若干实施方案中，X^5和X^6独立地选自直接键、-CNR^6'-和-O-。在若干实施方案中，R^6'的每个实例独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，R^{10}不存在，为H，或者为-

[((CH2)h”X7)t”-((CH2)h”’X8)t”’]-H。在若干实施方案中，其中X7和X8独立地选自直接键、-CNR6”-和-O-。在若干实施方案中，其中R6”的每个实例独立地为H或任选取代的-C1-6烷基。在若干实施方案中，t、t’、h、h’、t”、t”’、h”和h”’各自独立地为等于或至少0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、或20的整数。在若干实施方案中，R13的每个实例独立地为H、甲基、或任选取代的-C1-6烷基。在若干实施方案中，EU为末端单元。在若干实施方案中，EU包含与接头的碳键合的碳原子，由此在接头与末端单元之间形成碳-碳键。在若干实施方案中，Z包含肝靶向部分。

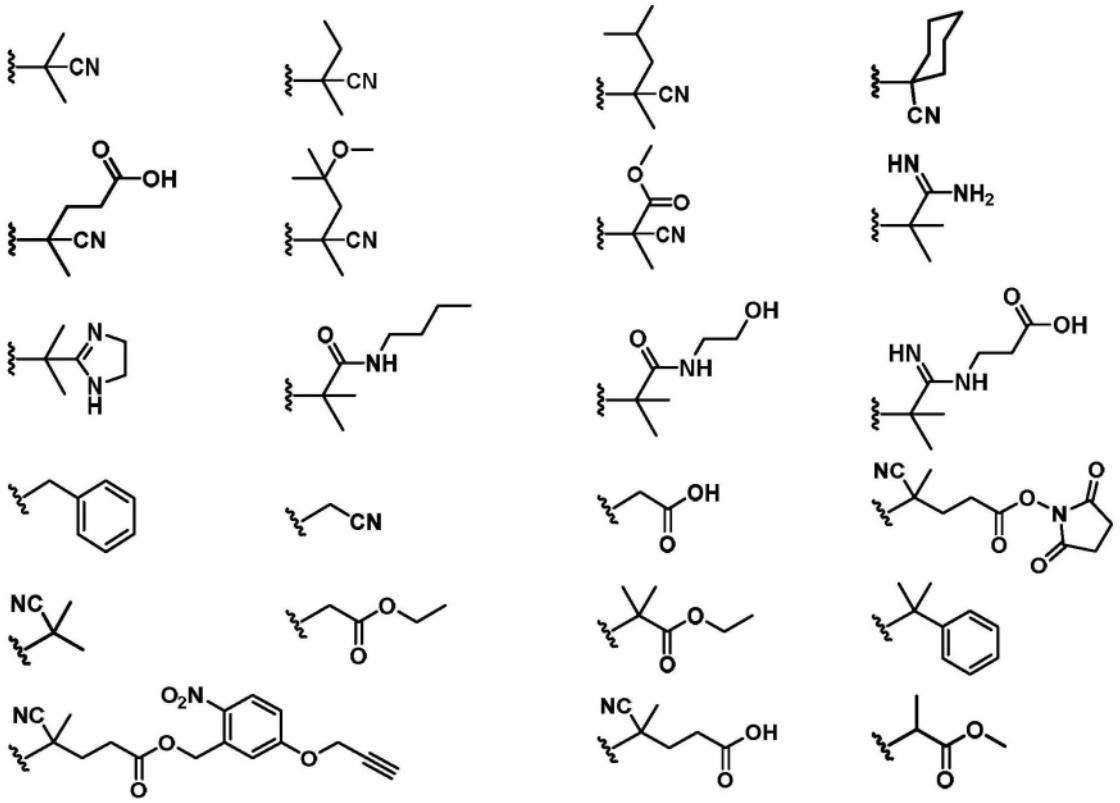
[0044] 在若干实施方案中，EU由以下表示：

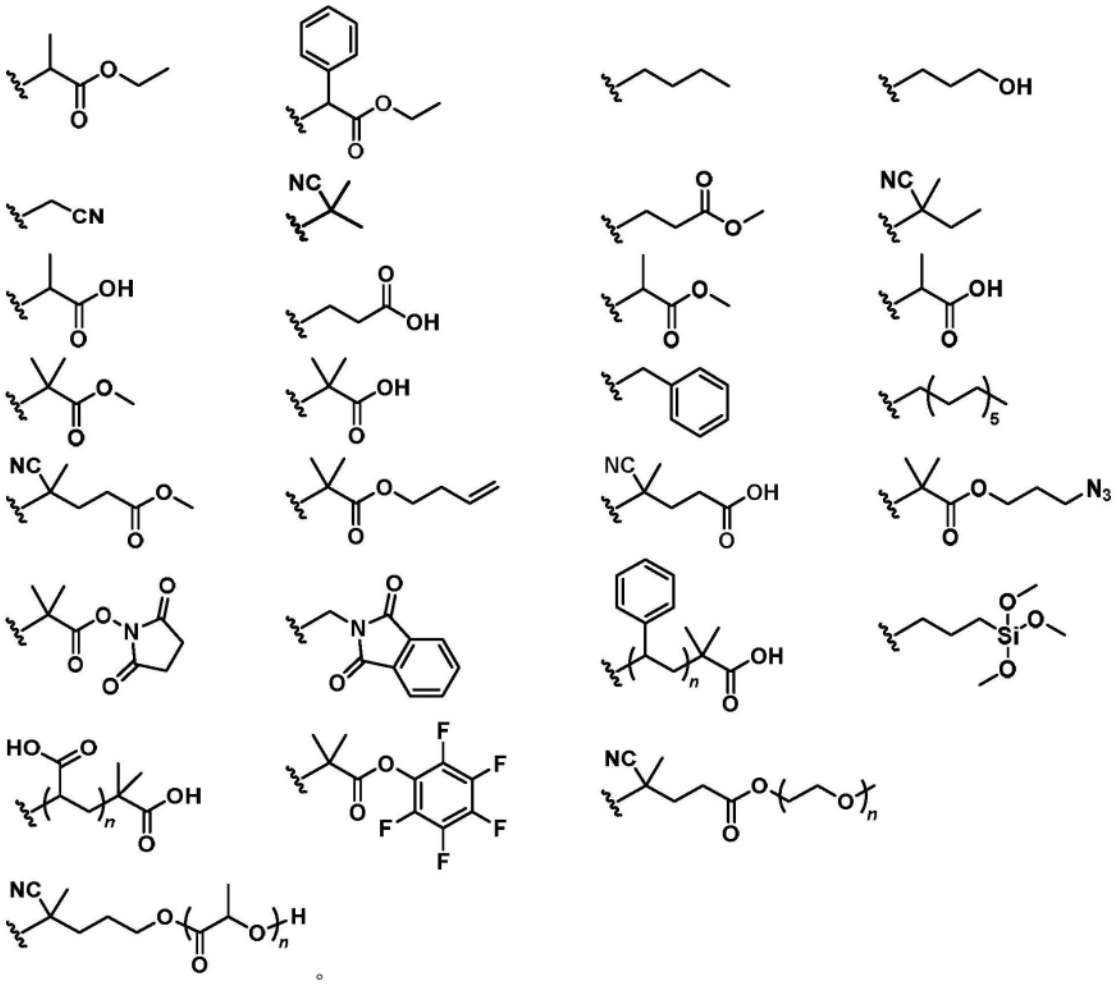
[0045] 

[0046] 在若干实施方案中，R14选自任选取代的C1-11烷基；-CN；任选取代的-C(=NH)NH2；任选取代的杂环基；任选取代的芳基；任选取代的杂芳基；任选取代的芳烷基；任选取代的杂芳烷基；C-羧基(-C(O)OR)，其中R为-H、任选取代的C1-6烷基、任选取代的C1-6亚烷基、或任选取代的苯基；任选取代的C-酰胺基(-C(O)NRARB)，其中RA和RB独立地为-H或任选取代的C1-6烷基；任选取代的琥珀酰亚胺酯；任选取代的异吲哚啉-1,3-二酮；烷基硅烷。在若干实施方案中，R12的每个实例独立地为氢、任选取代的C1-10烷基，或者R12的每个实例一起提供任选取代的C3-6环烷基。

[0047] 在若干实施方案中，R14或R12上的每个任选的取代选自C1-3烷基、C1-6烷氧基、C1-6亚烷基、羟基、氨基、卤素、C-羧基(其中R为-H、C1-6烷基、或聚乙二醇(PEG))。在若干实施方案中，R14或R12上的每个任选的取代选自卤素、C-羧基、-氨基、或-OH。

[0048] 在若干实施方案中，EU选自

[0049] 

[0050] 

[0051] 在若干实施方案中，p与r的比率为约1:1。在若干实施方案中，p与r的比率为约4:1。

[0052] 在若干实施方案中，Y为Ya'。在若干实施方案中，k为2。在若干实施方案中，R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-。在若干实施方案中，X^3为-C(O)-NH-，h为2，X^5为-O-，t为2，并且t'为0，使得X^3和R^9一起为-C(O)-NH-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-。在若干实施方案中，q为0。在若干实施方案中，q为3。

[0053] 在若干实施方案中，Y为Ye'。在若干实施方案中，q为0。在若干实施方案中，k为2。在若干实施方案中，R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-。在若干实施方案中，X^3和R^9一起为-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-(O-CH_2-CH_2)$_t$-。在若干实施方案中，t为1。在若干实施方案中，Z为半乳糖、葡萄糖、半乳糖胺、葡糖胺、N-乙酰半乳糖胺、或N-乙酰葡糖胺中的一种或多种。在若干实施方案中，q为0。在若干实施方案中，q为3。

[0054] 在若干实施方案中，当以1mg/mL的化合物浓度处于10mM乙酸钠和274mM山梨糖醇的溶液中时，在23℃至27℃的温度下，如以上或本文别处所公开的化合物在28天的时段内降解少于2.0％。

[0055] 在若干实施方案中，肝靶向部分为半乳糖、葡萄糖、半乳糖胺、葡糖胺、N-乙酰半乳糖胺和/或N-乙酰葡糖胺。在若干实施方案中，肝靶向部分(例如Z)在其C1、C2或C6处与接头(例如Y)键合。在若干实施方案中，Z为N-乙酰半乳糖胺或N-乙酰葡糖胺。

[0056] 在若干实施方案中，抗原是全长抗原的致耐受性部分。在若干实施方案中，抗原为

全长抗原的片段。在若干实施方案中，抗原为天然抗原的模拟物(例如模拟表位)。

[0057] 在若干实施方案中，抗原包含(和/或由和/或基本上由其组成)食物抗原。在若干实施方案中，食物抗原选自伴花生球蛋白(Ara h 1)、变应原II(Ara h 2)、花生凝集素、羽扇豆球蛋白(Ara h 6)、31kda主要变应原/抗病蛋白同源物(Mal d 2)、脂质转移蛋白前体(Mal d 3)、主要变应原Mal d 1.03D(Mal d 1)、a-乳清蛋白(ALA)、乳运铁蛋白、猕猴桃素(Act c 1,Act d 1)、植物半胱氨酸蛋白酶抑制剂、类甜蛋白(Act d 2)、kiwellin(Act d 5)、卵类粘蛋白、卵白蛋白、卵转铁蛋白和溶菌酶、卵黄蛋白、apovitillin、vosvetin、2S白蛋白(Sin a 1)、11S球蛋白(Sin a 2)、脂质转移蛋白(Sin a 3)、抑制蛋白(Sin a 4)、抑制蛋白(Api g 4)、高分子量糖蛋白(Api g 5)、Pen a 1变应原(Pen a 1)、变应原Pen m 2(Pen m 2)、原肌球蛋白快速异构体、高分子量麦谷蛋白、低分子量麦谷蛋白、α-、γ-和ω-麦醇溶蛋白、大麦醇溶蛋白、黑麦醇溶蛋白、燕麦蛋白、主要草莓过敏Fra a 1-E(Fra a 1)、抑制蛋白(Mus xp 1)、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。在若干实施方案中，食物抗原选自高分子量麦谷蛋白、低分子量麦谷蛋白、α-、γ-和ω-麦醇溶蛋白、大麦醇溶蛋白、黑麦醇溶蛋白、燕麦蛋白、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。在若干实施方案中，食物抗原与乳糜泻相关联。

[0058] 在若干实施方案中，抗原与自身免疫疾病相关联。在若干实施方案中，自身免疫疾病选自I型糖尿病、多发性硬化症、类风湿性关节炎、白癜风、葡萄膜炎、寻常型天疱疮、视神经脊髓炎、古德帕斯彻病、帕金森氏病、重症肌无力和乳糜泻。

[0059] 在若干实施方案中，抗原包含(和/或由和/或基本上由其组成)自体抗原。在若干实施方案中，自体抗原选自髓鞘碱性蛋白、髓鞘少突胶质细胞糖蛋白和蛋白脂质蛋白、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。在若干实施方案中，自体抗原选自胰岛素、胰岛素原、前胰岛素原、谷氨酸脱羧酶-65(GAD-65)、GAD-67、胰岛素瘤相关蛋白2(IA-2)和胰岛素瘤相关蛋白213(IA-213)、ICA69、ICA12(SOX-13)、羧肽酶H、Imogen38、GLIMA 38、嗜铬粒蛋白-A、HSP-60、羧肽酶E、外周蛋白、葡萄糖转运蛋白2、肝癌-肠-胰腺/胰腺相关蛋白、S100β、胶质原纤维酸性蛋白、再生基因II、胰腺十二指肠同源盒1、强直性肌营养不良激酶、胰岛特异性葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基相关蛋白、SST G-蛋白偶联受体1-5，以及任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。

[0060] 在若干实施方案中，抗原包含(和/或由和/或基本上由其组成)治疗剂。在若干实施方案中，治疗剂选自阿昔单抗、阿达木单抗、α-半乳糖苷酶、β-半乳糖苷酶、阿地白介素、α阿糖苷酶、因子VIII、因子IX、英夫利昔、L-天冬酰胺酶、拉罗尼酶、那他珠单抗、奥曲肽、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、拉布立酶(尿酸酶)、基因治疗载体、或AAV、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。

[0061] 在若干实施方案中，抗原不为蜂毒(例如蜂毒肽)。

[0062] 在若干实施方案中，抗原包含(和/或由和/或基本上由其组成)移植抗原。在若干实施方案中，移植抗原选自MHC I类和MHC II类单倍型蛋白的亚基以及它们与其呈递的抗原的复合物，以及次要血型抗原RhCE、Kell、Kidd、Duffy和Ss。

[0063] 在若干实施方案中，抗原或其致耐受性部分为桥粒芯糖蛋白-3、-1和/或-4(或前述任一种的一部分)。

[0064] 在若干实施方案中，抗原或其致耐受性部分与寻常型天疱疮相关联。

[0065] 若干实施方案涉及包含如以上或本文别处所公开的化合物的组合物。

[0066] 若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物用于诱导对抗原的耐受性的用途。

[0067] 若干实施方案涉及诱导对抗原耐受的方法，受试者能够针对该抗原发展不希望的免疫反应。在若干实施方案中，该方法包括(或由或基本上由其组成)向受试者施用如以上或本文别处所公开的化合物。在若干实施方案中，在受试者暴露于抗原之前、在受试者已暴露于抗原之后、或两者，施用化合物。

[0068] 若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物用于制备诱导对抗原的耐受性的药物的用途。

[0069] 若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物或组合物，其中抗原包含移植受者针对其发展不希望的免疫反应的外源移植抗原、其致耐受性部分、或其模拟物。

[0070] 若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物或组合物，其中抗原包含诱导患者针对其发展不希望的免疫反应的外源食物、动物、植物或环境抗原、它们中任一种的致耐受性部分、或它们中任一种的模拟物。

[0071] 若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物或组合物，其中抗原包含患者针对其发展不希望的免疫反应的外源治疗剂、其致耐受性部分、或其模拟物。

[0072] 若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物或组合物，其中抗原包含自体抗原、其致耐受性部分、或患者针对其内源形式发展不希望的免疫反应的其模拟物或其致耐受性部分。

[0073] 若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物或组合物，其中抗原包含抗体、抗体片段或特异性结合循环蛋白或肽或抗体的配体，该循环蛋白或肽或抗体成因地涉及移植排斥、针对治疗剂的免疫反应、自身免疫疾病、超敏反应和/或变态反应。

[0074] 若干实施方案涉及用于在功能类似的天然蛋白的产生不足的受试者中诱导对治疗性蛋白的耐受性的药学上可接受的组合物，该药学上可接受的组合物包含如以上或本文别处所公开的化合物。在若干实施方案中，药学上可接受的组合物包含(和/或由和/或基本上由其组成)药学上可接受的载体。在若干实施方案中，药学上可接受的组合物包含药学上可接受的赋形剂。在若干实施方案中，药学上可接受的组合物包含分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等中的一种或多种。在若干实施方案中，化合物以药学上可接受的盐提供。在若干实施方案中，药学上可接受的组合物包含有利于化合物引入细胞或组织中的化合物。例如但不限于，二甲基亚砜(DMSO)是有利于许多有机化合物摄取到受试者的细胞或组织中的常用载体。在若干实施方案中，药学上可接受的组合物包含稀释剂。在若干实施方案中，药学上可接受的组合物包含(和/或由和/或基本上由其组成)用于溶解待通过注射、摄取或吸入施用的化合物的液体。在若干实施方案中，药学上可接受的组合物包含(和/或由和/或基本上由其组成)缓冲水溶液，如但不限于模拟人血液的pH和等渗性的磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在若干实施方案中，药学上可接受的组合物包含(和/或由和/或基本上由其组成)其他缓冲液。

[0075] 在若干实施方案中，组合物(例如药学上可接受的组合物)包含(和/或由和/或基本上由其组成)选自乙酸钠缓冲液、PBS、或HEPES缓冲液的缓冲液。HEPES(4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸)是两性离子磺酸缓冲剂。在若干实施方案中，药学上可接受的组合物包含(或

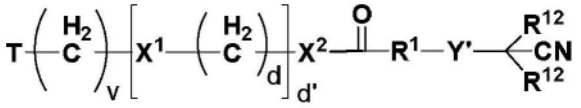
基本上由其组成)10mM乙酸钠,其含有274mM山梨糖醇(pH为约5至5.5)。在若干实施方案中,组合物包含1mg/mL的肽浓度(例如抗原浓度或构建体浓度)。在若干实施方案中,药学上可接受的组合物包含(或基本上由其组成)HEPES缓冲盐水(pH 8.04)。在若干实施方案中,药学上可接受的组合物包含(或基本上由其组成)PBS溶液(pH 7.2)。在若干实施方案中,药学上可接受的组合物包含1mg/mL浓度的构建体或构建体的抗原。在若干实施方案中,药学上可接受的组合物包含10mM还原型谷胱甘肽。

[0076] 若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物或组合物,其用于治疗针对抗原的不希望的免疫反应。在若干实施方案中,不希望的免疫反与I型糖尿病、多发性硬化症、类风湿性关节炎、白癜风、葡萄膜炎、寻常型天疱疮、视神经脊髓炎、帕金森氏病、古德帕斯彻病、乳糜泻、或重症肌无力相关联。

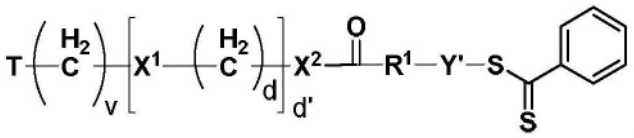
[0077] 若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物或组合物,其用于制造用于治疗针对抗原的不希望的免疫反应的药物。

[0078] 若干实施方案涉及制造如以上或本文别处所公开的抗原特异性致耐受性化合物的方法。在若干实施方案中,该方法包括使用可逆加成断裂链转移反应(RAFT)制备聚合物接头的聚合物部分。在若干实施方案中,该方法包括用末端单元置换聚合物部分的链转移剂残余部分。在若干实施方案中,该方法包括使抗原与聚合物接头缀合。

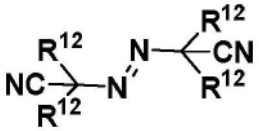
[0079] 若干实施方案涉及制造具有以下结构的化合物的方法:

[0080] 

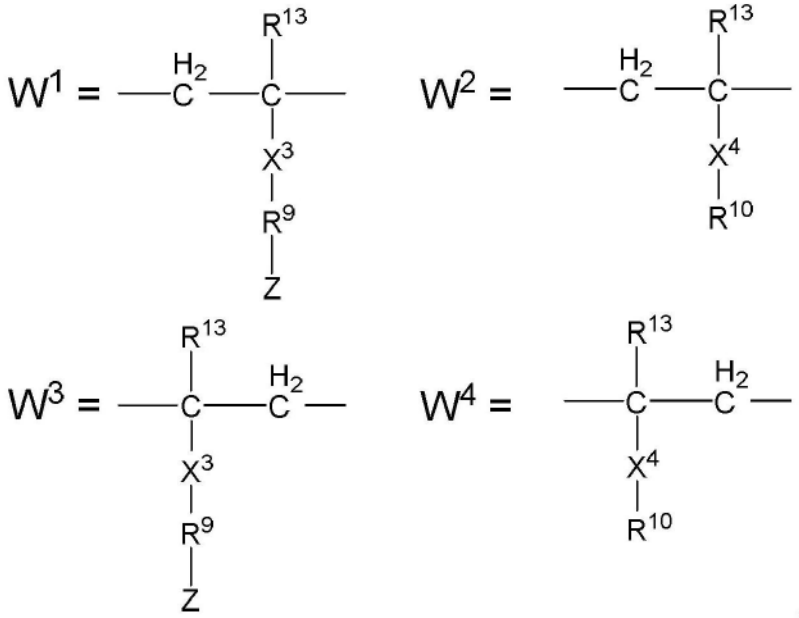
[0081] 在若干实施方案中,该方法包括提供以下结构的含二硫代苯甲酸酯化合物:

[0082] 

[0083] 在若干实施方案中,该方法包括提供以下结构的末端单元:

[0084] 

[0085] 在若干实施方案中,该方法包括使末端单元试剂与含二硫代苯甲酸酯化合物混合,以形成化合物。在若干实施方案中,T在存在时为PDS或羧酸。在若干实施方案中,X^1和X^2独立地选自直接键、-NR^6-和-O-。在若干实施方案中,R^6为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的C_{1-6}烷基。在若干实施方案中,v为0至10的整数。在若干实施方案中,d为0至5的整数。在若干实施方案中,d'为0至50的整数。在若干实施方案中,R^{12}的每个实例独立地为氢或任选取代的烷基。在若干实施方案中,R_1选自-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C$(CH_3)$$(CH_3)$-、-$(CH_2)_2$-CH$(CH_3)$-和-CH$(CH_3)$-。在若干实施方案中,Y'为$W^1$与$W^2$或$W^3$与$W^4$的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物,其中$W^1$、$W^2$、$W^3$和$W^4$如下所示:

[0086] 

[0087] 在若干实施方案中，Y'中W^1或W^3的重复单元数表示为p，并且其中p为至少约1的整数。在若干实施方案中，Y'中W^2或W^4的重复单元数表示为r，并且其中r为至少约1的整数。在若干实施方案中，X^3选自-C(O)-NH-或-C(O)O-。在若干实施方案中，X^4为-C(O)-NH-、-C(O)O-、或-C(O)-OH。在若干实施方案中，R^9为直接键或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_h,X^6)_t$,]-。在若干实施方案中，X^5和X^6独立地选自直接键、-CNR^6'-和-O-。在若干实施方案中，R^6'的每个实例独立地为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，R^{10}不存在，或者为-[$((CH_2)_h"X^7)_t"$-$((CH_2)_h",X^8)_t"$,]-H。在若干实施方案中，X^7和X^8独立地选自直接键、-$CNR^{6"}$-和-O-。在若干实施方案中，$R^{6"}$的每个实例独立地为H或任选地被-OH、卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，t、t'、h和h'各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20。在若干实施方案中，t"、t"'、h"和h"'各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20。在若干实施方案中，R^{13}的每个实例独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，R^{13}的每个实例可以任选地被-OH、卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代。在若干实施方案中，Z包含肝靶向部分。

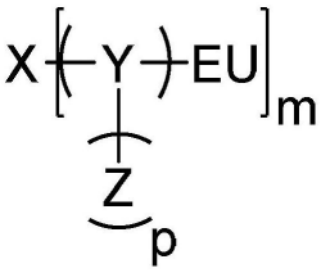
[0088] 若干实施方案涉及制造抗原特异性致耐受性化合物的方法。在若干实施方案中，该方法包括使肝靶向部分与第一丙烯酰基单体偶联。在若干实施方案中，该方法包括使用至少第一丙烯酰基单体和第二丙烯酰基单体的可逆加成断裂链转移反应(RAFT)制备聚合物接头的聚合物部分，聚合物部分包含共聚物，该共聚物包含第一丙烯酰基单元和第二丙烯酰基单元，第一丙烯酰基单元包含第一C-酰胺基或C-羧基官能团，并且第二丙烯酰基单元包含第二C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，该方法包括用末端单元置换聚合物部分的链转移剂残余部分，其中末端单元赋予化合物处于溶液中时改善的稳定性。在若干实施方案中，该方法包括使抗原与聚合物接头缀合。在若干实施方案中，期望耐受性的抗原在单独呈递给受试者时能够在受试者中诱导不希望的免疫反应。在若干实施方案中，末端单元通过使用双偶氮化合物的反应加入到聚合物部分中。在若干实施方案中，第二丙烯酰基单体与脂族基团、醇、或脂族醇偶联。

[0089] 若干实施方案涉及用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物。在若干实施方案中，化合物包含抗原、包含聚合物部分的聚合物接头，以及肝靶向部分。在若干实施

方案中，接头经由可降解键(例如，可生物降解键，如二硫键或二硫烷基乙酯)与抗原结合。在若干实施方案中，可降解键(例如二硫键或二硫烷基乙酯)被构造成在向受试者施用化合物时裂解，并且从聚合物接头释放抗原。在若干实施方案中，聚合物接头包含末端单元，该末端单元赋予化合物处于溶液中时改善的稳定性。在若干实施方案中，末端单元不为-H、二硫酯、二硫代苯甲酸酯、三硫代碳酸酯、或黄原酸酯。

[0090] 在若干实施方案中，如以上或本文别处所公开的抗原包含SEQ ID NO:54、55、56、57、60、或61的全部或免疫原性片段。在若干实施方案中，抗原包含SEQ ID NO:21、27、28、30、32、43、44、或46的全部或免疫原性片段。在若干实施方案中，抗原包含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:19的全部或免疫原性片段。在其中抗原与乳糜泻相关联的若干实施方案中，抗原包含、由或基本上由具有根据SEQ ID NO:54、55、58、60或61之一的序列的抗原组成。在其中抗原与多发性硬化症相关联的若干实施方案中，抗原包含、由或基本上由具有根据SEQ ID NO:27、28、30、32、43、44、或46之一的序列的抗原组成。在其中抗原与I型糖尿病相关联的若干实施方案中，抗原包含、由或基本上由具有根据SEQ ID NO:1至19中的一者或多者的序列的抗原组成。在其中抗原与I型糖尿病相关联的若干实施方案中，致耐受性组合物中使用的抗原包含胰岛素的免疫原性片段(或多个片段)(例如，SEQ ID NO:1的一个或多个免疫原性片段)。

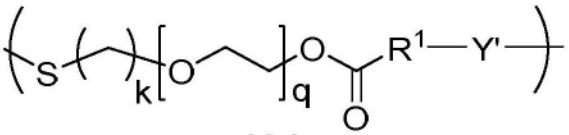
[0091] 在若干实施方案中，构建体(例如，致耐受性分子)可从结构上表示。在若干实施方案中，构建体由式1表示：

[0092] 

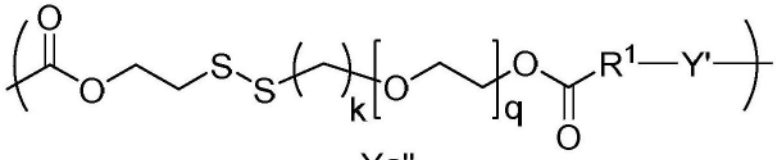
式1

[0093] 在若干实施方案中，X包含(由和/或基本上由其组成)抗原，包括抗原的模拟物、其一个或多个片段、或其一个或多个致耐受性部分。在若干实施方案中，Y表示(包含、由和/或基本上由其组成)接头。在若干实施方案中，EU表示末端单元(例如端部单元)。末端单元可以是用于接头的聚合物部分的置换基团。在若干实施方案中，末端单元在聚合完成后提供，以提供接头的聚合物部分(例如丙烯酰基聚合物)的末端。在若干实施方案中，如本文别处所公开，末端单元缺乏二硫酯(例如DTB)。在若干实施方案中，Z表示一个或多个肝靶向部分。在若干实施方案中，m为约1至100的整数。

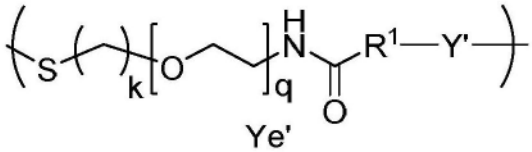
[0094] 在若干实施方案中，Y为具有选自以下的式的接头部分：



Ya'

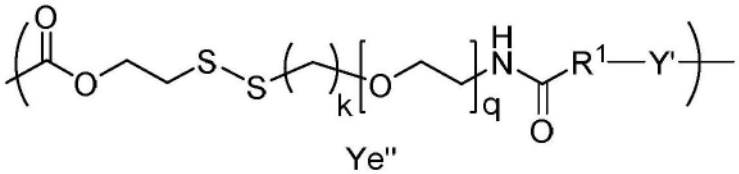


Ya"

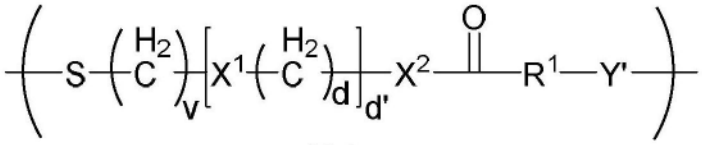


Ye'

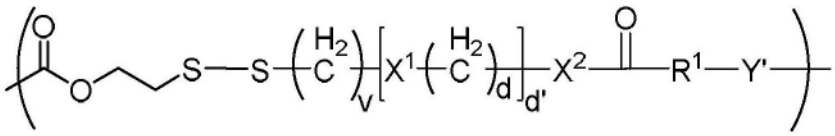
[0095]



Ye"



Yz'



Yz"

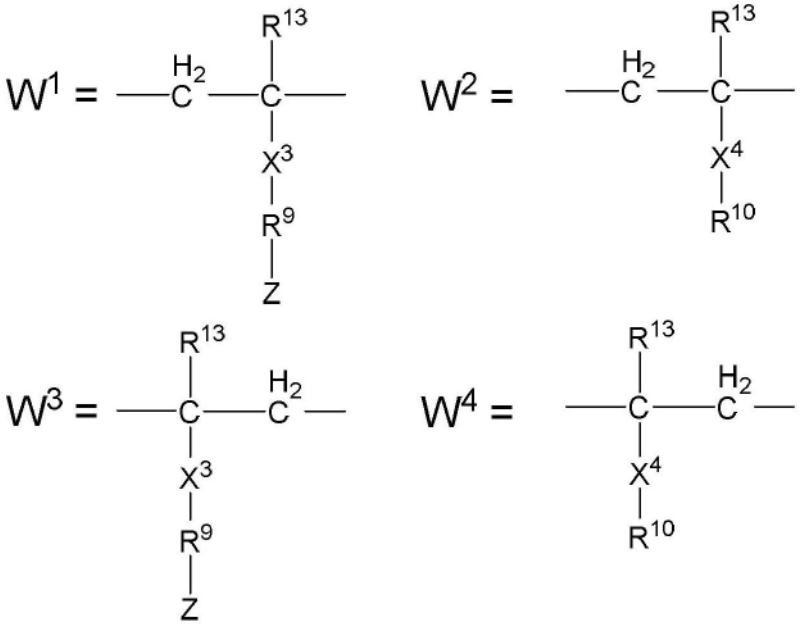
[0096] 在若干实施方案中，q为约1至约100的整数。在若干实施方案中，q为0。在若干实施方案中，q为约0至约100的整数。在若干实施方案中，k为约1至约20的整数。在若干实施方案中，k为0。在若干实施方案中，k为约0至约20的整数。在若干实施方案中，R_1为任选取代的亚烷基。在若干实施方案中，R_1选自-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-和-CH(CH_3)-。在若干实施方案中，X^1和X^2独立地选自直接键、-NR^6-和-O-。在若干实施方案中，X^1和X^2独立地选自-NR^6-和-O-。在若干实施方案中，X^1和X^2是相同的，而其他实施方案中，X^1和X^2是不同的。在若干实施方案中，R^6为H或任选取代的C_{1-6}烷基。在一些实施方案中，R^6任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代。在若干实施方案中，R^6为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基和/或C-羧基取代的C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，q、k、v、d和d'各自独立地为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、40、44、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中，R^1、X^1和X^2(例如，这些结构中的一个或多个甲基或亚甲基或其他基团)可以任选地被取代。在一些实施方案中，R^1、X^1和X^2可任选地被C_{1-6}烷基或卤素取代。在若干实施方案中，Y为Ya'(或Ya")，k为2，q为0，并且R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)

(CN)-。在若干实施方案中,Y为Ya'(或Ya"),k为2,q为3,并且R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-。在若干实施方案中,Y为Ye'(或Ye"),k为2,q为0,并且R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-。在若干实施方案中,Y为Ye'(或Ye"),k为2,q为3,并且R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-。在若干实施方案中,Y为Yz'(或Yz"),v为2,X^1和X^2为-O-,d为2,d'为3,并且R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-。

[0097] 在若干实施方案中,Y为Yz'(或Yz"),v为2,X^1和X^2为-NR^6-,R^6为H,d为2,d'为3,并且R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-。在若干实施方案中,Y为Yz'(或Yz"),v为2,X^2为-NR^6-,R^6为H,d'为0,并且R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-。

[0098] 在若干实施方案中,Y'为W^1与W^2或W^3与W^4的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物,其中W^1、W^2、W^3和W^4如本文别处所公开。在若干实施方案中,W^1、W^2、W^3和W^4如以下所示:

[0099]



。

[0100] 在若干实施方案中,多于一种类型的W^1和/或多于一种类型的W^2可用于Y'的单个实例中。在若干实施方案中,多于一种类型的W^3和/或多于一种类型的W^4可用于Y'的单个实例中。在若干实施方案中,Y'为W^1或W^3单元的聚合物(例如,缺乏W^2或W^4单元)。在若干实施方案中,其中Y'为W^1和/或W^2单元的聚合物(例如,缺乏W^3和/或W^4单元),并且抗原可以在接头的α端结合。在若干实施方案中,其中Y'为W^3和/或W^4单元的聚合物(例如,缺乏W^1和/或W^2单元),并且抗原可以在接头的ω端结合。

[0101] 在若干实施方案中,Y(或Y')中W^1或W^3的重复单元数表示为p,并且p为至少约1的整数。在若干实施方案中,Y(或Y')中W^2或W^4的重复单元数表示为r,并且其中r为至少约1的整数。在若干实施方案中,p和r的总和等于或大于约100。在若干实施方案中,p和r的总和等于或大于约150。在若干实施方案中,p和r的总和等于或大于约170。在若干实施方案中,p和r的总和等于或大于约200。在若干实施方案中,p和r的总和等于或大于约250。在一些实施方案中,p为等于或大于约以下的整数:0、1、50、85、100、150、165、200、225、250、300、400、或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中,r为等于或大于约以下的整数:0、1、50、85、100、150、165、200、225、250、300、400、或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中,Y'为W^1、W^2、W^3、或W^4的均聚物。在一些实施方案中,p为0。在一些实施方案中,r为0。在一些实施方案中,p和r的总和为等于或大于约以下的整数:1、50、75、80、85、100、150、165、170、

200、225、250、300、400、600、800、或包括和/或跨越前述值的范围。

[0102] 关于W^1或W^3，在若干实施方案中，X^3选自-C(O)-NH-或-C(O)O-。在若干实施方案中，R^9为直接键或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-。在若干实施方案中，X^5和X^6独立地选自直接键、-CN$R^{6'}$-和-O-。在一些实施方案中，$R^{6'}$的每个实例(例如，X^5或X^6中)在存在的情况下独立地选自H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在其中$R^{6'}$任选地被取代的若干实施方案中，$R^{6'}$可以任选地被卤素、C_{1-3}烷基和/或C-羧基取代。在若干实施方案中，t、t'、h和h'各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，X^3为-C(O)-NH-，并且R^9为-$(CH_2)_2$-(例如，其中X^5为键，h为2，并且t为1)、-$((CH_2)_2$-O))$_t$-(其中X^5为-O-，h为2)、或-$((CH_2)_2$-O))$_2$-(其中X^5为-O-，h为2，并且t为2)。在若干实施方案中，t为1至5的整数(例如1、2、3、4、或5)。在若干实施方案中，h为1至5的整数(例如1、2、3、4、或5)。在若干实施方案中，t'和h'各自独立地为0至5的整数(例如0、1、2、3、4、或5)。

[0103] 关于W^2或W^4，在若干实施方案中，X^4为-C(O)-NH-、-C(O)O-、或-C(O)-OH。在若干实施方案中，R^{10}不存在。例如，在其中W^2或W^4的给定单元中的X^4为-C(O)-OH的若干实施方案中，R^{10}不存在。在若干实施方案中，R^{10}为-H、脂族基团、醇、含脂族胺基团、或脂族醇。在若干实施方案中，R^{10}为脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇。在若干实施方案中，R^{10}为任选取代的C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，在被取代的情况下，R^{10}被-OH、卤素、C_{1-3}烷基和/或C-羧基中的一者或多者取代。在若干实施方案中，R^{10}为-[$((CH_2)_{h''}X^7)_{t''}$-$((CH_2)_{h'''}X^8)_{t'''}$]-H。在若干实施方案中，$X^7$和$X^8$独立地选自直接键、-N$R^{6''}$-和-O-。在一些实施方案中，$R^{6''}$的每个实例独立地为H或任选取代的-$C_{1-6}$烷基。在其中$R^{6''}$任选地被取代的若干实施方案中，其可以任选地被卤素、C_{1-3}烷基和/或C-羧基取代。在若干实施方案中，t''、t'''、h''和h'''各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，X^4为-C(O)-NH-并且R^{10}为-$(CH_2)_2$-OH(例如，其中X^7为-O-，h''为2，并且t''为1，并且t'''为0)、-$((CH_2)_2$-O))$_{t''}$-H(其中X^7为-O-，h''为2，并且t'''为0)。在若干实施方案中，t''为1至5的整数(例如1、2、3、4、或5)。在若干实施方案中，h''为1至5的整数(例如1、2、3、4、或5)。在若干实施方案中，t'''和h'''各自独立地为0至5的整数(例如0、1、2、3、4、或5)。

[0104] 在一些实施方案中，R^9和/或R^{10}(例如，这些结构中的一个或多个甲基或亚甲基或其他基团)可以任选地被取代。在一些实施方案中，R^9和/或R^{10}可以任选地被C_{1-6}烷基、卤素、-OH、氨基、或C-羧基取代。

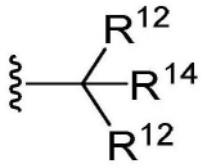
[0105] 在若干实施方案中，R^{13}的每个实例(例如，W^1、W^2、W^3、或W^4中)独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，R^{13}为甲基。在其中R^{13}任选地被取代的若干实施方案中，其可以任选地被卤素、-OH、C_{1-3}烷基和/或C-羧基取代。

[0106] 在若干实施方案中，EU经由碳-碳键与Y连接。例如，EU包含与Y的碳原子键合的碳原子。在若干实施方案中，EU的碳(例如，与Y的碳或Y键合的碳键合)具有可用于键合的三个其他位置。在若干实施方案中，Y键合的EU碳的每个其他位置(例如价位)被独立地选自以下的取代基占据：-H、任选取代的C_{1-11}烷基、-CN、任选取代的-C(=NH)NH_2、任选取代的-C(=NH)NH(C_{1-3}烷基)、任选取代的咪唑啉、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、任选取代的C-羧基(其中R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、或任选取代的苯基)、任选取代的C-酰胺基(其中R_A和R_B独立地为-H或C_{1-6}烷

基)、任选取代的琥珀酰亚胺酯、任选取代的异吲哚啉-1,3-二酮、任选取代的聚苯乙烯基单元、任选取代的聚丙烯酸,或者碳上的两个位置一起提供任选取代的C_{3-10}环烷基或任选取代的杂环基(具有3至10个环成员)。在若干实施方案中,Y键合的EU碳的位置被-CN占据。在若干实施方案中,Y键合的EU碳的位置被如本文别处所公开的聚合物(或部分聚合物)单元占据。在若干实施方案中,Y键合的EU碳取代基的任选取代在存在于EU基团上的情况下独立地选自C_{1-3}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}亚烷基、羟基、氨基、卤素、C-羧基(其中R为-H、C_{1-6}烷基、或聚乙二醇(PEG)(例如,具有等于或至少约1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、75、100、150、或包括和/或跨越前述值的范围的编号的重复单元))、琥珀酰亚胺酯、4-氰基戊酸2-硝基-5-(丙-2-炔-1-基氧基)苄酯、叠氮化物(N_3)、C_{1-3}烷基叠氮化物、C_{1-3}烷基硅烷(例如三甲基硅烷、三乙基硅烷、三丙基硅烷)、聚乙二醇(PEG)(例如具有等于或至少约1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、75、100、150、或包括和/或跨越前述值的范围的编号的重复单元)、和/或前述的组合。例如,在存在的情况下,Y键合的EU碳可包含被C-羧基(其中R为H)取代的C_{1-11}烷基。在若干实施方案中,Y键合的EU碳取代基可缺乏任选的取代基,可以任选地被一个任选的取代基取代,或者可以任选地被多个(2、3、或更多个)任选的取代基取代。

[0107] 在若干实施方案中,EU由(EU1)表示:

[0108]



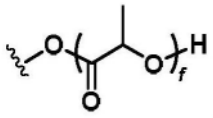
(EU1)

[0109] 其中≋表示与Y的连接(经由构建体的Y部分的碳),并且R_{12}和/或R_{14}的每个实例独立地为选自-H、任选取代的C_{1-11}烷基、-CN、任选取代的-C(=NH)NH_2、任选取代的-C(=NH)NH(C_{1-3}烷基)、任选取代的咪唑啉、任选取代的杂环基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、C-羧基(其中如本文别处所定义的R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、或任选取代的苯基)、任选取代的C-酰胺基(其中如本文别处所定义的R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)、任选取代的琥珀酰亚胺酯、任选取代的异吲哚啉-1,3-二酮、烷基硅烷、任选取代的聚苯乙烯基单元、任选取代的聚丙烯酸。在一些实施方案中,R^{14}选自-H、任选取代的C_{1-11}烷基、-CN、任选取代的-C(=NH)NH_2、任选取代的-C(=NH)NH(C_{1-3}烷基)、任选取代的咪唑啉、任选取代的杂环基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、C-羧基(其中如本文别处所定义的R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、或任选取代的苯基)、任选取代的C-酰胺基(其中如本文别处所定义的R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)、任选取代的琥珀酰亚胺酯、任选取代的异吲哚啉-1,3-二酮、烷基硅烷、任选取代的聚苯乙烯基单元、任选取代的聚丙烯酸;并且R^{12}的每个实例独立地为氢、任选取代的C_{1-6}烷基、C-羧基(其中R为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)、C-酰胺基(其中R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基),或者R^{12}的每个实例一起提供任选取代的C_{3-10}环烷基。在一些实施方案中,R^{14}为如本文别处所公开的聚合物(或部分聚合物)末端单元的碳。

[0110] 在若干实施方案中,R^{14}选自任选取代的C_{1-11}烷基;-CN;任选取代的-C(=NH)NH_2;

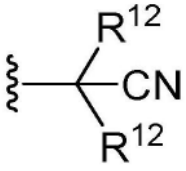
任选取代的杂环基;任选取代的芳基;任选取代的杂芳基;任选取代的芳烷基;任选取代的杂芳烷基;C-羧基(-C(O)OR),其中R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、或任选取代的苯基;任选取代的C-酰胺基(-C(O)NHR),其中R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基;任选取代的琥珀酰亚胺酯;任选取代的异吲哚啉-1,3-二酮;烷基硅烷。在若干实施方案中,R^{14}上的每个任选的取代选自C_{1-3}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}亚烷基、羟基、氨基、卤素、C-羧基(其中R为-H、C_{1-6}烷基、或聚乙二醇(PEG))。在若干实施方案中,R^{12}的每个实例独立地为氢、任选地被卤素、C-羧基、-氨基、或-OH取代的C_{1-10}烷基,或者R^{12}的每个实例一起提供任选地被卤素、C-羧基、-氨基、或-OH中的一种或多种取代的C_{3-6}环烷基。在若干实施方案中,EU为任选取代的聚苯乙烯基单元或任选取代的聚丙烯酸。

[0111] 在一些实施方案中,任选的取代基在存在于EU基团上(例如R^{12}、R^{12}、或R^{14}中任一者上)的情况下独立地选自C_{1-3}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}亚烷基、羟基、氨基、卤素、C-羧基(其中R为-H、C_{1-6}烷基、或PEG)、琥珀酰亚胺酯、4-氰基戊酸2-硝基-5-(丙-2-炔-1-基氧基)苄酯、叠氮化物(N_3)、C_{1-3}烷基叠氮化物、C_{1-3}烷基硅烷、PEG、和/或前述的组合。在一些实施方案中,R^{14}可以任选地被以下取代:

[0112]  。

[0113] 当提及到变量的"每个实例"指示为"独立地"各种结构之一(例如,"R^{12}的每个实例独立地为氢或任选取代的烷基")时,或者在使用类似语言的情况下,那些变量即使用相同的字母数字参考标记(例如,变量"R^{12}"的两个实例),也可以相同或不同。例如,在R^{12}的每个实例独立地为氢或任选取代的烷基的情况下,R^{12}的两个实例可为H,或另选地,R^{12}的一个实例可为-H,且R^{12}的另一个实例可为任选取代的烷基。在若干实施方案中,R^{12}的两个实例为-H。在若干实施方案中,R^{12}的一个实例为-H,且另一个为任选取代的烷基。在若干实施方案中,R^{12}的每个实例为任选取代的烷基,并且任选取代的烷基是相同的。在若干实施方案中,R^{12}的每个实例为任选取代的烷基,并且任选取代的烷基是不同的。在一些实施方案中,R^{12}的两个实例一起提供任选取代的环烷基(例如C_{3-10}环烷基)。在一些实施方案中,R^{12}的每个实例独立地为任选取代的C_{1-6}烷基。

[0114] 在若干实施方案中,EU由(EU2)表示:

[0115] 

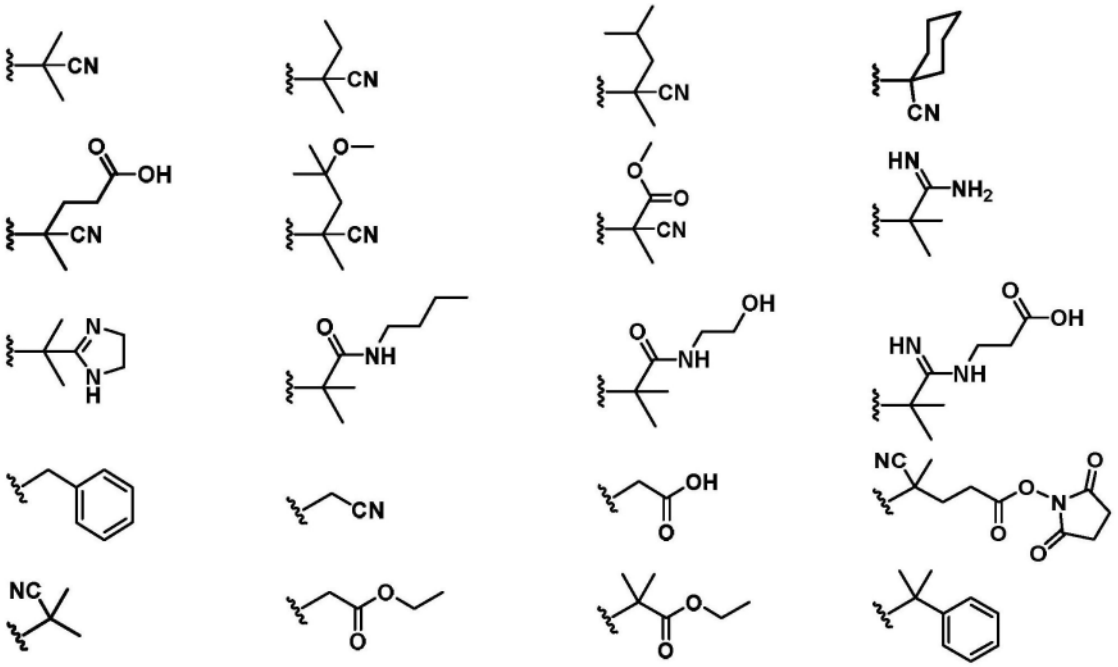
(EU2)

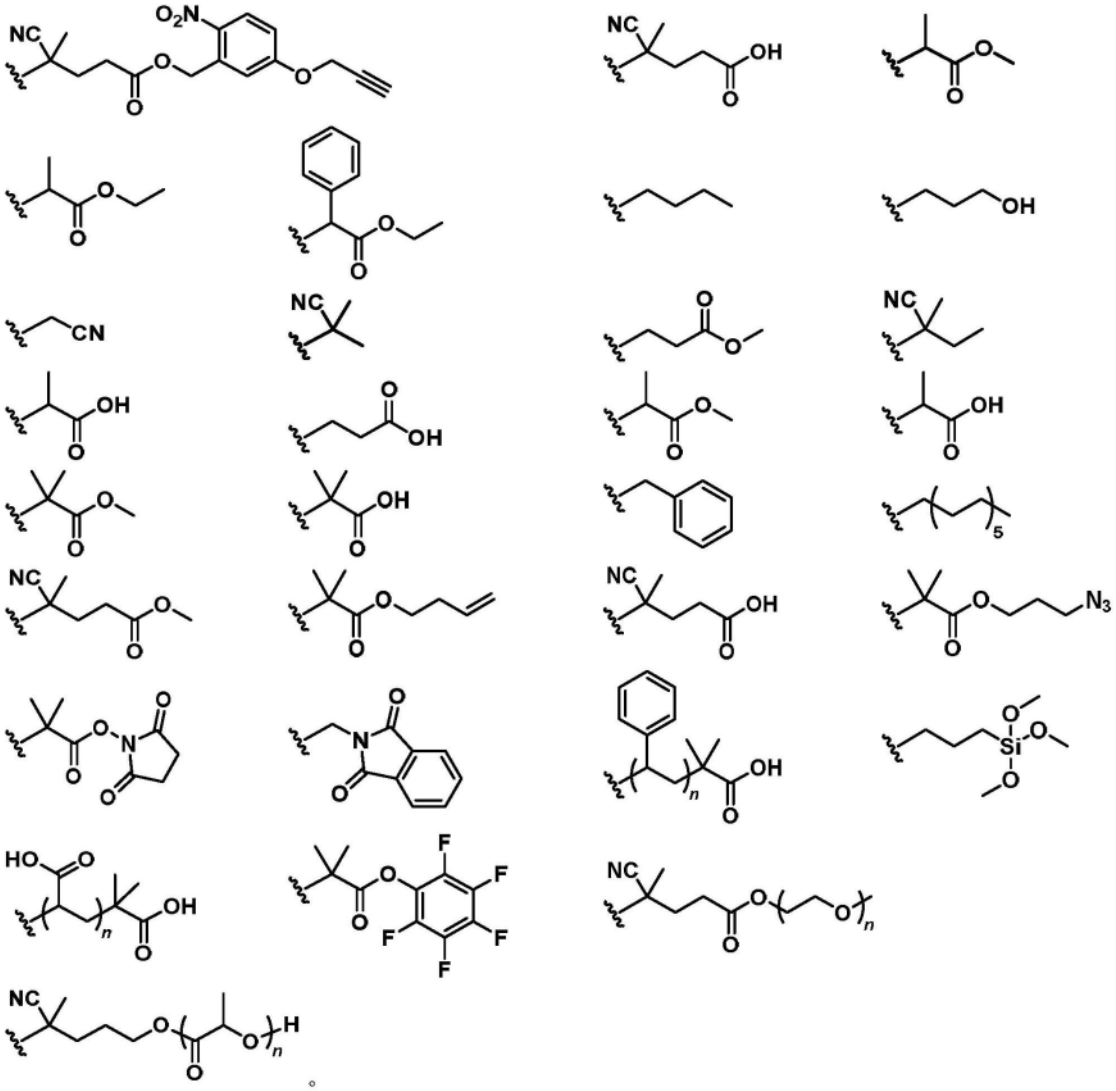
[0116] 其中≋表示与Y的连接(经由构建体的Y部分的碳),并且R^{12}的每个实例独立地选自-H、任选取代的C_{1-11}烷基、任选取代的-C(=NH)NH_2、任选取代的-C(=NH)NH(C_{1-3}烷基)、任选取代的咪唑啉、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、任选取代的C-羧基(其中R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、或任选取代的苯基)、任选取代的C-酰胺基(其中R_A和R_B独立地为-H或C_{1-6}烷基)、任选取代的琥珀酰

亚胺酯、任选取代的异吲哚啉-1,3-二酮、任选取代的聚苯乙烯基单元、任选取代的聚丙烯酸,或者碳上的两个位置一起提供任选取代的C_{3-10}环烷基或任选取代的杂环基(具有3至10个环成员)。在若干实施方案中,R^{12}独立地为氢、任选取代的C_{1-6}烷基、C-羧基(其中R为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)、C-酰胺基(其中R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基),或者R^{12}的每个实例一起提供任选取代的C_{3-10}环烷基。在若干实施方案中,R^{12}的每个实例独立地为氢、任选取代的烷基(例如,任选地被卤素、C-羧基、-氨基、-OH等中的一种或多种取代的C_{1-6}烷基),或者R^{12}的每个实例一起提供任选取代的环烷基。

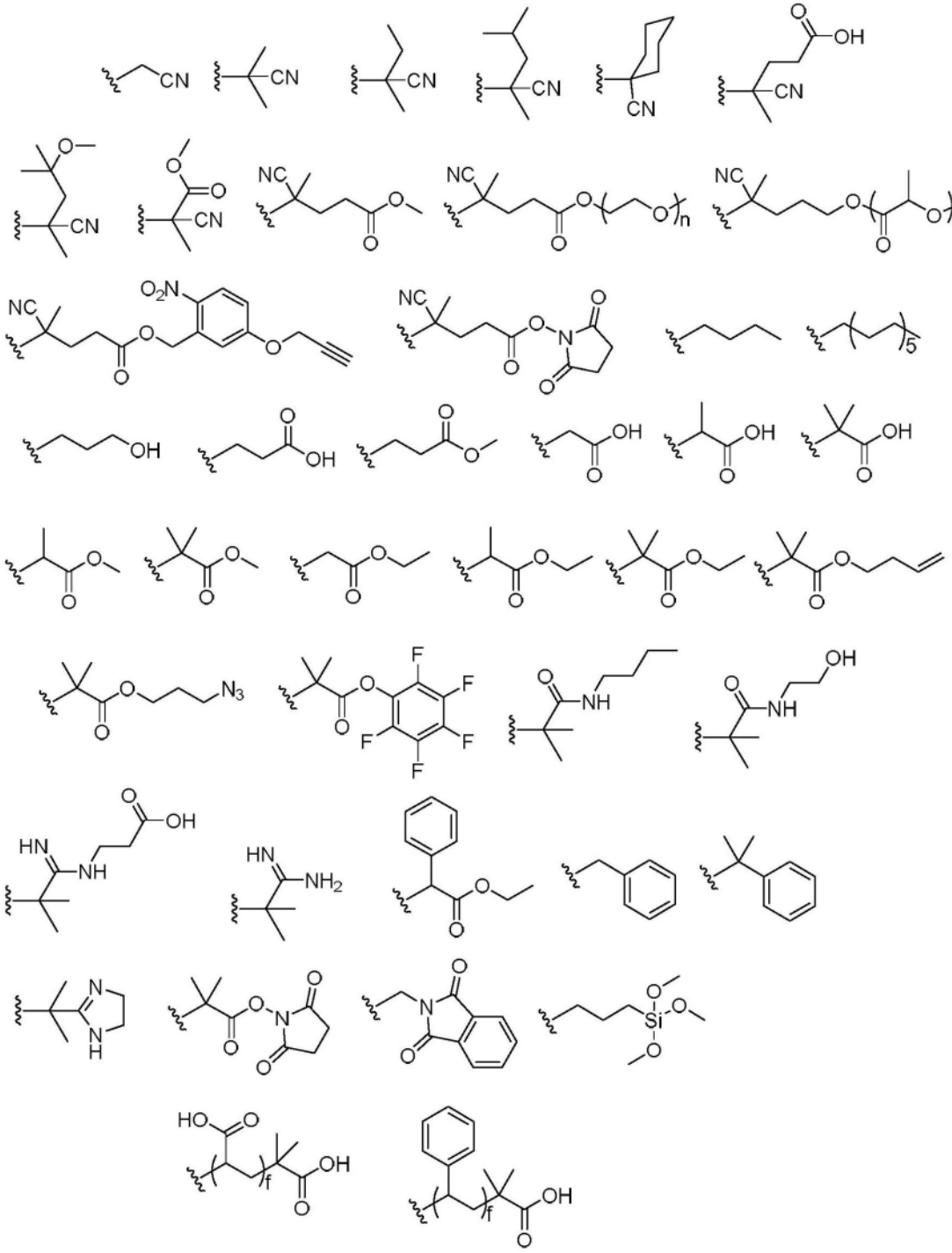
[0117] 在若干实施方案中,EU选自:

[0118]



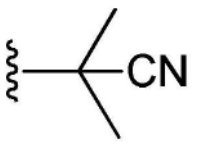
[0119] 

[0120] 在若干实施方案中,EU选自:

[0121] 

[0122] 在若干实施方案中，f在存在的情况下为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、20、40、50、100、150、200、或跨越和/或包括前述值的范围。

[0123] 在若干实施方案中，R^{12}的每个实例为$-CH_3$，并且EU为以下基团：

[0124] 

[0125] 在若干实施方案中，Z包含半乳糖、葡萄糖、半乳糖胺、葡糖胺、N-乙酰半乳糖胺和/或N-乙酰葡糖胺中的一种或多种。在若干实施方案中，Z在其C1、C2或C6处与Y键合。

[0126] 在若干实施方案中，p与r的比率为约1:1。在若干实施方案中，p与r的比率为约4:1。

[0127] 在若干实施方案中，Y为Ya'；k为2；R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-。在若干实施方案中，X^3和R^9一起为-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-(O-CH_2-CH_2)$_t$-。在若干实施方案中，t为1。在若干实施方案中，Z为半乳糖、葡萄糖、半乳糖胺、葡糖胺、N-乙酰半乳糖胺、或N-乙酰葡糖胺中的一种或多种。在若干实施方案中，Z为N-乙酰半乳糖胺或N-乙酰葡糖胺。在若干实施方案中，q为0。在若干实施方案中，q为3。

[0128] 在若干实施方案中，Y为Ye'。在若干实施方案中，q为0。在若干实施方案中，k为2。在若干实施方案中，R^1为-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-。在若干实施方案中，X^3和R^9一起为-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-(O-CH_2-CH_2)$_t$-。在若干实施方案中，t为1。在若干实施方案中，Z为半乳糖、葡萄糖、半乳糖胺、葡糖胺、N-乙酰半乳糖胺、或N-乙酰葡糖胺中的一种或多种。在若干实施方案中，Z为N-乙酰半乳糖胺或N-乙酰葡糖胺。

[0129] 若干实施方案涉及用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物，该化合物包含抗原、包含聚合物部分的接头，以及靶向部分(例如肝靶向部分)。在若干实施方案中，接头经由二硫键或二硫烷基乙酯与抗原结合。在若干实施方案中，二硫键或二硫烷基乙酯各自被构造成在向受试者施用化合物时裂解。在若干实施方案中，二硫键或二硫烷基乙酯被构造成从聚合物接头释放抗原。在若干实施方案中，聚合物接头包含末端单元。在若干实施方案中，末端单元改善化合物在溶液中的稳定性。

[0130] 若干实施方案涉及用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物。在若干实施方案中，化合物包含期望耐受性的抗原或其致耐受性部分。在若干实施方案中，期望耐受性的抗原在单独呈递给受试者时能够在受试者中诱导不希望的免疫反应。在若干实施方案中，化合物包含聚合物接头(例如，包含聚合物部分的接头)。在若干实施方案中，聚合物接头包含共聚物(例如，无规共聚物、梯度共聚物、嵌段共聚物等)，其中共聚物包含第一丙烯酰基单元和第二丙烯酰基单元。在若干实施方案中，第一丙烯酰基单元包含第一C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二丙烯酰基单元包含第二C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二C-酰胺基或C-羧基官能团与脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇缀合。在若干实施方案中，聚合物接头经由二硫键或二硫烷基乙酯与期望耐受性的抗原或其致耐受性部分结合。在若干实施方案中，二硫键或二硫烷基乙酯各自被构造成在向受试者施用化合物后裂解，并且从聚合物接头释放期望耐受性的抗原或其致耐受性部分。在若干实施方案中，聚合物接头包含末端单元。在若干实施方案中，末端单元改善化合物在溶液中的稳定性。在若干实施方案中，化合物包含肝靶向部分。在若干实施方案中，肝靶向部分经由第一C-酰胺基或C-羧基官能团与第一丙烯酰基单元连接。在若干实施方案中，第一丙烯酰基单元通过烷基、聚醚、聚氨基、任何前述的组合等与肝靶向部分共价连接。

[0131] 在若干实施方案中，如本文所公开的末端单元可以是偶氮化合物(例如，带有官能化二嗪官能团的化合物)与二硫酯的反应产物。在若干实施方案中，末端单元缺乏硫(S)原子或芳基中的一种或多种。在若干实施方案中，末端单元缺乏二硫酯。

[0132] 在若干实施方案中，肝靶向部分包含半乳糖基化或葡糖基化部分。

[0133] 在若干实施方案中，致耐受性构建体使用N-羟基琥珀酰胺基接头、马来酰亚胺接头、乙烯基砜接头、吡啶基二硫醇-聚(乙二醇)接头、吡啶基二硫醇接头、n-硝基苯基碳酸酯

接头、NHS-酯接头，以及硝基苯氧基聚(乙二醇)酯接头进行制备。

[0134] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分在受试者中诱导不希望的免疫反应。

[0135] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分与自身免疫疾病相关联。在若干实施方案中，自身免疫疾病选自I型糖尿病、多发性硬化症、类风湿性关节炎、白癜风、葡萄膜炎、寻常型天疱疮、视神经脊髓炎、古德帕斯彻病、帕金森氏病、重症肌无力和乳糜泻。

[0136] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分包含自体抗原。在若干实施方案中，自体抗原选自髓鞘碱性蛋白、髓鞘少突胶质细胞糖蛋白和蛋白脂质蛋白、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。在若干实施方案中，自体抗原选自胰岛素、胰岛素原、前胰岛素原、谷氨酸脱羧酶-65(GAD-65)、GAD-67、胰岛素瘤相关蛋白2(IA-2)和胰岛素瘤相关蛋白213(IA-213)、ICA69、ICA12(SOX-13)、羧肽酶H、Imogen 38、GLIMA 38、嗜铬粒蛋白-A、HSP-60、羧肽酶E、外周蛋白、葡萄糖转运蛋白2、肝癌-肠-胰腺/胰腺相关蛋白、S100β、胶质原纤维酸性蛋白、再生基因II、胰腺十二指肠同源盒1、强直性肌营养不良激酶、胰岛特异性葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基相关蛋白、SST G-蛋白偶联受体1-5，以及任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。

[0137] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分包含食物抗原。在若干实施方案中，食物抗原选自伴花生球蛋白(Ara h 1)、变应原II(Ara h 2)、花生凝集素、羽扇豆球蛋白(Ara h 6)、31kda主要变应原/抗病蛋白同源物(Mal d 2)、脂质转移蛋白前体(Mal d 3)、主要变应原Mal d 1.03D(Mal d 1)、a-乳清蛋白(ALA)、乳运铁蛋白、猕猴桃素(Act c 1,Act d 1)、植物半胱氨酸蛋白酶抑制剂、类甜蛋白(Act d 2)、kiwellin(Act d 5)、卵类粘蛋白、卵白蛋白、卵转铁蛋白和溶菌酶、卵黄蛋白、apovitillin、vosvetin、2S白蛋白(Sin a 1)、11S球蛋白(Sin a 2)、脂质转移蛋白(Sin a 3)、抑制蛋白(Sin a 4)、抑制蛋白(Api g 4)、高分子量糖蛋白(Api g 5)、Pen a 1变应原(Pen a 1)、变应原Pen m 2(Pen m 2)、原肌球蛋白快速异构体、高分子量麦谷蛋白、低分子量麦谷蛋白、α-、γ-和ω-麦醇溶蛋白、大麦醇溶蛋白、黑麦醇溶蛋白、燕麦蛋白、主要草莓过敏Fra a 1-E(Fra a 1)、抑制蛋白(Mus xp 1)、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。在若干实施方案中，食物抗原选自高分子量麦谷蛋白、低分子量麦谷蛋白、α-、γ-和ω-麦醇溶蛋白、大麦醇溶蛋白、黑麦醇溶蛋白、燕麦蛋白、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。在若干实施方案中，食物抗原与乳糜泻相关联。

[0138] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分包含治疗剂。在若干实施方案中，治疗剂选自阿昔单抗、阿达木单抗、α-半乳糖苷酶、β-半乳糖苷酶、阿地白介素、α阿糖苷酶、因子VIII、因子IX、英夫利昔、L-天冬酰胺酶、拉罗尼酶、那他珠单抗、奥曲肽、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、拉布立酶(尿酸酶)、基因治疗载体、或AAV、任何所述抗原的一部分，以及任何所述抗原的模拟物。

[0139] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分包含移植抗原。在若干实施方案中，移植抗原选自MHC I类和MHC II类单倍型蛋白的亚基以及它们与其呈递的抗原的复合物，以及次要血型抗原RhCE、Kell、Kidd、Duffy和Ss。

[0140] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分为桥粒芯糖蛋白-

3、-1和/或-4。

[0141] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分与寻常型天疱疮相关联。

[0142] 本文所公开的若干实施方案涉及包含如以上或本文别处所公开的化合物的组合物。本文所公开的若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物(例如构建体)的用途。在若干实施方案中，用途在于诱导对X和/或抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分的耐受性。

[0143] 本文所公开的若干实施方案涉及诱导对抗原耐受的方法，受试者能够针对该抗原发展不希望的免疫反应，该方法包括向受试者施用如以上或本文别处所公开的化合物。在若干实施方案中，在受试者暴露于抗原之前、在受试者已暴露于抗原之后、或两者，施用化合物。

[0144] 本文所公开的若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物用于制备诱导对抗原的耐受性的药物的用途。在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分包含移植受者针对其发展不希望的免疫反应的外源移植抗原、其致耐受性部分、或其模拟物。

[0145] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分(例如X)包含诱导患者针对其发展不希望的免疫反应的外源食物、动物、植物或环境抗原、它们中任一种的致耐受性部分、或它们中任一种的模拟物。

[0146] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分(例如X)包含患者针对其发展不希望的免疫反应的外源治疗剂、其致耐受性部分、或其模拟物。

[0147] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分(例如X)包含自体抗原、其致耐受性部分、或患者针对其内源形式发展不希望的免疫反应的其模拟物或其致耐受性部分。

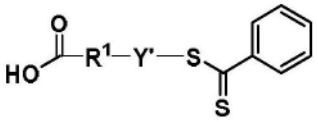
[0148] 在若干实施方案中，抗原、其模拟物、其片段、或其致耐受性部分(例如X)包含抗体、抗体片段或特异性结合循环蛋白或肽或抗体的配体，该循环蛋白或肽或抗体成因地涉及移植排斥、针对治疗剂的免疫反应、自身免疫疾病、超敏反应和/或变态反应。

[0149] 本文所公开的若干实施方案涉及用于在功能类似的天然蛋白的产生不足的受试者中诱导对治疗性蛋白的耐受性的药学上可接受的组合物，该药学上可接受的组合物包含如以上或本文别处所公开的化合物。

[0150] 本文所公开的若干实施方案涉及如以上或本文别处所公开的化合物或组合物用于治疗针对抗原的不希望的免疫反应的用途。在若干实施方案中，不希望的免疫反与I型糖尿病、多发性硬化症、类风湿性关节炎、白癜风、葡萄膜炎、寻常型天疱疮、视神经脊髓炎、帕金森氏病、古德帕斯彻病、乳糜泻、或重症肌无力相关联。

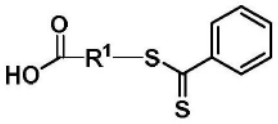
[0151] 本文所公开的若干实施方案涉及制造用于治疗针对抗原的不希望的免疫反应的药物。

[0152] 本文所公开的若干实施方案涉及制造具有以下结构的化合物的方法：

[0153] 

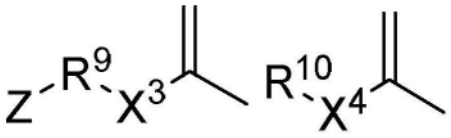
式(2e) 。

[0154] 在若干实施方案中,该方法包括提供以下结构的RAFT试剂:

[0155] 

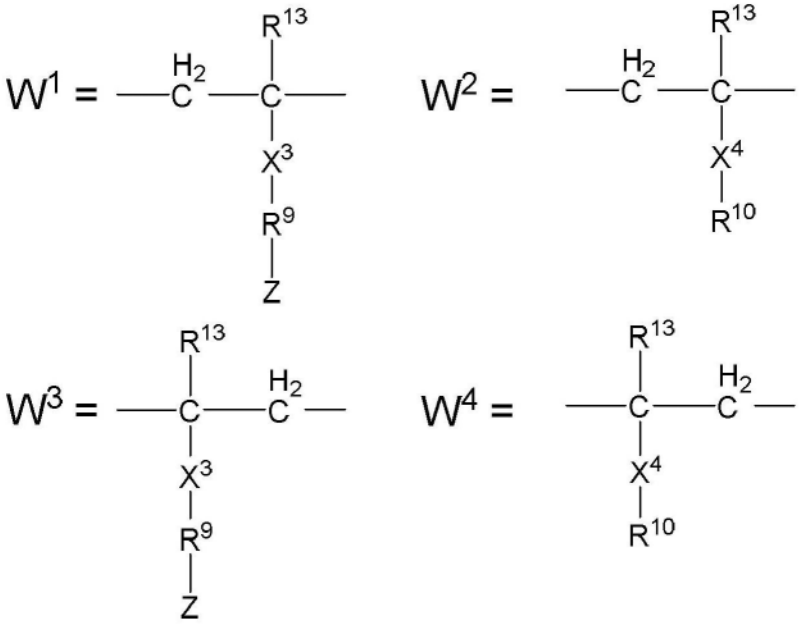
RAFT 式(1g) 。

[0156] 在若干实施方案中,该方法包括提供一种或多种以下结构的丙烯酰基单体:

[0157] 

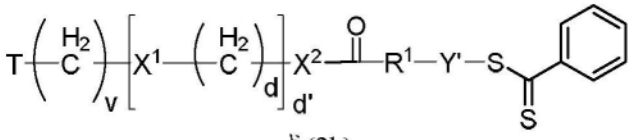
(MZ1) (M1) 。

[0158] 在若干实施方案中,该方法包括使RAFT试剂与一种或多种丙烯酰基单体混合,以形成化合物。在若干实施方案中,变量如本文别处所公开。在若干实施方案中,R_1选自-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-和-CH(CH_3)-。在若干实施方案中,X^3选自-C(O)-NH-或-C(O)O-。在若干实施方案中,X^4为-C(O)-NH-、-C(O)O-、或-C(O)-OH。在若干实施方案中,R^9如本文别处所定义。在若干实施方案中,R^9为直接键或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-。在若干实施方案中,X^5和X^6独立地选自直接键、-$CNR^{6'}$-和-O-。在若干实施方案中,$R^{6'}$的每个实例独立地为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中,R^{10}不存在,或者为-[$((CH_2)_{h''}X^7)_{t''}$-$((CH_2)_{h''}X^8)_{t''}$]-H。在若干实施方案中,X^7和X^8独立地选自直接键、-$CNR^{6''}$-和-O-。在若干实施方案中,$R^{6''}$的每个实例独立地为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中,t、t'、h和h'各自独立地为等于或至少约以下的整数:0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20。在若干实施方案中,Y'为W^1与W^2或W^3与W^4的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物。在若干实施方案中,W^1、W^2、W^3和W^4如以下所示:

[0159] 

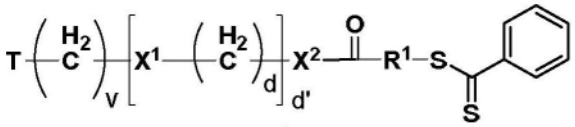
[0160] 在若干实施方案中，Y'中W^1或W^3的重复单元数表示为p，并且其中p为至少约1的整数。在若干实施方案中，Y'中W^2或W^4的重复单元数表示为r，并且其中r为至少约1的整数。在若干实施方案中，p和r的总和大于约170。在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，R^{13}的每个实例独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，Z包含肝靶向部分。

[0161] 本文所公开的若干实施方案涉及制造具有以下结构的化合物的方法：

[0162] 

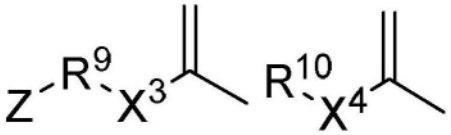
式(2b)。

[0163] 在若干实施方案中，该方法包括提供以下结构的RAFT试剂：

[0164] 

RAFT 式(1d)。

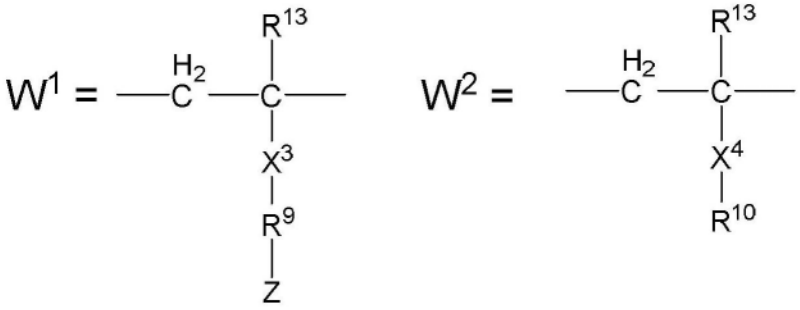
[0165] 在若干实施方案中，该方法包括提供一种或多种以下结构的丙烯酰基单体：

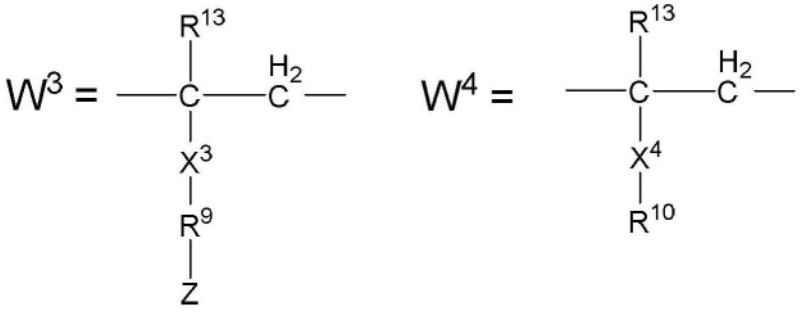
[0166] 

(MZ1) (M1)。

[0167] 在若干实施方案中，该方法包括使RAFT试剂与一种或多种丙烯酰基单体混合，以形成化合物。在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，T是吡啶二硫物(PDS)或羧酸。在若干实施方案中，X^1和X^2独立地选自直接键、-NR^6-和-O-。在若干实施方案中，v、d和d'独立地为大于或等于以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、或44。在若干实施方案中，R^6为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，R_1选

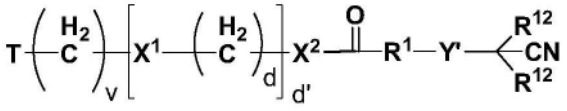
自-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-和-CH(CH_3)-。在若干实施方案中，其中Y'为W^1与W^2或W^3与W^4的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物，其中W^1、W^2、W^3和W^4如下所示：

[0168] 

[0169] 

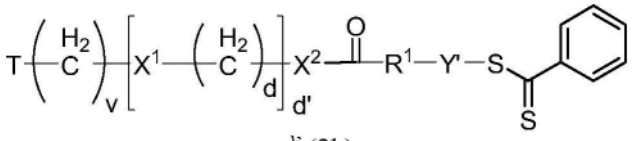
[0170] 在若干实施方案中，Y'中W^1或W^3的重复单元数表示为p，并且其中p为至少约1的整数。在若干实施方案中，Y'中W^2或W^4的重复单元数表示为r，并且其中r为至少约1的整数。在若干实施方案中，p和r的总和大于约170。在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，R^{13}的每个实例独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，Z包含肝靶向部分。

[0171] 本文所公开的若干实施方案涉及制造具有以下结构的化合物的方法：

[0172] 

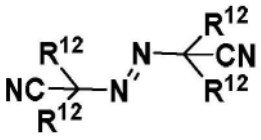
式(4d) 。

[0173] 在若干实施方案中，该方法包括提供以下结构的含二硫代苯甲酸酯化合物：

[0174] 

式(2b) 。

[0175] 在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，该方法包括通过使式(2b)的结构(或者包含R^2或DTB的另一种化合物)暴露于以下结构来提供末端单元：

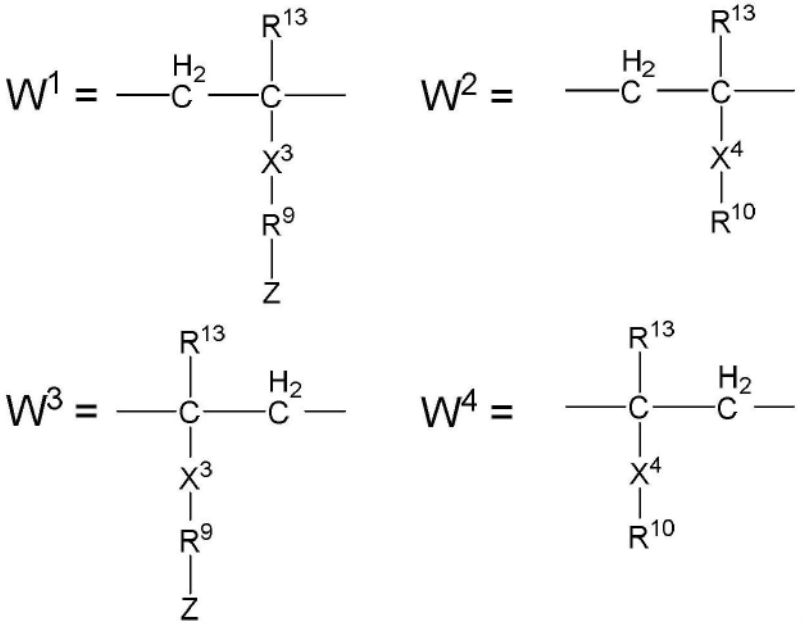
[0176] 

式(3b) 。

[0177] 在若干实施方案中，该方法包括使末端单元试剂与含二硫代苯甲酸酯化合物混

合，以形成式(4d)的结构。在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，T在存在时为PDS或羧酸。在若干实施方案中，X^1和X^2独立地选自直接键、-NR^6-和-O-。在若干实施方案中，R^6为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，v、d和d'在存在时独立地为大于或等于0、1、2、3、4、5、10、15、20、40、50、75、100、150的整数。在若干实施方案中，R^{12}的每个实例独立地为氢或任选取代的烷基。在若干实施方案中，R_1选自-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C$(CH_3)(CH_3)$-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-和-CH(CH_3)-。在若干实施方案中，其中Y'为W^1与W^2或W^3与W^4的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物。在若干实施方案中，W^1、W^2、W^3和W^4如以下所示：

[0178]

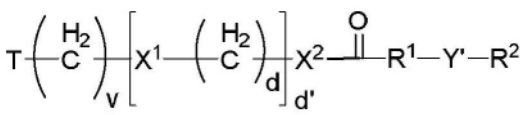


。

[0179] 在若干实施方案中，Y'中W^1或W^3的重复单元数表示为p。在若干实施方案中，p为至少约1的整数。在若干实施方案中，Y'中W^2或W^4的重复单元数表示为r。在若干实施方案中，r为至少约1的整数。在若干实施方案中，p和r的总和大于约170。在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，X^3选自-C(O)-NH-或-C(O)O-。在若干实施方案中，X^4为-C(O)-NH-、-C(O)O-、或-C(O)-OH。在若干实施方案中，R^9为直接键或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-。在若干实施方案中，X^5和X^6独立地选自直接键、-$CNR^{6'}$-和-O-。在若干实施方案中，$R^{6'}$的每个实例独立地为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，R^{10}不存在，或者为-[$((CH_2)_{h''}X^7)_{t''}$-$((CH_2)_{h''}X^8)_{t''}$]-H。在若干实施方案中，X^7和X^8独立地选自直接键、-$CNR^{6''}$-和-O-。在若干实施方案中，$R^{6''}$的每个实例独立地为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，t、t'、h、h'、t''、t'''、h''和h'''各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20(或跨越和/或包括任何前述值的范围)。在若干实施方案中，R^{13}独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，Z包含肝靶向部分。

[0180] 本文所公开的若干实施方案涉及制造具有以下结构的化合物的方法：

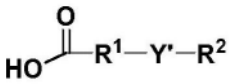
[0181]



式(2a)

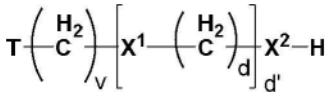
。

[0182] 在若干实施方案中，变量如本文别处所定义。在若干实施方案中，R^2为封端基团(例如CTA残余部分)。在若干实施方案中，该方法包括提供以下结构的羧酸封端的化合物：

[0183] 

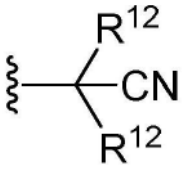
式(2f)。

[0184] 在若干实施方案中，该方法包括提供具有以下结构的PDS官能化剂：

[0185] 

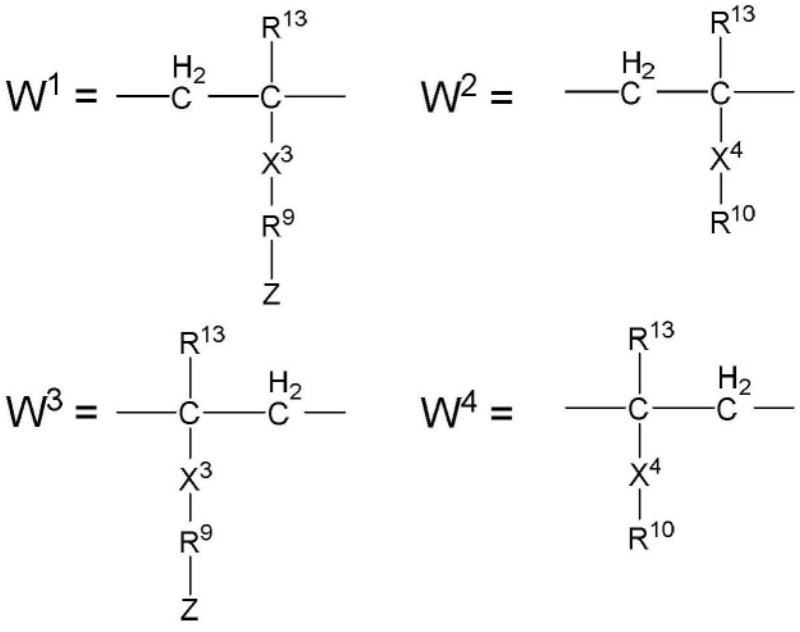
式(5a)。

[0186] 在若干实施方案中，该方法包括使羧酸封端的化合物与PDS官能化剂混合形成化合物。在若干实施方案中，该方法包括使羧酸封端的化合物与PDS官能化剂在偶联条件下混合以形成化合物。在若干实施方案中，R^2用EU置换。在若干实施方案中，EU由以下结构表示：

[0187] 

(EU2)。

[0188] 在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，T为PDS。在若干实施方案中，X^1和X^2独立地选自直接键、-NR^6-和-O-。在若干实施方案中，v、d和d'独立地为大于或等于以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、或44。在若干实施方案中，R^6为H或任选地被卤素、C_{1-3}烷基或C-羧基取代的C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，R_1选自-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C$(CH_3)$$(CH_3)$-、-$(CH_2)_2$-CH$(CH_3)$-和-CH$(CH_3)$-。在若干实施方案中，Y'为$W^1$与$W^2$的无规共聚物、梯度、嵌段共聚物，其中$W^1$和$W^2$如下所示出：

[0189] 

。

[0190] 在若干实施方案中，Y'中W^1或W^3的重复单元数表示为p。在若干实施方案中，p为至

少约1的整数。在若干实施方案中，Y'中W^2或W^4的重复单元数表示为r。在若干实施方案中，r为至少约1的整数。在若干实施方案中，p和r的总和大于约170。在若干实施方案中，R^{12}的每个实例独立地为氢或任选取代的烷基。在若干实施方案中，R^{13}的每个实例独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，Z包含肝靶向部分。

[0191] 本文所公开的若干实施方案涉及用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物。在若干实施方案中，化合物包含期望耐受性的抗原或其致耐受性部分。在若干实施方案中，期望耐受性的抗原在单独呈递给受试者时能够在受试者中诱导不希望的免疫反应。在若干实施方案中，化合物包含聚合物接头，该聚合物接头不包括二硫代苯甲酸酯、三硫代碳酸酯、或黄原酸酯。在若干实施方案中，化合物包含聚合物接头，该聚合物接头不包括硫代羰基硫化合物如二硫酯、二硫代氨基甲酸酯、三硫代碳酸酯和黄原酸酯(例如，其经由可逆链转移过程介导聚合)。在若干实施方案中，接头包含共聚物(例如，无规共聚物、梯度共聚物、嵌段共聚物、或前述的混合物)。在若干实施方案中，共聚物(例如，无规共聚物、梯度共聚物、嵌段共聚物、或前述的混合物)包含第一丙烯酰基单元和第二丙烯酰基单元。在若干实施方案中，第一丙烯酰基单元包含第一C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二丙烯酰基单元包含第二C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二C-酰胺基或C-羧基官能团与脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇缀合(例如结合)。在若干实施方案中，聚合物接头经由二硫键或二硫烷基乙酯与期望耐受性的抗原或其致耐受性部分缀合。在若干实施方案中，二硫键或二硫烷基乙酯各自被构造成在向受试者施用化合物时裂解，并且从聚合物接头释放期望耐受性的抗原或其致耐受性部分。在若干实施方案中，化合物包含肝靶向部分。在若干实施方案中，肝靶向部分通过第一C-酰胺基或C-羧基官能团和聚醚与第一丙烯酰基单元连接。在若干实施方案中，与包括二硫酯的接头相比，聚合物接头包含的末端单元改善化合物在溶液中的稳定性。在若干实施方案中，与包括含二硫代苯甲酸酯、含三硫代碳酸酯、或含黄原酸酯的封端基团的聚合物接头相比，聚合物接头包含的末端单元改善化合物在溶液中的稳定性。在若干实施方案中，与包括含二硫酯、含二硫代苯甲酸酯、含三硫代碳酸酯、或含黄原酸酯的封端基团的聚合物接头相比，聚合物接头包含的末端单元使化合物在溶液中的稳定性改善至少20％。

[0192] 本文所公开的若干实施方案涉及用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物。在若干实施方案中，化合物包含期望耐受性的抗原。在若干实施方案中，期望耐受性的抗原在单独呈递给受试者时能够在受试者中诱导不希望的免疫反应。在若干实施方案中，抗原包含髓鞘碱性蛋白的致耐受性部分、髓鞘少突胶质细胞糖蛋白的致耐受性部分和/或蛋白脂质蛋白的致耐受性部分中的一种或多种。在若干实施方案中，化合物包含聚合物接头，该聚合物接头不包括二硫酯。在若干实施方案中，化合物包含聚合物接头，该聚合物接头不包括二硫代苯甲酸酯、三硫代碳酸酯、或黄原酸酯。在若干实施方案中，接头包含共聚物(例如，无规共聚物、梯度共聚物、嵌段共聚物、或前述的混合物)。在若干实施方案中，共聚物(例如，无规共聚物、梯度共聚物、嵌段共聚物、或前述的混合物)包含第一丙烯酰基单元和第二丙烯酰基单元。在若干实施方案中，第一丙烯酰基单元包含第一C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二丙烯酰基单元包含第二C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二C-酰胺基或C-羧基官能团与脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇缀合。在若干实施方案中，聚合物接头经由二硫键或二硫烷基乙酯与期望耐受性的抗原

或其致耐受性部分结合。在若干实施方案中，二硫键或二硫烷基乙酯各自被构造成在向受试者施用化合物时裂解，并且从聚合物接头释放期望耐受性的抗原或其致耐受性部分。在若干实施方案中，与包括含二硫代苯甲酸酯、含三硫代碳酸酯、或含黄原酸酯的封端基团的接头相比，聚合物接头包含的末端单元使化合物在溶液中的稳定性改善至少20％。在若干实施方案中，化合物包含肝靶向部分。在若干实施方案中，肝靶向部分包含N-乙酰半乳糖胺。在若干实施方案中，肝靶向部分通过第一C-酰胺基或C-羧基官能团和聚醚与第一丙烯酰基单元连接。

[0193] 本文所公开的若干实施方案涉及用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物。在若干实施方案中，化合物包含期望耐受性的抗原。在若干实施方案中，期望耐受性的抗原在单独呈递给受试者时能够在受试者中诱导不希望的免疫反应。在若干实施方案中，抗原包含人胰岛素原的致耐受性部分。在若干实施方案中，化合物包含聚合物接头，该聚合物接头不包括二硫酯。在若干实施方案中，化合物包含聚合物接头，该聚合物接头不包括二硫代苯甲酸酯、三硫代碳酸酯、或黄原酸酯。在若干实施方案中，接头包含共聚物。在若干实施方案中，共聚物(例如，无规共聚物、梯度共聚物、嵌段共聚物、或前述的混合物)包含第一丙烯酰基单元。在若干实施方案中，第二丙烯酰基单元。在若干实施方案中，第一丙烯酰基单元包含第一C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二丙烯酰基单元包含第二C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二C-酰胺基或C-羧基官能团与脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇缀合。在若干实施方案中，聚合物接头经由二硫键或二硫烷基乙酯与期望耐受性的抗原或其致耐受性部分结合。在若干实施方案中，二硫键或二硫烷基乙酯各自被构造成在向受试者施用化合物时裂解，并且从聚合物接头释放期望耐受性的抗原或其致耐受性部分。在若干实施方案中，与包括含二硫代苯甲酸酯、含三硫代碳酸酯、或含黄原酸酯的封端基团的接头相比，聚合物接头包含的末端单元使化合物在溶液中的稳定性改善至少20％。在若干实施方案中，化合物包含肝靶向部分。在若干实施方案中，肝靶向部分包含N-乙酰半乳糖胺。在若干实施方案中，肝靶向部分通过第一C-酰胺基或C-羧基官能团和聚醚与第一丙烯酰基单元连接。

[0194] 本文所公开的若干实施方案涉及用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物。在若干实施方案中，化合物包含期望耐受性的抗原。在若干实施方案中，期望耐受性的抗原在单独呈递给受试者时能够在受试者中诱导不希望的免疫反应。在若干实施方案中，抗原包含脱酰胺化α-麦醇溶蛋白的致耐受性部分。在若干实施方案中，化合物包含聚合物接头，该聚合物接头不包括二硫酯。在若干实施方案中，化合物包含聚合物接头，该聚合物接头不包括二硫代苯甲酸酯、三硫代碳酸酯、或黄原酸酯。在若干实施方案中，接头包含共聚物(例如，无规共聚物、梯度共聚物、嵌段共聚物、或前述的混合物)。在若干实施方案中，共聚物包含第一丙烯酰基单元。在若干实施方案中，共聚物包含第二丙烯酰基单元。在若干实施方案中，第一丙烯酰基单元包含第一C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二丙烯酰基单元包含第二C-酰胺基或C-羧基官能团。在若干实施方案中，第二C-酰胺基或C-羧基官能团与脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇缀合。在若干实施方案中，聚合物接头经由二硫键或二硫烷基乙酯与期望耐受性的抗原或其致耐受性部分结合。在若干实施方案中，二硫键或二硫烷基乙酯各自被构造成在向受试者施用化合物时裂解，并且从聚合物接头释放期望耐受性的抗原或其致耐受性部分。在若干实施方案中，与包括含二硫

代苯甲酸酯、含三硫代碳酸酯、或含黄原酸酯的封端基团的接头相比，聚合物接头包含的末端单元使化合物在溶液中的稳定性改善至少20％。在若干实施方案中，化合物包含肝靶向部分。在若干实施方案中，肝靶向部分包含N-乙酰半乳糖胺。在若干实施方案中，肝靶向部分通过第一C-酰胺基或C-羧基官能团和聚醚与第一丙烯酰基单元连接。

附图说明

[0195] 图1提供SDS-PAGE凝胶。凝胶展示了抗原与包含肝靶向部分的聚合物接头的成功缀合。通过置换存在于接头部分上的2-硫代吡啶基团发生缀合(提供硫醇-缀合的构建体)。在聚合物接头的硫化物与抗原的硫化物之间形成二硫化物。抗原与接头的α端偶联。

[0196] 图2提供另一SDS-PAGE凝胶。凝胶展示另一种不同抗原与包含肝靶向部分的接头的缀合。通过置换存在于接头部分上的2-硫代吡啶基团发生缀合。由接头的硫化物与抗原的硫化物形成二硫化物。抗原与接头的α端偶联。

[0197] 图3提供另一SDS-PAGE凝胶。凝胶展示另一种不同抗原与包含肝靶向部分的接头的缀合。通过置换存在于聚合物接头上的N-羟基琥珀酰亚胺基团发生缀合(提供胺缀合的构建体)。结果得到二硫烷基乙酯单元。抗原与接头的α端偶联。

[0198] 图4提供另一SDS-PAGE凝胶。凝胶展示另一种不同抗原与包含肝靶向部分的接头的缀合。通过置换存在于聚合物接头上的N-羟基琥珀酰亚胺基团发生缀合(提供胺缀合的构建体)。结果得到二硫烷基乙酯单元。抗原与接头的α端偶联。

[0199] 图5提供SDS-PAGE凝胶。凝胶展示抗原与包含肝靶向部分的接头的缀合。通过置换存在于接头部分上的2-硫代吡啶基团发生缀合。在接头的硫化物与抗原的硫化物之间形成二硫化物。抗原与接头的ω端偶联。

[0200] 图6显示在脾中抗原攻击后OVA01特异性OTI CD8+T细胞的结果(作为总活CD3+CD8+T细胞的百分比)。经盐水处理的小鼠在脾中显示高频率的OTI CD8+T细胞，指示维持着对OVA01抗原特异性的炎性免疫反应。在所有测试的剂量下，用含有DTB的聚(GalNAc-共-HEMA)-OVA01或不含二硫酯(例如不含DTB)的聚(GalNAc-共-HEMA)-OVA01处理的小鼠表现出脾中OVA01特异性OTI CD8+ T细胞的显著减少。

[0201] 图7显示包含末端单元的化合物相对于包含二硫酯(例如二硫代苯甲酸酯)封端基团的化合物的稳定性测试数据。在0、7、14和28天的时间点，对单独的样品小瓶执行分析测试，如图7所示。在相同条件下，不含二硫酯(例如不含DTB)的缀合物比含有二硫酯的缀合物具有更高的稳定性。

[0202] 图8显示使用小鼠实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)模型的免疫耐受结果。这些数据说明，作为致耐受性组合物的非限制性实例，pGal-MOG30-60有效地诱导对MOG的免疫耐受，并预防中枢神经系统的自身免疫病理学和相关联的多发性硬化症症状学(EAE疾病)。

[0203] 图9显示使用小鼠模型和P31(嗜铬粒蛋白-A的模拟表位，其为1型糖尿病中的自身抗原)的免疫耐受结果。如所说明，与单独施用p31以及与盐水施用相比，pGal-p31诱导了对1型糖尿病诱导的长期抵御。在该小鼠模型中，对1型糖尿病的抵御指示了对驱动疾病的自身抗原的有效免疫耐受诱导。

[0204] 图10显示了通过测量对后续用衍生自人胰岛素原的佐剂化致耐受性肽的抗原攻击的耐受性的诱导，使用转基因小鼠的免疫耐受结果。两种免疫测定的结果说明了通过施

用pGal-胰岛素原肽(如本文所公开的构建体)诱导的胰岛素原肽特异性T细胞炎症反应的量值的明显和统计学的显著降低,并因此有效地展示对胰岛素的免疫耐受诱导。

具体实施方式

[0205] 针对各种抗原的免疫反应可能是发病率和死亡率的重要根源。免疫反应可在个体中发展,导致对个体的健康和舒适的不良影响,降低个体接受的治疗的功效,并甚至对个体中天然存在或现存的内源性分子的反应。尽管广泛的免疫抑制在某些情形下被用来解决某些类型的免疫反应,但这些可导致对感染和疾病的普遍易感性。因此,更具针对性方法(如本文所述的那些)的有利之处在于可以靶向抗原特异性免疫反应。本文所公开的若干实施方案充分利用了肝脏及其各种类型的细胞在发展对特异性抗原的免疫耐受中的作用。例如,在若干实施方案中,特异性抗原、其免疫原性片段和/或其模拟物(统称为抗原,除非另外指明为特定类型,例如片段)与被构造成靶向肝脏(或肝脏内或与肝脏相关联的特定细胞)的分子连接或偶联,由此允许加工特异性抗原、其免疫原性片段和/或其模拟物,并重新调整免疫系统以减少、改善或以其他方式消除针对该抗原(或抗原的部分、或多个抗原)的免疫反应。例如,在若干实施方案中,本文所提供的组合物靶向递送至肝脏,特别是肝细胞、LSEC、库普弗细胞和/或星状细胞、或具有清道夫受体(例如,脱唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)等)的其他细胞(并且被其摄取)。

[0206] 本文所公开的一些实施方案展示,可以使用合成构建体(如本文所公开的那些组合物)操纵肝细胞,以积极诱导抗原特异性$CD8^+$ T细胞的免疫耐受性,例如通过细胞外抗原的交叉呈递。先前尚未报道被视为"非专职性抗原呈递细胞"的肝细胞在稳态生理条件下表达可促进炎性T细胞对抗原的反应的共刺激分子,因此是抗原呈递以引发致耐受性T细胞反应的有前景的细胞候选物。肝细胞构成总肝脏的多至80%并且与循环T淋巴细胞直接接触。肝细胞不表达免疫共刺激分子。为此,测试了肝细胞是否通过交叉呈递血源性抗原来促成外周致耐受性。本文展示,并且根据若干实施方案,可以原位操纵肝细胞(例如,通过用根据本文所公开的实施方案的构建体靶向肝细胞),以通过向T细胞呈递和交叉呈递抗原而促成外周致耐受性。

[0207] 与其中在炎症情况下循环淋巴细胞仅外渗并进入实质的其他器官不同,肝微脉管系统具有不含任何基底膜的独特帘式内皮膜,从而允许循环CD8+T淋巴细胞与肝MHC-I+实质细胞(包括肝细胞)之间的直接物理接触。与其他肝脏细胞(尤其是LSEC)相比,肝细胞在体外具有较差的交叉呈递能力。然而,通过转基因和/或病毒载体转导获得的直接抗原表达,以及后续在体外和体内肝细胞中的MHC-I-依赖性抗原呈递可主要通过抗原特异性CD8+T淋巴细胞的不理想活化而导致免疫耐受,这是由于缺乏CD28共刺激导致了T细胞克隆缺失。CD4+CD25+FoxP3+Treg细胞的诱导也在慢病毒介导的肝细胞依赖性抗原呈递时发生,指示其他抗原呈递细胞(APC)可能涉及肝细胞驱动的致耐受性机制,因为肝细胞表达低水平的MHC-II以与CD4+ T细胞相互作用。

[0208] 肝细胞的数目超过了肝脏的其他细胞组分,并且与血液组分紧密接触。在本文所公开的一些实施方案中,肝细胞用于通过细胞外抗原摄取和交叉呈递的机制来建立CD8+ T细胞外周耐受性。在其他实施方案中,本文所公开的构建体和组合物单独或与抗原交叉呈递结合用于通过其他机制诱导耐受性。肝细胞具有凝集素受体(除了别的以外),包括去唾

液酸糖蛋白受体(ASGPR)。凋亡过程活化神经氨酸酶,使糖蛋白去唾液酸,以暴露出与ASGPR结合的末端N-乙酰半乳糖胺残基。考虑到凋亡碎片的外周致耐受性性质,将研究设计(并在本文中讨论)成确定肝细胞是否可能涉及外源性抗原(例如,N-乙酰半乳糖胺化抗原)的募集,并且可能加工和呈递致耐受性的那些抗原。本文描述了所公开的构建体在鼠模型中的抗原呈递和免疫耐受能力的评估的体外和体内结果。虽然本文的研究涉及鼠模型,但一些实施方案涉及在其他哺乳动物,包括人类中的致耐受性。不受特定机制的束缚,结果展示,在若干实施方案中,肝细胞依赖性抗原交叉呈递(除了施用本文所公开的构建体后由肝常驻型免疫细胞诱导的其他机制[包括调节性T细胞的诱导]和相关方法)可用于经由T细胞缺失和/或失能更一般地诱导免疫耐受的方法中。在一些实施方案中,肝细胞可用作致耐受性的预防性或治疗性干预的靶细胞。

[0209] 通常,本文所提供的组合物包含所关注的抗原(例如,期望免疫耐受的抗原,包括较大分子的抗原片段,或在一些实施方案中,多个抗原/它们的片段)、靶向部分(例如,特异性靶向或者被肝脏、或肝脏内的细胞类型、或另一靶器官或细胞(例如淋巴结和/或脾脏中)识别的分子)、接头,以及末端单元。在一些实施方案中,可以使用那些抗原的模拟物代替抗原或抗原片段。如以下更详细地讨论,接头可以根据实施方案而变化,但在若干实施方案中被有利地设计和/或构造成在体内以其天然或基本上天然的形式(例如,其在缀合至接头之前的形式)释放抗原(或其一个或多个抗原片段或其模拟物)。在一些实施方案中,分子的抗原部分经由可降解键与接头连接。因此,在若干实施方案中,所关注的抗原在肝脏(或其他目标部位)之处、之内或附近释放,并且以允许免疫系统将天然抗原(或其抗原片段或其模拟物)识别为自身并且减少或消除针对该抗原的免疫反应的方式加工和呈递给免疫系统。

[0210] 在若干实施方案中,抗原可以是内源性的(例如自体抗原)或外源性的(例如外源抗原),包括但不限于:移植受者针对其发展不希望的免疫反应(例如移植排斥)的外源移植抗原,患者针对其发展不希望的免疫(例如变态或超敏)反应的外源食物、动物、植物或环境抗原,患者针对其发展不希望的免疫反应(例如超敏和/或降低的治疗活性)的治疗剂,患者针对其发展不希望的免疫反应(例如自身免疫疾病)的自体抗原,或它们的致耐受性部分(例如片段或表位);这些组合物可用于诱导对抗原的耐受。或者,半乳糖基化或其他肝靶向部分可以与抗体、抗体片段、或特异性结合循环蛋白或肽或抗体的配体缀合,该循环蛋白或肽或抗体成因地涉及移植排斥、针对治疗剂的免疫反应、自身免疫疾病、和/或变态反应(如上所讨论);这些组合物可用于清除循环蛋白、肽或抗体。因此,取决于实施方案,本公开的组合物可用于治疗不希望的免疫反应,例如移植排斥、针对治疗剂的免疫反应、自身免疫疾病和/或变态反应。还提供了含有治疗有效量的本公开的组合物或构建体的药物组合物。在一些实施方案中,构建体和/或组合物与至少一种药学上可接受的赋形剂混合。在另一方面,本公开提供了用于治疗不希望的免疫反应,如移植排斥、针对治疗剂的反应、自身免疫疾病或变态反应的方法。在一些实施方案中,提供了制造接头(包括具有与之共价结合的靶向剂的接头)和/或致耐受性分子的方法。

[0211] 如本文将更详细地讨论,在若干实施方案中,肝靶向有利于耐受性诱导的两种可能机制:耐受和清除。耐受利用肝脏在清除凋亡细胞和加工它们的蛋白质以被免疫系统识别为“自身”中的作用,以及肝脏在取样外周蛋白用于免疫耐受中的作用。清除利用了肝脏在通过快速移除和分解毒素、多肽等进行血液纯化中的作用。

[0212] 因此，取决于实施方案(例如抗原)，本公开的组合物(和相关方法)可用于治疗不希望的免疫反应，例如移植排斥、针对治疗剂的免疫反应、自身免疫疾病和/或变态反应。还提供了药物组合物，该药物组合物含有与至少一种药学上可接受的赋形剂混合的治疗有效量的本公开的组合物。在另一方面，本公开提供了用于治疗不希望的免疫反应，如移植排斥、针对治疗剂的反应、自身免疫疾病或变态反应的方法。

[0213] 除非另有定义，否则本文使用的所有技术术语和科学术语都具有与该主题所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。在本文的主题的描述中使用的术语仅用于描述特定实施方案的目的，而不旨在限制主题。

[0214] 如本文所用，术语“约”应当具有其作为近似指示的明显和普通含义。例如，当提及到可测量值如当前主题的化合物或试剂的量、剂量、时间、温度、功效、稳定性等时，意在涵盖指定量的±20％、±10％、±5％、±1％、±0.5％、或甚至±0.1％的变化。还包括所公开的范围内的任何值，包括列出的端值。

[0215] 如本文所用，“抗原”应具有其明显和普通含义，并且应当指充当先天性或适应性免疫反应的受体(如T细胞受体、主要组织相容性复合体I和II类、B细胞受体或抗体)的靶标的任何物质。在一些实施方案中，抗原可源自体内(例如“自体”、“自身”或“内源性”)。在额外的实施方案中，抗原可源自体外(“非自体”、“外源”或“外源性”)，例如通过吸入、摄取、注射、或移植、透皮等进入。在一些实施方案中，外源性抗原可在体内被生物化学修饰。外源抗原包括但不限于食物抗原、动物抗原、植物抗原、环境抗原、治疗剂，以及存在于同种异体移植物中的抗原。

[0216] 如本文所用，术语“保守改变”应当具有其明显和普通的含义，并且是指通常可对氨基酸序列作出的改变而不改变活性。这些改变称作“保守取代”或突变;即，属于具有特定尺寸或特征的氨基酸分组的氨基酸可以取代另一种氨基酸。氨基酸序列的替代物可以选自该氨基酸所属类别的其他成员。例如，非极性(疏水性)氨基酸包括丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、甲硫氨酸和酪氨酸。极性中性氨基酸包括甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺。带正电荷的(碱性)氨基酸包括精氨酸、赖氨酸和组氨酸。带负电荷的(酸性)氨基酸包括天冬氨酸和谷氨酸。预计这样的取代不会显著影响如由聚丙烯酰胺凝胶电泳或等电点所测定的表观分子量。保守取代还包括用序列的光学异构体取代其他光学异构体，具体地，对于序列的一个或多个残基，用D-氨基酸取代L-氨基酸。此外，序列中的所有氨基酸可发生D-至L-异构体的取代。示例性保守取代包括但不限于Lys取代Arg，反之亦然，以维持正电荷;Glu取代Asp，反之亦然，以维持负电荷;Ser取代Thr，使得维持游离-OH;并且Gln取代Asn，以维持游离-NH_2。另一种类型的保守取代构成了这样的情况，其中如果需要发生化学衍生化，引入具有期望的化学反应性的氨基酸，以赋予用于化学缀合反应的反应性位点。这样的氨基酸包括但不限于Cys(以插入巯基)、Lys(以插入伯胺)、Asp和Glu(以插入羧酸基团)、或含有酮、叠氮化物、炔、烯和四嗪侧链的特化非规范氨基酸。带有游离-NH_2或-SH的氨基酸的保守取代或添加对于与式1的接头和半乳糖基化部分的化学缀合可为特别有利的。此外，在一些情况下，可以进行多肽序列或相应核酸序列的点突变、缺失和插入，而不丧失多肽或核酸片段的功能。取代可包括例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50个或更多个残基(包括所列那些之间的任何取代数目)。可用于本发明的变体可以表现出氨基酸序列中多至200个(例如，多至1、2、3、4、5、6、7、

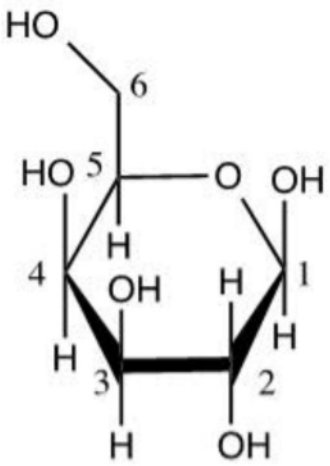
8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、或200个，包括所列那些之间的任何数目)变化(例如，交换、插入、缺失、N-末端截短和/或C-末端截短)的总数目。在若干实施方案中，变化的数目大于200个。另外，在若干实施方案中，变体包括表现出与参考(例如，未经修饰或天然序列)一定程度的功能等同性的多肽序列或相应的核酸序列。在若干实施方案中，变体表现出与未经修饰或天然参考序列约80％、约85％、约90％、约95％、约97％、约98％、约99％的功能等同性(以及所列那些之间的任何程度的功能等同性)。本文所述的氨基酸残基采用与标准多肽命名法一致的单字母氨基酸符号或三字母缩写(J.Biol.Chem.,(1969),243,3552-3559)。所有氨基酸残基序列在本文中用在氨基末端向羧基末端的常规方向上的左右取向的式表示。

[0217] 如本文所用，术语“有效量”或“治疗有效量”应当具有其明显和普通含义，并且应当指赋予患有障碍、疾病或疾患的受试者调节效应(其例如可为有益效应)的所列举化合物的量，包括改善受试者的病症(例如，一种或多种症状)、延迟或减小病症的进展、预防或延迟障碍的发作、和/或改变临床参数、疾病或疾患等，如本领域所公知。例如，有效量可以指使受试者中的病症改善至少5％，例如至少10％、至少15％、至少20％、至少25％、至少30％、至少35％、至少40％、至少45％、至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、或至少100％的组合物、化合物、或试剂的量。在一些实施方案中，该量将取决于所治疗的受试者和疾病病症、受试者的体重和年龄、疾病病症的严重程度、所选择的本公开的具体组合物、所遵循的给药方案、施用时间、施用方式等而变化，所有这些可以容易地由本领域的普通技术人员确定。

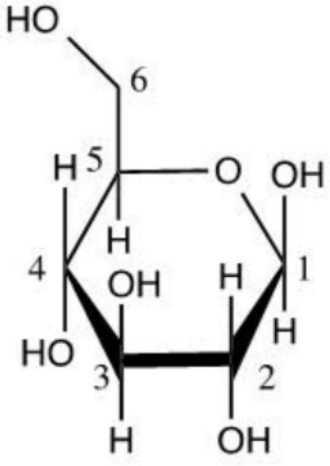
[0218] 如本文所用，术语“表位”(也称为抗原决定簇)应当具有其明显和普通含义，并且应当指大分子(例如蛋白质)的链段，其由免疫系统，如由抗体、B细胞、主要组织相容性复合体分子、或T细胞识别。表位可以由例如抗体或B细胞识别，并且可以包括能够结合抗体或其抗原结合片段的大分子的一部分或链段。在该语境中，术语“结合”特别地涉及特异性结合。在本发明的若干实施方案的语境中，优选的是术语“表位”是指被免疫系统识别的蛋白质或多蛋白的链段。在若干实施方案中，本文所公开的构建体中使用的“抗原”可以包含一个或多个表位。在其中包括多于一个表位的一些实施方案中，额外的表位可以来自相同或不同的抗原。

[0219] 如本文所用，术语半乳糖是指以开链形式和环状形式两者存在的具有D-和L-异构体的单糖。在一些实施方案中，使用一种或多种环状形式，即α和/或β异头物。在α型中，C1醇基处于轴向位置，而在β型中，C1醇基处于平伏位置。特别地，“半乳糖”是指环状六元吡喃糖，更特别是D-异构体，甚至更特别是β-D-型(β-D-吡喃半乳糖)，其正式名称是(2R,3R,4S,5R,6R)-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2,3,4,5-四醇。葡萄糖是半乳糖的差向异构体；正式名称是(2R,3R,4S,5S,6R)-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2,3,4,5-四醇。显示了半乳糖和葡萄糖的结构和编号，给出立体化学例示的两个非限制性实例。如本文所用，术语“葡萄糖”是指以开链形式和环状形式两者存在的具有D-和L-异构体的单糖。在一些实施方案中，使用一种或多种环状形式，即α和/或β异头物。在α型中，C1醇基处于轴向位置，而在β型中，C1醇基处于平伏位置。显示了半乳糖和葡萄糖的结构和编号，给出立体化学例示的两个非限制性实例。

[0220]

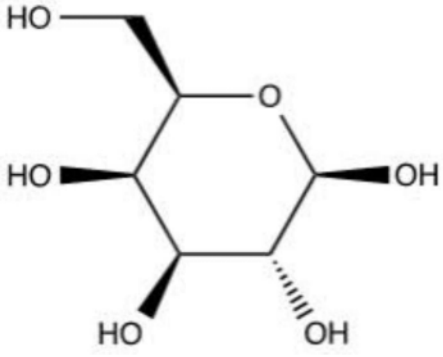


β-D-半乳糖

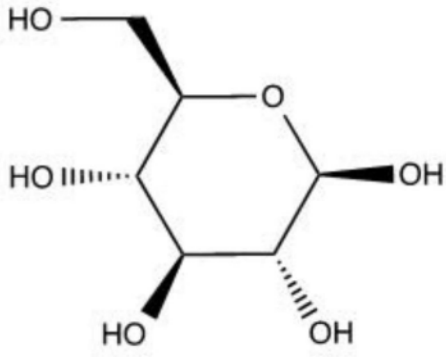


β-D-葡萄糖

[0221]



β-D-半乳糖



β-D-葡萄糖

[0222] 如本文所用，术语“半乳糖基化部分”是指特定类型的肝靶向部分。半乳糖基化部分包括但不限于半乳糖、半乳糖胺和/或N-乙酰半乳糖胺残基。“葡糖基化部分”是指另一种特定类型的肝靶向部分，并且包括但不限于葡萄糖、葡糖胺和/或N-乙酰葡糖胺。在一些实施方案中，半乳糖基化或葡糖基化部分的可用羟基中的任一者(例如，键合至碳1、2、3、4、5或6中任一者的OH)可用作用于官能化至接头的连接点。

[0223] 如本文所用，术语“肝靶向部分”是指具有将试剂(例如，免疫耐受诱导构建体、多肽等)引导至肝脏的能力的部分。肝脏包含不同的细胞类型，包括但不限于肝细胞、窦状上皮细胞、库普弗细胞、星状细胞和/或树突状细胞。通常，肝靶向部分将多肽引导至这些细胞中的一种或多种。在相应肝脏细胞的表面上，存在着识别并特异性结合肝靶向部分的受体。肝靶向可以通过如下方式实现：抗原或配体与半乳糖基化或葡糖基化部分化学缀合，抗原或配体去唾液酸化以暴露出潜在的半乳糖基或葡糖基部分，或者内源性抗体与抗原或配体特异性结合，在该情况下与半乳糖基化或葡糖基化部分缀合的抗原或配体：去唾液酸化以暴露出潜在半乳糖基或葡糖基部分。天然存在的去唾液酸化蛋白不涵盖在本公开的某些实施方案的范围内。

[0224] 为各种取代基提供的“数值”和“范围”旨在涵盖所列举范围内的所有整数。例如，当将n定义为表示包括约1至100，特别是约8至90并更特别地约40至80个乙二醇基团的混合物的整数时，其中该混合物典型地涵盖指定为n±约10％的整数(或对于1至约25的较小整

数，±3)，应当理解n可为约1至100的整数(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、22、25、30、34、35、37、40、41、45、50、54、55、59、60、65、70、75、80、82、83、85、88、90、95、99、100、105或110、或所列出那些之间的任一者，包括范围的端值)，并且所公开的混合物涵盖如1-4、2-4、2-6、3-8、7-13、6-14、18-23、26-30、42-50、46-57、60-78、85-90、90-110和107-113个乙二醇基团的范围。组合术语“约”和“±10％”或“±3”应理解为无论在何处使用都公开和提供等同范围的特定支持。

[0225] 如本文所用，术语“任选的”或“任选地”意指随后描述的事件或情况可以或不可发生，并且该描述包括所述事件或情况发生的情况以及不发生的情况。

[0226] 特异性结合特定靶标的肽称为该靶标的“配体”。

[0227] 如本文所用，“多肽”是指氨基酸残基链的术语，而不管翻译后修饰(例如磷酸化或糖基化)和/或与额外多肽的复合，和/或与核酸和/或碳水化合物或其他分子合成为多亚基复合物。蛋白聚糖也在本文也称为多肽。长多肽(具有超过约50个氨基酸)称为“蛋白质”。短多肽(具有少于约50个氨基酸)称为“肽”。取决于尺寸、氨基酸组成和三维结构，某些多肽可称为“抗原结合分子”、“抗体”、“抗体片段”或“配体”。多肽可以通过许多方法产生，其中许多是本领域公知的。例如，可以通过提取(例如，从分离的细胞)，通过表达编码多肽的重组核酸，或者通过化学合成获得多肽。多肽可以通过例如重组技术产生，并且将编码多肽的表达载体引入宿主细胞(例如，通过转化或转染)以表达编码的多肽。

[0228] 如本文所用，提及到多肽的术语“纯化的”是指已经化学合成并因此基本上不被其他多肽污染，或者已经从其天然伴有的大多数其他细胞组分(例如，其他细胞蛋白质、多核苷酸、或细胞组分)中分开或分离的多肽。纯化多肽的实例是按干重计至少70％不含有其所天然缔合的蛋白质和天然存在的有机分子的多肽。制备的纯化多肽因此可为例如按干重计至少70％、至少75％、至少80％、至少90％、或至少99％的多肽。多肽还可被工程化成含有利于纯化或标记(例如，捕获到亲和基质上，在显微镜下可视化)的标签序列(例如，多组氨酸标签、myc标签、FLAG®标签、或其他亲和标签)。因此，除非另外指明，包含多肽的纯化组合物是指纯化多肽。术语“分离的”指示本公开的多肽或核酸不处于其天然环境中。因此，本公开的分离产物可包含在培养上清液中，部分富集，由异源性来源产生，克隆在载体中或者与媒介物一起配制等。

[0229] 术语“共聚物”是指两种或更多种单体的聚合。共聚物可为无规共聚物、梯度共聚物、嵌段共聚物、或前述的混合物。

[0230] 术语“无规共聚物”是指两种或更多种单体在混合物中同时聚合的产物。在一些实施方案中，“无规共聚物”是统计学上无规的共聚物，其中在聚合物链中的任何给定位点处发现给定单体单元的概率与该位置处相邻单元的性质无关(伯努利分布(Bernoullian distribution))。在一些实施方案中，“无规共聚物”不是统计学上无规的。例如，在不同单体具有不同反应性的情况下，沿聚合物链的单体分布可能不是统计学上无规的，而是可具有一些梯度或嵌段特征。当标识为Y'的变量基团表示无规共聚物时，链可包含2个多至约400个(或更多个，如本文别处所公开)W^1和W^2基团的任何顺序，如：-W^1-W^2-W^1-W^2-；-W^2-W^1-W^2-W^1-；-W^1-W^1-W^1-W^2-；-W^1-W^1-W^2-W^2-；-W^1-W^2-W^2-W^1-；-W^1-W^2-W^1-W^2-W^2-W^1-W^2-W^1-；-W^1-W^1-W^2-W^2-W^1-W^2-W^2-W^1-；和W^2-W^2-W^1-W^2-W^1-W^1-W^1-W^2-W^2-W^1-W^2-W^2-W^1；无限地，其中Z与各种W^1基团连接，并且W^1和W^2基团本身可以相同或不同。当标识为Y'的变量基团表示无规共聚物时，链可包含

2个多至约400个(或更多个,如本文别处所公开)W^3和W^4基团的任何顺序,如:-W^1-W^4-W^3-W^4-;-W^4-W^3-W^4-W^3-;-W^3-W^3-W^3-W^4-;-W^3-W^3-W^4-W^4-;-W^3-W^4-W^4-W^3-;-W^3-W^4-W^3-W^4-W^4-W^3-W^4-W^3-;-W^3-W^3-W^4-W^4-W^3-W^4-W^4-W^3-;和W^4-W^4-W^3-W^4-W^3-W^3-W^3-W^4-W^4-W^3-W^4-W^4-W^3;无限地,其中Z与各种W^3基团连接,并且W^3和W^4基团本身可以相同或不同。

[0231] 关于多肽(或核酸)序列比较,使用术语"序列同一性"。该表达特别是指与相应参考多肽或相应参考多核苷酸的序列同一性百分比,例如至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%。特别地,所考虑的多肽和参考多肽在一段连续的20、30、40、45、50、60、70、80、90、100个或更多个氨基酸上或在参考多肽的全长上表现出所指示的序列同一性。此外,当序列被公开为"包含"核苷酸或氨基酸序列时,除非另外指明,这样的提及也应包括该序列"包含"所列举序列、"由所列举序列组成"或"基本上由所列举序列组成"。

[0232] "特异性结合",如该术语在生物领域中常用,是指与非靶标组织相比以相对高的亲和力结合靶标的分子,并且通常涉及多种非共价相互作用,如静电相互作用、范德瓦耳斯相互作用、氢键等。特异性结合相互作用表征抗体-抗原结合、酶-底物结合和某些蛋白质-受体相互作用;虽然这样的分子有时可能结合除了它们的特异性靶标之外的组织,但达到的程度是这样的非靶结合无关紧要,高亲和力结合对仍可落入特异性结合的定义内。

[0233] 如本文所用,"药学上可接受的载体"或"药学上可接受的赋形剂"包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。这样的介质和试剂用于药物活性物质的用途在本领域中是公知的。除非任何常规介质或试剂与活性成分不相容,否则考虑其在治疗性组合物中的用途。补充活性成分也可以引入组合物中。

[0234] 术语"药学上可接受的盐"是指化合物的盐,其不引起对其所施用的生物体的显著刺激并且不消除化合物的生物活性和特性。在一些实施方案中,盐为化合物的酸加成盐。药用盐可通过使化合物与无机酸如氢卤酸(例如,盐酸或氢溴酸)、硫酸、硝酸和磷酸(如2,3-二羟基丙基二氢磷酸盐)反应而获得。药用盐也可以通过使化合物与有机酸如脂族或芳族羧酸或磺酸反应而获得,例如甲酸、乙酸、琥珀酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、烟碱酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、三氟乙酸、苯甲酸、水杨酸、2-氧代戊二酸或萘磺酸。药用盐也可以通过使化合物与碱反应形成盐如铵盐、碱金属盐如钠盐、钾盐或锂盐、碱土金属盐如钙盐或镁盐、碳酸盐、碳酸氢盐、有机碱如二环己胺、N-甲基-D-葡糖胺、三(羟甲基)甲胺、C_1-C_7烷基胺、环己胺、三乙醇胺、乙二胺的盐,以及与氨基酸如精氨酸和赖氨酸的盐而获得。对于例如式(I)的化合物,本领域的技术人员应理解,当通过使基于氮的基团(例如NH_2)质子化形成盐时,基于氮的基团可以与正电荷缔合(例如,-NH_2可变为-NH_3^+),并且正电荷可以通过带负电荷的抗衡离子(如Cl^-)平衡。本领域的普通技术人员理解,本文所公开的化合物可提供有一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0235] 术语"生理上可接受的"或"药学上可接受的"定义载体、稀释剂或赋形剂,其既不消除化合物的生物活性和特性,也不对组合物旨在递送的动物引起明显的损害或损伤。

[0236] 如本文所用,"载体"是指有利于化合物引入细胞或组织中的化合物。例如但不限于,二甲基亚砜(DMSO)是有利于许多有机化合物摄取到受试者的细胞或组织中的常用载体。

[0237] 如本文所用，“稀释剂”是指药物组合物中缺乏明显药理活性但可能在药学上期望的成分。例如，稀释剂可用于增加其质量太小以致于无法制造和/或施用的有效化合物的体积。其可以是用于溶解待通过注射、摄取或吸入施用的化合物的液体。本领域中稀释剂的常见形式是缓冲水溶液，如但不限于模拟人血液的pH和等渗性的磷酸盐缓冲盐水。其他缓冲剂可用作稀释剂。

[0238] 如本文所用，“赋形剂”是指添加到药物组合物中以为组合物提供(但不限于)体积、稠度、稳定性、结合能力、润滑、崩解能力等的基本上惰性的物质。例如，稳定剂如抗氧化剂和金属螯合剂是赋形剂。在若干实施方案中，药物组合物包含抗氧化剂和/或金属螯合剂。“稀释剂”是赋形剂的一种类型。

[0239] 如本文所用，术语“患者”或“受试者”包括人类患者，但应当理解，本发明所公开的主题的原理对于旨在包括在术语“受试者”和“患者”中的所有脊椎动物物种(包括哺乳动物)是有效的。合适的受试者通常为哺乳动物受试者。本文所述的主题可用于研究以及兽医和医学应用。如本文所用，术语“哺乳动物”包括但不限于人类、非人灵长类、牛、绵羊、山羊、猪、马、猫、狗、兔、啮齿动物(例如大鼠或小鼠)、猴等。人类受试者包括新生儿、婴儿、青少年、成人和老年受试者。

[0240] 如本文所用，术语“治疗(treat)”或“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”应具有其明显和普通的含义，并且是指赋予患有障碍、疾病或疾患的受试者调节效应(其例如可为有益效应)的任何类型的作用，包括改善受试者的病症(例如，一种或多种症状)、延迟或减小病症的进展、和/或改变临床参数、疾病或疾患、治愈疾患等。在一些实施方案中，治疗可包括预防或免受疾病或障碍中的一种或多种，即，使临床症状不发展；抑制疾病或障碍，即，阻止或抑制临床症状的发展；和/或缓解疾病或障碍，即引起临床症状的消退。在某些实施方案中，受试者的治疗实现以下效应中的一种、两种、三种、四种或更多种，包括例如：(i)降低或改善疾病状态或与之相关联的症状的严重程度；(ii)减少与疾病或免疫反应相关联的症状的持续时间；(iii)免受疾病或与之相关联的症状的进展；(iv)疾病或与之相关联的症状的消退；(v)免受与疾病相关联的症状的发展或发作；(vi)免受与疾病相关联的症状的复发；(vii)减少受试者住院；(viii)住院时间的缩短；(ix)患有疾病的受试者的存活增加；(x)与疾病相关联的症状的数目减少；(xi)另一种疗法的一个或多个预防或治疗效果的增强、改善、补充、互补、或强化。施用可以通过多种途径，包括但不限于静脉内、动脉内、皮下、肌内、肝内、腹膜内和/或局部递送至受影响的组织。

[0241] 如本文所用，术语“可操作地连接”应给出其普通含义。在一些实施方案中，作为例示，在两个基团可操作地连接的情况下，基团被连接成使得提供一个或多个连接的基团而其天然反应性或活性没有显著损失。在一些实施方案中，本文所公开的抗原可操作地连接至连接剂和靶向剂。

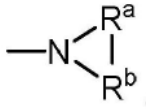
[0242] 如本文所用，术语“不希望的免疫反应”是指受试者的免疫系统的反应，其在给定情况下是不期望的。如果免疫系统的反应未导致疾病或障碍的预防、减少、或治愈，而是引起、增强或恶化，或以其他方式与障碍或病症的诱导或恶化相关联，则这样的反应是不希望的。通常，如果免疫系统的反应针对不适当的靶标，则其引起、增强或恶化疾病。例如，不希望的免疫反应包括但不限于移植排斥、针对治疗剂的免疫反应、自身免疫疾病，以及变态反应或超敏反应。

[0243] 术语“变体”应理解为这样的蛋白质(或核酸):与衍生它的蛋白质(或核酸链)相比差异在于其长度、序列、或结构上的一个或多个变化。衍生蛋白质变体的多肽也称为亲本多肽或多核苷酸。术语“变体”包含亲本分子的“片段”或“衍生物”。通常,“片段”在长度或尺寸上小于亲本分子,而“衍生物”在其序列或结构上与亲本分子相比表现出一个或多个差异。还涵盖了修饰分子,如但不限于翻译后修饰的蛋白质(例如,糖基化、磷酰化、泛素化、棕榈酰化、或蛋白水解裂解的蛋白质)和修饰核酸,如甲基化DNA。术语“变体”也涵盖不同分子的混合物,如但不限于RNA-DNA杂交体。天然存在和人工构建的变体应理解为由如本文所用的术语“变体”涵盖。此外,可用于本发明的变体还可以衍生自亲本分子的同源物、直向同源物、或旁系同源物或者人工构建的变体,条件是该变体表现出亲本分子的至少一种生物活性(例如,是功能活性的)。变体的特征可在于与衍生它的亲本多肽具有特定程度的序列同一性。更确切地,在本公开的上下文中的蛋白质变体可以表现出与其亲本多肽至少80%的序列同一性。优选地,蛋白质变体的序列同一性是在一段连续的20、30、40、45、50、60、70、80、90、100个或更多个氨基酸上。如上所讨论,在若干实施方案中,变体表现出与未经修饰或天然参考序列约80%、约85%、约90%、约95%、约97%、约98%、约99%的功能等同性(以及所列那些之间的任何程度的功能等同性)。

[0244] 每当基团被描述为“任选取代的”时,该基团可以是未取代的或者被一个或多个所指示的取代基取代。同样,当基团被描述为“未取代或取代的”(或“取代或未取代的”)时,如果是取代的,则一个或多个取代基可以选自所指示取代基中的一种或多种。如果未指示取代基,则意味着所指示的“任选取代的”或“取代的”基团可以被一个或多个单独且独立地选自以下的基团取代:烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、芳基(烷基)、环烷基(烷基)、杂芳基(烷基)、杂环基(烷基)、羟基、烷氧基、酰基、氰基、卤素、硫代羰基、O-氨甲酰基、N-氨甲酰基、C-酰胺基、N-酰胺基、S-磺酰胺基、N-磺酰胺基、C-羧基、O-羧基、硝基、亚氧硫基、亚磺酰基、磺酰基、琥珀酰亚胺酯、异吲哚啉-1,3-二酮、卤代烷基、卤代烷氧基、氨基、单取代的胺基、二取代的胺基、单取代的胺(烷基)、二取代的胺(烷基)、二氨基、二醚-、聚氨基-和聚醚-。

[0245] 如本文所用,“a”和“b”为整数的“C_{a-b}”是指基团中的碳原子数。所指示基团可含有“a”至“b”(包括端值在内)个碳原子。因此,例如,“C_{1-4}烷基”是指具有1至4个碳的所有烷基,即CH_3-、CH_3CH_2-、$CH_3CH_2CH_2$-、$(CH_3)_2CH$-、$CH_3CH_2CH_2CH_2$-、$CH_3CH_2CH(CH_3)$-和$(CH_3)_3C$-。如果没有指定“a”和“b”,则呈现这些定义中描述的最宽范围。为避免疑问,其中“C_{a-b}”是指具有杂原子的结构,杂原子可在“a”与“b”之间提供。例如,C_{1-4}杂烷基是指具有1至4个碳的所有杂烷基,即CH_3O-、CH_3CH_2O-、CH_3OCH_2-、$CH_3OCH_2CH_2$-、$CH_3OCH_2CH_2CH_2$-等。同样,在“C_{a-b}”是指结构烯基或炔基的情况下,一个或多个双键或者一个或多个三键可以介于“a”至“b”碳中任一者之间。

[0246] 如果两个“R”基团被描述为“一起”,则R基团和它们所连接的原子可形成环烷基、环烯基、芳基、杂芳基或杂环。例如但不限于,如果NR^aR^bN基团的R^a和R^b被指示为“一起”,则意指它们彼此共价键合以形成环:

[0247]  。

[0248] 术语“氨基”和“胺”是指含氮基团，如NR_3、NH_3、NHR_2和NH_2R，其中R可如本文别处所述。因此，如本文所用，“氨基”可指伯胺、仲胺、或叔胺。

[0249] 如本文所用，术语“烷基”是指完全饱和的脂族烃基团。烷基部分可以是支链或直链的。支链烷基的实例包括但不限于异丙基、仲丁基、叔丁基等。直链烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、正庚基等。烷基可具有1至30个碳原子(每当其在本文中出现时，数值范围如“1至30”是指给定范围内的每个整数；例如，“1至30个碳原子”意指烷基可由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10等多至并包括30个碳原子组成，但本定义还涵盖其中未指定数值范围的术语“烷基”的出现)。烷基也可为具有1至12个碳原子的中等尺寸的烷基。烷基也可为具有1至6个碳原子的低级烷基。烷基可为取代或未取代的。仅以举例的方式，“C_1-C_5烷基”指示烷基链中存在一至五个碳原子，即烷基链选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、戊基(支链和直链)等。典型的烷基包括但绝不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基和己基。

[0250] 如本文所用，术语“亚烷基”是指二价完全饱和直链脂族烃基团。亚烷基的实例包括但不限于亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚丁基、亚戊基、亚己基、亚庚基和亚辛基。亚烷基可由 表示，继之以碳原子数，继之以“*”。例如， 表示亚乙基。亚烷基可具有1至30个碳原子(每当其在本文中出现时，数值范围如“1至30”是指给定范围内的每个整数；例如，“1至30个碳原子”意指烷基可由1个碳原子、2个碳原子、3个碳原子等多至并包括30个碳原子组成，但本定义还涵盖其中未指定数值范围的术语“亚烷基”的出现)。亚烷基也可为具有1至12个碳原子的中等尺寸的烷基。亚烷基也可为具有1至4个碳原子的低级烷基。亚烷基可为取代或未取代的。例如，低级亚烷基可以通过替代低级亚烷基的一个或多个氢并且/或者通过用C_{3-6}单环环烷基(例如)取代同一碳上的两个氢来取代。

[0251] 本文所用的术语“烯基”是指含有一个或多个碳双键的两至二十个碳原子的单价直链或支链基团，包括但不限于1-丙烯基、2-丙烯基、2-甲基-1-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基等。烯基可为未取代或取代的。

[0252] 本文所用的术语“炔基”是指含有一个或多个碳三键的两至二十个碳原子的单价直链或支链基团，包括但不限于1-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基等。炔基可为未取代或取代的。

[0253] 如本文所用，“环烷基”是指完全饱和(无双键或三键)的单环或多环(例如双环)烃环系。当由两个或更多个环构成时，环可以以稠合、桥联或螺接方式接合在一起。如本文所用，术语“稠合”是指具有两个原子和一个共用键的两个环。如本文所用，术语“桥联环烷基”是指其中环烷基含有连接非相邻原子的一个或多个原子的键的化合物。如本文所用，术语“螺接”是指具有一个共用原子且两个环不经由桥连接的两个环。环烷基可以在一个多个环中含有3至30个原子，在一个多个环中含有3至20个原子，在一个多个环中含有3至10个原子，在一个多个环中含有3至8个原子，或在一个多个环中含有3至6个原子。环烷基可为未取代或取代的。单环烷基的实例包括但绝不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。稠合环烷基的实例是十氢萘基、十二氢-1H-非那烯基和十四氢蒽基；桥联环烷基的实例是双环[1.1.1]戊基、金刚烷基和降冰片烷基；并且螺环烷基的实例包括螺[3.3]庚烷和

螺[4.5]癸烷。

[0254] 如本文所用，“环烯基”是指在至少一个环中含有一个或多个双键的单环或多环(如双环)烃环系；但如果存在多于一个，则双键不可形成遍及所有环的完全离域π电子体系(否则该基团将是如本文所定义的“芳基”)。环烯基可以在一个多个环中含有3至10个原子，在一个多个环中含有3至8个原子，或在一个多个环中含有3至6个原子。当由两个或更多个环构成时，环可以以稠合、桥联或螺接方式连接在一起。环烯基可为未取代或取代的。

[0255] 如本文所用，“芳基”是指具有遍及所有环的完全离域π电子体系的碳环(所有碳)单环或多环(如双环)芳族环系(包括其中两个碳环共享化学键的稠合环系)。芳基中的碳原子数可以变化。例如，芳基可为C_6-C_{14}芳基、C_6-C_{10}芳基或C_6芳基。芳基的实例包括但不限于苯、萘和蒽。芳基可为取代或未取代的。

[0256] 如本文所用，“杂芳基”是指含有一个或多个杂原子(例如，1、2或3个杂原子)(即，除碳以外的元素，包括但不限于氮、氧和硫)的单环或多环(如双环)芳族环系(具有完全离域π电子体系的环系)。杂芳基的一个或多个环中的原子数可以变化。例如，杂芳基可在一个或多个环中含有4至14个原子，在一个或多个环中含有5至10原子，或在一个或多个环中5至6原子，如九个碳原子和一个杂原子；八个碳原子和两个杂原子；七个碳原子和三个杂原子；八个碳原子和一个杂原子；七个碳原子和两个杂原子；六个碳原子和三个杂原子；五个碳原子和四个杂原子；五个碳原子和一个杂原子；四个碳原子和两个杂原子；三个碳原子和三个杂原子；四个碳原子和一个杂原子；三个碳原子和两个杂原子；或两个碳原子和三个杂原子。此外，术语“杂芳基”包括其中两个环(如至少一个芳基环和至少一个杂芳基环或至少两个杂芳基环)共享至少一个化学键的稠合环系。杂芳基环的实例包括但不限于呋喃、呋咱、噻吩、苯并噻吩、酞嗪、吡咯、噁唑、苯并噁唑、1,2,3-噁二唑、1,2,4-噁二唑、噻唑、1,2,3-噻二唑、1,2,4-噻二唑、苯并噻唑、咪唑、苯并咪唑、吲哚、吲唑、吡唑、苯并吡唑、异噁唑、苯并异噁唑、异噻唑、三唑、苯并三唑、噻二唑、四唑、吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、嘌呤、蝶啶、喹啉、异喹啉、喹唑啉、喹喔啉、噌啉和三嗪。杂芳基可为取代或未取代的。

[0257] 如本文所用，“杂环基”或“杂脂环基”是指三-、四-、五-、六-、七-、八-、九-、十-、多至18-元单环、双环和三环环系，其中碳原子与1至5个杂原子一起构成所述环系。杂环可以任选地含有一个或多个不饱和键，然而，其定位的方式使得完全离域π电子体系不会在遍及所有环中出现。一个或多个杂原子是除碳以外的元素，包括但不限于氧、硫和氮。杂环还可含有一个或多个羰基或硫代羰基官能团，使得定义包括氧代体系和硫代体系，如内酰胺、内酯、环状酰亚胺、环状硫代酰亚胺和环状氨基甲酸酯。当由两个或更多个环构成时，环可以以稠合、桥联或螺接方式接合在一起。如本文所用，术语“稠合”是指具有两个原子和一个共用键的两个环。如本文所用，术语“桥联杂环基”或“桥联杂脂环基”是指其中杂环基或杂脂环基含有连接非相邻原子的一个或多个原子的键的化合物。如本文所用，术语“螺接”是指具有一个共用原子且两个环不经由桥连接的两个环。杂环基和杂脂环基可以在一个多个环中含有3至30个原子，在一个多个环中含有3至20个原子，在一个多个环中含有3至10个原子，在一个多个环中含有3至8个原子，或在一个多个环中含有3至6个原子。例如，五个碳原子和一个杂原子；四个碳原子和两个杂原子；三个碳原子和三个杂原子；四个碳原子和一个杂原子；三个碳原子和两个杂原子；两个碳原子和三个杂原子；一个碳原子和四个杂原子；三个碳原子和一个杂原子；或两个碳原子和一个杂原子。另外，杂脂环族中的任何氮可被季

铵化。杂环基或杂脂环基团可以是未取代或取代的。这样的“杂环基”或“杂脂环基”的实例包括但不限于1,3-二噁英、1,3-二噁烷、1,4-二噁烷、1,2-二氧戊环、1,3-二氧戊环、1,4-二氧戊环、1,3-氧硫杂环己烷、1,4-氧硫杂环己二烯、1,3-氧硫杂环戊烷、1,3-二硫杂环戊二烯、1,3-二噻茂烷、1,4-氧硫杂环己烷、四氢-1,4-噻嗪、2H-1,2-噁嗪、马来酰亚胺、琥珀酰亚胺、巴比妥酸、硫代巴比妥酸、二氧代哌嗪、乙内酰脲、二氢尿嘧啶、三噁烷、六氢-1,3,5-三嗪、咪唑啉、咪唑烷、异噁唑啉、异噁唑烷、噁唑啉、噁唑烷、噁唑烷酮、噻唑啉、噻唑烷、吗啉、环氧乙烷、哌啶N-氧化物、哌啶、哌嗪、吡咯烷、氮杂环庚烷、吡咯烷酮(pyrrolidone)、吡咯烷酮(pyrrolidione)、4-哌啶酮、吡唑啉、吡唑烷、2-氧代吡咯烷、四氢吡喃、4H-吡喃、四氢噻喃、硫吗啉、硫吗啉亚砜、硫吗啉砜、以及它们的苯并稠合类似物(例如,苯并咪唑啉酮、四氢喹啉和/或3,4-亚甲二氧基苯基)。螺杂环基的实例包括2-氮杂螺[3.3]庚烷、2-氧杂螺[3.3]庚烷、2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷、2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷、2-氧杂螺[3.4]辛烷和2-氮杂螺[3.4]辛烷。

[0258] 如本文所用,“芳烷基”和“芳基(烷基)”是指经由低级亚烷基作为取代基连接的芳基。芳烷基的低级亚烷基和芳基可为取代或未取代的。实例包括但不限于苄基、2-苯基烷基、3-苯基烷基和萘基烷基。

[0259] 如本文所用,“杂芳烷基”和“杂芳基(烷基)”是指经由低级亚烷基作为取代基连接的杂芳基。杂芳烷基的低级亚烷基和杂芳基可为取代或未取代的。实例包括但不限于2-噻吩基烷基、3-噻吩基烷基、呋喃基烷基、噻吩基烷基、吡咯基烷基、吡啶基烷基、异噁唑基烷基和咪唑基烷基以及它们的苯并稠合类似物。

[0260] “杂脂环基(烷基)”和“杂环基(烷基)”是指经由低级亚烷基作为取代基连接的杂环基或杂脂环基。(杂脂环基)烷基的低级亚烷基和杂环基可为取代或未取代的。实例包括但不限于四氢-2H-吡喃-4-基(甲基)、哌啶-4-基(乙基)、哌啶-4-基(丙基)、四氢-2H-噻喃-4-基(甲基)和1,3-噻嗪-4-基(甲基)。

[0261] 如本文所用,术语“羟基”是指-OH基团。

[0262] 如本文所用,“烷氧基”是指式-OR,其中R为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基),如本文中定义。烷氧基的非限制性列表为甲氧基、乙氧基、正丙氧基、1-甲基乙氧基(异丙氧基)、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、苯氧基和苯甲酰氧基。烷氧基可为取代或未取代的。

[0263] 如本文所用,“酰基”是指经由羰基作为取代基连接的氢、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、杂环基、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)和杂环基(烷基)。实例包括甲酰基、乙酰基、丙酰基、苯甲酰基和丙烯酰基。酰基可为取代或未取代的。

[0264] “氰基”是指“-CN”基团。

[0265] 如本文所用,术语“卤素原子”或“卤素”是指元素周期表第7列的辐射稳定原子中的任一种,如氟、氯、溴和碘。

[0266] “硫代羰基”是指“-C(S)R”基团,其中R可以与关于O-羧基所定义的相同。硫代羰基可为取代或未取代的。

[0267] “O-氨甲酰基”是指“-OC(O)N(R_AR_B)”基团,其中R_A和R_B可独立地为氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)。O-氨甲酰基可为取代或未取代的。如此处所定义的R_A和R_B(或本文别处针对

替代结构)可如本文别处所示“一起”。

[0268] “N-氨甲酰基”是指“ROC(O)N(R_A)-”基团,其中R和R_A可独立地为氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)。N-氨甲酰基可为取代或未取代的。

[0269] “C-酰胺基”是指“-C(O)N(R_AR_B)”基团,其中R_A和R_B可独立地为氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)。C-酰胺基可为取代或未取代的。

[0270] “N-酰胺基”是指“RC(O)N(R_A)-”基团,其中R和R_A可独立地为氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)。N-酰胺基可为取代或未取代的。

[0271] “S-磺酰胺基”是指“-SO_2N(R_AR_B)”基团,其中R_A和R_B可独立地为氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)。S-磺酰胺基可为取代或未取代的。

[0272] “N-磺酰胺基”是指“RSO_2N(R_A)-”基团,其中R和R_A可独立地为氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)。N-磺酰胺基可为取代或未取代的。

[0273] “O-羧基”是指“RC(O)O-”基团,其中R可为氢、烷基(例如C_{a-b}烷基)、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基),如本文所定义。O-羧基可为取代或未取代的。

[0274] 术语“酯”和“C-羧基”是指“-C(O)OR”基团,其中R可以与关于O-羧基所定义的相同。酯和C-羧基可为取代或未取代的。

[0275] “硝基”是指“-NO_2”基团。

[0276] “亚氧硫基”是指“-SR”基团,其中R可为氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)。亚氧硫基可为取代或未取代的。

[0277] “亚磺酰基”是指“-S(O)-R”基团,其中R可以与关于亚氧硫基所定义的相同。亚磺酰基可为取代或未取代的。

[0278] “磺酰基”是指“SO_2R”基团,其中R可以与关于亚氧硫基所定义的相同。磺酰基可为取代或未取代的。

[0279] 如本文所用,“卤代烷基”是指其中一个或多个氢原子被卤素替代的烷基(例如,单卤代烷基、二卤代烷基、三卤代烷基和多卤代烷基)。这样的基团包括但不限于氯甲基、氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、1-氯-2-氟甲基、2-氟异丁基和五氟乙基。卤代烷基可为取代或未取代的。

[0280] 如本文所用,“卤代烷氧基”是指其中一个或多个氢原子被卤素替代的烷氧基(例如,单卤代烷氧基、二卤代烷氧基和三卤代烷氧基)。这样的基团包括但不限于氯甲氧基、氟甲氧基、二氟甲氧基、三氟甲氧基、1-氯-2-氟甲氧基和2-氟异丁氧基。卤代烷氧基可为取代或未取代的。

[0281] “单取代的胺”基团是指“-NHR_A”基团,其中R_A可为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基),如本

文所定义。R_A可为取代或未取代的。“单取代的胺”可显示为“$-NR_AR_B$”，其中R_A或R_B之一为-H(正如在胺中，R_A和R_B均为-H)。单取代的胺基可包括例如单-烷基胺基、单-C_1-C_6烷基胺基、单-芳基胺基、单-C_6-C_{10}芳基胺基等。单取代的胺基的实例包括但不限于-NH(甲基)、-NH(苯基)等。

[0282] “二取代的胺”基团是指“$-NR_AR_B$”基团，其中R_A和R_B可独立地为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)，如本文所定义。R_A和R_B可独立地为取代或未取代的。二取代的胺基可包括例如二-烷基胺基、二-C_1-C_6烷基胺基、二-芳基胺基、二-C_6-C_{10}芳基胺基等。二取代的胺基的实例包括但不限于-N(甲基)$_2$、-N(苯基)(甲基)、-N(乙基)(甲基)等。

[0283] 如本文所用，“单取代的胺(烷基)”基团是指经由低级亚烷基作为取代基连接的如本文所提供的单取代的胺。单取代的胺(烷基)可为取代或未取代的。单取代的胺(烷基)基团可包括例如单-烷基胺(烷基)基团、单-C_1-C_6烷基胺(C_1-C_6烷基)基团、单-芳基胺(烷基)、单-C_6-C_{10}芳基胺(C_1-C_6烷基)基团等。单取代的胺(烷基)基团的实例包括但不限于-CH_2NH(甲基)、-CH_2NH(苯基)、-CH_2CH_2NH(甲基)、-CH_2CH_2NH(苯基)等。

[0284] 如本文所用，“二取代的胺(烷基)”基团是指经由低级亚烷基作为取代基连接的如本文所提供的二取代的胺。二取代的胺(烷基)可为取代或未取代的。二取代的胺(烷基)基团可包括例如二烷基胺(烷基)基团、二-C_1-C_6烷基胺(C_1-C_6烷基)基团、二-芳基胺(烷基)基团、二-C_6-C_{10}芳基胺(C_1-C_6烷基)基团等。二取代的胺(烷基)基团的实例包括但不限于-CH_2N(甲基)$_2$、-CH_2N(苯基)(甲基)、-NCH_2(乙基)(甲基)、-CH_2CH_2N(甲基)$_2$、-CH_2CH_2N(苯基)(甲基)、-NCH_2CH_2(乙基)(甲基)等。

[0285] 在未指定取代基数目的情况下(例如，卤代烷基)，可以存在一个或多个取代基。例如，“卤代烷基”可包括一个或多个相同或不同的卤素。又如，“C_1-C_3烷氧基苯基”可包括一种或多种含有一个、两个或三个原子的相同或不同的烷氧基。

[0286] 如本文所用，基团指示具有单个不成对电子的物类，使得含有基团的物类可共价键合到另一物类。因此，在该语境中，基团不一定是自由基。相反，基团指示较大分子的特定部分。术语“基团(radical)”可与术语“基团(group)”互换使用。

[0287] 如本文所用，术语“二氨基-”表示“$-NR_A(R_B)N(R_C)-$”基团，其中R_B和R_C可独立地为氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)，如本文所定义，并且其中R_A连接两个氨基，并且可为(独立于R_B和R_C)烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)。例如，R_A可为$-(CH_2)_{x'}-$，其中x’为小于或等于1、2、3、4、5、6、10、15、20、或包括和/或跨越前述值的范围的整数。R_A、R_B和R_C可独立地为取代或未取代的。

[0288] 如本文所用，术语“醚”表示“$-R_B-O-R_A$”基团，其中R_A可为氢、任选取代的C_{1-6}烷基，如本文所定义，R_B为直接键、或任选取代的C_{1-6}烷基，如本文所定义。R_A和R_B还可以独立地为取代或未取代的，如本文所定义。

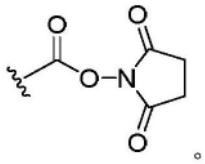
[0289] 如本文所用，术语“二醚-”表示“$-O-R_D-O-R_E$”基团，其中R_D和R_E可独立地为烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)，如本文所定义，并且其中R_D连接两个O基团。R_E也可为-H。在若干实施方案中，R_D可为$-(CH_2)_{x''}-$，其中x”为小于或等于1、2、3、4、5、6、10、15、20、或包括和/或跨越前述

值的范围的整数。R_D和R_E可为任选取代或未取代的。

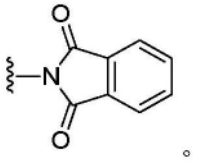
[0290] 如本文所用，术语“聚氨基”表示重复的-N(R_B)烷基-基团。为了示例，术语聚氨基可包含-N(R_B)烷基-N(R_B)烷基-N(R_B)烷基-N(R_B)烷基-。在一些实施方案中，聚氨基的烷基如本文别处所公开。虽然该实例仅具有4个重复单元，术语“聚氨基”可由1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个重复单元组成，其中R_B和烷基如本文别处所定义。如此处所指出，聚氨基包含具有间插烷基的胺基(其中烷基如本文别处所定义)。在若干实施方案中，聚氨基的烷基(例如，隔开N原子)具有1、2、3、4、或更多个亚甲基单元(例如-CH_2-)。聚氨基可以用胺基或者烷基(其中聚氨基为末端基)，或者用-N(R_C)-(其中聚氨基桥联两个原子)封端。例如，亚甲基二氨基(-$NHCH_2NH$-)、亚乙基二氨基(-$NH(CH_2)_2NH$-)等中的任一者被视为聚氨基。在若干实施方案中，聚氨基用任选取代的-N(R_C)-封端。例如，聚氨基可以用被-H、C_1-C_6烷基等取代的-N(R_C)-封端。

[0291] 如本文所用，术语“聚醚”表示重复的-O烷基-(例如-O-R_D-O-，其中R_D为烷基，如本文别处所公开)。为了示例，术语聚醚可包含-O-烷基-O-烷基-O-烷基-O-烷基。聚醚可具有多至10个重复单元，包含具有间插烷基(其中烷基如本文别处所定义)的-O-(醚)。聚醚可具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、或更多个重复单元。在若干实施方案中，醚的烷基(例如隔开两个-O-原子)具有1、2、3、4、或更多个亚甲基单元(例如-CH_2-)。聚醚可以用羟基或者烷基(其中聚醚为末端基)，或者用-O-(其中聚醚桥联两个原子)封端。聚醚可以用-O-封端。在若干实施方案中，聚醚用任选取代的-O-封端。例如，聚醚可以用被-H、C_1-C_6烷基等取代的-O-封端。

[0292] 如本文所用，术语琥珀酰亚胺酯是指以下结构：

[0293]  。

[0294] 如本文所用，术语异吲哚啉-1,3-二酮是指以下结构：

[0295]  。

[0296] 当给出整数的范围时，该范围包括落入该范围内的任何数字以及限定该范围的端点的数字。例如，当使用“1至20的整数”时，该范围内所公开的整数为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10等，多至并包括20。当使用术语“1至100的整数”时，所公开的整数包括例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、50、51、52、53等，多至并包括100。

[0297] 用于肝靶向的组合物

[0298] 本公开的若干实施方案涉及用于免疫耐受的化合物、组合物(例如药物组合物)或构建体。在一些实施方案中，化合物、组合物、或构建体是聚合物的并且/或者包含聚合物区域。在一些实施方案中，基于本文所提供的公开内容，可针对多种抗原诱导免疫耐受。例如，抗原可以是内源性的(例如自体抗原)或外源性的(例如外源抗原)，包括但不限于：移植受者针对其发展不希望的免疫反应(例如移植排斥)的外源移植抗原，患者针对其发展不希望

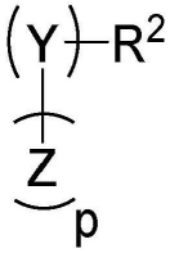
的免疫(例如变态或超敏)反应的外源食物、动物、植物或环境抗原,患者针对其发展不希望的免疫反应(例如超敏和/或降低的治疗活性)的治疗剂,患者针对其发展不希望的免疫反应(例如自身免疫疾病)的自体抗原,或任何这样类型的抗原的致耐受性部分(例如片段或表位)。

[0299] 在若干实施方案中,如本文所公开,提供了用于在受试者中诱导抗原特异性免疫耐受的化合物(例如构建体)。在若干实施方案中,化合物包含抗原、接头、靶向部分(例如肝靶向部分)和末端单元。在若干实施方案中,如本文别处所公开的抗原是全长和/或天然抗原、抗原的致耐受性部分、和/或抗原的模拟物。在若干实施方案中,期望耐受性的抗原在单独呈递给受试者时能够在受试者中诱导不希望的免疫反应。在若干实施方案中,接头包含一个或多个聚合物部分。在一些实施方案中,接头(和/或其聚合物部分)经由活性可逆加成-断裂链转移(RAFT)聚合制备。如本文别处所公开,RAFT聚合可用于聚合适于RAFT聚合的任何单体(包括但不限于丙烯酸酯(包括甲基丙烯酸酯)、丙烯酰胺(包括但不限于甲基丙烯酰胺)等),以提供接头的聚合物部分。在一些实施方案中,接头包含丙烯酰基聚合物部分。在一些实施方案中,接头的丙烯酰基部分包含α端和ω端。在一些实施方案中,丙烯酰基聚合物部分的ω端(在接头的ω侧)是接头的活性末端,在该处发生断裂和聚合物链延伸(或在完成的聚合中发生)。在一些实施方案中,丙烯酰基聚合物部分的α端(在接头的α侧)是RAFT聚合物链的远端或相对端(与ω侧相对),在该处驻留着生长的聚合物链的非活性末端。如本文别处所公开,使用生成RAFT CTA片段的RAFT试剂执行RAFT反应。在一些实施方案中,在聚合之后,丙烯酰基聚合物的α端(“α”端)包含RAFT试剂的驻留部分,并且ω端(“γ”端)包括CTA残余部分。在若干实施方案中,在丙烯酰基聚合物的α端的RAFT试剂的驻留部分包括用于进一步官能化和/或改性(例如,在聚合之后)的反应性基团。在其他实施方案中,在丙烯酰基聚合物的α端的RAFT试剂的驻留部分不包括用于进一步官能化的反应性基团(而是末端单元)。在一些实施方案中,α端或ω端之一可以结合至并且/或者可以是致耐受性构建体的末端单元。在一些实施方案中,α端或ω端中任一者可以与抗原结合。例如,在一些实施方案中,抗原在α端与接头结合(并且ω端与末端单元结合)。在其他实施方案中,抗原在ω端与接头结合(并且α端可以结合至并且/或者可以包括末端单元)。在若干实施方案中,接头经由可裂解键与抗原结合。在一些实施方案中,可裂解键为二硫键或二硫烷基乙酯单元。在若干实施方案中,二硫键或二硫烷基乙酯各自被构造成在向受试者施用化合物时裂解,并且从接头释放抗原。在若干实施方案中,使用硫醇反应性接头形成二硫化物,并且接头的硫与抗原的硫键合以提供二硫键。在若干实施方案中,二硫烷基乙酯使用胺反应性接头形成。在若干实施方案中,抗原的胺与接头的二硫烷基乙酯前体(例如,具有N-羟基琥珀酰亚胺酯或其他离去基团的前体)反应,以提供二硫烷基乙酯。

[0300] 在若干实施方案中,如本文别处所公开,接头包含共聚物。在若干实施方案中,共聚物(例如无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物、或前述的混合物)包含一种或多种丙烯酰基单元。在若干实施方案中,接头包含多种丙烯酰基单元(例如,2、3、4、或更多种类型的重复单元)。在一些实施方案中,接头包含至少第一丙烯酰基单元和第二丙烯酰基单元。在若干实施方案中,第一丙烯酰基单元包含第一乙基乙酰胺基官能团。在若干实施方案中,第二丙烯酰基单元包含第二乙基乙酰胺基官能团。在若干实施方案中,第二乙基乙酰胺基官能团与脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇缀合。在若干实施方案中,第二乙基乙酰胺

基官能团与脂族基团、醇、或脂族醇连接(例如,结合或缀合)。在若干实施方案中,第二乙基乙酰胺基官能团充当间隔基。在若干实施方案中,接头经由二硫键或二硫烷基乙酯与期望耐受性的抗原或其致耐受性部分结合,该二硫键或二硫烷基乙酯被构造成在向受试者施用化合物时裂解,并且从接头释放期望耐受性的抗原或其致耐受性部分。在若干实施方案中,肝靶向部分包含半乳糖基化或葡糖基化部分。在若干实施方案中,肝靶向部分通过第一乙基乙酰胺基官能团与接头结合。在若干实施方案中,第一乙基乙酰胺基官能团通过氨基、聚氨基、醚、聚醚、或脂族基团与肝靶向部分连接(例如,通过连接基团共价结合)。在若干实施方案中,聚氨基或聚醚具有两个至10个重复单元或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10个、或更多个)。在若干实施方案中,聚醚包含丙二醇重复单元(例如-(CH_2-CH_2-CH_2-O)-)。在若干实施方案中,聚醚包含乙二醇重复单元(例如-(CH_2-CH_2-O)-)。在若干实施方案中,肝靶向部分经由链基团(例如连接基团)与第一乙基乙酰胺基官能团连接。

[0301] 如本文别处所公开,本文所公开的致耐受性化合物可以使用可逆加成断裂链转移(RAFT)聚合来制备。在一些实施方案中,如本文所公开的致耐受性化合物的中间体可以在结构上描绘。在一些实施方案中,如本文所公开的致耐受性化合物的中间体可以在结构上描绘为式(A):

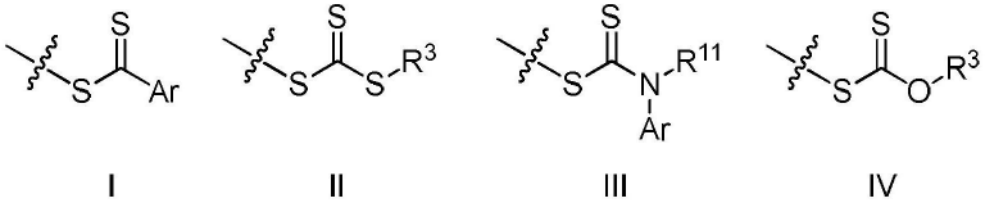
[0302] 

式(A)

[0303] 其中Y包含接头部分,Z包含靶向剂(例如肝靶向剂),并且R^2为封端基团(例如CTA残余部分),p为2至250的整数(或如本文别处所公开),左开放括号“(”表示Y反应性位点位置,右封闭括号“)”表示Y与R^2之间的键的位置,并且上开放括号“⌒”表示Y与Z单元之间的键的位置(其中沿着Y存在“p”个Z单元)。在若干实施方案中,Y的反应性位点是硫醇反应性的或者胺反应性的,如本文别处所公开。

[0304] 在若干实施方案中,如本文所公开的,RAFT链转移剂的一部分在聚合后作为RAFT残余部分保留在接头中间体上。在若干实施方案中,RAFT残余部分位于接头(和/或接头的聚合物部分)的ω端(或ω侧)。例如,在一些实施方案中,R^2是用于制备Y的RAFT链转移剂的RAFT残余部分。例如,R^2可为RAFT活性聚合的链转移剂(CTA)的残余部分。

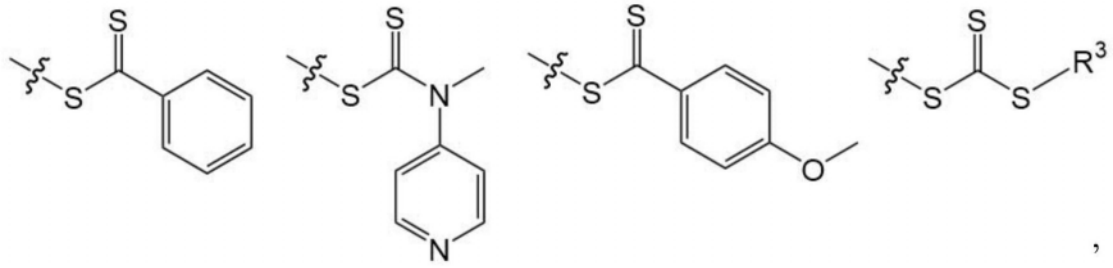
[0305] 在一些实施方案中,R^2为官能团I-IV中的任一者:

[0306] 

I II III IV

[0307] 其中Ar为取代或未取代的芳族基团,R^3为任何含碳直链或杂环部分。在一些实施方案中,R^3为任选取代的烷基、任选取代的环烷基、任选取代的芳基、或任选取代的杂芳基。

在一些实施方案中，Ar、R^3、或R^{11}中的任一者被任选地取代。在一些实施方案中，Ar、R^3、或R^{11}中的任一者任选地被任选取代的烷基、任选取代的杂环基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基取代。在一些实施方案中，R^{11}为氢或任选取代的烷基。在一些实施方案中，R^2为以下官能团之一：

[0308] 

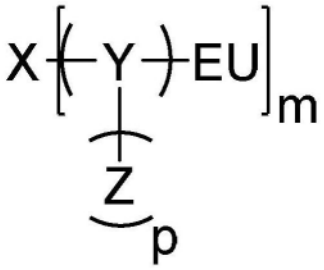
[0309] 其中R^3如上所定义。

[0310] 已发现，令人惊奇地，在聚合后(用如本文别处所公开不同基团)置换CTA残余部分(例如R^2)导致更稳定的致耐受性构建体，如本文别处所公开。在若干实施方案中，为了得到改善的致耐受性构建体，CTA残余部分(例如R^2)用末端单元替代，如本文别处所公开。在其他实施方案中，CTA残余部分用具有反应性位点的端基(例如反应性端部单元)替代。在一些实施方案中，反应性端部单元可进一步被官能化成使抗原与接头偶联。在一些实施方案中，反应性端部单元为末端单元。在其中具有反应性位点的端基官能化到抗原上的一些实施方案中，RAFT试剂的驻留部分(如本文别处所公开)提供末端单元(并且RAFT残余部分用偶联抗原的端基替代)。

[0311] 在若干实施方案中，用于替代CTA残余部分(例如R^2)的基团是与偶氮化合物(例如双偶氮化合物)的反应产物。在若干实施方案中，不同于CTA残余部分(其可包含如本文别处所公开的二硫酯)，用于替代CTA残余部分的末端单元或反应性端部单元包含使末端单元(或端基)与接头的丙烯酰基部分的ω端连接的碳原子(例如甲基(例如CH_3)、亚甲基(-CH_2)、次甲基(CH)、或季碳(C)的碳原子)。例如，在若干实施方案中，末端单元或反应性端部单元经由碳-碳键与接头的ω端键合。例如，末端单元或反应性端部单元的碳与接头的碳键合。

[0312] 在若干实施方案中，不同于CTA残余部分，末端单元和/或反应性端部单元缺乏与接头的碳键合的(例如二硫酯的)硫。在若干实施方案中，末端单元和/或反应性端部单元不为-H。在若干实施方案中，封端基团包含氰基。在其他实施方案中，封端基团缺乏氰基。在一些实施方案中，如本文别处所公开，封端基团和/或端基包含一个或多个烷基，所述烷基任选地被卤素、C-羧基、-氨基、或-OH中的一种或多种取代。在若干实施方案中，封端基团和/或端基包含环烷基。在若干实施方案中，如本文别处所公开，反应性端部单元包含可用抗原官能化的反应性部分。在其他实施方案中，如本文别处所公开，末端单元包含不与抗原反应的末端部分。

[0313] 在一些实施方案中，如本文别处所公开，致耐受性化合物(例如致耐受性构建体)包含经由接头与构建体的靶向剂连接的抗原(例如全长抗原、抗原的抗原片段、抗原的模拟物等)。在若干实施方案中，致耐受性化合物使用式(A)的中间体制备。如本文别处所公开，本公开的特定方面涉及可由具有式(1)的结构的化合物表示的构建体和/或组合物：

[0314] 

式（1）

[0315] 其中X包含抗原(例如全长抗原、其一个或多个致耐受性部分、其模拟物等)，Y包含接头部分，Z包含肝靶向剂，并且EU包含末端单元(其每个变量在本文别处更详细地公开)。在一些实施方案中，p为2至250的整数(或如本文别处所公开)，m为1至100的整数，左开放括号“(”表示X和Y之间的键的位置，右封闭括号“)”表示Y与EU之间的键的位置，并且上开放括号“⁀”表示Y与Z单元之间的键的位置(其中沿着Y存在“p”个Z单元)。在一些实施方案中，多个Z单元(例如“p”个Z单元)可以沿着Y接头的聚合物部分结合。例如，在Y接头具有带有一个或多个重复单元的聚合物部分的情况下，那些重复单元中的一些或全部可包含Z侧基。

[0316] 如所显示，Z的每个实例可以是Y接头部分的侧基式部分(例如，沿着接头的丙烯酰基聚合物部分的长度，如本文别处所公开)。在存在多个Z基团的情况下，侧基Z可以一起提供沿着Y长度的梳或洗瓶刷结构。在一些实施方案中，式(1)可书写为$X-[Y(-Z)_p-EU]_m$。如所显示，每个抗原可具有m个$-Y(-Z)_p-EU$单元。在若干实施方案中，m为等于或大于约以下的整数：1、2、3、4、5、10、25、50、75、100、或包括和/或跨越前述值的范围。

[0317] 连接基团

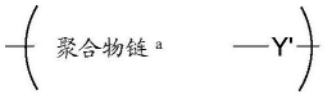
[0318] 如以下(和本文别处)更详细地公开，在若干实施方案中，接头部分用于将抗原(期望针对其的耐受性，或其免疫原性片段)与构造成靶向肝脏(或特定肝脏细胞亚型)的部分接合。在若干实施方案中，接头也与如本文别处所公开的末端单元(EU)结合。在若干实施方案中，抗原以允许抗原在体内从接头释放的方式与接头(或多个接头)接合。在若干实施方案中，接头(或多个接头)被构造成以其基本上天然的形式(或者当与接头缀合时其所呈的形式，但不一定是天然存在的形式，因为抗原可为片段、重组抗原等)释放抗原。在若干实施方案中，接头(或多个接头)被构造成以其基本上活性的形式(例如，诱导免疫反应的形式)和/或活性形式释放抗原。在若干实施方案中，构建体的接头和抗原部分通过可降解键和/或在目标部位处裂解(例如，通过二硫键的还原、二硫烷基乙酯的裂解等)的键结合。

[0319] 在若干实施方案中，如本文别处所公开，接头包含聚合物部分(例如，接头为聚合物接头)。如以下和本文别处所显示，Y的聚合物部分可以结合至修饰聚合物部分(例如，聚合物链部分)的侧基式肝靶向部分。在一些实施方案中，聚合物部分包含、由、或基本上由如本文别处所公开的Y’组成。在一些实施方案中，Y包含、由、或基本上由如本文别处所公开的Y’组成。在若干实施方案中，聚合物部分包含基于丙烯酰基的聚合物部分(例如，基于丙烯酸酯的单元或其衍生物、基于丙烯酰胺的单元或其衍生物、其共聚物等)。在若干实施方案中，丙烯酰基部分包含一个或多个丙烯酰基单元(例如，丙烯酰基衍生物，包括丙烯酸酯、丙烯酰胺、甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酰胺、它们中任一种的衍生物、或类似的丙烯酰基结构)，所述丙烯酰基单元包含侧基式肝靶向剂。在若干实施方案中，丙烯酰基衍生物，包括丙烯酸酯、丙烯酰胺、甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酰胺、它们中任一种的衍生物、或类似的丙烯酰基结

构可以任选地被取代。

[0320] 在若干实施方案中，接头包含亲水部分和/或区域。在若干实施方案中，接头包含包含多个亲水区域。在若干实施方案中，丙烯酰基部分是亲水性的。在若干实施方案中，亲水部分可以与丙烯酰基部分隔开(虽然丙烯酰基部分仍然也可为亲水性的)。在若干实施方案中，亲水部分包含具有-$(CH_2CH_2O)_s$-的一个或多个区域的长度。在若干实施方案中，s为大于或等于约以下的整数：1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、44、50、75、100、150、或包括和/或跨越前述值的范围。例如，s可为1至44、1至150等的整数。在一些实施方案中，亲水部分包含一个或多个聚乙二醇(PEG)区域。在若干实施方案中，PEG任选地被取代。在一些实施方案中，PEG可具有多分散度，如通过PEG的以g/mol计的重均分子量(M_W)除以PEG的以g/mol计的数均分子量(M_N)(例如M_W/M_N)所测量。在一些实施方案中，PEG链的数均或重均分子量(g/mol)等于或至少约：50、200、300、500、1000、2000、5000、10000、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，亲水部分包含与丙烯酰基部分隔开的聚合物链。在若干实施方案中，亲水部分包含散布在丙烯酰基部分内的聚合物链。在若干实施方案中，聚合物链任选地被取代。在一些实施方案中，聚合物链包含亲水性侧基，如-OH、-SO(OH)$_2$、任选取代的聚醚、任选取代的聚氨基等。

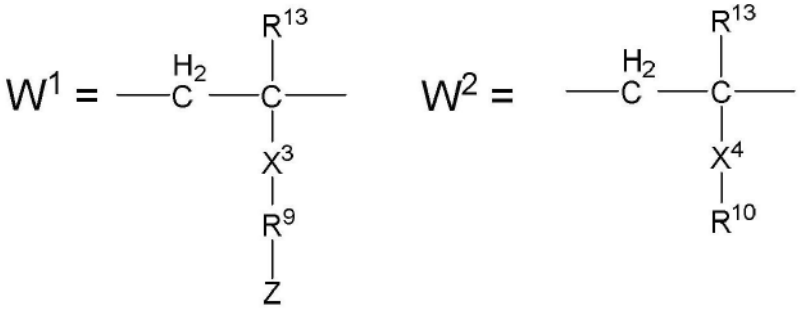
[0321] 在一些实施方案中，接头可在结构上由式(AI)表示：

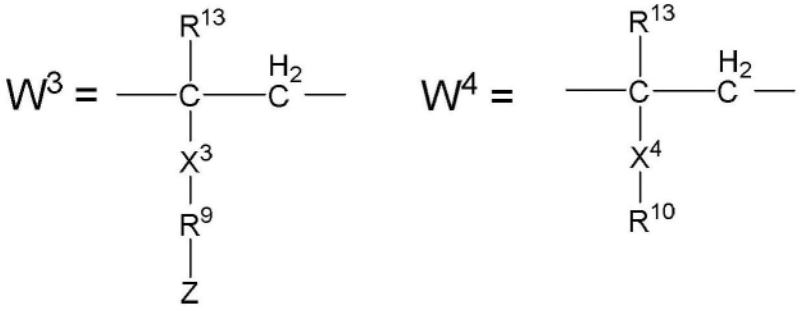
[0322] 

式(AI) 。

[0323] 其中左开放括号“(”表示X与Y之间的键的位置，右封闭括号“)”表示Y与EU之间的键的位置，Y'是聚合物部分(如本文别处所公开)，其可包含均聚物，或者是两种或更多种不同类型的重复单元(如本文别处所公开)的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物，其中至少一种类型的重复单元包含侧基式靶向基团(或者提供多种不同类型的侧基式靶向基团)。在一些实施方案中，如本文别处所公开，Z包含靶向部分。在一些实施方案中，如本文别处所公开，Z包含肝靶向部分。在一些实施方案中，靶向部分(例如Z)包含以下中的一种或多种：半乳糖、半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺、葡萄糖、葡糖胺、N-乙酰葡糖胺，半乳糖、半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺、葡萄糖、葡糖胺、N-乙酰葡糖胺受体靶向部分，和/或对结合半乳糖、半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺、葡萄糖、葡糖胺、N-乙酰葡糖胺(或它们的任何组合)中的任一种的受体表现出亲和力的部分。在一些实施方案中，靶向部分(例如Z)包含对半乳糖、半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺、葡萄糖、葡糖胺、N-乙酰葡糖胺(或它们的任何组合)中的任一种的受体表现出亲和力的部分。在一些实施方案中，包含对半乳糖、半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺、葡萄糖、葡糖胺、N-乙酰葡糖胺(或它们的任何组合)中的任一种的受体表现出亲和力的部分的靶向部分不需要是半乳糖基化或葡糖基化部分。

[0324] 在若干实施方案中，Y'为W^1与W^2或W^3与W^4的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物，其中W^1、W^2、W^3和W^4如下所示：

[0325] 

[0326] 

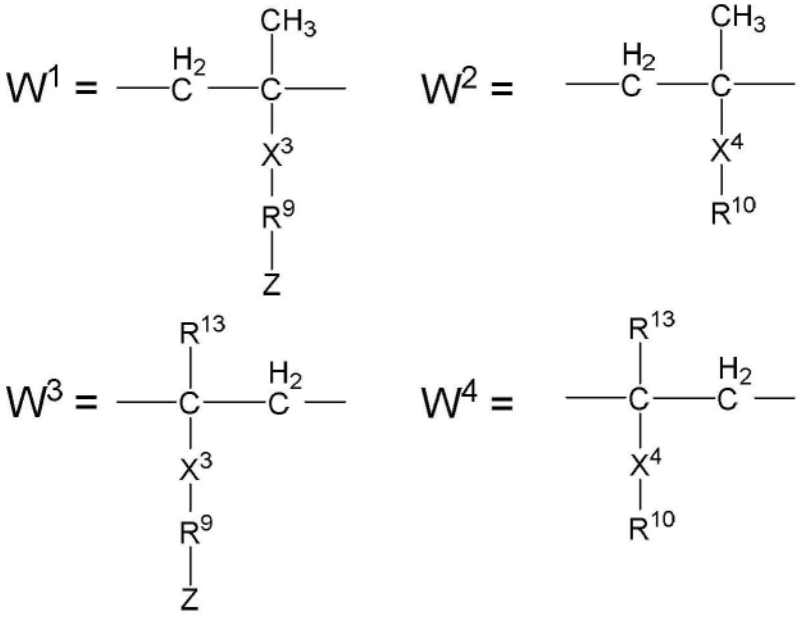
[0327] 其中Z是靶向部分(例如,包括但不限于半乳糖、半乳糖受体靶向部分、葡萄糖、葡萄糖受体靶向部分、半乳糖胺、半乳糖胺受体靶向部分、葡糖胺、葡糖胺受体靶向部分、N-乙酰半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺受体靶向部分、N-乙酰葡糖胺和/或N-乙酰半乳糖胺受体靶向部分中的任一种或多种);R^{13}的每个实例(例如,W^1、W^2、W^3、或W^4中)独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基;X^3为(或者X^3的每个实例独立地为)直接键、-C(O)-NH-、或-C(O)O-;R^9为直接键或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-;X^4为(或者X^4的每个实例独立地为)直接键、-C(O)-NH-或-C(O)O-;并且R^{10}为-H或-[$((CH_2)_{h"}X^7)_{t"}$-$((CH_2)_{h"'}X^8)_{t"'}$]-$R^{6"}$。在若干实施方案中,X^5和X^6独立地选自直接键、-$NR^{6'}$-和-O-。在一些实施方案中,$R^{6'}$的每个实例(例如,X^5或X^6中)独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中,t、t'、h和h'各自独立地为等于或至少约以下的整数:0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中,X^7和X^8独立地选自直接键、-$NR^{6"}$-和-O-。在一些实施方案中,$R^{6"}$的每个实例独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中,t"、t"'、h"和h"'各自独立地为等于或至少约以下的整数:0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中,R^9为连接基团(如本文别处所公开)。在若干实施方案中,在定义t、t'、h、h'、t"、t"'、h"和h"'中的任一者的情况下,R^9或R^{10}的结构可相应地更新。例如,R^9可表示为-$[(CH_2)_2O]_2$-,其中h为2,X^5为-O-,t为2,并且t'为0。或者,R^9可表示为-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-,其中h为2,X^5为-O-,t为2,并且t'为0。类似地,R^{10}可表示为-$[(CH_2)_2O]$-H,其中h"为2,X^7为-O-,t"为1,t"'为0,并且$R^{6"}$为-H。或者,R^{10}可表示为-CH_2-CH_2-OH,其中h"为2,X^7为-O-,t"为1,t"'为0,并且$R^{6"}$为-H。在若干实施方案中,R^{10}为脂族基团、醇、含脂族胺基团、或脂族醇。在若干实施方案中,R^{10}为脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇。在若干实施方案中,R^{10}任选地被取代。在若干实施方案中,R^{10}为任选取代的C_{1-6}烷基。在若干实施方案中,在被取代的情况下,R^{10}被-OH、卤素、C_{1-3}烷基和/或C-羧基中的一者或多者取代。在若干实施方案中,W^1、W^2、W^3和W^4的任选取代可以任选地被取代。在若干实施方案中,W^1、W^2、W^3和W^4的(例如,W^1、W^2、W^3和W^4内任何变量的)任选取代在存在的情况下可独立地选自C_{1-3}烷基、C_{1-6}烷氧基、羟基、氨基、卤素和/或它们的组合。

[0328] 在若干实施方案中，X^3为-C(O)-NH-，并且R^9为-$(CH_2)_2$-或-$(CH_2)_2$-$(O-CH_2-CH_2)_t$-。在一些实施方案中，t为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中，t为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，t为1至5的整数(例如1、2、3、4、或5)。在一些实施方案中，X^3和R^9一起为直接键、任选取代的-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-(乙基乙酰胺基或"EtAcN")或任选取代的-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-$(O-CH_2-CH_2)_t$-(聚乙二醇化乙基乙酰胺基或"Et-PEG_t-AcN")，t为1至5的整数。

[0329] 在若干实施方案中，X^4为直接键、-C(O)-NH-、-C(O)O-(或它们的组合，其中存在多于一种类型的W^2或W^4)。在一些实施方案中，在W^2或W^4的给定单元中，X^4和R^{10}一起为-C(O)-NH_2或-C(O)-OH。在若干实施方案中，R^{10}为-[$((CH_2)_{h"}X^7)_{t"}$-$((CH_2)_{h"'}X^8)_{t"'}$]-$R^{6"}$。在一些实施方案中，X^8和$R^{6"}$一起提供反应性基团(例如，-NH_2、-C(O)OH、-OH、马来酸酐等)，其可在聚合后官能化(例如用肝靶向部分)。在一些实施方案中，$R^{6"}$的每个实例独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。

[0330] 在若干实施方案中，Y'为W^1与W^2或W^3与W^4的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物，其中W^1、W^2、W^3和W^4如下所示：

[0331]



[0332] 在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，Z为肝靶向部分(例如半乳糖和/或葡萄糖和/或半乳糖和/或葡萄糖受体靶向部分，包括但不限于半乳糖胺、葡糖胺、N-乙酰半乳糖胺、或N-乙酰葡糖胺或它们的受体靶向部分、和/或对它们的受体表现出亲和力的部分中的一种或多种)，X^3选自直接键、-C(O)-NH-或-C(O)O-，并且R^9为直接键或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-。在若干实施方案中，X^5和X^6独立地选自直接键、-$CNR^{6'}$-和-O-。在一些实施方案中，$R^{6'}$的每个实例(例如，X^5或X^6中)独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，t、t'、h和h'各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，X^3为-C(O)-NH-，并且R^9为-$(CH_2)_2$-或-$(CH_2)_2$-$(O-CH_2-CH_2)_t$-。在若干实施方案中，t为1至5的整数。在一些实施方案中，X^3和R^9一起为直接键、任选取代的-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-(乙基乙酰胺基或"EtAcN")或任选取代的-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-$(O-CH_2-CH_2)_t$-(聚乙二醇化乙基乙酰胺基或"Et-PEG_t-AcN")，t

为1至5的整数。在一些实施方案中，t为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中，t为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。

[0333] 在若干实施方案中，X^4为直接键、-C(O)-NH-、或-C(O)O-。在若干实施方案中，R^{10}为-H或-[$((CH_2)_{h"}X^7)_{t"}$-$((CH_2)_{h"'}X^8)_{t"'}$]-$R^{6"}$。在一些实施方案中，其中在W^2的给定单元中，X^4和R^{10}一起提供-C(O)-OH。在若干实施方案中，X^7和X^8独立地选自直接键、-$NR^{6"}$-和-O-。在一些实施方案中，X^8和$R^{6"}$一起提供反应性基团(例如，-NH_2、-C(O)OH、-OH、马来酸酐等)，其可在聚合后官能化(例如用肝靶向部分)。在一些实施方案中，$R^{6"}$的每个实例独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在一些实施方案中，$R^{6"}$的每个实例独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，t"、t"'、h"和h"'各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，R^{10}为脂族基团、醇、含脂族胺基团、或脂族醇。在若干实施方案中，R^{10}为脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇。

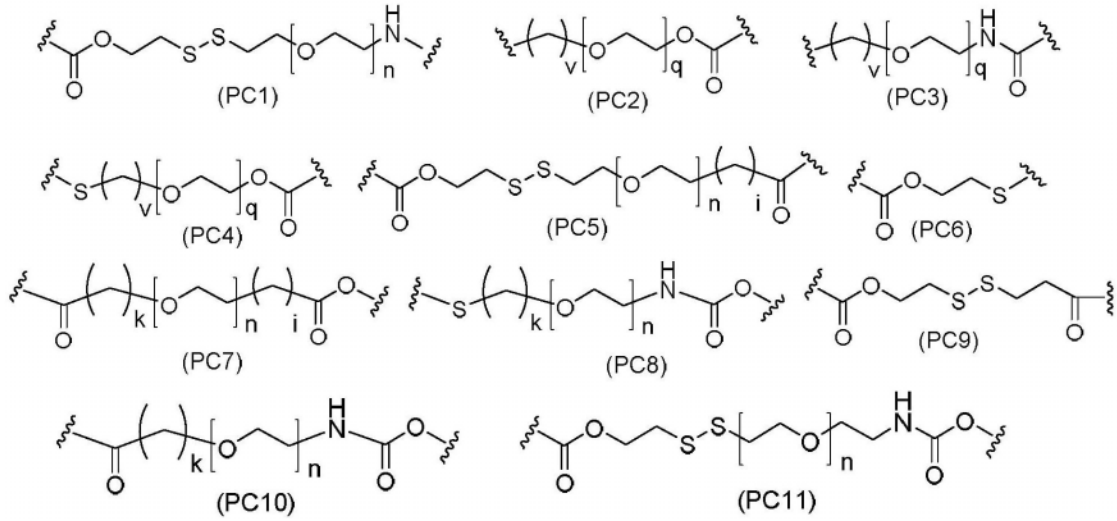
[0334] 在一些实施方案中，R^9或R^{10}独立地为任选取代的烷基、任选取代的聚醚、或任选取代的聚氨基。在一些实施方案中，R^{10}为任选取代的C_f烷基、任选取代的C_f烷基OH_g、或任选取代的-(C_f烷基$(OH)_g$)-$O)_e$-H，其中f表示烷基中的碳数目并且为0至10的整数，g表示存在于烷基上的羟基数目并且为0至10的整数，并且e表示烷基/醚重复单元的数目并且为0至10的整数。在一些实施方案中，e、f和g为独立选择的等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中，R^{10}为2-羟乙基(例如-CH_2CH_2OH)。在一些实施方案中，R^{10}为任选取代的2-羟乙基。在一些实施方案中，R^{10}为任选取代的聚醚。

[0335] 在一些实施方案中，Y'表示为-W^1_p-W^2_r-，其中-W^1_p-W^2_r-表示具有p个W^1重复单元和r个W^2重复单元的W^1和W^2单体的嵌段共聚物、梯度共聚物、或无规共聚物。在一些实施方案中，p为等于或大于约以下的整数：0、1、50、85、100、150、165、200、225、250、300、400、或包括和/或跨越前述值的范围。例如，p可在1至150、50至100、50至150等的范围内。在一些实施方案中，r为等于或大于约以下的整数：0、1、50、85、100、150、165、200、225、250、300、400、或包括和/或跨越前述值的范围。例如，r可在0至150、50至100、50至150等的范围内。在一些实施方案中，Y'为W^1或W^2的均聚物。在一些实施方案中，p为0。在一些实施方案中，r为0。在一些实施方案中，p和r的总和为等于或大于约以下的整数：1、50、75、80、85、100、150、165、170、200、225、250、300、400、600、800、或包括和/或跨越前述值的范围。例如，p和r单元的数目可在1至150、50至250、100至300等的范围内。作为另一示例，p和r单元的数目可在等于或至少100、150、200等的范围内。

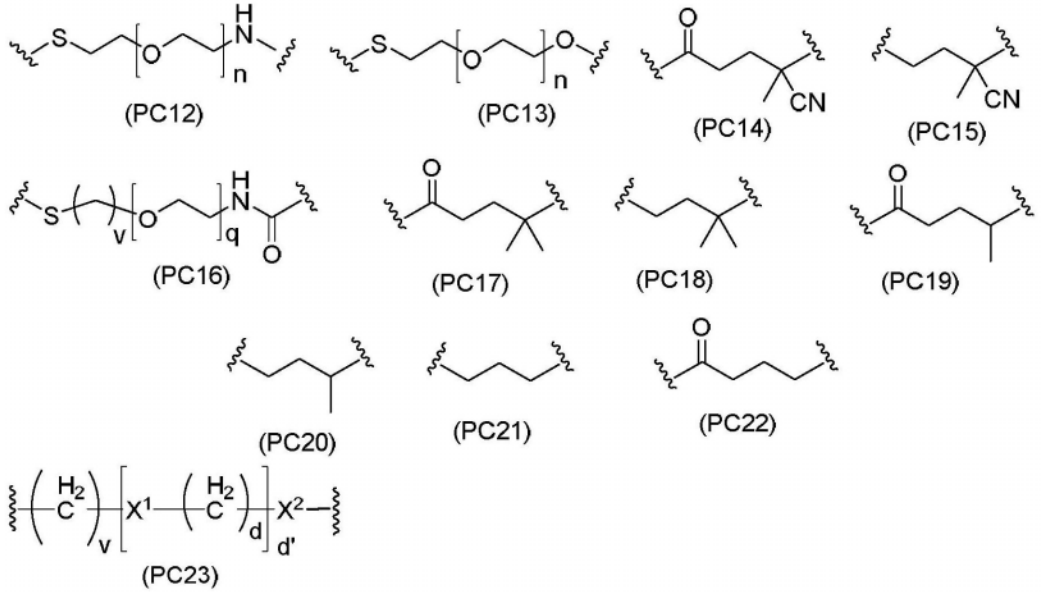
[0336] 在一些实施方案中，Y'表示为-W^3_p-W^4_r-，其中-W^3_p-W^4_r-表示具有p个W^3重复单元和r个W^4重复单元的W^3和W^4单体的嵌段共聚物、梯度共聚物、或无规共聚物。在一些实施方案中，p为等于或大于约以下的整数：0、1、50、85、100、150、165、200、225、250、300、400、或包括和/或跨越前述值的范围。例如，p可在1至150、50至100、50至150等的范围内。在一些实施方案中，r为等于或大于约以下的整数：0、1、50、85、100、150、165、200、225、250、300、400、或包括和/或跨越前述值的范围。例如，r可在0至150、50至100、50至150等的范围内。在一些实施方案中，Y'为W^3或W^4的均聚物。在一些实施方案中，p为0。在一些实施方案中，r为0。在一些实施方案中，p和r的总和为等于或大于约以下的整数：1、50、75、80、85、100、150、165、170、200、225、250、300、400、600、800、或包括和/或跨越前述值的范围。例如，p和r单元的数目可在1

至150、50至250、100至300等的范围内。作为另一示例，p和r单元的数目可在等于或至少100、150、200等的范围内。

[0337] 在一些实施方案中，聚合物链[a]存在或者任选地不存在。在一些实施方案中，聚合物链任选地被取代。在一些实施方案中，在存在的情况下，聚合物链[a]可包含亲水性聚合物。在一些实施方案中，在存在的情况下，聚合物链[a]可包含一个或多个任选取代的-$(CH_2CH_2O)_s$-、任选取代的-$(CH_2)_u$-、或任选取代的亚烷基。在若干实施方案中，u为小于或等于约以下的整数：1、5、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中，聚合物链[a]可包含或由以下结构或其一部分中的一种或多种组成。例如，在一些实施方案中，聚合物链[a]不止包含这些结构链段：



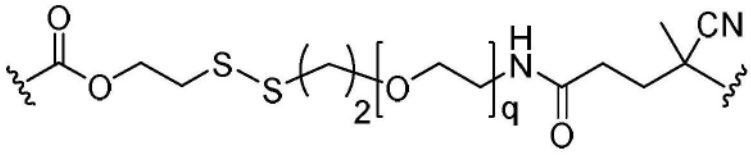
[0338]



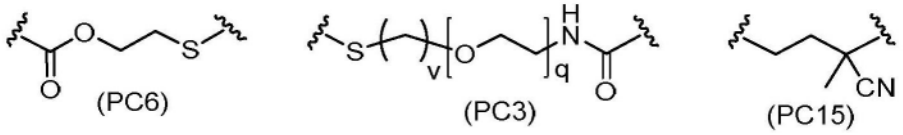
[0339] 其中变量(例如，i、k、n、q、v、d、d'、X^1和X^2)如本文别处所公开。在若干实施方案中，i、k、n、q、v、d和d'各自独立地为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、44、50、75、100、150、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，i为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，k为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，n为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、

30、40、50、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，q为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，v为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，d为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，d'为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，X^1和X^2独立地选自-NR^6-（例如-NH-）和-O-，其中R^6为H或任选取代的C_{1-6}烷基。

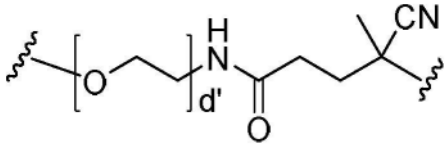
[0340] 为了例示，当聚合物链[a]包含以下结构时，聚合物链[a]的实施方案包含一种或多种以上存在的结构链段：

[0341] 

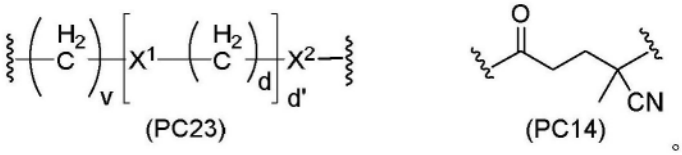
[0342] 该聚合物链[a]结构可描述为包含以下任一种、或以下中的全部：

[0343] 

[0344] 其中v为2。为了进一步例示，当聚合物链[a]包含以下结构时，聚合物链[a]的实施方案包含一种或多种以上存在的结构链段：

[0345] 

[0346] 该聚合物链[a]结构可描述为包含以下任一种、或以下中的全部：

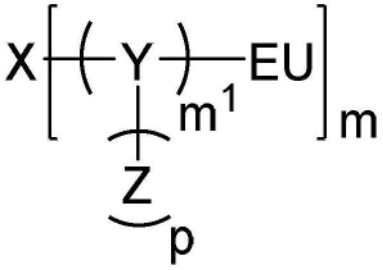
[0347] 

[0348] 其中v为0，d为2，X^1为-O-，并且X^2为NR。在一些实施方案中，式(AI)包含任何以下组合：(PC6)、(PC3)和(PC15)；(PC3)和(PC15)；(PC6)、(PC4)和(PC15)；(PC4)和(PC15)；(PC13)和(PC14)；(PC23)和(PC14)；或(PC1)至(PC23)的任一种或多种的其他组合。

[0349] 在若干实施方案中，n为约1至约100的整数(或者n为0)，q为约1至约100的整数(或者q为0)，k为约1至约20的整数(或者k为0)，i为约0至约20的整数，并且v为约1至约20的整数(或者v为0)。在若干实施方案中，n为大于或等于约以下的整数：0、1、10、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，n为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，q为大于或等于约以下的整数：0、1、10、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，q为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、75、100、150、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，i为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施

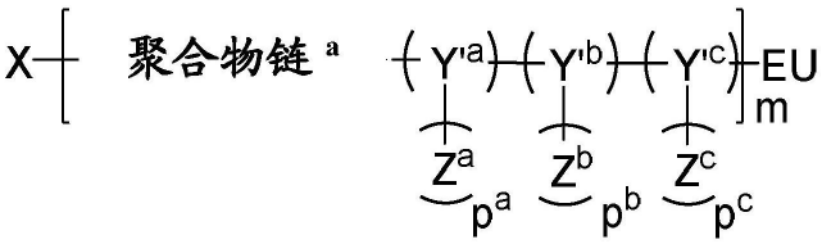
方案中,k为大于或等于约以下的整数:0、1、2、3、4、5、10、15、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中,v为大于或等于约以下的整数:0、1、2、3、4、5、10、15、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中,k为2。在若干实施方案中,v为2。在若干实施方案中,n为4。在若干实施方案中,n为43或44。在若干实施方案中,q为3。如本文所用,对于一个实施方案而言公开为具有结构、值、或值范围的变量也可具有在变量用于另一个实施方案时(即使在变量未关于其他实施方案定义的情况下)的那些值。在若干实施方案中,n或q表示PEG链中的重复单元数。在一些实施方案中,PEG链可具有一些多分散度。在一些实施方案中,n和q不指示重复单元数,而是独立地指示具有等于或至少约以下的M_N(以g/mol计)或M_W(以g/mol计)的PEG聚合物链的存在:50、200、300、500、1000、2000、5000、10000、或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中,k、i和v可各自独立地包含任选取代的亚烷基。

[0350] 在一些实施方案中,化合物包含以下构型,其中变量(例如,X、Y、Z、EU、m、p等)如本文别处所公开:

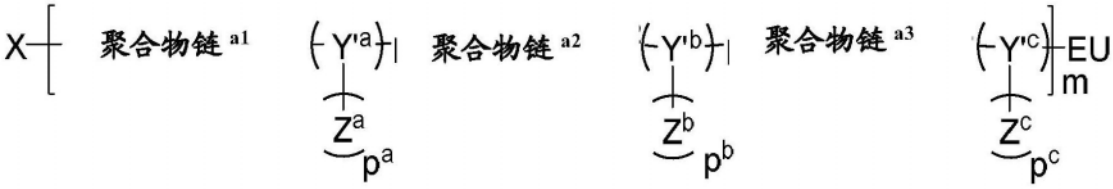
[0351] 

式(1')。

[0352] 在式(1')中,Y可以包括例如具有m^1个箱车的"箱车"基序。箱车基序的两个实施方案如下所示,在每种情况下m^1等于3。在一些实施方案中,如所示,箱车布置可包括单一聚合物链^a(如本文别处所公开)和不同的Y'部分(如下式(P1)所显示))。在一些实施方案中,箱车布置可包括多于一个聚合链^{a}部分(不同或相同)连同隔开的Y'链段(参见式(P2))。在提供多于一种聚合物链^a(例如,聚合物链^{a1}、聚合物链^{a2}、聚合物链^{a3})的情况下,各聚合链可独立地定义为以上聚合物链^a(并且每个实例可以相同或不同)。

[0353] 

[0354] 式(P1)

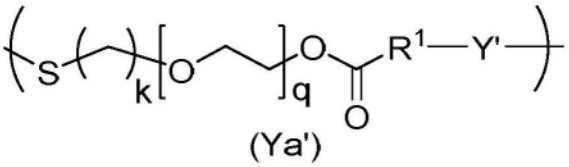
[0355] 

[0356] 式(P2)

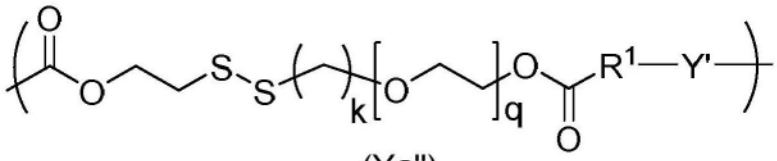
[0357] 在一些实施方案中,如上所指示,Y'^{a}、Y'^{b}和Y'^{c}独立地包含可相同或不同的聚合物

或共聚物部分(例如,如本文别处公开为Y'的丙烯酰基部分),Z^a、Z^b和Z^c独立地包含可相同或不同的靶向部分,并且p^a、p^b和p^c各自分别指示存在的Z^a、Z^b和Z^c重复单元的数目。每种不同的Y'部分(例如Y'^a、Y'^b和Y'^c)可包含各种W^1结构、W^2结构、W^3结构、W^4结构、或它们的混合物,如本文别处所公开。在一些实施方案中,m^1为等于或大于约以下的整数:1、2、3、4、5、10、或包括和/或跨越前述值的范围。在其中Y'部分(例如Y'^a、Y'^b和/或Y'^c)缺乏肝靶向部分的一些实施方案中,p(例如p^a、p^b和/或p^c)可在该部分中为0。在其中Y'部分(例如Y'^a、Y'^b和/或Y'^c)缺乏间隔基的一些实施方案中,r(例如r^a、r^b和/或r^c未显示)可在该部分中为0。

[0358] 在若干实施方案中,-[Y(Z)$_p$]-是由以下式(例如(Ya')至(Yz"))中的任何一者或多者表示的基团:

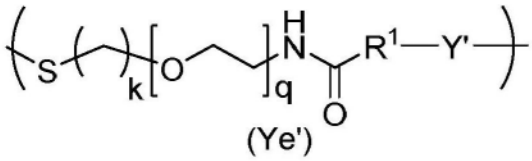


(Ya')

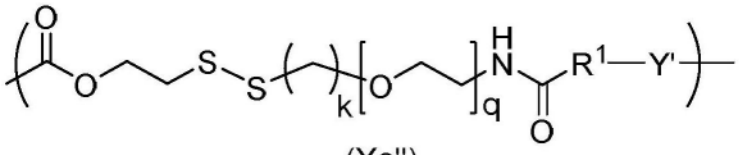


(Ya")

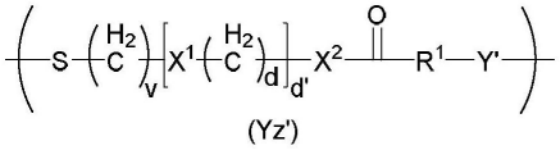
[0359]



(Ye')

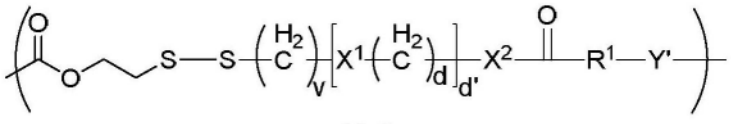


(Ye")



(Yz')

[0360]

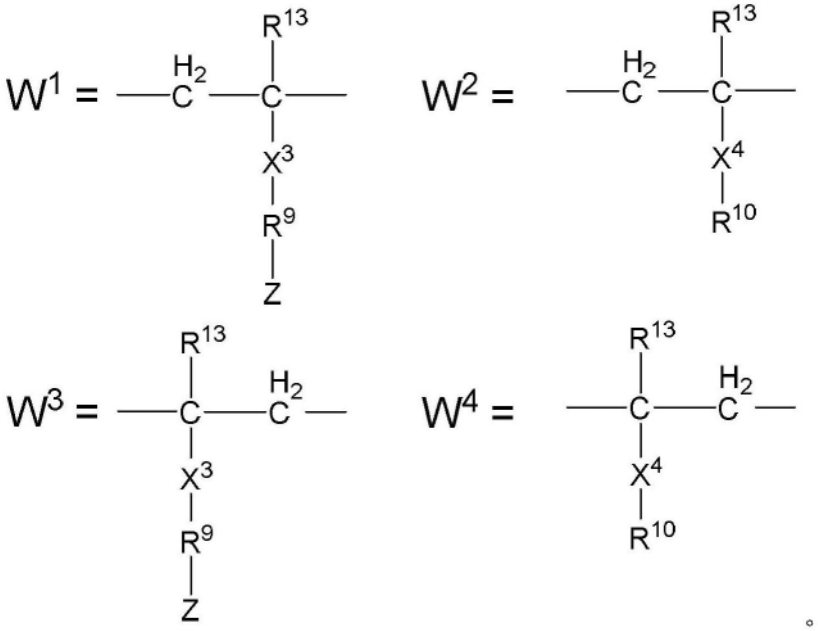


(Yz")

[0361] 其中变量(例如,Y'、R^1、v、d、d'、X^1、X^2、k和q)如本文别处所公开。在若干实施方案中,q为大于或等于约以下的整数:0、1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、75、100、150、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中,k为大于或等于约以下的整数:0、1、2、3、4、5、10、15、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中,q为0。在若干实施方案中,q为3。在若干实施方案中,k为2。在若干实施方案中,v为2。在若干实施方案中,R_1为-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-或-CH(CH_3)-。在若干实施方案中,X^1和X^2独立地选自-NR^6-和-O-。在一些实施方案中,v、d和d'独立地为大于或等于约以下的整数:0、1、2、3、4、5、10、15、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。在

一些实施方案中，R^6的每个实例为H或任选取代的C_{1-6}烷基。在一些实施方案中，Y'为具有p个W^1重复单元和r个W^2重复单元的W^1和W^2的共聚物。在一些实施方案中，Y'为具有p个W^3重复单元和r个W^4重复单元的W^3和W^4的共聚物。在若干实施方案中，Y为Ya'。在若干实施方案中，Y为Ye'。在若干实施方案中，Y为Yz'。在若干实施方案中，式(AI)可表示为式(Ya')至(Yz")中的任一者。

[0362] 在一些实施方案中，如本文别处所公开，Y'包含(或由、或基本上由其组成)W^1与W^2或W^3与W^4，其中W^1、W^2、W^3和W^4如下所示，并且如在本文别处所述：

[0363] 

[0364] 其中变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，Z是靶向部分(例如，包括但不限于半乳糖、半乳糖受体靶向部分、葡萄糖、葡萄糖受体靶向部分、半乳糖胺、半乳糖胺受体靶向部分、葡糖胺、和/或对其受体表现出亲和力的部分，包括葡糖胺受体靶向部分、N-乙酰半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺受体靶向部分、N-乙酰葡糖胺和/或N-乙酰半乳糖胺受体靶向部分中的任一种或多种)；R^{13}的每个实例(例如，W^1、W^2、W^3、或W^4中)独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基；X^3为(或者X^3的每个实例独立地为)直接键、-C(O)-NH-、或-C(O)O-；R^9为直接键或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-；X^4为(或者X^4的每个实例独立地为)直接键、-C(O)-NH-或-C(O)O-；并且R^{10}为-H或-[$((CH_2)_{h"}X^7)_{t"}$-$((CH_2)_{h"'}X^8)_{t"'}$]-$R^{6"}$。在若干实施方案中，X^5和X^6独立地选自直接键、-$NR^{6'}$-和-O-。在一些实施方案中，$R^{6'}$的每个实例(例如，X^5或X^6中)独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，t、t'、h和h'各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，X^7和X^8独立地选自直接键、-$NR^{6"}$-和-O-。在一些实施方案中，$R^{6"}$的每个实例独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中，t"、t"'、h"和h"'各自独立地为等于或至少约以下的整数：0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，R^{10}为脂族基团、醇、含脂族胺基团、或脂族醇。在若干实施方案中，R^{10}为脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇。在若干实施方案中，W^1、W^2、W^3和W^4的(例如，W^1、W^2、W^3和W^4内任何变量的)任选取代在存在的情况下可独立地选自C_{1-3}烷基、C_{1-6}烷氧基、羟基、氨基、卤素和/或它们的组合。在若干实施方案中，Y'的任何变量的任选取代在存在的情况下可独立地选自

C_{1-3}烷基、C_{1-6}烷氧基、羟基、氨基、卤素和/或它们的组合。

[0365] 在若干实施方案中,Z包含半乳糖和/或葡萄糖受体靶向部分。在若干实施方案中,R^{13}的每个实例(例如,W^1、W^2、W^3、或W^4中)独立地为H、甲基、或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中,R^{13}的任选取代在存在的情况下可独立地选自C_{1-3}烷基、C_{1-6}烷氧基、羟基、氨基、卤素和/或它们的组合。在若干实施方案中,R^{13}的每个实例为甲基。在若干实施方案中,R^9为直接键或-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-。在若干实施方案中,X^5和X^6独立地选自直接键、-$CNR^{6'}$-和-O-。在一些实施方案中,$R^{6'}$的每个实例(例如,X^5或X^6中)独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中,t、t'、h和h'各自独立地为等于或至少约以下的整数:0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中,X^3为-C(O)-NH-,并且R^9为-$(CH_2)_2$-或-$(CH_2)_2$-(O-CH_2-CH_2)$_t$-。在若干实施方案中,t为1至5的整数。在若干实施方案中,X^4为-C(O)-NH-、-C(O)O-、或-C(O)-OH。在一些实施方案中,其中在W^2或W^4的给定单元中,X^4为-C(O)-OH,并且R^{10}不存在。在若干实施方案中,R^{10}为脂族基团、醇、含脂族胺基团、或脂族醇。在若干实施方案中,R^{10}为脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇。在若干实施方案中,R^{10}为-[$((CH_2)_{h''}X^7)_{t''}$-$((CH_2)_{h''}X^8)_{t''}$]-$R^{6''}$。在若干实施方案中,X^7和X^8独立地选自直接键、-$NR^{6''}$-和-O-。在一些实施方案中,$R^{6''}$的每个实例独立地为H或任选取代的-C_{1-6}烷基。在若干实施方案中,t''、t'''、h''和h'''各自独立地为等于或至少约以下的整数:0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或包括和/或跨越前述值的范围。

[0366] 在一些实施方案中,X^3和R^9一起形成直接键、-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-、或-C(O)-NH-$(CH_2)_2$-(O-CH_2-CH_2)$_t$-,其中t为1至5的整数。在若干实施方案中,p为2至250的整数。在若干实施方案中,X^4为直接键,并且R^{10}为脂族基团、醇、含脂族胺基团、或脂族醇。在若干实施方案中,R^{10}为脂族基团、胺、聚氨基、醇、聚醚、或脂族醇。在若干实施方案中,r为0至250的整数。在若干实施方案中,R^{10}为C_f烷基或C_f烷基OH_g,其中f表示烷基中的碳数目并且为0至10的整数,并且g表示存在于烷基上的羟基数目并且为0至10的整数。在一些实施方案中,X^4为-C(O)NH-,并且R^{10}为2-羟乙基。

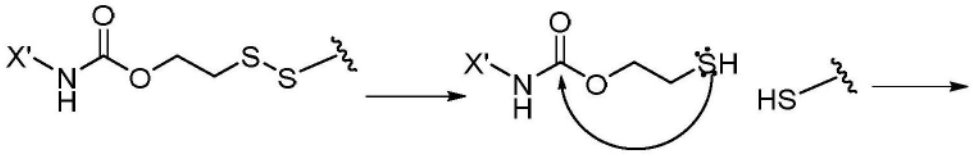
[0367] 在一些方面,如本文别处所公开,-W^1_p-W^2_r-和/或-W^3_p-W^4_r-分别表示W^1与W^2重复单元、或W^3与W^4重复单元的嵌段共聚物、梯度共聚物、或无规共聚物。在若干实施方案中,Y'可以包含由不同W^1或W^3结构表示的不同丙烯酰基单元。例如,关于W^1,在一些实施方案中,Y'包含不同但均可在结构上由W^1的结构表示的第一丙烯酰基单元和第二丙烯酰基单元。以示例的方式,在若干实施方案中,第一丙烯酰基单元包含W^1,其中X^3为-C(O)O-,R^9为-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-,其中h为3,X^5为-O-,t为2,h'为3,X^6为-O-,并且t'为1,并且Z为第一半乳糖基化部分。在若干实施方案中,第二丙烯酰基单元包含W^1,其中X^3为-C(O)NH-,R^9为-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-,其中h为2,X^5为-O-,t为4,h'为1,X^6为-O,并且t'为1,并且Z为与第一不同或相同的第二半乳糖基化部分。在若干实施方案中,第三丙烯酰基单元可以存在并且可包含W^1,其中X^3为-C(O)NH-,R^9为-[$((CH_2)_hX^5)_t$-$((CH_2)_{h'}X^6)_{t'}$]-,其中h为2,X^5为-O-,t为2,h'为1,并且t'为1,并且Z为与第一和/或第二不同或相同的第三葡糖基化部分。在若干实施方案,第四丙烯酰基单元可由W^2(例如间隔基)表示。在若干实施方案中,可以使用多种类型的丙烯酰基间隔基(第五丙烯酰基单元、第六丙烯酰基单元等)。在若干实施方案中,类似地,Y'可包含由W^2或W^4表示的不同丙烯酰基单元(例如,分别为第一W^2或W^4丙烯酰基单元以及第二W^2或W^4丙烯酰基单元)。

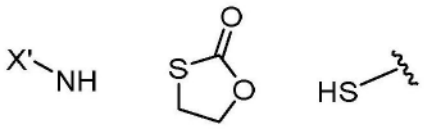
[0368] 在若干实施方案中，如本文别处所显示，靶向部分包含修饰接头的一部分的一个或多个侧基式肝靶向部分。在若干实施方案中，接头的部分是具有沿着链随机地、以梯度和/或以嵌段连接的侧基式靶向剂的聚合物链。在一些实施方案中，聚合物链包含丙烯酰基部分(例如丙烯酰基聚合物和/或丙烯酰基共聚物)。在若干实施方案中，丙烯酰基部分包含含有侧基式肝靶向剂的丙烯酰基单元。在若干实施方案中，丙烯酰基部分还包含不含侧基式肝靶向剂的丙烯酰基单元。

[0369] 在一些实施方案中，致耐受性构建体由涉及以下中至少一种的一种或多种反应产生:N-羟基琥珀酰胺基(NHS)接头、NHS酯接头、PEG接头、马来酰亚胺接头、乙烯基砜接头、吡啶基二硫醇-聚(乙二醇)接头、吡啶基二硫醇接头、n-硝基苯基碳酸酯接头、或硝基苯氧基聚(乙二醇)酯接头。接头可具有一个或多个半乳糖和/或葡萄糖部分，和/或与其结合的半乳糖和/或葡萄糖受体靶向部分。在实施方案中，Y包含与一个或多个半乳糖和/或葡萄糖部分和/或半乳糖和/或葡萄糖受体靶向部分结合的抗体、抗体片段、肽、或二硫烷基乙酯。

[0370] 含有二硫醇的接头和含有氨基甲酸二硫烷基乙基酯的接头(命名包括抗原的游离胺，另外命名为不包括抗原(例如X)的游离胺的“二硫烷基乙酯”)在本发明的构建体中是有利的，因为一旦处于细胞内(或在目标区域)就能够裂解和释放其原始形式的抗原。例如，如下所说明(其中X’指示抗原的剩余部分，并且二硫烷基乙酯是抗原的一部分)。

[0371]





[0372] 靶向

[0373] 根据若干实施方案，本文所公开的组合物的靶向(例如至肝脏)通过与肝脏细胞(或肝脏细胞的亚型)上的受体结合的一种或多种类型的部分来实现。在若干实施方案中，靶向剂(例如肝靶向部分)可操作地连接至接头。在若干实施方案中，使用结合半乳糖受体的靶向剂。在若干实施方案中，使用半乳糖基化部分(例如，半乳糖、半乳糖胺和N-乙酰半乳糖胺)。在若干实施方案中，这样的部分可以在糖的任何碳分子处与接头缀合。在若干实施方案中，半乳糖基化部分的缀合在C1、C2或C6位置处。在若干实施方案中，使用结合葡萄糖受体的靶向剂。在若干实施方案中，使用葡糖基化部分(例如葡萄糖、葡糖胺和N-乙酰葡糖胺)。在若干实施方案中，葡糖基化部分可为葡萄糖受体靶向部分。在若干实施方案中，这样的部分可以在糖的任何碳分子处与接头缀合。在若干实施方案中，葡糖基化部分的缀合在C1、C2或C6位置处。取决于实施方案，也可使用葡萄糖受体和半乳糖受体靶向部分的组合。在其中使用多种靶向剂的若干实施方案中，使用基于葡萄糖受体的(例如靶向)与基于半乳糖受体的(例如靶向)部分的特定比率，例如，约500:1、约250:1、约100:1、约50:1、约25:1、约10:1、约5:1、约2:1、约1:1、约1:2、约1:5、约1:10、约1:25、约1:50约1:100、约1:250、约1:500，以及所列那些之间的任何比率，包括端值。在额外的实施方案中，期望这样的肝靶向的多肽可以去唾液酸化，以利于靶向。根据实施方案，半乳糖基化或葡糖基化部分(或半乳糖

受体靶向部分和/或葡萄糖受体靶向部分)可以化学缀合或重组融合,而去唾液酸化暴露抗原多肽上的半乳糖样部分。

[0374] 在若干实施方案中,使用W^1与W^2或W^3与W^4的各种比率。在一些实施方案中,在Y'重复单元中,大部分包含W^1。在一些实施方案中,W^1与W^2的比率等于或大于约50:1、约25:1、约10:1、约5:1、约4:1、约2:1、约1:1、约1:2、约1:4、约1:5、约1:10、约1:25、约1:50、以及所列那些之间的任何比率,包括端值。在一些实施方案中,在Y'重复单元中,大部分包含W^3重复单元。在一些实施方案中,W^3与W^4的比率等于或大于约50:1、约25:1、约10:1、约5:1、约4:1、约2:1、约1:1、约1:2、约1:4、约1:5、约1:10、约1:25、约1:50、以及所列那些之间的任何比率,包括端值。在一些实施方案中,p与r的比率为(对于W^1与W^2或W^3与W^4)等于或大于约50:1、约25:1、约10:1、约5:1、约4:1、约2:1、约1:1、约1:2、约1:4、约1:5、约1:10、约1:25、约1:50、以及所列那些之间的任何比率,包括端值。在一些实施方案中,提供W^1的均聚物而不具有W^2部分。在一些实施方案中,提供W^3的均聚物而不具有W^4部分。

[0375] 抗原

[0376] 在若干实施方案中,期望耐受性的抗原是能够在受试者中诱导不希望的免疫反应的试剂。在式(1)的化合物或组合物中,或者在本公开的任何化合物、组合物、或方法中用作X的抗原可以是蛋白质或肽,例如抗原可以是完整或部分治疗剂、全长移植蛋白或其肽、全长自身抗原或其肽、全长变应原或其肽、和/或核酸、或前述抗原的模拟物。取决于实施方案,也可使用多个片段的组合。例如,如果鉴定为P的较长肽具有抗原区A、B、C和D,则本文所公开的用于诱导对P的耐受性的组合物可包含A、B、C和D的任何组合,以及A、B、C和D中任一者的重复序列。一种类别或与任何特定疾病或反应相关联的任何特定抗原的列表不排除该抗原被视为另一类别的一部分或与另一疾病或反应相关联。

[0377] 在若干实施方案中,抗原包含一种或多种治疗剂,即蛋白质、肽、抗体和抗体样分子(包括抗体片段和具有抗体和抗体片段的融合蛋白),以及基因疗法载体。这些包括人、非人(如小鼠)和非天然(例如工程化)蛋白质、抗体、嵌合抗体、人源化抗体、病毒和病毒样颗粒,以及非抗体结合支架,如纤连蛋白、DARPins、打结素等。在若干实施方案中,使用移植受者针对其发展不希望的免疫反应的人同种异体移植抗原。在若干实施方案中,抗原包含一种或多种引起不希望的自身免疫反应的自体抗原。虽然自体抗原在自身免疫疾病患者中为内生源,但是根据若干实施方案,取决于实施方案,所公开组合物中采用的多肽是外源合成的(与从来源纯化和浓缩形成对照)。

[0378] 在若干实施方案中,期望耐受性的抗原包含一种或多种外源抗原,如患者针对其经历不希望的免疫反应的食物、动物、植物和环境抗原。虽然治疗性蛋白质因其外生源也可视为外源抗原,但是为了清楚起见,在本公开的描述中,这样的治疗剂描述为单独的组。类似地,植物或动物抗原可以食用并且视为食物抗原,并且环境抗原可源自植物。然而,它们被视为外源抗原。为了简单的利益,将不试图描述区别和定义所有这样的潜在重叠的组,因为本领域的技术人员可以理解可用于本公开(特别是鉴于具体实施方式和实施例)的组合物中的抗原。

[0379] 在若干实施方案中,X选自胰岛素、胰岛素原、前胰岛素原、谷蛋白、麦醇溶蛋白、髓鞘碱性蛋白、髓鞘少突胶质细胞糖蛋白和蛋白脂质蛋白、桥粒芯糖蛋白-3、桥粒芯糖蛋白-1、α-突触核蛋白、乙酰胆碱受体、因子VIII、因子IX、天冬酰胺酶、尿酸酶、腺相关病毒

(AAV),以及前述任一种的片段。在若干实施方案中,抗原X不为全长蛋白质。例如,在一些实施方案中,抗原不为全长麦醇溶蛋白、胰岛素、或胰岛素原。在若干实施方案中,抗原不为全长髓鞘碱性蛋白,不为全长髓鞘少突胶质细胞蛋白,或者不为全长蛋白脂质蛋白。在若干实施方案中,抗原X不为蛋白质的片段。如以下更详细地讨论,存在多种可能期望耐受性的抗原。这些可包括但不限于在受试者暴露于抗原时导致不良免疫反应的外源性抗原。在若干实施方案中,不良免疫反应可以是例如经口、经鼻,或者经由一些其他粘膜途径摄入抗原的结果。这些途径可能是例如食物抗原的情况。在一些实施方案中,抗原可以有目的地施用给受试者,例如,施用治疗性组合物以治疗受试者所患的疾病或病症。在另一些额外的实施方案,抗原可以由受试者产生,例如自身免疫抗原。例如,在若干实施方案中,X包含移植受者针对其发展不希望的免疫反应的外源移植抗原或其致耐受性部分。在若干实施方案中,X包含患者针对其发展不希望的免疫反应的外源食物、动物、植物或环境抗原或它们的致耐受性部分。在若干实施方案中,X包含患者针对其发展不希望的免疫反应的外源治疗剂或其致耐受性部分。在若干实施方案中,X包含患者针对其内源形式发展不希望的免疫反应的合成自体抗原或其致耐受性部分。

[0380] 对于以上更详细地,在若干实施方案中,提供了其中X是食物抗原的化合物。在一些这样的实施方案中,X为伴花生球蛋白(Ara h 1)、变应原II(Ara h 2)、花生凝集素、羽扇豆球蛋白(Ara h 6)、a-乳清蛋白(ALA)、乳运铁蛋白、Pen a 1变应原(Pen a 1)、变应原Pen m 2(Pen m 2)、原肌球蛋白快速异构体、高分子量麦谷蛋白、低分子量麦谷蛋白、α-麦醇溶蛋白、γ-麦醇溶蛋白、ω-麦醇溶蛋白、大麦醇溶蛋白、seclain和燕麦蛋白中的一种或多种。在若干实施方案中,也使用这些抗原中任一种的片段和/或这些抗原中任一种的模拟表位。在若干实施方案中,X选自谷蛋白、高分子量麦谷蛋白、低分子量麦谷蛋白、α-麦醇溶蛋白、γ-麦醇溶蛋白、ω-麦醇溶蛋白、大麦醇溶蛋白、seclain和燕麦蛋白以及它们的片段。在若干实施方案中,X选自谷蛋白、高分子量麦谷蛋白、低分子量麦谷蛋白、α-麦醇溶蛋白、γ-麦醇溶蛋白和ω-麦醇溶蛋白以及它们的片段。在若干实施方案中,X为谷蛋白或其片段。在若干实施方案中,X为麦醇溶蛋白或其片段。

[0381] 在若干实施方案中,提供了化合物,其中X为治疗剂。在若干实施方案中,X选自因子VII、因子IX、天冬酰胺酶和尿酸酶、腺相关病毒(AAV),以及它们任一种的片段。在若干实施方案中,X为选自因子VII和因子IX以及它们的片段的治疗剂。在若干实施方案中,X为选自因子VIII或其片段的治疗剂。在若干实施方案中,当X为治疗剂时,化合物可用于治疗、预防、减少、或以其他方式改善针对血友病治疗剂发展的免疫反应。如本文所讨论,以上抗原的任何抗原部分的模拟表位可用于若干实施方案中。

[0382] 在若干实施方案中,X包含天冬酰胺酶或其片段。在若干实施方案中,X包含尿酸酶或其片段。在若干实施方案中,化合物可用于治疗、预防、减少、或以其他方式改善针对抗肿瘤剂发展的免疫反应。如本文所讨论,以上抗原的任何抗原部分的模拟表位可用于若干实施方案中。

[0383] 在若干实施方案中,X与自身免疫疾病相关联。例如,在若干实施方案中,相关联的自身免疫疾病为I型糖尿病、多发性硬化症、类风湿性关节炎、白癜风、葡萄膜炎、寻常型天疱疮、乳糜泻、重症肌无力和视神经脊髓炎中的一种或多种。

[0384] 在若干实施方案中,自身免疫疾病为I型糖尿病,并且X包含胰岛素或其片段。在若

干实施方案中，自身免疫疾病为I型糖尿病，并且X包含胰岛素原或其片段。在若干实施方案中，自身免疫疾病为I型糖尿病，并且X包含前胰岛素原或其片段。如本文所讨论，以上抗原的任何抗原部分的模拟表位可用于若干实施方案中。在若干实施方案中，可以将这些抗原的组合引入致耐受性化合物中，其可有助于在沿着胰岛素途径的多个点处减少对自体抗原的免疫反应。

[0385] 在若干实施方案中，自身免疫疾病为多发性硬化症，并且X包含髓鞘碱性蛋白或其片段。在若干实施方案中，自身免疫疾病为多发性硬化症，并且X包含髓鞘少突胶质细胞糖蛋白或其片段。在若干实施方案中，自身免疫疾病为多发性硬化症，并且X包含蛋白脂质蛋白或其片段。如本文所讨论，以上抗原的任何抗原部分的模拟表位可用于若干实施方案中。在若干实施方案中，这些抗原的组合可以引入致耐受性化合物(例如，抗原或MOG、MBP和/或PLP的片段的混合物)中，其可有助于在沿着控制髓鞘形成或髓鞘修复的酶途径的多个点处减少对自体抗原的免疫反应。

[0386] 如本文所讨论，以上(或本文另外所公开)自体抗原的任何抗原部分的模拟表位可用于若干实施方案中。

[0387] 在若干实施方案中，药学上可接受的组合物由或基本上由化合物(其中X为食物抗原、治疗剂、自体抗原、或它们的片段)、接头Y以及肝靶向部分Z组成。在若干实施方案中，将半乳糖基化部分(例如，半乳糖、半乳糖胺和N-乙酰半乳糖胺)用作靶向部分Z(例如，肝靶向部分)。在若干实施方案中，将葡糖基化部分(例如，葡萄糖、葡糖胺和N-乙酰葡糖胺)用作靶向部分Z(例如，肝靶向部分)。

[0388] 致耐受性抗原可为完全蛋白质、完全蛋白质的一部分、肽等，并且可以衍生化(如上所讨论)以连接至接头和/或抗原结合部分，可以是变体并且/或者可以含有保守取代，特别是维持序列同一性，并且/或者可以去唾液酸化。

[0389] 在其中抗原为治疗性蛋白、肽、抗体或抗体样分子的实施方案中，特异性抗原可选自：阿巴西普、阿昔单抗、阿达木单抗、腺苷脱氨酶、Ado曲妥珠单抗、α-半乳糖苷酶、β-半乳糖苷酶、阿地白介素、阿糖脑苷酶、α阿糖苷酶、α-1-蛋白酶抑制剂、阿那白滞素、阿尼普酶(茴香酰化纤溶酶原-链激酶激活剂复合物)、抗凝血酶III、抗胸腺细胞球蛋白、阿替普酶、贝伐单抗、比伐卢定、A型肉毒毒素、B型肉毒毒素、C1-酯酶抑制物、康纳单抗、羧肽酶G2(谷卡匹酶和羧肽酶)、赛妥珠单抗、西妥昔单抗、胶原蛋白酶、响尾蛇科免疫Fab、阿法达贝泊汀、地诺单抗、地高辛免疫Fab、阿法链道酶、依库丽单抗、依那西普、因子VIIa、因子VIII、因子IX、因子XI、因子XIII、纤维蛋白原、非格司亭、加硫酶、戈利木单抗、醋酸组氨瑞林、透明质酸酶、艾杜硫酸酯酶(Idursulphase)、伊米苷酶、英夫利昔、胰岛素[包括重组人胰岛素(“rHu胰岛素”)和牛胰岛素]、干扰素-α2a、干扰素-α2b、干扰素-β1a、干扰素-β1b、干扰素-γ1b、易普利姆玛、L-精氨酸酶、L-天冬酰胺酶、L-蛋氨酸酶、乳糖酶、拉罗尼酶、来匹卢定/水蛭素、美卡舍明、美卡舍明-林菲培、甲氧基那他珠单抗、奥曲肽、奥法木单抗、奥普瑞白介素、胰淀粉酶、胰脂肪酶、木瓜蛋白酶、Peg-天冬酰胺酶、Peg-阿霉素HCL、PEG-依泊汀-β、乙二醇化非格司亭、Peg-干扰素-α2a、Peg-干扰素-α2b、培戈洛酶、培维索孟、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、蛋白C、拉布立酶(尿酸酶)、呋喃果糖苷酶(Sacrosidase)、鲑降钙素、沙格司亭、链球菌激酶、替奈普酶、特立帕肽、托珠单抗(托西珠单抗)、曲妥单抗、1型α-干扰素、优特克单抗、vW因子。治疗性蛋白质可从天然来源获得(例如，浓缩和纯化)或合成(例如，重组)，并且

包括通常为IgG单克隆或片段或融合物的抗体治疗剂。

[0390] 特定治疗性蛋白质、肽、抗体或抗体样分子包括但不限于阿昔单抗、阿达木单抗、α-半乳糖苷酶、β-半乳糖苷酶、阿地白介素、α阿糖苷酶、因子VIII、因子IX、英夫利昔、胰岛素(包括rHu胰岛素)、L-天冬酰胺酶、拉罗尼酶、那他珠单抗、奥曲肽、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、或拉布立酶(尿酸酶)以及通常呈其不同形式的IgG单克隆抗体。

[0391] 一些实施方案采用止血剂(例如因子VIII和IX)、胰岛素(包括rHu胰岛素),以及治疗性分子尿酸酶、PAL和天冬酰胺酶(其可以是非人来源的)。

[0392] 在若干实施方案中,治疗剂通过使用例如基因疗法载体进行递送。在一些这样的实施方案中,可以针对这样的载体的一部分和/或它们的载物(例如治疗剂)发展免疫反应。因此,在若干实施方案中,期望耐受性的抗原包含基因疗法载体,包括但不限于:腺病毒和腺相关病毒(和相应的变体-1、-2、-5、-6、-8、-9和/或其他细小病毒)、慢病毒和逆转录病毒。

[0393] 血液学和移植中不希望的免疫反应包括自身免疫性再生障碍性贫血、移植排斥(通常)和移植物抗宿主病(骨髓移植排斥)。在其中致耐受性抗原是人同种异体移植抗原的实施方案中,特异性序列可选自:各种MHC I类和MHC II类单倍型蛋白的亚基以及与呈递的肽抗原(例如,在组织交叉配型中鉴定的供体/受者差异)的缔合复合物,以及包括RhCE、KelL、Kidd、Duffy和Ss在内的次要血型抗原上的单氨基酸多态性。这样的组合物可以针对给定的供体/受者对单独制备。

[0394] 在1型糖尿病(例如糖尿病1型)中,抗原包括但不限于:胰岛素、胰岛素原、前胰岛素原、谷氨酸脱羧酶-65(GAD-65或谷氨酸脱羧酶2)、GAD-67、葡萄糖-6磷酸酶2(IGRP或胰岛特异性葡萄糖6磷酸酶催化亚基相关蛋白)、胰岛素瘤相关蛋白2(IA-2)和胰岛素瘤相关蛋白2β(IA-2β);其他抗原包括ICA69、ICA12(SOX-13)、羧肽酶H、Imogen 38、GLIMA 38、嗜铬粒蛋白-A、HSP-60、羧肽酶E、外周蛋白、葡萄糖转运蛋白2、肝癌-肠-胰腺/胰腺相关蛋白、S100β、胶质原纤维酸性蛋白、再生基因II、胰腺十二指肠同源盒1、强直性肌营养不良激酶、胰岛特异性葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基相关蛋白,以及SST G-蛋白偶联受体1-5、或任何这样的抗原的免疫原性片段或部分。应当指出的是,胰岛素是抗原的一个实例,其可表征为自体抗原和治疗性蛋白抗原。例如,rHu胰岛素和牛胰岛素是治疗性蛋白抗原(即不希望的免疫攻击的对象),而内源性人胰岛素是自体抗原(即不希望的免疫攻击的对象)。因为内源性人胰岛素不能用于药物组合物中,在本公开的组合物的某些实施方案中采用重组形式。

[0395] 人胰岛素(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT P01308):

[0396] MALWMRLLPLLALLALWGPDPAAAFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTR REAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQKRGIVEQCCTSICSLYQLENYCN (SEQ ID NO: 1).

[0397] GAD-65(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT Q05329):

MASPGSGFWSFGSEDGSGDSENPGTARAWCQVAQKFTGGIGNKLCALLYGDAEKP
AESGGSQPPRAAARKAACACDQKPCSCSKVDVNYAFLHATDLLPACDGERPTLAFL
QDVMNILLQYVVKSFDRSTKVIDFHYPNELLQEYNWELADQPQNLEEILMHCQTTL
KYAIKTGHPRYFNQLSTGLDMVGLAADWLTSTANTNMFTYEIAPVFVLLEYVTLKK
MREIIGWPGGSGDGIFSPGGAISNMYAMMIARFKMFPEVKEKGMAALPRLIAFTSEH

[0398] SHFSLKKGAAALGIGTDSVILIKCDERGKMIPSDLERRILEAKQKGFVPFLVSATAGT
TVYGAFDPLLAVADICKKYKIWMHVDAAWGGGLLMSRKHKWKLSGVERANSVT
WNPHKMMGVPLQCSALLVREEGLMQNCNQMHASYLFQQDKHYDLSYDTGDKAL
QCGRHVDVFKLWLMWRAKGTTGFEAHVDKCLELAEYLYNIIKNREGYEMVFDGKP
QHTNVCFWYIPPSLRTLEDNEERMSRLSKVAPVIKARMMEYGTTMVSYQPLGDKVN
FFRMVISNPAATHQDIDFLIEEIERLGQDL (SEQ ID NO: 2).

[0399] IGRP(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT QN9QR9)：

MDFLHRNGVLIIQHLQKDYRAYYTFLNFMSNVGDPRNIFFIYFPLCFQFNQTVGTKM
IWVAVIGDWLNLIFKWILFGHRPYWWVQETQIYPNHSSPCLEQFPTTCETGPGSPSGH
AMGASCVWYVMVTAALSHTVCGMDKFSITLHRLTWSFLWSVFWLIQISVCISRVFI

[0400] ATHFPHQVILGVIGGMLVAEAFEHTPGIQTASLGTYLKTNLFLFLFAVGFYLLLRVLN
IDLLWSVPIAKKWCANPDWIHIDTTPFAGLVRNLGVLFGLGFAINSEMFLLSCRGGN
NYTLSFRLLCALTSLTILQLYHFLQIPTHEEHLFYVLSFCKSASIPLTVVAFIPYSVHML
MKQSGKKSQ (SEQ ID NO: 3).

[0401] 在若干实施方案中，人胰岛素原(包括可用于本公开的致耐受性组合物的外源获得的形式)具有以下序列：

[0402] FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRREAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPL
ALEGSLQKRGIVEQCCTSICSLYQLENYCN (SEQ ID NO: 4).

[0403] 取决于实施方案，用于治疗1型糖尿病的可用于本公开的致耐受性组合物的肽/表位包括单独地处于致耐受性组合物中或者一起处于致耐受性组合物的混合物中的以下序列中的一些或全部：

[0404] 人胰岛素原1-70：

[0405] FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRREAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPL
ALEGSLQKRGIVEQ (SEQ ID NO: 5);

[0406] 人胰岛素原9-70：

[0407] SHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRREAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQK
RGIVEQ (SEQ ID NO: 6);

[0408] 人胰岛素原9-38：

[0409] SHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRREAEDLQ (SEQ ID NO: 7);

[0410] 人胰岛素原1-38：

[0411] FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRREAEDLQ (SEQ ID NO: 8);

[0412] 人胰岛素原9-23：

[0413] SHLVEALYLVCGERG (SEQ ID NO: 9);

[0414] 人胰岛素原45-71(C13-A6)：

[0415] GGGPGAGSLQPLALEGSLQKRGIVEQC (SEQ ID NO: 10);

[0416] 人胰岛素原C24-A1：

[0417] LALEGSLQKRG (SEQ ID NO: 11);

[0418] 人胰岛素原C19-A3：

[0419] GSLQPLALEGSLQKRGIV (SEQ ID NO: 12);

[0420] 人胰岛素原C13-32：

[0421] GGGPGAGSLQPLALEGSLQK (SEQ ID NO: 13);

[0422] 人胰岛素原B9-C4：

[0423] SHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRREAED (SEQ ID NO: 14);

[0424] 人胰岛素原C22-A5：

[0425] QPLALEGSLQKRGIVEQ (SEQ ID NO: 15);

[0426] 人IA-2 718-782：

[0427] AYQAEPNTCATAQGEGNIKKNRHPDFLPYDHARIKLKVESSPSRSDYINASPIIEHDP RMPAYIA (SEQ ID NO: 16);

[0428] 人IA-2 785-819：

[0429] GPLSHTIADFWQMVWESGCTVIVMLTPLVEDGVKQ (SEQ ID NO: 17);

[0430] 人IA-2 828-883：

[0431] GASLYHVYEVNLVSEHIWCEDFLVRSFYLKNVQTQETRTLTQFHFLSWPAEGTPAS (SEQ ID NO: 18);

[0432] 人IA-2 943-979：

[0433] EHVRDQRPGLVRSKDQFEFALTAVAEEVNAILKALPQCG (SEQ ID NO: 19).

[0434] 在甲状腺的自身免疫疾病(包括桥本甲状腺炎和格雷夫斯病)中，主要抗原包括但不限于甲状腺球蛋白(TG)、甲状腺过氧化物酶(TPO)和促甲状腺激素受体(TSHR)；其他抗原包括钠碘协同转运子(NIS)和巨蛋白。在甲状腺相关联的眼病和皮肤病中，除了包括TSHR的甲状腺自身抗原之外，抗原还为胰岛素样生长因子1受体。在甲状旁腺功能减退症中，主要抗原是钙敏感受体。

[0435] 在艾迪生氏病中，主要抗原包括但不限于21-羟化酶、17α-羟化酶和P450侧链裂解酶(P450scc)；其他抗原包括ACTH受体、P450c21和P450c17。

[0436] 在卵巢功能早衰中，主要抗原包括但不限于FSH受体和α-烯醇化酶。

[0437] 在自身免疫性垂体炎或垂体自身免疫疾病中，主要抗原包括但不限于垂体腺特异性蛋白因子(PGSF)1a和2；另一种抗原是2型碘甲腺原氨酸脱碘酶。

[0438] 在多发性硬化症中，主要抗原包括但不限于髓鞘碱性蛋白(“MBP”)、髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(“MOG”)和髓鞘蛋白脂质蛋白(“PLP”)。

[0439] MBP(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT

P02686)：

[0440] MGNHAGKRELNAEKASTNSETNRGESEKKRNLGELSRTTSEDNEVFGEADANQNN GTSSQDTAVTDSKRTADPKNAWQDAHPADPGSRPHLIRLFSRDAPGREDNTFKDRPS ESDELQTIQEDSAATSESLDVMASQKRPSQRHGSKYLATASTMDHARHGFLPRHRD TGILDSIGRFFGGDRGAPKRGSGKDSHHPARTAHYGSLPQKSHGRTQDENPVVHFFK NIVTPRTPPPSQGKGRGLSLSRFSWGAEGQRPGFGYGGRASDYKSAHKGFKGVDAQ GTLSKIFKLGGRDSRSGSPMARR (SEQ ID NO: 20).

[0441] MOG(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT Q16653)：

[0442] MASLSRPSLPSCLCSFLLLLLLQVSSSYAGQFRVIGPRHPIRALVGDEVELPCRISPGK NATGMEVGWYRPPFSRVVHLYRNGKDQDGDQAPEYRGRTELLKDAIGEGKVTLRI RNVRFSDEGGFTCFFRDHSYQEEAAMELKVEDPFYWVSPGVLVLLAVLPVLLLQITV GLIFLCLQYRLRGKLRAEIENLHRTFDPHFLRVPCWKITLFVIVPVLGPLVALIICYNW LHRRLAGQFLEELRNPF (SEQ ID NO: 21).

[0443] PLP(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT P60201)：

[0444] MGLLECCARCLVGAPFASLVATGLCFFGVALFCGCGHEALTGTEKLIETYFSKNYQD YEYLINVIHAFQYVIYGTASFFFLYGALLLAEGFYTTGAVRQIFGDYKTTICGKGLSA TVTGGQKGRGSRGQHQAHSLERVCHCLGKWLGHPDKFVGITYALTVVWLLVFACS AVPVYIYFNTWTTCQSIAFPSKTSASIGSLCADARMYGVLPWNAFPGKVCGSNLLSIC KTAEFQMTFHLFIAAFVGAAATLVSLLTFMIAATYNFAVLKLMGRGTKF (SEQ ID NO: 22).

[0445] 用于治疗多发性硬化症的可用于本公开的组合物的肽/表位包括单独地处于如本文所公开的致耐受性组合物中或者一起处于致耐受性组合物的组合(例如混合物)中的以下序列中的一些或全部：

[0446] MBP 13-32:KYLATASTMDHARHGFLPRH(SEQ ID NO:23)；

[0447] MBP 83-99:ENPWHFFKNIVTPRTP(SEQ ID NO:24)；

[0448] MBP 111-129:LSRFSWGAEGQRPGFGYGG(SEQ ID NO:25)；

[0449] MBP146-170:AQGTLSKIFKLGGRDSRSGSPMARR(SEQ ID NO:26)；

[0450] MOG 1-20:GQFRVIGPRHPIRALVGDEV(SEQ ID NO:27)；

[0451] MOG 35-55:MEVGWYRPPFSRWHLYRNGK(SEQ ID NO:28)；和

[0452] PLP 139-154:HCLGKWLGHPDKFVGI(SEQ ID NO:29)

[0453] MOG 30-60:KNATGMEVGWYRSPFSRVVHLYRNGKDQDAE(SEQ ID NO:30)

[0454] MBP 83-99:ENPVVHFFKNIVTPRTP(SEQ ID NO:31)

[0455] MOG 35-55:MEVGWYRPPFSRVVHLYRNGK(SEQ ID NO:32)

[0456] MBP 82-98:DENPVVHFFKNIVTPRT(SEQ ID NO:33)

[0457] MBP 82-99:DENPVVHFFKNIVTPRTP(SEQ ID NO:34)

[0458] MBP 82-106:DENPVVHFFKNIVTPRTPPPSQGKG(SEQ ID NO:35)

[0459] MBP 87-106:VHFFKNIVTPRTPPPSQGKG(SEQ ID NO:36)

[0460] MBP 131-155:ASDYKSAHKGLKGVDAQGTLSKIFK(SEQ ID NO:37)

[0461] PLP 41-58:GTEKLIETYFSKNYQDYE(SEQ ID NO:38)

[0462] PLP 89-106:GFYTTGAVRQIFGDYKTT(SEQ ID NO:39)

[0463] PLP 95-116:AVRQIFGDYKTTICGKGLSATV(SEQ ID NO:40)

[0464] PLP 178-197:NTWTTCQSIAFPSKTSASIG(SEQ ID NO:41)

[0465] PLP190-209:SKTSASIGSLCADARMYGVL(SEQ ID NO:42)

[0466] MOG 11-30:PIRALVGDEVELPCRISPGK(SEQ ID NO:43)

[0467] MOG 21-40:ELPCRISPGKNATGMEVGWY(SEQ ID NO:44)

[0468] MOG64-86:EYRGRTELLKDAIGEGKVTLRIR(SEQ ID NO:45)

[0469] MOG 1-62:

[0470] GQFRVIGPRHPIRALVGDEVELPCRISPGKNATGMEVGWYRPPFSRVVHLYRNGKD QDGDQA (SEQ ID NO. 46)

[0471] MBP 76-136:

[0472] SHGRTQDENPVVHFFKNIVTPRTPPPSQGKGRGLSLSRFSWGAEGQRPGFGYGGRAS DYKSCG (SEQ ID NO: 47)

[0473] 在类风湿性关节炎中,主要抗原包括但不限于胶原蛋白II、免疫球蛋白结合蛋白、免疫球蛋白G的片段可结晶区、双链DNA,以及类风湿性关节炎病理中涉及的蛋白质的天然和瓜氨酸化(cirtullinated)形式,包括纤维蛋白/纤维蛋白原、波形蛋白、胶原蛋白I和II,以及α-烯醇化酶。

[0474] 在自身免疫性胃炎中,主要抗原为H+、K+-ATP酶。

[0475] 在恶性贫血中,主要抗原为内因子。

[0476] 在乳糜泻中,主要抗原包括但不限于组织型转谷氨酰胺酶以及天然和脱酰胺化形式的谷蛋白或谷蛋白样蛋白,如α-、γ-和ω-麦醇溶蛋白、麦谷蛋白、大麦醇溶蛋白、黑麦醇溶蛋白和燕麦蛋白。本领域的技术人员将理解,例如,虽然乳糜泻的主要抗原是α麦醇溶蛋白,但α麦醇溶蛋白通过组织谷氨酰胺酶的脱酰胺作用将α麦醇溶蛋白的谷氨酰胺转化为谷氨酸而在体内变得更具免疫原性。因此,虽然α麦醇溶蛋白最初是外源食物抗原,但是取决于实施方案,一旦其在体内被修饰变得更具免疫原性,它就可以被表征为自体抗原。

[0477] 在白癜风中,主要抗原为酪氨酸酶以及酪氨酸酶相关蛋白1和2。

[0478] MART1(由T细胞1识别的黑素瘤抗原,黑色素A,包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT Q16655):

[0479] MPREDAHFIYGYPKKGHGHSYTTAEEAAGIGILTVILGVLLLIGCWYCRRRNGYRAL MDKSLHVGTQCALTRRCPQEGFDHRDSKVSLQEKNCEPVVPNAPPAYEKLSAEQSP PPYSP (SEQ ID NO: 48).

[0480] 酪氨酸酶(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT P14679):

[0481] MLLAVLYCLLWSFQTSAGHFPRACVSSKNLMEKECCPPWSGDRSPCGQLSGRGSCQ NILLSNAPLGPQFPFTGVDDRESWPSVFYNRTCQCSGNFMGFNCGNCKFGFWGPNC TERRLLVRRNIFDLSAPEKDKFFAYLTLAKHTISSDYVIPIGTYGQMKNGSTPMFNDI NIYDLFVWMHYYVSMDALLGGSEIWRDIDFAHEAPAFLPWHRLFLLRWEQEIQKLT GDENFTIPYWDWRDAEKCDICTDEYMGGQHPTNPNLLSPASFFSSWQIVCSRLEEYN SHQSLCNGTPEGPLRRNPGNHDKSRTPRLPSSADVEFCLSLTQYESGSMDKAANFSF RNTLEGFASPLTGIADASQSSMHNALHIYMNGTMSQVQGSANDPIFLLHHAFVDSIF EQWLRRHRPLQEVYPEANAPIGHNRESYMVPFIPLYRNGDFFISSKDLGYDYSYLQD SDPDSFQDYIKSYLEQASRIWSWLLGAAMVGAVLTALLAGLVSLLCRHKRKQLPEE KQPLLMEKEDYHSLYQSHL (SEQ ID NO: 49).

[0482] 黑素细胞蛋白PMEL(gp100)(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT P40967):

[0483] MDLVLKRCLLHLAVIGALLAVGATKVPRNQDWLGVSRQLRTKAWNRQLYPEWTE AQRLDCWRGGQVSLKVSNDGPTLIGANASFSIALNFPGSQKVLPDGQVIWVNNTIIN GSQVWGGQPVYPQETDDACIFPDGGPCPSGSWSQKRSFVYVWKTWGQYWQVLGG PVSGLSIGTGRAMLGTHTMEVTVYHRRGSRSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQLR ALDGGNKHFLRNQPLTFALQLHDPSGYLAEADLSYTWDFGDSSGTLISRALVVTHT YLEPGPVTAQVVLQAAIPLTSCGSSPVPGTTDGHRPTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTT PGQAPTAEPSGTTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAESTGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMS TPEATGMTPAEVSIVVLSGTTAAQVTTTEWVETTARELPIPEPEGPDASSIMSTESITG SLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYGSFSVTLDIVQGIESAEILQAVPSGEGDAF ELTVSCQGGLPKEACMEISSPGCQPPAQRLCQPVLPSPACQLVLHQILKGGSGTYCLN VSLADTNSLAVVSTQLIMPGQEAGLGQVPLIVGILLVLMAVVLASLIYRRRLMKQDF SVPQLPHSSSHWLRLPRIFCSCPIGENSPLLSGQQV (SEQ ID NO: 50).

[0484] 在重症肌无力中,主要抗原为胆碱能受体。其他重症肌无力抗原可包括MuSK(肌肉特异性激酶)和LRP4(脂蛋白受体相关蛋白4)。

[0485] 在寻常型天疱疮和变体中,主要抗原包括但不限于桥粒芯糖蛋白3、1和4;其他抗原包括膜联蛋白、桥粒胶蛋白、斑珠蛋白、旁血小板溶蛋白(perplakin)、桥粒斑蛋白和乙酰胆碱受体。

[0486] 在大疱性类天疱疮中,主要抗原包括BP180和BP230;其他抗原包括网蛋白和层粘连蛋白5。

[0487] 在杜林疱疹样皮炎中,主要抗原包括但不限于肌内膜和组织型转谷氨酰胺酶。

[0488] 在获得性大疱性表皮松解症中,主要抗原为胶原蛋白VII。

[0489] 在系统性硬化症中,主要抗原包括但不限于基质金属蛋白酶1和3、胶原特异性分子伴侣热休克蛋白47、原纤蛋白-1和PDGF受体;其他抗原包括Scl-70、U1 RNP、Th/To、Ku、Jo1、NAG-2、着丝粒蛋白、拓扑异构酶I、核仁蛋白、RNA聚合酶I、II和III、PM-Slc、纤维蛋白和B23。

[0490] 在混合性结缔组织病中，主要抗原为U1snRNP。

[0491] 在舍格伦综合征中，主要抗原包括但不限于核抗原SS-A和SS-B；其他抗原包括胞衬蛋白、聚(ADP-核糖)聚合酶和拓扑异构酶、毒蕈碱受体和Fc-γ受体IIIb。

[0492] 在系统性红斑狼疮中，主要抗原包括核蛋白，包括“Smith抗原”、SS-A、高迁移率族蛋白1(HMGB1)、核小体、组蛋白和双链DNA(病程中针对其产生自体抗体)。

[0493] 在古德帕斯彻综合征中，主要抗原包括但不限于肾小球基底膜蛋白，包括胶原蛋白IV。

[0494] 在风湿性心脏病中，主要抗原为心肌肌球蛋白。

[0495] 在1型自身免疫性多内分泌腺体综合征中，抗原包括芳族L-氨基酸脱羧酶、组氨酸脱羧酶、半胱氨酸亚磺酸脱羧酶、色氨酸羟化酶、酪氨酸羟化酶、苯丙氨酸羟化酶、肝P450细胞色素P4501A2以及2A6、SOX-9、SOX-10、钙敏感受体蛋白以及1型干扰素(干扰素α、β和ω)。

[0496] 在视神经脊髓炎中，主要抗原为水通道蛋白-4(AQP4)。

[0497] 水通道蛋白-4(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT P55087)：

[0498] MSDRPTARRWGKCGPLCTRENIMVAFKGVWTQAFWKAVTAEFLAMLIFVLLSLGS TINWGGTEKPLPVDMVLISLCFGLSIATMVQCFGHISGGHINPAVTVAMVCTRKISIA KSVFYIAAQCLGAIIGAGILYLVTPPSVVGGLGVTMVHGNLTAGHGLLVELIITFQLV FTIFASCDSKRTDVTGSIALAIGFSVAIGHLFAINYTGASMNPARSFGPAVIMGNWEN HWIYWVGPIIGAVLAGGLYEYVFCPDVEFKRRFKEAFSKAAQQTKGSYMEVEDNRS QVETDDLILKPGVVHVIDVDRGEEKKGKDQSGEVLSSV (SEQ ID NO: 51).

[0499] 在葡萄膜炎中，主要抗原包括视网膜S-抗原或“S-抑制蛋白”和感光细胞间维生素A类结合蛋白(IRBP)或视黄醇结合蛋白3。

[0500] S-抑制蛋白(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT P10523)：

[0501] MAASGKTSKSEPNHVIFKKISRDKSVTIYLGNRDYIDHVSQVQPVDGVVLVDPDLVK GKKVYVTLTCAFRYGQEDIDVIGLTFRRDLYFSRVQVYPPVGAASTPTKLQESLLKK LGSNTYPFLLTFPDYLPCSVMLQPAPQDSGKSCGVDFEVKAFATDSTDAEEDKIPKK SSVRLLIRKVQHAPLEMGPQPRAEAAWQFFMSDKPLHLAVSLNKEIYFHGEPIPVTV TVTNNTEKTVKKIKAFVEQVANVVLYSSDYYVKPVAMEEAQEKVPPNSTLTKTLTL LPLLANNRERRGIALDGKIKHEDTNLASSTIIKEGIDRTVLGILVSYQIKVKLTVSGFL GELTSSEVATEVPFRLMHPQPEDPAKESYQDANLVFEEFARHNLKDAGEAEEGKRD KNDVDE (SEQ ID NO: 52).

[0502] IRBP(包括可用于本公开的组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT P10745)：

[0503] MMREWVLLMSVLLCGLAGPTHLFQPSLVLDMAKVLLDNYCFPENLLGMQEAIQQA IKSHEILSISDPQTLASVLTAGVQSSLNDPRLVISYEPSTPEPPPQVPALTSLSEEELLA WLQRGLRHEVLEGNVGYLRVDSVPGQEVLSMMGEFLVAHVWGNLMGTSALVLDL RHCTGGQVSGIPYIISYLHPGNTILHVDTIYNRPSNTTTEIWTLPQVLGERYGADKDV VVLTSSQTRGVAEDIAHILKQMRRAIVVGERTGGGALDLRKLRIGESDFFFTVPVSRS LGPLGGGSQTWEGSGVLPCVGTPAEQALEKALAILTLRSALPGVVHCLQEVLKDYY TLVDRVPTLLQHLASMDFSTVVSEEDLVTKLNAGLQAASEDPRLLVRAIGPTETPSW PAPDAAAEDSPGVAPELPEDEAIRQALVDSVFQVSVLPGNVGYLRFDSFADASVLGV LAPYVLRQVWEPLQDTEHLIMDLRHNPGGPSSAVPLLLSYFQGPEAGPVHLFTTYDR RTNITQEHFSHMELPGPRYSTQRGVYLLTSHRTATAAEEFAFLMQSLGWATLVGEIT AGNLLHTRTVPLLDTPEGSLALTVPVLTFIDNHGEAWLGGGVVPDAIVLAEEALDKA QEVLEFHQSLGALVEGTGHLLEAHYARPEVVGQTSALLRAKLAQGAYRTAVDLESL ASQLTADLQEVSGDHRLLVFHSPGELVVEEAPPPPPAVPSPEELTYLIEALFKTEVLPG QLGYLRFDAMAELETVKAVGPQLVRLVWQQLVDTAALVIDLRYNPGSYSTAIPLLC SYFFEAEPRQHLYSVFDRATSKVTEVWTLPQVAGQRYGSHKDLYILMSHTSGSAAE AFAHTMQDLQRATVIGEPTAGGALSVGIYQVGSSPLYASMPTQMAMSATTGKAWD LAGVEPDITVPMSEALSIAQDIVALRAKVPTVLQTAGKLVADNYASAELGAKMATK LSGLQSRYSRVTSEVALAEILGADLQMLSGDPHLKAAHIPENAKDRIPGIVPMQIPSP EVFEELIKFSFHTNVLEDNIGYLRFDMFGDGELLTQVSRLLVEHIWKKIMHTDAMIID MRFNIGGPTSSIPILCSYFFDEGPPVLLDKIYSRPDDSVSELWTHAQVVGERYGSKKS MVILTSSVTAGTAEEFTYIMKRLGRALVIGEVTSGGCQPPQTYHVDDTNLYLTIPTAR SVGASDGSSWEGVGVTPHVVVPAEEALARAKEMLQHNQLRVKRSPGLQDHL (SEQ ID NO: 53).

[0504] 在其中致耐受性抗原是可针对发展其不希望的免疫反应的外源抗原如食物抗原的实施方案中,特异性抗原包括但不限于:

[0505] 来自花生:伴花生球蛋白(Ara h 1)、变应原II(Ara h 2)、花生凝集素、羽扇豆球蛋白(Ara h 6);

[0506] 伴花生球蛋白例如具有标识为UNIPROT Q6PSU6的序列

[0507] 来自苹果:31kda主要变应原/抗病蛋白同源物(Mal d 2)、脂质转移蛋白前体(Mal d 3)、主要变应原Mal d 1.03D(Mal d 1);

[0508] 来自乳类:α-乳清蛋白(ALA)、乳运铁蛋白;来自奇异果:猕猴桃素(Act c 1,Act d 1)、植物半胱氨酸蛋白酶抑制剂、类甜蛋白(Act d 2)、kiwellin(Act d 5);

[0509] 来自蛋清:卵类粘蛋白、卵白蛋白、卵转铁蛋白和溶菌酶;

[0510] 来自蛋黄:卵黄蛋白、apovitillin和vosvetin;

[0511] 来自芥菜(mustard):2S白蛋白(Sin a 1)、11S球蛋白(Sin a 2)、脂质转移蛋白(Sin a 3)、抑制蛋白(Sin a 4);

[0512] 来自芹菜(celery):抑制蛋白(Api g 4)、高分子量糖蛋白(Api g 5);

[0513] 来自虾:Pen a 1变应原(Pen a 1)、变应原Pen m 2(Pen m 2)、原肌球蛋白快速异

构体；

[0514] 来自小麦和/或其他谷类：高分子量麦谷蛋白、低分子量麦谷蛋白、α-、γ-和ω-麦醇溶蛋白、大麦醇溶蛋白、黑麦醇溶蛋白和/或燕麦蛋白；

[0515] 用于治疗乳糜泻的可用于本公开的组合物的肽/表位包括单独地处于式(1)的组合物中或者一起处于式(1)的组合物的混合物中的以下序列中的一些或全部：

[0516] HLA-DQ-2.5相关，天然α-麦醇溶蛋白“33-mer”：

[0517] LQLQPFPQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQPQPF (SEQ ID NO: 54)

[0518] HLA-DQ-2.5相关，脱酰胺化α-麦醇溶蛋白“33-mer”：

[0519] LQLQPFPQPELPYPQPELPYPQPELPYPQPQPF (SEQ ID NO: 55)

[0520] HLA-DQ-8相关，α-麦醇溶蛋白：

[0521] QQYPSGQGSFQPSQQNPQ (SEQ ID NO: 56)

[0522] HLA-DQ-8相关，ω-麦醇溶蛋白(小麦，U5UA46)：

[0523] QPFPQPEQPFPW (SEQ ID NO: 57)

[0524] α-麦醇溶蛋白“15-mer”片段：

[0525] ELQPFPQPELPYPQP (SEQ ID NO: 58)

[0526] 麦醇溶蛋白接头：

[0527] GCRGGGPQPQPFPSQQPY (SEQ ID NO: 59)

[0528] 延长的麦醇溶蛋白：

[0529] GCGPQPQPFPSQQPYLQLQPFPQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQPQPF (SEQ ID NO: 60)

[0530] 延长的脱酰胺化麦醇溶蛋白：

[0531] GCGPQPQPFPSQQPYLQLQPFPQPELPYPQPELPYPQPELPYPQPQPF (SEQ ID NO: 61)

[0532] 来自草莓：主要草莓过敏Fra a 1-E(Fra a 1)；以及

[0533] 来自香蕉：抑制蛋白(Mus xp 1)。

[0534] 在其中抗原是针对其发展不希望的免疫反应的外源抗原(如动物、植物和环境抗原)的实施方案中，特异性抗原可例如为：猫、小鼠、狗、马、蜜蜂、粉尘、树和秋麒麟草，包括衍生自以下的蛋白质或肽：

[0535] 杂草(包括豚草(ragweed)变应原amb a 1、2、3、5和6，以及Amb t5；野苋菜(pigweed)Che a 2和5；以及其他杂草变应原Par j 1、2和3，以及Par o 1)；

[0536] 草(包括主要变应原Cyn d 1、7和12；Dac g 1、2和5；Hol I 1.01203；Lol p 1、2、3、5和11；Mer a 1；Pha a 1；Poa p 1和5)；

[0537] 来自豚草和其他杂草(包括皱叶酸模(curly dock)、灰菜(lambs quarters)、野苋菜、车前草(plantain)、羊酸模(sheep sorrel)和蒿属植物(sagebrush))、草(包括狗牙根(Bermuda)、约翰逊草(Johnson)、六月禾(Kentucky)、野茅(Orchard)、黄花草(Sweet vernal)和猫尾草(Timothy grass))和树(包括梓树(catalpa)、榆树(elm)、山核桃树(hickory)、橄榄树(olive)、美洲山核桃树(pecan)、美国梧(sycamore)和胡桃树(walnut))的花粉；

[0538] 粉尘(包括来自物种屋尘螨(Dermatophagoides pteronyssinus)的主要变应原，

如Der p 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、14、15、18、20、21和23;来自物种粉尘螨(Dermatophagoides farina),如Der f 1、2、3、6、7、10、11、13、14、15、16、18、22和24;来自物种热带无爪螨(Blomia tropicalis),如Blo t 1、2、3、4、5、6、10、11、12、13、19和21;另外来自梅氏嗜霉螨(Euroglyphus maynei)的变应原Eur m 2、来自腐食酪螨(Tyrophagus putrescentiae)的Tyr p 13,以及变应原Bla g 1、2和4;来自蟑螂(cockroach)的Per a 1、3和7);

[0539] 宠物(包括猫、狗、啮齿类和农用动物;主要猫变应原包括Fel d 1至8、猫IgA、BLa g 2和猫白蛋白;主要狗变应原包括Can f 1至6,以及狗白蛋白);

[0540] 蜂蛰伤,包括主要变应原Api m 1至12;以及

[0541] 真菌,包括衍生自曲霉属(Aspergillus)和青霉菌属(Penicillium)物种,以及物种互隔交链孢霉(Alternaria alternata)、Davidiella tassiana和红色毛癣菌(Trichophyton rubrum)的变应原。

[0542] 在帕金森氏病中,主要抗原为α突触核蛋白。α突触核蛋白(包括可用于本公开的致耐受性组合物的外源获得的形式)具有以下序列(UNIPROT P37840):

[0543] MDVFMKGLSKAKEGVVAAAEKTKQGVAEAAGKTKEGVLYVGSKTKEGVVHGVA TVAEKTKEQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGSIAAATGFVKKDQLGKNEEGAP QEGILEDMPVDPDNEAYEMPSEEGYQDYEPEA. (SEQ ID NO: 62).

[0544] 在若干实施方案中,期望耐受性的抗原是病毒抗原,例如衍生自治疗性病毒载体如腺相关病毒载体(AAV)的病毒抗原。在若干实施方案中,期望耐受性的抗原包含或者是衍生自AAV血清型2衣壳蛋白1(SEQ ID NO:63)的免疫原性片段。在若干实施方案中,期望耐受性的抗原包含或者是衍生自AAV血清型2衣壳蛋白2(SEQ ID NO:64)的免疫原性片段。在若干实施方案中,期望耐受性的抗原包含或者是衍生自AAV血清型2衣壳蛋白3(SEQ ID NO:65)的免疫原性片段。在若干实施方案中,期望耐受性的抗原包含或者是衍生自AAV血清型9衣壳蛋白1(SEQ ID NO:66)的免疫原性片段。在若干实施方案中,期望耐受性的抗原包含或者是衍生自AAV血清型9衣壳蛋白2(SEQ ID NO:67)的免疫原性片段。在若干实施方案中,期望耐受性的抗原包含或者是衍生自AAV血清型9衣壳蛋白3(SEQ ID NO:68)的免疫原性片段。

[0545] 在抗中性粒细胞胞浆抗体相关的血管炎(ANCA-V)中,主要抗原包括但不限于髓过氧化物酶(MPO)和蛋白酶-3/成髓细胞素(PR3)。在若干实施方案中,期望耐受性的抗原包含或者是衍生自成髓细胞素(SEQ ID NO:69)的免疫原性片段。在若干实施方案中,期望耐受性的抗原包含或者是衍生自髓过氧化物酶(SEQ ID NO:70)的免疫原性片段。

[0546] 抗原可为完全蛋白质、完全蛋白质的一部分、肽等,并且可以衍生化(如上所讨论)以连接至接头和/或半乳糖基化部分和/或葡糖基化部分,可以是变体和/或可以含有保守取代,特别是维持序列同一性,和/或可以去唾液酸化。

[0547] 末端单元

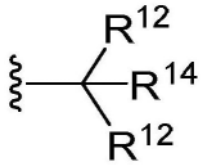
[0548] 如本文别处所公开,在若干实施方案中,抗原与接头的一端结合(例如共价地),末端单元与接头的另一端结合(例如共价地)。在若干实施方案中,如本文别处所公开,末端单元经由碳-碳键与接头连接。例如,末端单元包含与接头的碳键合的碳。在若干实施方案中,末端单元的碳(例如,与接头的碳键合)具有可用于键合至其他取代基的三个其他化合价

(例如,位置)。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的任何一个或多个其他化合价(例如位置)被独立地选自以下的取代基占据:-H、任选取代的C_{1-11}烷基、-CN、任选取代的-C(=NH)NH_2、任选取代的-C(=NH)NH(C_{1-3}烷基)、任选取代的咪唑啉、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、任选取代的C-羧基(其中R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、或任选取代的苯基)、任选取代的C-酰胺基(其中R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)、任选取代的琥珀酰亚胺酯、任选取代的异吲哚啉-1,3-二酮、任选取代的聚苯乙烯基单元、任选取代的聚丙烯酸,或者碳上的两个位置一起提供任选取代的C_{3-10}环烷基或任选取代的杂环基(具有3至10个环成员)。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的位置被-CN占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元的位置被聚合物(或部分聚合物)单元占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳上取代基的任选取代(例如,Y键合的EU碳上取代基的任选取代)在存在的情况下独立地选自C_{1-3}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}亚烷基、羟基、氨基、卤素、C-羧基(其中R为-H、C_{1-6}烷基、或聚乙二醇(PEG)(例如,具有等于或至少约1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、75、100、150、或包括和/或跨越前述值的范围的编号的重复单元))、琥珀酰亚胺酯、4-氰基戊酸2-硝基-5-(丙-2-炔-1-基氧基)苄酯、叠氮化物(N_3)、C_{1-3}烷基叠氮化物、C_{1-3}烷基硅烷(例如三甲基硅烷、三乙基硅烷、三丙基硅烷)、聚乙二醇(PEG)(例如具有等于或至少约1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、75、100、150、或包括和/或跨越前述值的范围的编号的重复单元)、和/或前述的组合。例如,在存在的情况下,接头键合的(例如Y键合的)末端单元(例如EU)碳可包含被C-羧基(其中R为H)取代的C_{1-11}烷基。在若干实施方案中,Y键合的EU碳取代基可缺乏任选的取代基,可以任选地被一个任选的取代基取代,或者可以任选地被多个(2、3、或更多个)任选的取代基取代。

[0549] 在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的位置被-CN占据。在若干实施方案中,接头键合的末端基团单元的一个或多个位置被未取代的C_{1-6}烷基占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被未取代的C_{1-11}烷基占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被C_{1-6}烷基占据,该C_{1-6}烷基被-OH、-OCH_3、C-羧基(其中R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、琥珀酰亚胺酯、4-氰基戊酸2-硝基-5-(丙-2-炔-1-基氧基)苄酯、或PEG)、或C-酰胺基(其中R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)中的一者或多者取代。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被C-羧基(其中R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、或任选地被一个或多个卤素取代的苯基)占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被C-酰胺基(其中R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被C-酰胺基(R_A和R_B独立地为-H、任选地被叠氮化物、或C_{1-6}亚烷基取代的C_{1-6}烷基)占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被-C(=NH)NH_2(任选地被C_{1-6}烷基取代)占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被任选取代的苯基占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被任选取代的杂环基占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被琥珀酰亚胺酯占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被异吲哚啉-1,3-二酮占据。在若干实施方案中,接头键合的末端单元碳的一个或多个位置被烷基硅烷占据。在若干实施方案中,任选的取代在存在的情况下

如本文别处所公开。在若干实施方案中，任选的取代在存在的情况下独立地选自卤素、-OH、-N_3、C-羧基(其中R为H或C_{1-3}烷基)。在若干实施方案中，接头键合的末端单元碳的两个位置被选自-H和甲基的基团占据。

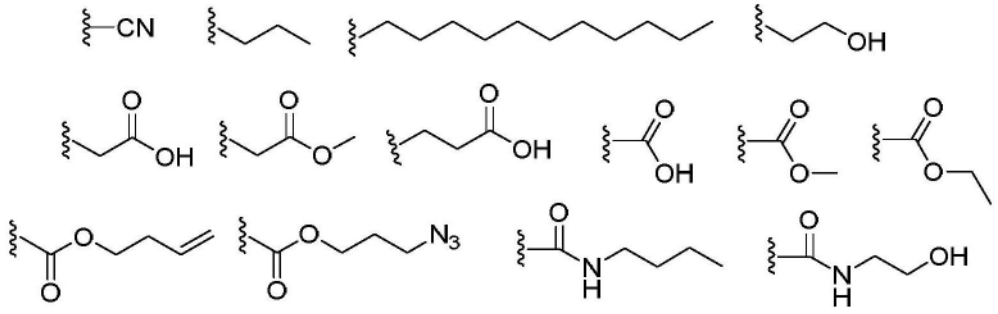
[0550] 在若干实施方案中，介于接头与末端单元之间的碳-碳键可使用式(1)描述。例如，EU经由碳-碳键与Y连接。在若干实施方案中，Y键合的EU碳的任何一个或多个其他位置被独立地选自R^{12}和R^{14}的取代基占据。在若干实施方案中，EU由(EU1)表示：

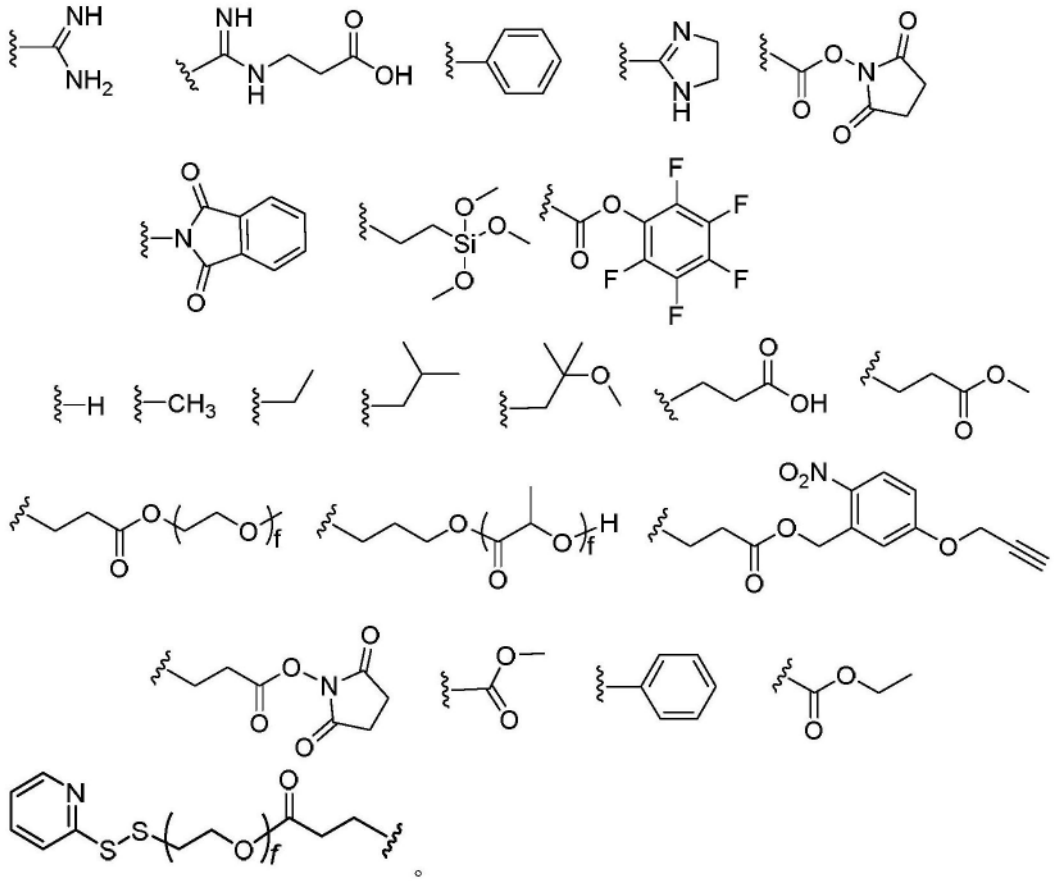
[0551] 

(EU1)

[0552] 其中变量如本文别处所公开。例如，在一些实施方案中，≋表示与Y的连接(经由构建体的Y部分的碳)；R^{14}选自任选取代的C_{1-11}烷基、-CN、任选取代的-C(=NH)NH_2、任选取代的杂环基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、C-羧基(其中R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、或任选取代的苯基)、任选取代的C-酰胺基(其中R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)、任选取代的琥珀酰亚胺酯、任选取代的异吲哚啉-1,3-二酮、烷基硅烷、任选取代的聚苯乙烯基单元、任选取代的聚丙烯酸；并且R^{12}的每个实例独立地为氢、任选取代的C_{1-6}烷基、C-羧基(其中R为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)、C-酰胺基(其中R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)，或者R^{12}的每个实例一起提供任选取代的C_{3-10}环烷基。在一些实施方案中，任选的取代在存在于EU基团取代基上(例如，R^{12}、R^{12}、或R^{14}中任一种上)的情况下独立地选自C_{1-3}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}亚烷基、羟基、氨基、卤素、C-羧基(其中R为-H、C_{1-6}烷基、或PEG)、琥珀酰亚胺酯、4-氰基戊酸2-硝基-5-(丙-2-炔-1-基氧基)苄酯、-N_3、C_{1-3}烷基叠氮化物、C_{1-3}烷基硅烷、PEG、和/或前述的组合。在若干实施方案中，R^{12}和/或R^{14}的每个实例独立地选自-H、任选取代的C_{1-11}烷基、-CN、任选取代的-C(=NH)NH_2、任选取代的-C(=NH)NH(C_{1-3}烷基)、任选取代的咪唑啉、任选取代的杂环基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基、C-羧基(其中如本文别处所定义的R为-H、任选取代的C_{1-6}烷基、任选取代的C_{1-6}亚烷基、或任选取代的苯基)、任选取代的C-酰胺基(其中如本文别处所定义的R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)、任选取代的琥珀酰亚胺酯、任选取代的异吲哚啉-1,3-二酮、烷基硅烷、任选取代的聚苯乙烯基单元、任选取代的聚丙烯酸。

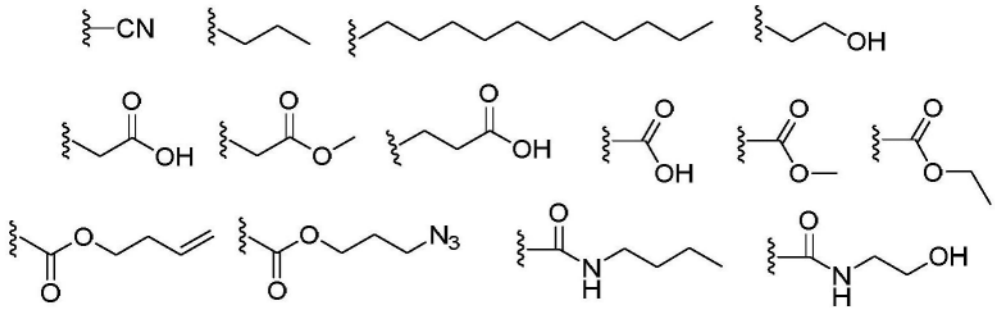
[0553] 在若干实施方案中，(EU的)R^{12}或R^{14}的任何实例可独立地选自以下：

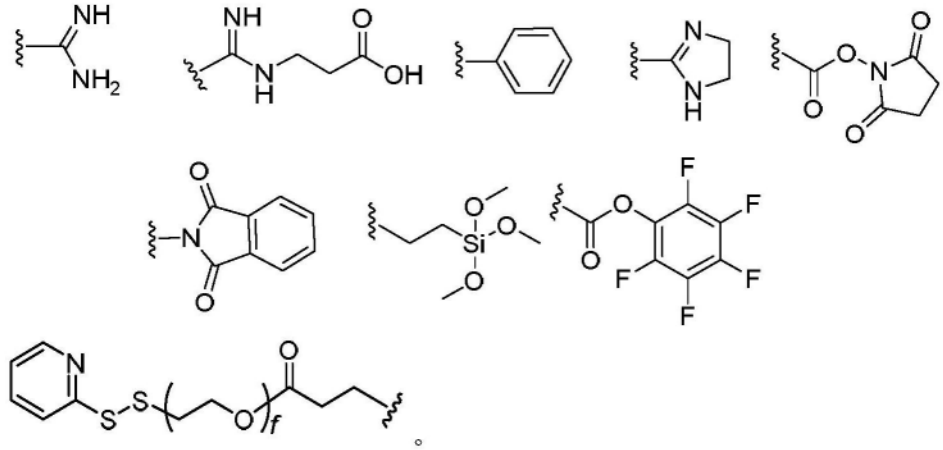
[0554] 

[0555] 

[0556] 在若干实施方案中，f在存在的情况下为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、20、40、50、100、150、200、或跨越和/或包括前述值的范围。

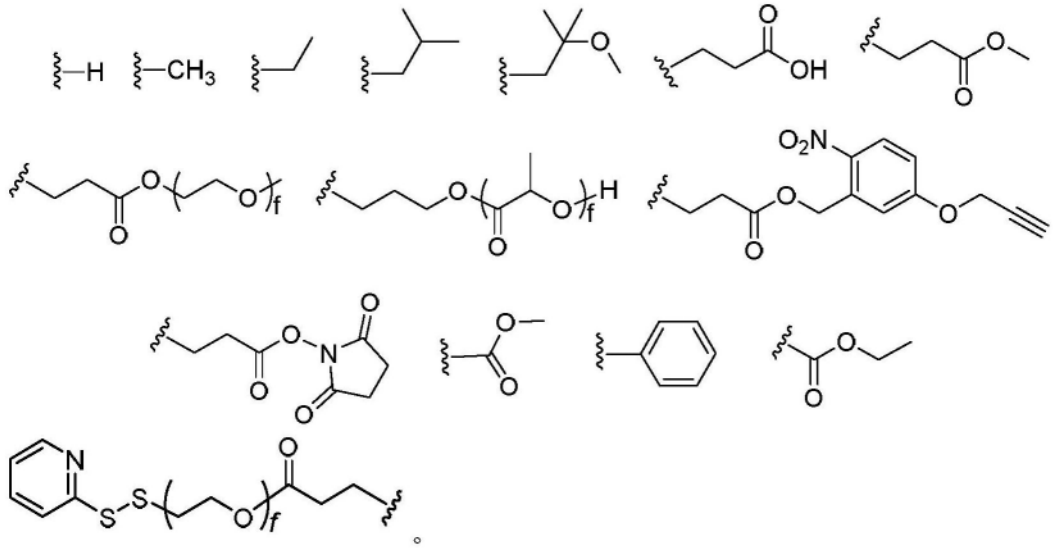
[0557] 在若干实施方案中，R^{14}的每个实例选自：



[0558] 

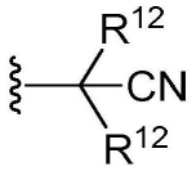
[0559] 在若干实施方案中，f在存在的情况下为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、20、40、50、100、150、200、或跨越和/或包括前述值的范围。

[0560] 在若干实施方案中，R^{12}的每个实例独立地选自：

[0561] 

[0562] 在若干实施方案中，f在存在的情况下为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、20、40、50、100、150、200、或跨越和/或包括前述值的范围。

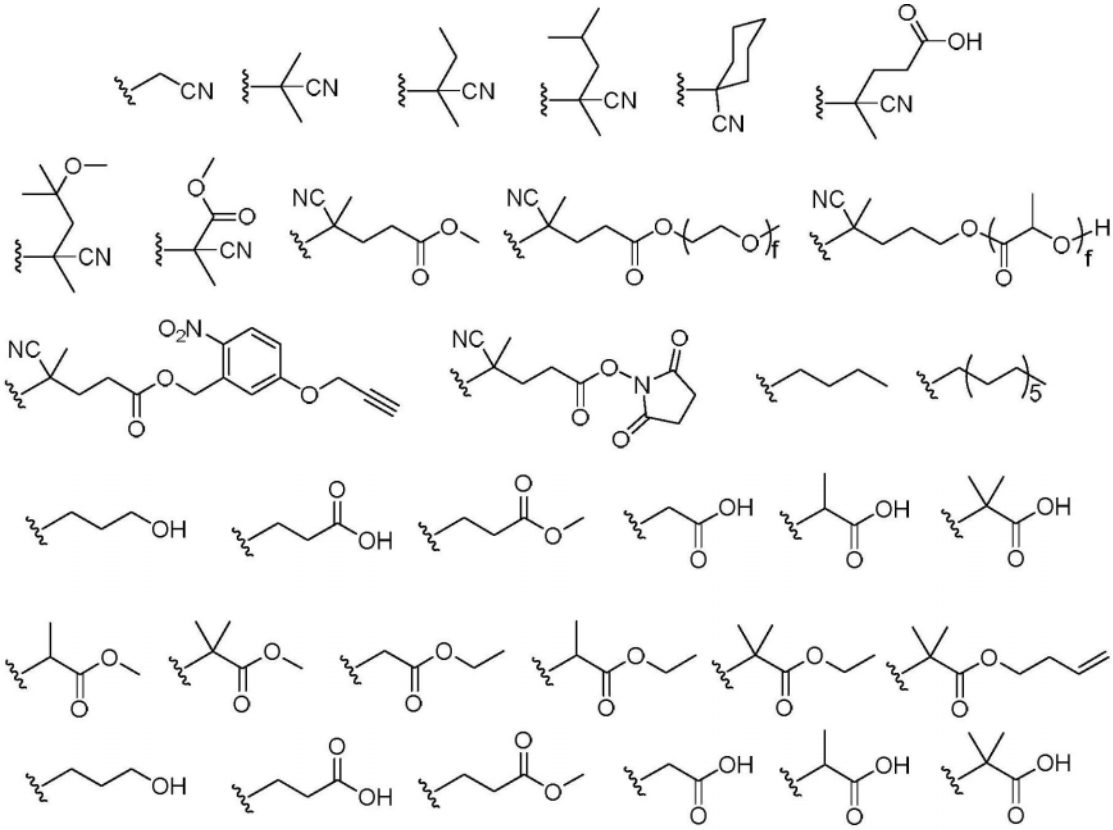
[0563] 在若干实施方案中，EU由(EU2)表示：

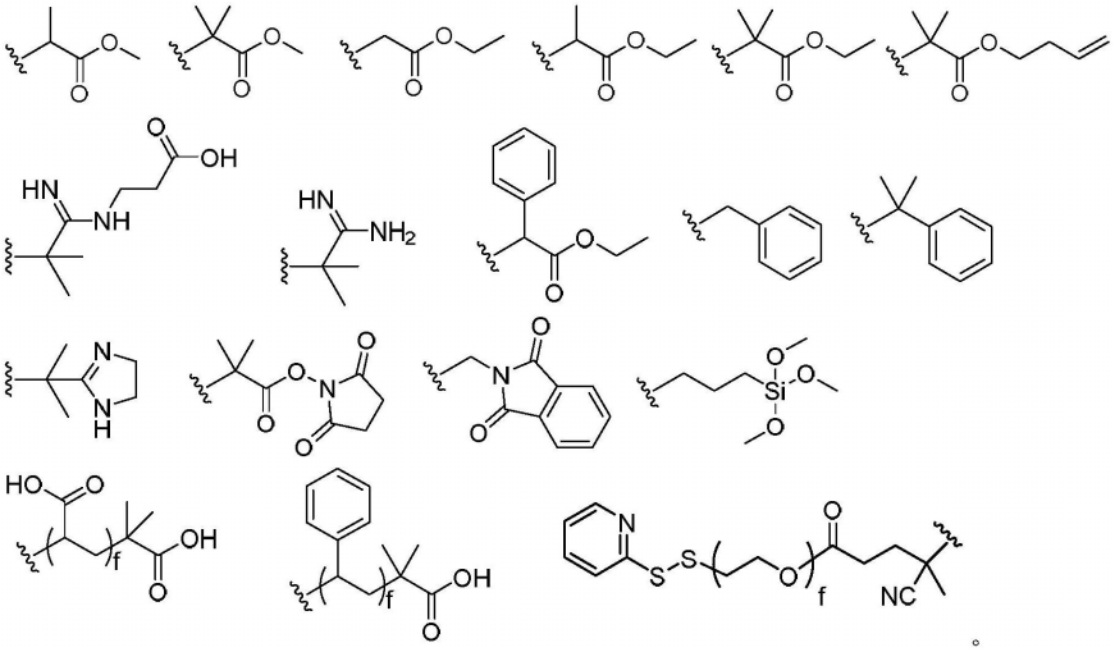
[0564] 

(EU2)

[0565] 其中变量如本文别处所公开。例如，在一些实施方案中，表示与Y的连接(经由构建体的Y部分的碳)，并且R^{12}的每个实例独立地为氢、任选取代的C_{1-6}烷基、C-羧基(其中R为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)、C-酰胺基(其中R_A和R_B独立地为-H或任选取代的C_{1-6}烷基)，或者R^{12}的每个实例一起提供任选取代的C_{3-10}环烷基。在若干实施方案中，R^{12}的每个实例独立地为氢、任选取代的烷基(例如，任选地被卤素、C-羧基、-氨基、-OH等中的一种或多种取代的C_{1-6}烷基)，或者R^{12}的每个实例一起提供任选取代的环烷基。

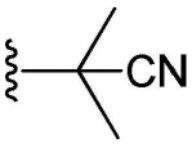
[0566] 在若干实施方案中，EU选自：

[0567] 

[0568] 

[0569] 在若干实施方案中，f在存在的情况下为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、20、40、50、100、150、200、或跨越和/或包括前述值的范围。

[0570] 在一些实施方案中，R^{14}为-CN，并且R^{12}的每个实例为-CH_3，并且EU为以下基团：

[0571] 

[0572] 在若干实施方案中，末端单元(例如EU)缺乏二硫酯(例如-S-C(=S)-)。在一些实施方案中，末端单元(例如EU)不为二硫代苯甲酸酯，末端单元(例如EU)不为三硫代碳酸酯，并且末端单元(例如EU)不为黄原酸酯。在一些实施方案中，R^2(例如RAFT残余部分)用-H替代。在若干实施方案中，末端单元不为-H。

[0573] 在若干实施方案中，如本文别处所公开，末端单元用于替代CTA残余部分。在若干实施方案中，构建体的等于或至少50％、70％、80％、90％、95％、99％、或99.9％(或跨越和/或包括前述值的范围)包含末端单元(例如EU)。在若干实施方案中，CTA残余部分的小于或等于30％、25％、20％、15％、10％、5％、1％、或0.1％(或跨越和/或包括前述值的范围)在其被(例如被末端单元)替代之后保留在构建体上。

[0574] 若干实施方案涉及包含构建体的组合物(例如药物组合物)，其中CTA残余部分已被完全移除，基本上移除，或部分移除。若干实施方案涉及包含构建体的组合物(例如药物组合物)，其中CTA残余部分被末端单元替代。在若干实施方案中，组合物包含化合物，其中CTA残余部分的等于或至少50％、70％、80％、90％、95％、99％、或99.9％(或跨越和/或包括前述值的范围)从构建体移除。在若干实施方案中，组合物中构建体的等于或至少50％、70％、80％、90％、95％、99％、或99.9％(或跨越和/或包括前述值的范围)包含末端单元(例如EU)。在若干实施方案中，组合物中构建体的等于或至少50％、70％、80％、90％、95％、99％、或99.9％(或跨越和/或包括前述值的范围)缺乏CTA残余部分。在若干实施方案中，CTA残余部分的小于或等于30％、25％、20％、15％、10％、5％、1％、或0.1％(或跨越和/或包括前述值的范围)在CTA残余部分被(例如被末端单元)替代之后保留在组合物的构建体上。在若干实施方案中，CTA残余部分的等于或至少50％、70％、80％、90％、95％、99％、或99.9％(或跨越和/或包括前述值的范围)从组合物的构建体移除。

[0575] 诱导耐受性的方法

[0576] 本文还提供了诱导对抗原的耐受性的方法，该抗原在单独施用(例如，没有本发明公开的组合物)时将导致不良免疫反应。在若干实施方案中，本文所提供的组合物用于治疗、预防、减少或以其他方式改变抗原的免疫反应。在若干实施方案中，免疫反应已经或正在以持续的方式发生，而在一些实施方案中，组合物的治疗和使用是以预防性的方式。例如，在一些实施方案中，施用(例如给受试者)在暴露于抗原之前、之后、或之前和之后执行。在若干实施方案中，在暴露之前施用起到预防效应，其在若干实施方案中基本上避免或显著减少免疫反应。组合物的施用可以经由多种方法，包括但不限于静脉内、输注、肌内、口服、透皮、皮内、或其他施用途径。在若干实施方案中，组合物例如通过全身或局部途径(例如，静脉内、动脉内、局部、肌内、皮下等)以治疗有效量递送。施用可以在不太频繁或基本上等于每年、每月、每天、每周、每天多次、或根据需要(例如，在预期暴露之前)的时间点执行。

[0577] 在一些实施方案中，提供了根据式(1)的组合物用于治疗或预防因暴露于抗原所致的不希望的效应的用途。在一些实施方案中，该方法涉及施用根据式(1)的一种或多种化合物，该化合物包含一种或多种抗原、其致耐受性部分、其片段、或其模拟物。本文所公开的组合物适于结合这样的用途施用于受试者，例如通过口服、IV、IM、或其他合适的途径。在若干实施方案中，本文公开的组合物的用途出乎意料地导致对所关注抗原的不良免疫反应的减少、消除或改善。

[0578] 在若干实施方案中，所施用的组合物的量是足以导致诱导所关注抗原特异性T细

胞的克隆缺失和/或失能的量。在若干实施方案中，组合物被构造成主要靶向肝细胞和/或LSEC。在若干实施方案中，组合物被构造成诱导调节性T细胞的某些群体或亚群体的扩增。例如，在若干实施方案中，诱导$CD4^+CD25^+FOXP3^+$调节性T细胞。

[0579] 在一些实施方案中，治疗针对抗原的不希望的免疫反应的方法通过向需要这样的治疗的哺乳动物(例如，患者或受试者)施用有效量的包含如本文所公开的式(1)的化合物的组合物来实现。在一些这样的方法中，可施用组合物以用于清除特异性地结合抗原部分X的循环蛋白或肽或抗体，该循环蛋白或肽或抗体成因地涉及移植排斥、针对治疗剂的免疫反应、自身免疫疾病、超敏反应和/或变态反应。可将组合物以有效地使患者血液中抗体的浓度降低至少50重量/重量%的量施用，该抗体成因地涉及移植排斥、针对治疗剂的免疫反应、自身免疫疾病、超敏反应和/或变态反应，如在施用后约12至约48小时的时间所测量。可施用组合物以使患者对抗原部分(例如X)耐受。

[0580] 本文所述的药物组合物可以本身地，或者以它们与其他活性成分(如组合疗法中)、或载体、稀释剂、赋形剂、或它们的组合混合的药物组合物施用于人类患者。适当的制剂取决于所选择的施用途径。本文所述的化合物的配制和施用技术是本领域的技术人员已知的。

[0581] 本文所公开的药物组合物可以以本身已知的方式制造，例如借助于常规的混合、溶解、制粒、制糖衣丸、研细、乳化、胶囊包封、包埋、或压片工艺。另外，活性成分以有效实现其预期目的的量包含在内。本文所公开的药物组合中使用的许多化合物可以作为具有药学上相容的抗衡离子的盐提供。

[0582] 本领域中存在多种施用化合物、盐和/或组合物的技术，包括但不限于口服、直肠、肺部、局部、气雾剂、注射、输注和肠胃外递送，包括肌内、皮下、静脉内、髓内注射、鞘内、直接心室内、腹膜内、鼻内和眼内注射。在若干实施方案中，可以将式(1)的化合物、或其药学上可接受的盐静脉内施用。

[0583] 组合物可根据需要存在于分配器装置中，该分配器装置可含有一个或多个含活性成分的单位剂型。分配器装置可附有施用说明书。分配器也可附有与容器相关的通知，其形式由调控药物的制造、使用或销售的政府机构规定，该通知反映了机构对用于人类或兽药施用的药物形式的批准。例如，此类通知可为美国食品和药物管理局(U.S.Food and Drug Administration)批准用于处方药的标签或批准的产品插页。还可以制备可包括以相容的药物载体配制的本文所述的化合物和/或盐的组合物，将其置于适当的容器中，并用标签标明用于指示病症的治疗。

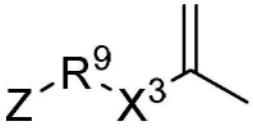
[0584] 在若干实施方案中，将组合物(例如药学上可接受的组合物)以单位剂量提供。在若干实施方案中，治疗方法包括向患者或受试者施用单位剂量。在若干实施方案中，单位剂量包括1μg/kg至10mg/kg的致耐受性构建体(例如，包含靶向部分、接头和期望耐受性的抗原的如本文所公开的组合物)/受试者体重。在若干实施方案中，每次以单一剂量施用的致耐受性构建体/体重等于或小于：约10μg/kg、约50μg/kg、约75μg/kg、约0.1mg/kg、约0.2mg/kg、约0.5mg/kg、约0.75mg/kg、约1.0mg/kg、约1.5mg/kg、约2.0mg/kg、约2.5mg/kg、约4.0mg/kg、约5.0mg/kg、10.0mg/kg、或跨越和/或包括前述值的范围。在一些实施方案中，施用的致耐受性构建体的量是小于或等于10、5、2、1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、0.001、或0.0005mg/kg体重的单位剂量。在若干实施方案中，提供了给药方案，其中受试者接受至少

一个剂量的根据本文所公开的实施方案的组合物。在若干实施方案中，受试者接受至少两个、至少三个、至少四个、至少五个或更多个剂量的根据本文所公开的实施方案的组合物。在若干实施方案中，以小于或等于先前剂量的浓度提供给定的后续剂量。例如，当接受第二剂量时，如果第一剂量的浓度为0.5mg/kg，则第二剂量可以以约0.25mg/kg提供。在额外的实施方案中，剂量随时间推移保持恒定。取决于潜在的免疫反应(或可能的免疫反应)的严重程度，剂量任选地随时间推移逐步增加。

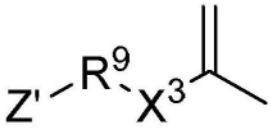
[0585] 制造方法

[0586] 一些实施方案涉及制造致耐受性化合物(例如，式(1)和/或(1')的化合物)和/或用于合成其的任何中间体和/或前体化合物的方法。在一些实施方案中，使一种或多种单体(例如丙烯酸类)聚合以提供(例如W^1和W^2的)嵌段共聚物、梯度共聚物、无规共聚物、或它们的混合物。在一些实施方案中，单一单体(例如W^1或W^3)用于制备均聚物。在一些实施方案中，合成构建体(例如$[Y(-Z)_p]_m$-EU)的接头和靶向部分，并且经由二硫键或经由二硫烷基乙酯与抗原(例如X)偶联。在一些实施方案中，合成构建体(例如$[Y(-Z)_p]_m$-EU)的接头和靶向部分，并且经由酰胺或酯偶联(例如，利用来自接头的胺或醇和来自抗原的羧酸，或者利用来自抗原的胺或醇和来自接头的羧酸)与抗原(例如X)偶联。在一些实施方案中，抗原(例如X)用含炔烃取代基官能化，并且经由Y的侧基式叠氮键与构建体(例如$[Y(-Z)_p]_m$-EU)的接头的一部分和靶向部分偶联。在一些实施方案中，抗原(例如X)用反应性基团官能化，并且W^1和/或W^2聚合物或共聚物从X的反应性基团上生长。在一些实施方案中，提供了W^1和W^2的各种聚合度。在一些实施方案中，聚合度(例如W^1和/或W^2单元的数目)等于或至少约10、30、50、100、150、200、250、300、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，聚合度出乎意料地增加本文所公开的构建体的致耐受性效应。

[0587] 在若干实施方案中，制备含丙烯酰基单体。在一些实施方案中，含丙烯酰基单体用肝靶向剂官能化(例如，如下所显示)。

[0588] 

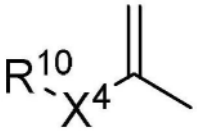
(MZ1)



(MZ2)

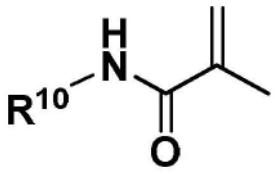
[0589] 其中变量如本文别处所公开。在一些实施方案中，含丙烯酰基单体包含靶向剂的前体(例如，保护的肝靶向部分)。前体在以上显示为Z'。在一些实施方案中，Z'可为保护的肝靶向部分(如实施例中化合物8上所显示的OAc保护的糖)。在一些实施方案中，X^3和R^9如本文别处所公开。

[0590] 在一些实施方案中，丙烯酰基单体没有用靶向剂(例如，肝靶向剂)官能化。未经肝靶向剂官能化的丙烯酰基单体的实施方案如下所显示，其中X^4和R^{10}如本文别处所公开。

[0591] 

(M1)

[0592] 在一些实施方案中，未经肝靶向剂官能化的丙烯酰基单体如下(其中R^{10}如本文别处所公开)：

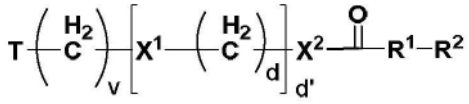
[0593] 

(M2)

[0594] 在一些实施方案中，使未经肝靶向剂官能化的一个或多个丙烯酰基单体与经肝靶向剂官能化的一个或多个丙烯酰基单体(和/或经肝靶向剂前体官能化的丙烯酰基)共聚。在一些实施方案中，未经肝靶向剂官能化的一个或多个丙烯酰基单体充当经肝靶向剂官能化的一个或多个丙烯酰基单体的间隔基。在一些实施方案中，采用间隔基可以增大或减小肝靶向功效。在若干实施方案中，通过改变间隔基丙烯酰基单元和非间隔基丙烯酰基单元来调节构建体的肝靶向功效。在若干实施方案中，通过改变靶向(例如肝靶向)丙烯酰基单元的间隔来调节构建体的肝靶向功效。在一些实施方案中，经肝靶向剂官能化的一个或多个丙烯酰基单体可以包含半乳糖基化和/或葡糖基化丙烯酰基单体。

[0595] 在一些实施方案中，在可逆加成断裂链转移(RAFT)聚合中，使用可逆加成断裂链转移剂(例如RAFT试剂)来聚合丙烯酰基单体。在一些实施方案中，RAFT试剂用吡啶二硫物(PDS)封端。在一些实施方案中，RAFT试剂用羧酸封端。在若干实施方案中，聚合在引发剂存在下执行。

[0596] 在一些实施方案中，RAFT试剂用不同的端基封端。在一些实施方案中，RAFT试剂是如由RAFT式(1)所显示的结构：

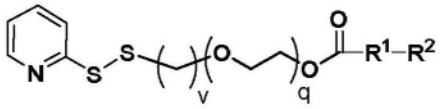
[0597] 

RAFT 式(1)

。

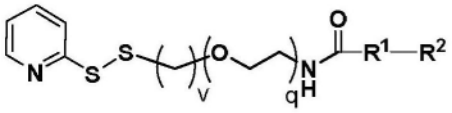
[0598] 其中变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，T为末端基(例如，PDS、马来酰亚胺、乙烯砜、碘乙酰基、NHS酯、或羧酸、或对生物缀合呈反应性的任何基团)，R^2为官能团I-IV中的任一者，X^1和X^2独立地选自-NR^6-、-NR^6H、-O-和-OH，并且R^1和v如本文别处所公开。例如，在若干实施方案中，R_1为-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-或-CH(CH_3)-。例如，如本文别处所公开，在若干实施方案中，v为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中，d和d'独立地为大于或等于约以下整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中，R^6为H或任选取代的C_{1-6}烷基。在X^2为-OH的情况下，X^1和T不存在，并且v、d和d'各自为0。在其中抗原在聚合物部分的ω侧偶联的若干实施方案中，T可定义为EU(如本文别处所公开)。在其中抗原在聚合物部分的ω侧偶联的若干实施方案中，EU(如本文别处所公开)可由RAFT试剂提供。

[0599] 在一些实施方案中，RAFT式(1)试剂(例如RAFT试剂)可表示为以下结构之一：

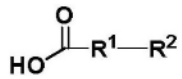


RAFT 式(1a)

[0600]



RAFT 式(1b)



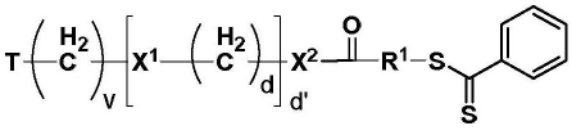
RAFT 式(1c)

。

[0601] 在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。例如，如本文别处所公开，在若干实施方案中，q为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。如本文别处所公开，在若干实施方案中，v为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，R_1为-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-或-CH(CH_3)-。

[0602] 在一些实施方案中，式(1)的RAFT试剂为如由RAFT式(1d)(其中R^2为DTB)表示的结构：

[0603]

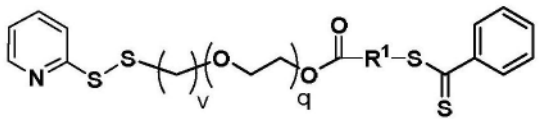


RAFT 式(1d)

。

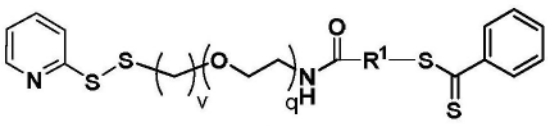
[0604] 在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，例如，T为末端基或不存在(例如PDS、马来酰亚胺、乙烯砜、碘乙酰基、NHS酯、或羧酸)，X^1和X^2独立地选自-NR^6-、-NR^6H、-O-和-OH，并且R^1和v如本文别处所公开。例如，在若干实施方案中，R_1为-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-或-CH(CH_3)-。例如，如本文别处所公开，在若干实施方案中，v为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中，其中v为0，d'为0，并且X^2为OH，T不存在。在一些实施方案中，d和d'独立地为大于或等于约以下整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。在一些实施方案中，R^6为H或任选取代的C_{1-6}烷基。在X^2为-OH的情况下，X^1和T不存在，并且v、d和d'各自为0。

[0605] 在一些实施方案中，RAFT式(1)试剂可表示为以下结构之一：

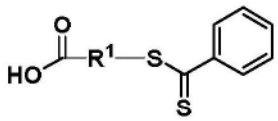


RAFT 式(1e)

[0606]



RAFT 式(1f)



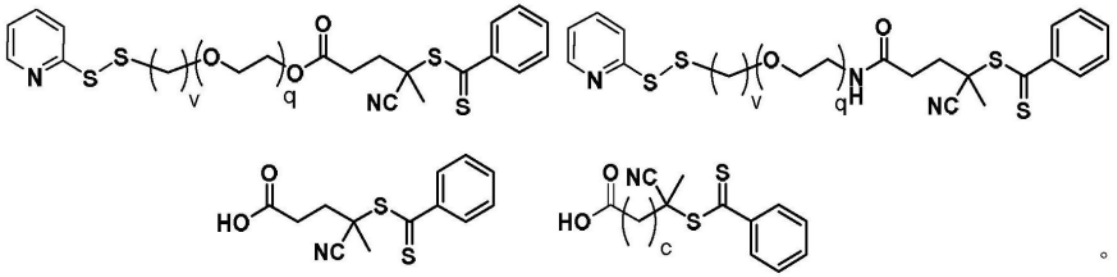
RAFT 式(1g)

。

[0607] 在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在一些实施方案中，q、v和R^1如本文

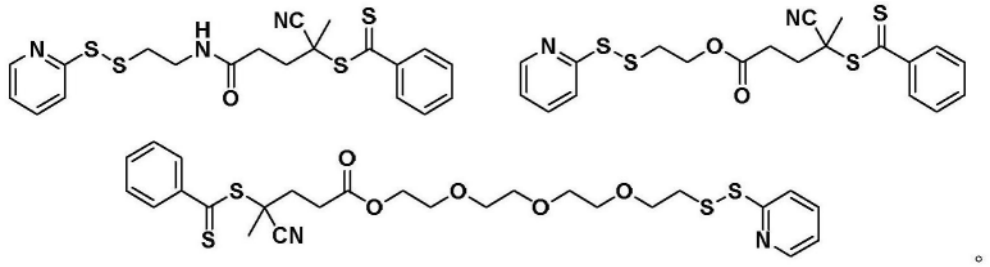
别处所公开。例如，如本文别处所公开，在若干实施方案中，q为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，R_1为-CH_2-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CN)-、-$(CH_2)_2$-C(CH_3)(CH_3)-、-$(CH_2)_2$-CH(CH_3)-或-CH(CH_3)-。

[0608] 在一些实施方案中，RAFT式(1)结构可表示为以下之一(其中q和v如本文别处所公开)：

[0609] 

[0610] 在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，c为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、15、20、40、50、75、100、150或包括和/或跨越前述值的范围。

[0611] 在一些实施方案中，RAFT式(1)结构可表示为以下之一：

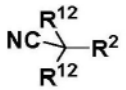
[0612] 

[0613] 在若干实施方案中，如本文别处所公开，抗原与构建体的ω侧结合。在其中抗原与构建体的ω侧结合的若干实施方案中，末端单元可作为RAFT试剂的一部分提供。在一些实施方案中，RAFT试剂是由RAFT式(1h)表示的结构：

[0614] EU-R^2

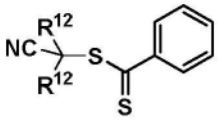
[0615] RAFT式(1h)。

[0616] 其中EU如本文别处所定义。在一些实施方案中，RAFT试剂(例如式(1a)的RAFT试剂)是由RAFT式(1i)表示的结构：

[0617] 

RAFT 式(1i)

[0618] 其中变量的每个实例如本文别处所定义。在一些实施方案中，RAFT试剂(例如式(1h)的RAFT试剂)是由RAFT式(1j)表示的结构(其中R^2为DTB)：

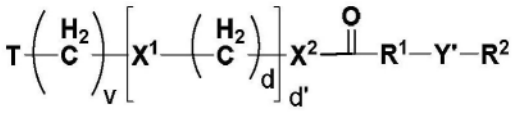
[0619] 

式(1j)

[0620] 在一些实施方案中，将经一种或多种不同肝靶向剂官能化的一种或多种丙烯酰基

单体与RAFT试剂混合，以使丙烯酰基单体聚合成聚合物。例如，可以将N-乙酰半乳糖胺官能化单体与N-乙酰葡糖胺官能化单体和RAFT试剂混合。在一些实施方案中，将经肝靶向剂官能化的丙烯酰基单体(或者经一种或多种不同肝靶向剂官能化的不同类型的单体)与未经肝靶向剂官能化的一种或多种丙烯酰基单体和RAFT试剂混合，以形成如本文别处所公开的肝靶向单元和间隔基单元的共聚物。在一些实施方案中，将未经靶向剂官能化的丙烯酰基单体(或者未经肝靶向剂官能化的一种或多种不同类型的单体)与RAFT试剂混合，以使未经靶向剂官能化的丙烯酰基单体聚合成聚合物。在一些实施方案中，未经肝靶向剂官能化的丙烯酰基单体可在聚合后通过使其与例如反应性肝靶向剂反应来用肝靶向剂官能化(参见例如化合物4)。在其中肝靶向剂在聚合后加入的一些实施方案中，反应性肝靶向剂可以由一个或多个保护基保护，所述保护基可以在聚合物链官能化后移除。

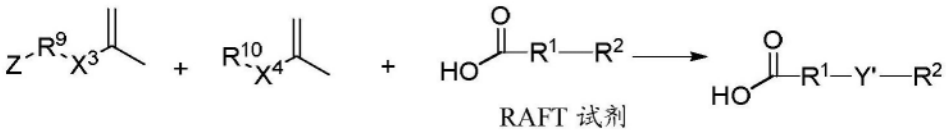
[0621] 在一些实施方案中，一种或多种丙烯酰基单体和RAFT试剂(例如RAFT式1)形成如下所显示的聚合物(如式(2a))：

[0622] 

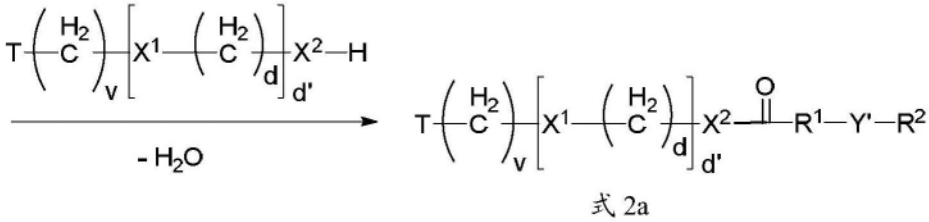
式(2a)

[0623] 其中T、v、d、d'、X^1、X^2、R^1和Y'如本文别处所公开。在一些实施方案中，例如，Y'为W^1和W^2的无规共聚物、梯度共聚物、或嵌段共聚物，如本文别处所公开。显示一种或多种基于丙烯酰基的单体与RAFT试剂的反应的路线的实施方案在以下显示。在一些实施方案中，R^2封端的聚合物的羧酸可进一步用例如官能化试剂官能化，以提供额外的官能化聚合物，如以下路线中所显示：

[0624] 路线：



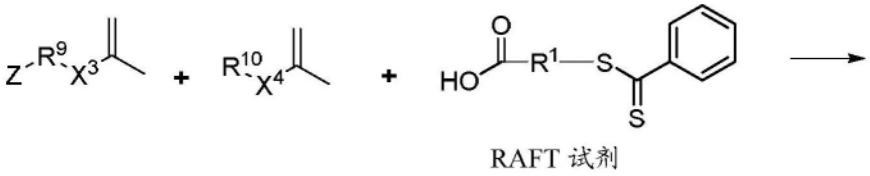
RAFT 试剂

[0625] 

式 2a

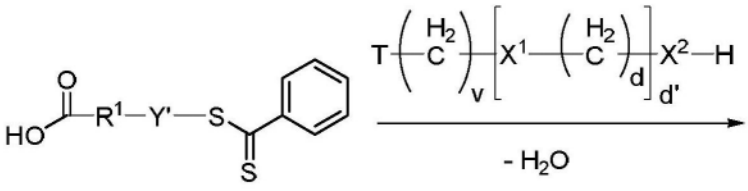
[0626] 其中变量如本文别处所公开。在一些实施方案中，DTB封端的聚合物的羧酸可进一步用例如官能化试剂官能化，以提供额外的官能化聚合物，如以下路线中所显示：

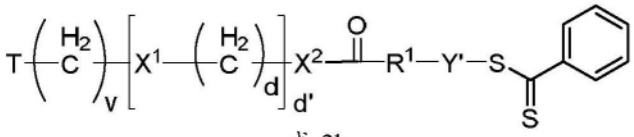
[0627] 路线：



RAFT 试剂

[0628]

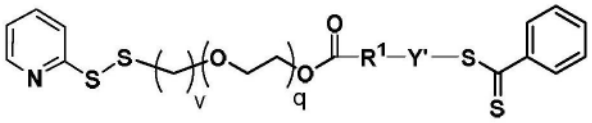




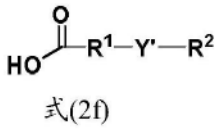
式 2b

[0629] 其中T、v、d、d'、X^1、X^2、R^1和Y'如本文别处所公开。如本文别处所指出，在一些实施方案中，RAFT试剂可以用PDS或另选地羧酸(例如作为T)封端。显示一种或多种基于丙烯酰基的单体与羧酸酯封端的RAFT试剂的反应的反应路线的实施方案在以上显示。如还在上述路线中注意到，羧酸酯可以在聚合后用活化基团(例如，其可替代地提供为PDS、马来酰亚胺、乙烯砜、NHS酯、或碘乙酰基)封端。

[0630] 在一些实施方案中，一种或多种丙烯酰基单体和RAFT试剂的反应提供了如下聚合物结构(式(2c)至(2f))：

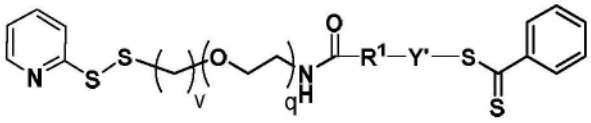


式(2c)

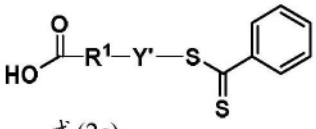


式(2f)

[0631]



式(2d)

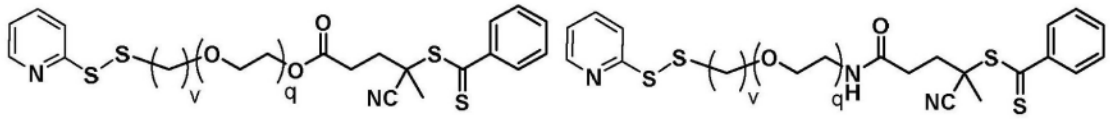


式(2e)

[0632] 其中v、q、R^1、R^2和Y'如本文别处所公开。

[0633] 在一些实施方案中，以下结构可用作RAFT试剂：

[0634]



[0635] 其中q和v如本文别处所公开。

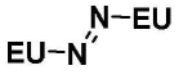
[0636] 在其中提供ω端抗原构建体的若干实施方案中，一种或多种丙烯酰基单体和RAFT试剂(例如RAFT式(1a))形成如下所显示的聚合物：

[0637] EU——Y′——R^2

[0638] 式(2g)

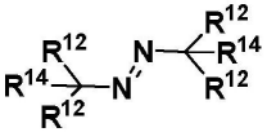
[0639] 其中变量如本文别处所公开。

[0640] 在一些实施方案中，R^2（例如二硫代苯甲酸酯基团(DTB)等）可以使用如下所显示(式(3))的含偶氮化合物与EU交换：

[0641] 

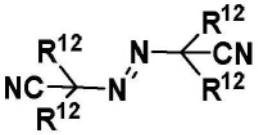
式(3)

[0642] 其中EU如本文别处所公开。在一些实施方案中，R^2（例如二硫代苯甲酸酯基团(DTB)等）可以使用如下所显示的含偶氮化合物(式(3a))与末端单元交换：

[0643] 

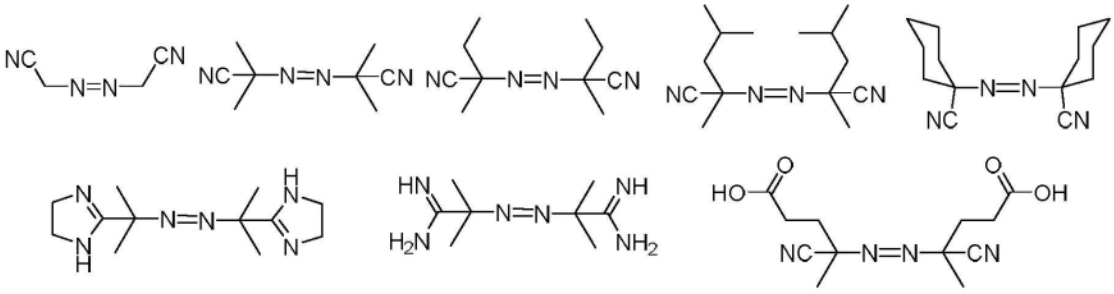
式(3a)

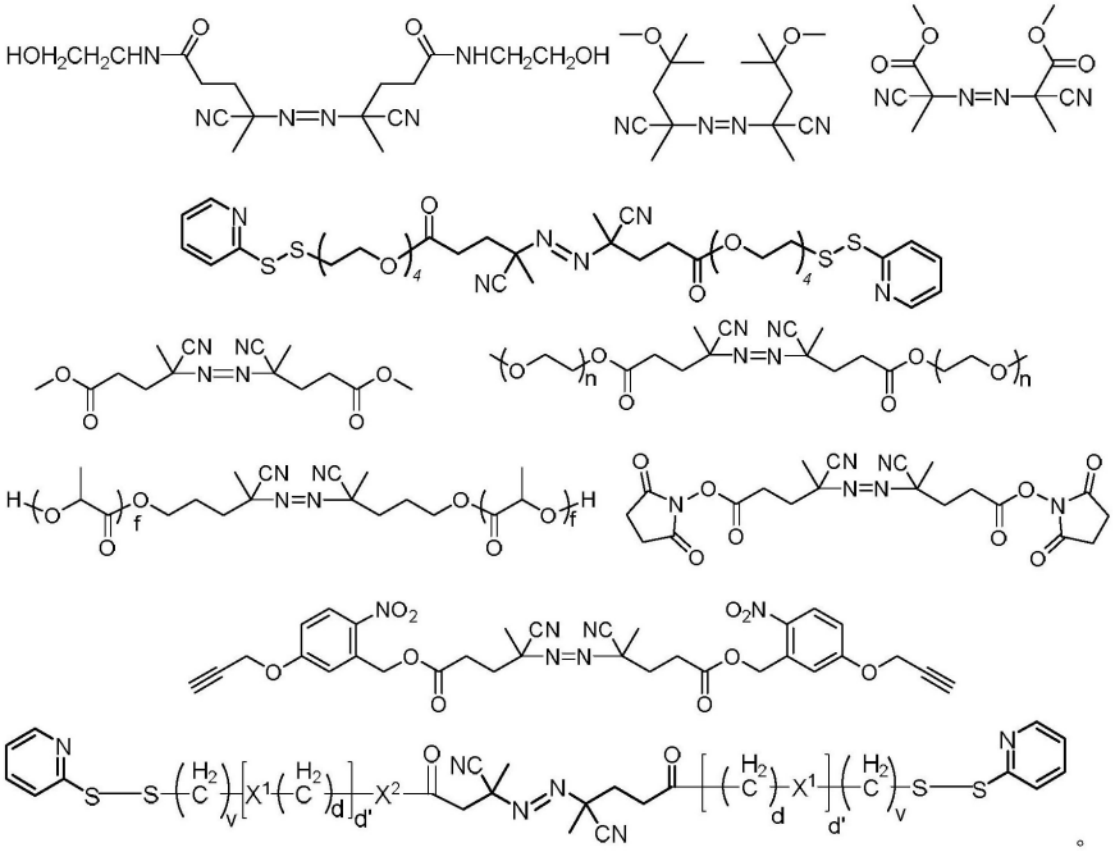
[0644] 其中R^{14}和R^{12}如本文别处所公开。在若干实施方案中，式(3)由式(3a)表示。在若干实施方案中，R^2用末端单元替代，以提供α端抗原构建体。在其他实施方案中，在制备ω端抗原构建体的情况下，R^2可以用具有官能单元(例如反应性端部单元)的基团替代。官能单元可进一步通过添加抗原(例如，其中抗原提供在聚合物的ω侧)而被官能化，以提供致耐受性构建体。在若干实施方案中，R^2基团(例如二硫代苯甲酸酯基团(DTB))可通过与各种末端单元如亲核试剂、烷基硼烷、烷基硅烷、热以及其他自由基源反应进行交换。在一些实施方案中，末端单元是偶氮腈的反应产物，如下所显示：

[0645] 

式(3b)

[0646] 在若干实施方案中，(例如式(3)或式(3a)或(3b)的)含偶氮化合物可由选自以下的结构表示：

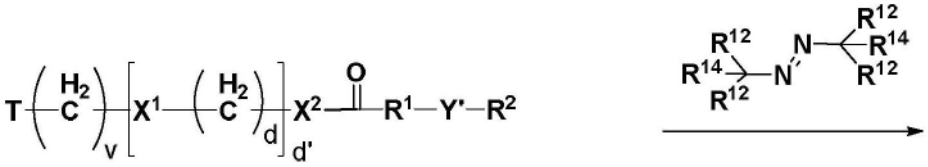
[0647] 

[0648] 

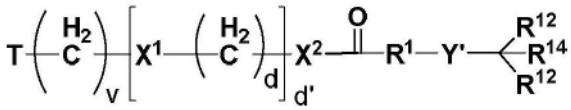
[0649] 其中变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，f、v、d、d'在存在的情况下独立地为大于或等于约以下的整数：0、1、2、3、4、5、10、20、40、50、100、150、200、或跨越和/或包括前述值的范围。

[0650] 在一些实施方案中，例如R^2基团(具有硫酯和/或芳基(例如DTB基团)等)通过与以上(例如式(3)的)结构之一反应进行的交换出乎意料地导致了改善的聚合物特性，包括但不限于改善的稳定性。可用于提供α端抗原构建体的示例性反应路线如下所示：

[0651] 路线：

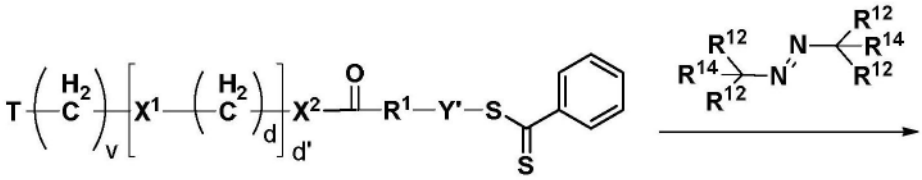


[0652]

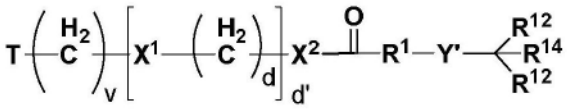


R^2替换路线

[0653] 路线：

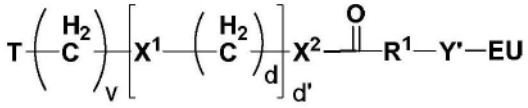


[0654]



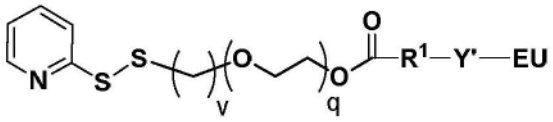
DTB 替换路线

[0655] 在若干实施方案中,变量如本文别处所公开。可执行这些合成,以提供例如以下结构:

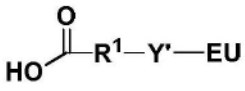


式(4)

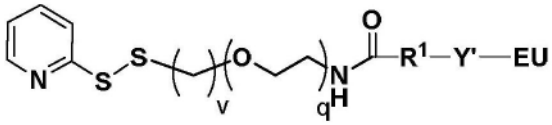
[0656]



式(4a)

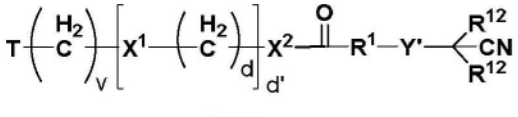


式(4b)

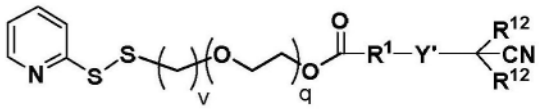


式(4c)

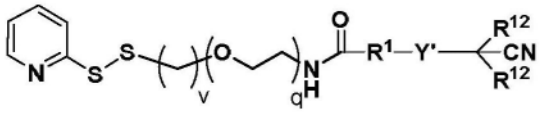
[0657]



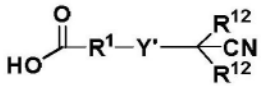
式(4d)



式(4e)

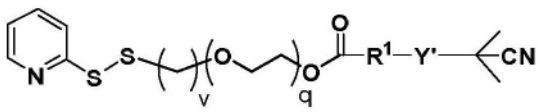


式(4f)

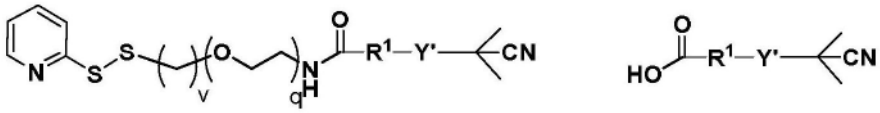


式(4g)

[0658] 其中变量如本文别处所公开。在一些实施方案中,偶氮二烷基腈为异丁腈(IBN),并且每个R^{12}为甲基。在一些实施方案中,DTB封端的聚合物与偶氮二异丁睛(AIBN)或另一种IBN供体基团反应,以提供IBN封端的聚合物,如此处所显示:



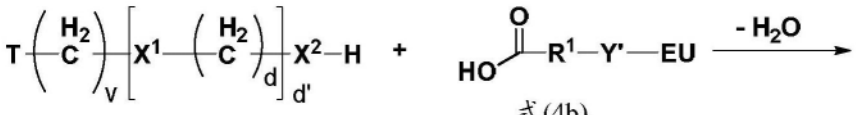
[0659]



[0660] 在一些实施方案中,羧酸封端的聚合物(以下路线中所显示)可以用例如PDS试剂

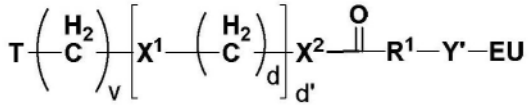
进一步官能化，以提供额外的官能化聚合物：

[0661] 路线：



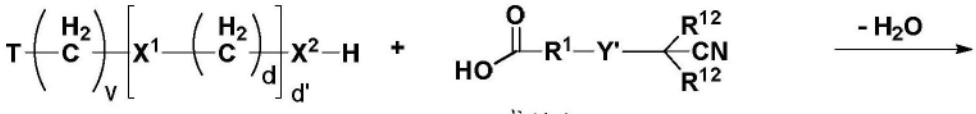
式(5a) 式(4b)

[0662]



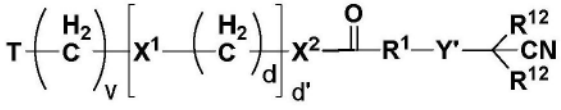
式(4)

[0663] 路线：



式(5a) 式(4g)

[0664]



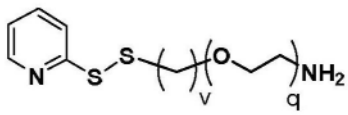
式(4d)

[0665] 在若干实施方案中，变量如本文别处所公开。在其中T提供羧酸基团的若干实施方案中，可以使用以下PDS官能化试剂：



式(5a) 式(5b)

[0666]

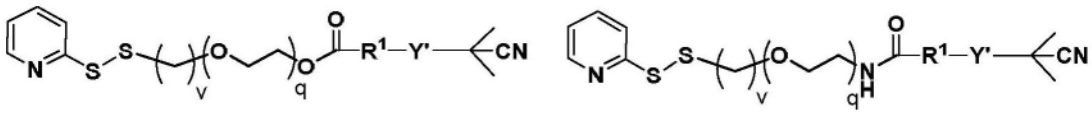


式(5c)

[0667] 其中变量如本文别处所公开。

[0668] 在一些实施方案中，可以通过该反应提供以下结构：

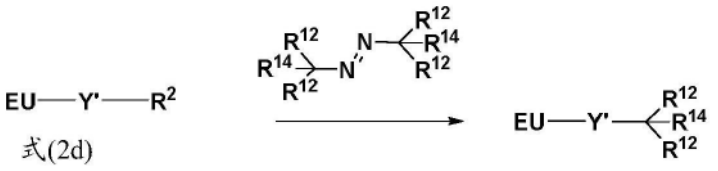
[0669]



[0670] 其中q和v如本文别处所公开。

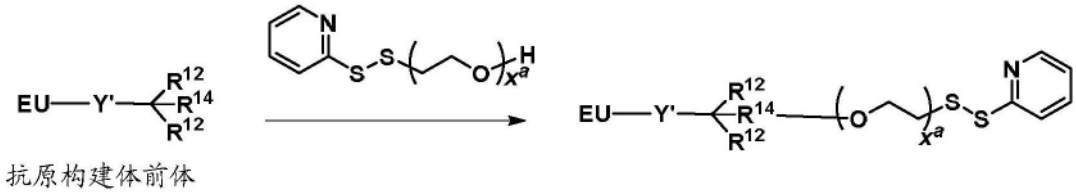
[0671] 在若干实施方案中，如本文别处所公开，R^2可以用具有官能团的基团替代。该官能团可进一步与抗原反应，以提供ω端抗原构建体。可用于提供ω端抗原构建体的示例性反应路线在以下显示，其中R^{12}或R^{14}包含反应性基团(并且提供抗原构建体前体)：

[0672] 路线：

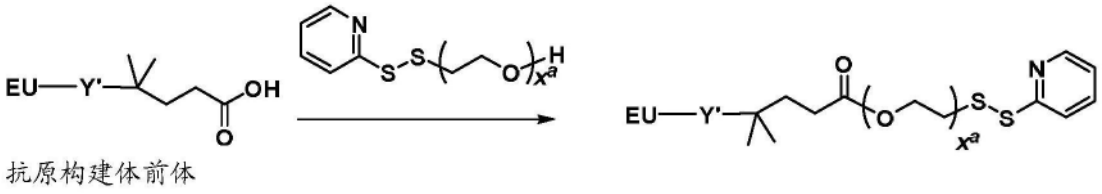
[0673] 

[0674] 其中变量如本文别处所公开。在若干实施方案中，抗原构建体前体可以用含PDS实体或二硫烷基乙酯的前体官能化。然后，可以使含PDS实体和/或二硫烷基乙酯的前体反应以提供ω端抗原构建体(如以下反应路线所展示)：

[0675] 路线：

[0676] 

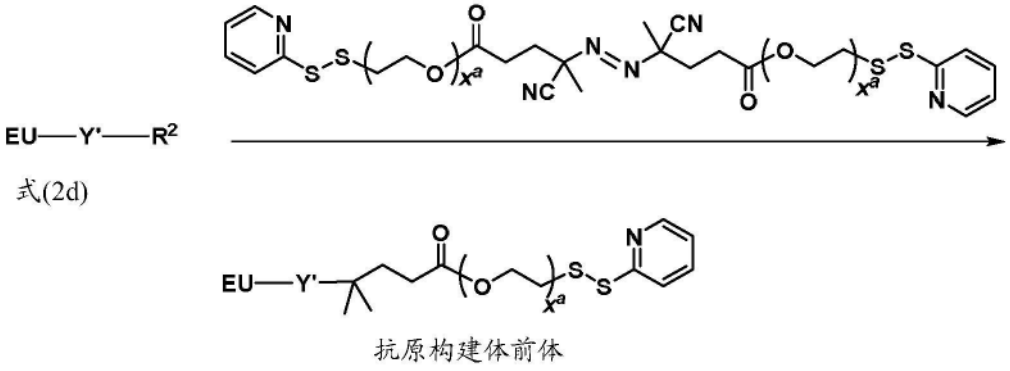
[0677] 其中变量如本文别处所公开，并且x^a为0、1、2、3、4、5、10、15、20、或44。在若干实施方案中，抗原构建体前体由以下结构表示，并且含PDS实体如下形成。

[0678] 

[0679] 其中变量如本文别处所公开。

[0680] 在若干实施方案中，抗原构建体前体包含含PDS实体，如由以下合成路线所显示：

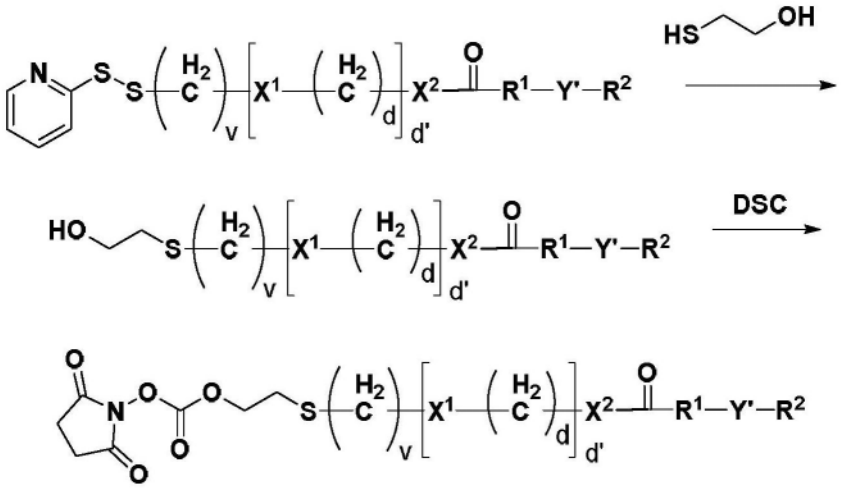
[0681] 路线：

[0682] 

。

[0683] 在若干实施方案中，在具有PDS基团(其包含硫代吡啶)的实施方案中，硫代吡啶可以用具有硫醇官能团的抗原替代，以提供(例如式(1)的)构建体。在若干实施方案中，在具有PDS基团的实施方案中，硫代吡啶可以用巯基C_2-C_6烷醇(例如2-巯基乙醇)替代，以提供可酰胺官能化前体(例如，经由抗原的胺而与抗原结合的接头)。以下展示(使用2-巯基乙醇)和(例如式2，其中T为PDS)：

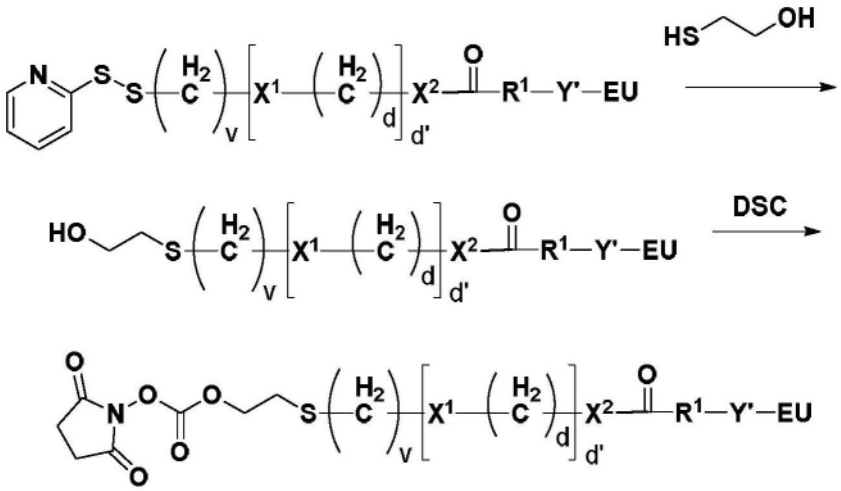
[0684] 路线：



[0685]

[0686] 其中变量如本文别处所述。在若干实施方案中，使用N,N′-二琥珀酰亚胺基碳酸酯(DSC)加入NHS酯。在若干实施方案中，NHS酯通过与抗原混合被替代，以提供式(1)的结构。在若干实施方案中，可以执行以下步骤中的一个或多个(使用2-巯基乙醇且例如其中T为PDS)：

[0687] 路线：



[0688]

[0689] 其中变量如本文别处所述。在若干实施方案中，NHS酯通过与抗原混合被替代，以提供式(1)的结构。

[0690] 在若干实施方案中，增加的(或改变的)聚合度出乎意料地增加了本文所公开的构建体的致耐受性效应。在若干实施方案中，增加的聚合度增加了T细胞失能的诱导以及与靶细胞的结合。在若干实施方案中，本文所公开的构建体的一种或多种特性出乎意料地增加了致耐受性效应、T细胞失能的诱导、与靶细胞的结合、和/或其他特性。

[0691] 在若干实施方案中，抗原与全长接头(例如包含接头、末端单元和靶向剂)缀合。在若干实施方案中，接头为硫醇反应性接头。在若干实施方案中，硫醇反应性接头包含与抗原的硫醇反应的反应性二硫化物，以提供二硫键(例如，介于抗原与接头之间)。在若干实施方案中，接头为胺反应性接头。在若干实施方案中，胺反应性接头包含与抗原的胺反应以提供与接头的缀合的官能团。在若干实施方案中，胺反应性接头包含被抗原的胺替代以提供抗原与接头之间的键(例如，酰胺键、氨基甲酸酯、碳酰二胺等)的N-羟基琥珀酰亚胺。在若干实施方案中，胺反应性接头与含胺抗原之间的连接提供了二硫烷基乙酯键。

[0692] 改善的稳定性

[0693] 在若干实施方案中，如本文别处所公开，包含具有与接头的碳键(和/或缺乏二硫酯)的末端单元的构建体与含二硫酯的构建体(或者含三硫代碳酸酯和黄原酸酯的那些)相比具有令人惊奇地改善的稳定性。在若干实施方案中，通过使用缺乏二硫酯基团的末端单元，并且/或者通过利用作为使用二硫酯封端的接头与偶氮化合物(例如双偶氮化合物)之间的反应的反应产物和/或使用该反应产生的构建体，稳定性得到改善。在若干实施方案中，所得的反应产物的稳定性(相对于含二硫酯的构建体而言)增强约2％、5％、约10％、约15％、约20％、或约25％。

[0694] 例如，在储存(例如，在室温下处于缓冲溶液中)约10天的时段之后，如由HPLC所测量，对应于如本文所公开的完整构建体的峰在220nm处损失不超过其面积的约1％。或者，在储存(例如，在室温下处于缓冲溶液中)约10天的时段之后，如由HPLC所测量，对应于包含二硫酯基团的完整构建体的峰在220nm处损失其面积的约2％。在储存(例如，在室温下处于缓冲溶液中)约20天的时段之后，如由HPLC所测量，对应于如本文所公开的完整构建体的峰在220nm处损失不超过其面积的约1％。或者，在储存(例如，在室温下处于缓冲溶液中)约20天的时段之后，如由HPLC所测量，对应于包含二硫酯的完整构建体的峰在220nm处损失其面积的约6％。在储存(例如，在室温下处于缓冲溶液中)约28天的时段之后，如由HPLC所测量，对应于如本文所公开的完整构建体的峰在220nm处损失不超过其面积的约2％。或者，在储存(例如，在室温下处于缓冲溶液中)约28天的时段之后，如由HPLC所测量，对应于包含二硫酯的完整构建体的峰在220nm处损失其面积的约10％。在若干实施方案中，缓冲溶液包含10mM乙酸钠，含有274mM山梨糖醇，化合物浓度为1mg/mL(pH为约5至5.5)。在一些实施方案中，温度为23-27℃。

[0695] 在若干实施方案中，就抗原特异性免疫耐受的诱导而言，这样的稳定性的增加导致了本文所公开的组合物的功能改善(例如，功效增加)。例如，在若干实施方案中，因为构建体降解更少，每单位剂量向患者递送更多的抗原。在若干实施方案中，改善的稳定性导致了组合物在体内改善的寿命。在若干实施方案中，改善的稳定性允许更快速、更有效、更稳健、或以其他方式改善的对抗原的耐受性的诱导。

[0696] 在若干实施方案中，如本文所公开的构建体(例如缺乏二硫酯的那些)在各种条件(例如，在储存期间、加速的降解条件等)下显示改善的稳定性。在若干实施方案中，在60℃的温度下，在还原条件(10mM还原型谷胱甘肽)下PBS溶液(pH 7.2)中，1mg/mL浓度的如本文所公开的构建体在大于或等于约以下的时段后显示小于10％降解(例如，HPLC中产物峰的面积损失等)：48小时、1周、一个月、2个月、6个月、9个月、12个月、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，在60℃的温度下，在还原条件(10mM还原型谷胱甘肽)下HEPES缓冲盐水溶液(pH 8.04)中，1mg/mL浓度的如本文所公开的构建体在大于或等于约以下的时段后显示小于10％降解：48小时、1周、一个月、2个月、6个月、9个月、12个月、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，在室温下PBS溶液(pH 7.2)中，1mg/mL浓度的如本文所公开的构建体在大于或等于约以下的时段后显示小于10％降解：48小时、1周、一个月、2个月、6个月、9个月、12个月、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，在HEPES缓冲盐水溶液(pH 8.04)中，1mg/mL浓度的如本文所公开的构建体在大于或等于约以下的时段后显示小于10％降解：48小时、1周、一个月、2个月、6个月、9个月、12个月、或包括和/或

跨越前述值的范围。在若干实施方案中，在10mM乙酸钠、274mM山梨糖醇溶液中，1mg/mL浓度的如本文所公开的构建体在大于或等于约以下的时段后显示小于10％降解：48小时、1周、一个月、2个月、6个月、9个月、12个月、或包括和/或跨越前述值的范围。

[0697] 在若干实施方案中，不含二硫酯的实施方案(相对于包含二硫酯的化合物)的稳定性在给定的时间段内改善了等于或至少约：1.0％、2.5％、5％、10％、15％、20％、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，在5、10、14、20、15、28天或更长的时段内，不含二硫酯的实施方案以降低的速率降解，例如，它们的稳定性下降了小于或等于约：0.1％、0.5％、1.0％、2.0％、2.5％、5％。在若干实施方案中，稳定性测试可以使用实施例11中所提供的条件执行。在若干实施方案中，稳定性测试可以在等于或至少约以下的时段内执行：7天、14天、28天，或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，稳定性测试可以使用包含乙酸钠缓冲液的溶液执行。在若干实施方案中，稳定性测试可以使用包含山梨糖醇的溶液执行。在若干实施方案中，稳定性测试可以使用pH为约5的水溶液执行。在若干实施方案中，稳定性测试可以在约23-27℃的温度下执行。在一些实施方案中，测试使用肽浓度为1mg/mL(pH为约5)的10mM乙酸钠和274mM山梨糖醇的溶液执行。在一些实施方案中，测试在23-27℃下14天或28天的时段内执行。在若干实施方案中，在14天或28天的时段内，不含二硫酯的实施方案(相对于包含二硫酯的化合物)的稳定性改善了等于或至少约：1.0％、2.5％、5％、10％、15％、20％、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中，肽浓度可指抗原浓度(例如，当分解离开构建体时)或构建体浓度。

[0698] 以下更详细描述的各种研究提供了额外的证据：根据本文的若干实施方案，本文所公开的组合物和方法可用于诱导抗原特异性免疫耐受。

[0699] 实施例

[0700] 在以下实施例中更详细地公开了额外的实施方案，其不旨在以任何方式限制权利要求的范围。方法和材料表示可如何制备本文所公开的化合物的非限制性实施方案。

[0701] 材料和仪器.

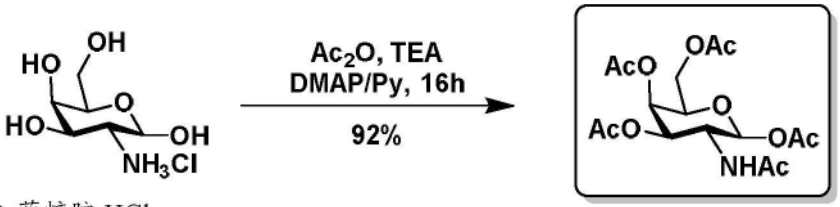
[0702] 此处公开了示例性的供应商和仪器。除非另外指明，试剂购自Sigma-Aldrich。二氯甲烷(试剂级)、2-丙醇(ACS级)和N,N-二甲基甲酰胺(试剂级)获自Fisher Scientific。丙酮(试剂级)获自BDH。甲醇(试剂级)获自EMD Millipore。二氯甲烷(无水)获自Acros Organics。吡啶获自VWR。N,N-二甲基甲酰胺(HPLC级)和乙酸乙酯(HPLC级)获自Honeywell。N,N-二甲基甲酰胺(无水)获自Millipore。D-半乳糖胺HCl获自Carbosynth。甲基丙烯酰氯获自BTC。乙酸酐、4-二甲氨基吡啶、二甘醇胺、二硫基联吡啶、NaOMe(30重量/重量％于MeOH中)、硫代乙酸钾、三乙胺、四甘醇和溴化锂(无水)获自Alpha Aesar。1,2-DCE、分子筛、Amberlite IR120(H+)树脂、D-葡糖胺HCL、N,N’-二环己基碳二亚胺、乙醇胺、4-乙基苯-1-磺酰氯、碳酸钾、三甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯(TMSOTf)、2,2′-偶氮双(2-甲基丙腈)(AIBN，重结晶，99％纯度)、4,4′-偶氮双(4-氰基戊酸)(ACVA，98.0％纯度)、N,N′-二琥珀酰亚胺基碳酸酯、2-巯基乙醇、4-硝基苯基氯甲酸酯、BCN-NHS和人胰岛素蛋白获自Sigma Aldrich。4-氰基-4-(硫代苯甲酰硫基)戊酸获自Strem Chemical。11-叠氮基-3,6,9-三氧杂十一烷醇、NHS-DTP(SPDP)和S-DBCO-胺获自BroadPharm。DIBO-OH获自AstaTech,Inc。HS-PEG2K-NH_2 HCl获自Jenchem。2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙醇获自Synnovator,Inc。卵白蛋白(EndoGrade)获自Worthington Biochemical Corporation。除非另外指明，所有试剂直接

使用,而无需进一步纯化。除非另行指出,所有反应在氮气气氛下执行。

[0703] 仪器.使用激发至399.85MHz的Varian 400光谱仪或者激发至499.9MHz的Varian 500光谱仪,获得^{1}H-和^{13}C-NMR光谱。在25℃下分析所有NMR光谱,并针对残余溶剂峰进行评价。凝胶渗透色谱法(GPC)在维持于50℃的配备有Shimadzu RID20A差示折光计检测器的Shimadzu Prominence i-Series Plus仪器上执行。GPC固定相是维持于50℃的经苯乙烯-二乙烯基苯树脂填充的单个Shodex KD-804尺寸排阻柱。GPC流动相是HPLC级N,N-二甲基甲酰胺(Honeywell),含有25mM溴化锂(Alpha Aesar),流速为1.0mL/分钟。液相色谱-质谱法(LC-MS)在配备有Phenomenex Luna C-8 3μ30×2.0mm柱的Waters单四极TOF光谱仪上执行。LC-MS流动相为含有0.1%甲酸的水-乙腈梯度,流速为0.7mL/分钟。阳离子交换色谱法(CEX)和尺寸排阻色谱法(SEC)在ÄKTA纯25L色谱系统上执行。对于CEX,固定相为单一GE Healthcare 1.0mL HiTrap Sp高效柱。CEX流动相为20mM乙酸钠,pH 4.2,梯度为0-100%的20mM乙酸钠pH 4.2,含有1.0M NaCl,流速为1.0mL/分钟。对于SEC,固定相为单一GE Healthcare HiLoad 16/600Superdex 200pg(16mm×600mm)柱。SEC流动相为1.0MPBS缓冲液(pH 7.4),流速为1.0mL/分钟。SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)在Bolt 12%Bis-Tris蛋白凝胶(Invitrogen,1.0mm×12-孔)(23分钟,180V,20X Bolt MES SDS PAGE运行缓冲液,pH 7.0)上执行。凝胶用Coomassie SimplyBlue SafeStain(Life Technologies)染色。在Applied Biosystems Voyager-DE Pro仪器上以正线性模式获得基质辅助激光脱附-电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)光谱。经由2,5-二羟基苯甲酸(DHB)基质分析所有的MALDI样品。使用PBS作为流动相以及GE HiLoad 16/600Superdex200制备级柱,在GE Healthcare life sciencesÄKTApure 25L系统上进行尺寸排阻色谱法(SEC)。

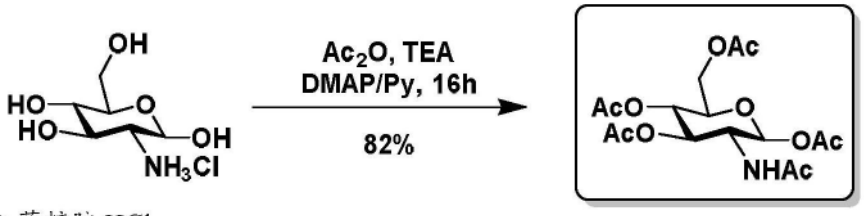
[0704] 实施例1:单体的化学合成

[0705] 以下提供了合成用于制备如本文所公开的某些实施方案的各种单体的示例性程序。

[0706] 

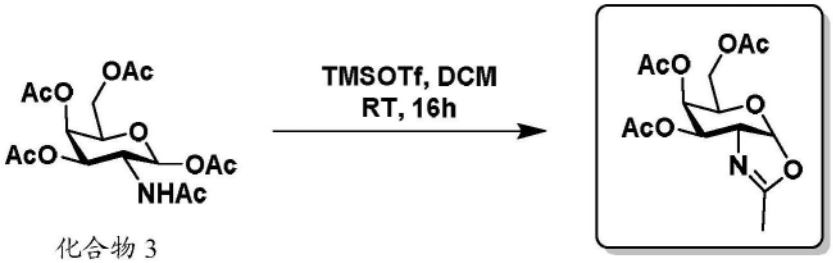
D-葡糖胺 HCl 化合物 3

[0707] 半乳糖胺五乙酸酯(3).使D-半乳糖胺HCl(6.73g,31.2mmol)悬浮于吡啶(30mL)和乙酸酐(22mL,0.23mol)中。使烧瓶在冰浴中冷却至0℃,并且将DMAP和三乙胺装入混合物中。允许烧瓶的内容物在N_2气氛下温热至室温。在搅拌16小时之后,将反应混合物用EtOAc稀释,此时额外的固体很明显。在烧结玻璃滤器上通过过滤收集固体产物3,并且置于高真空(11.23g,92%)中。该材料由NMR确定足够纯,并且直接用于下一程序步骤中。

[0708] 

D-葡糖胺 HCl 化合物 3'

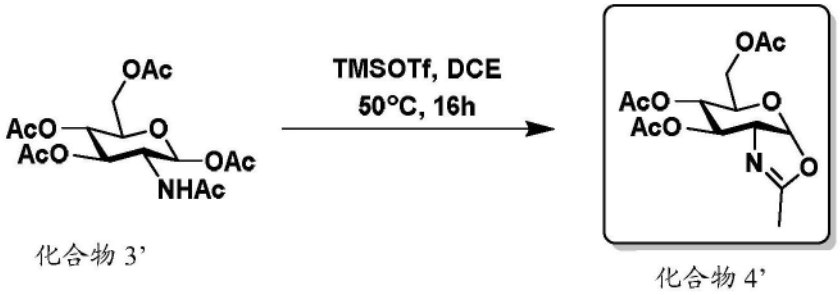
[0709] 葡糖胺五乙酸酯(3')．使D-葡糖胺HCl(20g,92.7mmol)悬浮于吡啶(125mL)中。添加乙酸酐(123mL,1.3mol)，然后添加催化量的DMAP和三乙胺(13mL,93mmol,1当量)。反应混合物变成浅黄色，有极少白色固体沉淀。在N_2气氛下于室温继续搅拌。TLC分析显示反应完成，并且将混合物通过玻璃滤器过滤，以移除一些白色固体(推测为盐)。将滤液用乙酸乙酯稀释，用饱和$NaHCO_3$和盐水洗涤，经Na_2SO_4干燥，过滤并浓缩。将粗制材料溶解于沸腾的无水EtOH(350mL)中，冷却至室温并置于冷冻机中16小时。在布氏漏斗上收集白色固体并用冷EtOH洗涤。使母液浓缩，重结晶并在高真空下干燥(29.2mg,82%)。

[0710] 

化合物 3 化合物 4

[0711] 三乙酰基D-半乳糖噁唑啉(4)．在配备有搅拌棒的烧瓶中，在N_2气氛下使半乳糖胺五乙酸酯3(21.86g,56mmol)溶解于无水二氯甲烷(40mL)中。将12.2mL(1.2当量,67mmol)的TMSOTf添加到反应混合物中，并在室温下继续搅拌16小时。通过TLC分析(70%EtOAc:Hex)确认反应完成。将反应溶液通过倾注到饱和$NaHCO_3$水溶液/冰混合物中猝灭，然后搅拌30分钟。然后分离反应混合物，并用DCM萃取水层两次。将合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤，并在真空下浓缩，得到呈粗制油状物的4(18.4g)。化合物4无需进一步纯化即用于下一步骤。

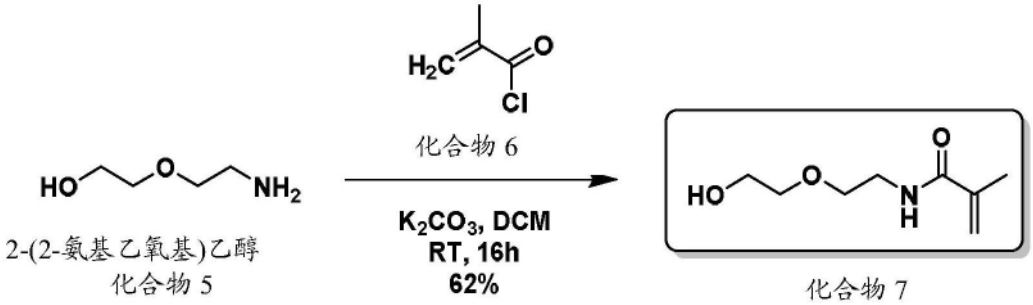
[0712] 或者，以下程序用于提供4(例如，2-甲基-(3,4,6-三-O-乙酰基-1,2-二脱氧-α-D-吡喃半乳糖)[1,2-d]-1,3-噁唑啉)。使D-半乳糖胺五乙酸酯15(2.0g,5.15mmol)溶解于二氯乙烷(DCE)(20mL)中。然后，添加三甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯(TMSOTf)(1mL,5.53mmol)，并将混合物在50℃下搅拌9小时。然后，将混合物从热中移除并搅拌7小时。在室温下，将三乙胺(2mL)添加到混合物中。然后，将混合物用饱和$NaHCO_3$溶液洗涤，然后用硫酸钠干燥。然后过滤有机相，并且经由旋转蒸发移除溶剂，并将残余物加载到硅胶上。经由柱色谱法在硅胶上用EtOAc(100)纯化产物，以得到呈黄色粘性固体的16(收率:64%)。^{1}H-NMR:(400MHz,$CDCl_3$-d_6):δ(ppm),5.97(d,J=6.9Hz,1H,H-4);5.45(t,J=3.0Hz,1H,H-5);4.92(dd,J=7.6Hz,3.4Hz,1H,H-4);4.26(td,J=6.7Hz,2.8Hz,1H);4.25-4.13(m,1H,H-3);3.99(s,1H);2.13(s,3H);2.07(s,6H);2.05(s,3H)．^{13}C-NMR:(125MHz,DMSO-d6):δ(ppm),170.0;169.55;168.11;165.21;100.9;70.66;68.2;65.02,63.00,61.8,20.5,20.44,20.42,13.91.MS m/z:[M+H]+330.12.

[0713] 

化合物 3' 化合物 4'

[0714] 三乙酰基D-葡萄糖噁唑啉(4')。在N_2气氛下，使葡糖胺五乙酸酯3'(19.64g，50.44mmol)溶解于无水二氯乙烷(500mL)中。添加17.0g的活性AW-300分子筛，并在搅拌的同时将溶液加热至50℃。将TMSOTf(1.1当量，55.5mmol，10mL)缓慢添加到反应混合物中，并且继续加热和搅拌16小时。TLC分析显示反应完成，并将混合物通过倾注到冰冷饱和$NaHCO_3$中猝灭。通过玻璃料过滤反应混合物，并且分离滤液层。将水层用DCM萃取两次，并且将合并的有机层经Na_2SO_4干燥，过滤并在真空下浓缩，得到呈黄色油状物的粗制物4'(16.09g)。^{1}H-NMR显示5:1比率的产物4'和起始材料3'。该材料无需纯化即直接用于下一步骤。

[0715] 或者，以下程序用于提供4'(例如2-甲基-(3,4,6-三-O-乙酰基-1,2-二脱氧-α-D-吡喃葡萄糖)[1,2-d]-1,3-噁唑啉)。使D-葡糖胺五乙酸酯(10g，25.6mmol)溶解于二氯乙烷(DCE)(150mL)中。然后，添加三甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯(TMSOTf)(5.5mL，30mmol)，并将混合物在50℃下搅拌1小时。然后，将混合物从热中移除并搅拌16小时。在室温下，将三乙胺(4mL)添加到混合物中。然后，将混合物搅拌10分钟，然后经由旋转蒸发移除溶剂。将粗制材料加载到硅胶上，并经由快速色谱法用EtOAc(100)纯化，以得到呈粉色油状物的14(收率：61%)。^{1}H-NMR:(400MHz,$CDCl_3$-d_6):δ(ppm),5.86(d,J=7.4Hz,1H,H-4);5.22(t,J=2.1Hz,1H,H-5);4.87(d,J=9.3Hz,1H,H-4);4.12-4.05(m,3H,H-2,H-6,H-6');3.54-3.57(m,1H,H-3);2.06(s,3H);2.03(s,6H);2.01(s,3H).^{13}C-NMR:(125MHz,$CDCl_3$-d_6):δ(ppm),170.41;169.55;169.18;166.34;99.27;70.04;68.17;67.43,64.98,63.12,20.55,20.34,20.42,13.91.MS m/z:[M+H]+330.12.

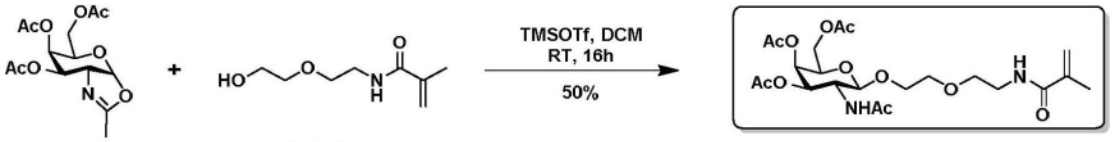
[0716] 

2-(2-氨基乙氧基)乙醇 化合物 5 化合物 6 化合物 7

[0717] N-(2-(2-羟基乙氧基)乙基)甲基丙烯酰胺(7)。使2-(2-氨基乙氧基)乙醇5(5.0g，47.6mmol)溶解于200mL的无水二氯甲烷中，并且添加30g的K_2CO_3(217mmol)。将悬浮液在0℃下搅拌30分钟，然后滴加甲基丙烯酰氯6(5.6mL，57.1mmol)。在室温下搅拌16小时之后，使反应混合物通过硅藻土垫过滤以移除碳酸钾，并将滤液在低于30℃下浓缩，提供粗制油状物。使用0-5%MeOH:DCM作为洗脱液，在硅胶垫上进行纯化。合并含有产物的级分并在低于30℃下真空蒸发，得到浅黄色油状物7(5.08g，62%)。将化合物7在使用前在氮气下于-20℃储存。

[0718] 或者，也执行以下程序以提供化合物7。向200mL冰冷的5 2-(2-氨基乙氧基乙醇)

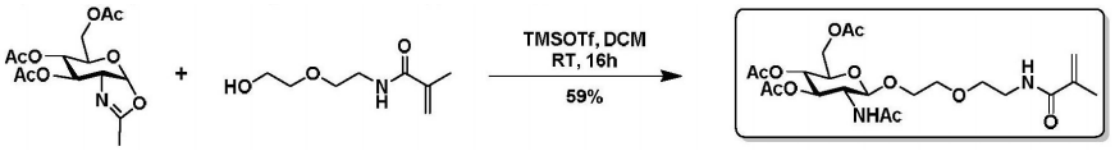
(24mL,240mmol)和碳酸钾(15g)的DCM溶液中缓慢添加甲基丙烯酰氯6(24mL,250mmol)的DCM(50mL)溶液。允许反应达到室温并再搅拌4小时。在4小时之后,使反应混合物通过硅藻土过滤,并且经由旋转蒸发移除溶剂。将粗产物加载到硅胶上,并经由快速色谱法用乙酸乙酯(EtOAc):己烷(90:10)纯化,以得到呈无色油状物的7(收率:72%)。^{1}H-NMR:(400MHz,$CDCl_3$-d_6):δ(ppm),6.53(s,1H);5.66(m,1H);5.29(m,1H);3.71(s,2H);3.56(m,4H);3.48(m,2H);1.91(m,3H).^{13}C-NMR:(75MHz,$CDCl_3$-d_6):δ(ppm),169.34;141.72;120.37;72.43;69.82;61.63;39.81;18.86.MS m/z:[M+H]+174.11.

[0719] 

化合物4 化合物7 化合物8

[0720] (2-(2-羟基乙氧基)乙基)甲基丙烯酰基2-乙酰胺基-3,4,6-O-乙酰基D-半乳糖苷(8).将供体4(15.1g,46.1mmol)和受体7(12.5g,72.2mmol,1.5当量)合并,并置于高真空下30分钟,随后在N_2气氛下溶解于无水DCM(180mL)中。添加火焰干燥的AW-300分子筛(15.0g)并将混合物在室温下搅拌30分钟。然后使烧瓶冷却至0℃,并且在10分钟内将TMSOTf(6.3mL,34.6mmol,0.75当量)缓慢添加到反应混合物中。将反应搅拌16小时并允许温热至室温。TLC分析(60%丙酮:己烷)显示极少的供体剩余,并将反应通过硅藻土垫过滤。将所得的滤液用饱和$NaHCO_3$、水和盐水萃取,并经无水Na_2SO_4干燥。使用0-100%丙酮:己烷梯度,在120g硅胶快速柱上纯化粗制物。将不太纯的级分合并,浓缩并再纯化。将含有纯产物的级分合并,并在真空下蒸发,提供呈灰白色泡沫状物的8(11.44g,50%)。

[0721] 或者,以下程序也用于制备8(例如2-(2-羟基乙氧基)乙基甲基丙烯酰胺-2-乙酰胺基-3,4,6-三-O-乙酰基-2-脱氧-α-D-吡喃半乳糖苷)。向烧瓶中装入化合物4(2.0g,6.0mmol)、2-(2-氨基乙氧基乙醇)甲基丙烯酰胺7(1.1g,6.6mmol)、4Å分子筛(2.5g)和DCE(20mL)。将溶液搅拌30分钟。添加TMSOTf(464mL,2.6mmol)并将混合物在室温下搅拌19小时,然后再次添加TMSOTf(464mL,2.6mmol)并允许反应再搅拌8小时。然后,将三乙胺添加至反应,并将反应再搅拌10分钟。经由旋转蒸发移除溶剂,并将粗产物加载到硅胶上并且经由柱色谱法用己烷:EtOAc(80:20)纯化,以得到呈粘性固体的8(收率:43%)。^{1}H-NMR:(500MHz,CD3OD):δ(ppm),5.72(s,1H),5.35(s,1H),4.67(m,1H),4.65(m,1H),4.32(d,J=8.5Hz,1H),4.27(dd,J=5.0,10.5Hz,1H),4.17-3.69(m,6H),2.01(s,3H),1.99(s,3H),1.97(s,3H),1.89(s X2,6H).MS m/z:[M+H]+503.22.

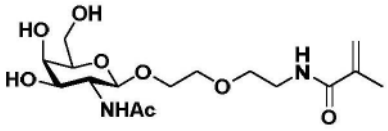
[0722] 

化合物4' 化合物7 化合物8'

[0723] (2-(2-羟基乙氧基)乙基)甲基丙烯酰基2-乙酰胺基-3,4,6-O-乙酰基D-葡糖苷(8').将化合物4'(13.33g,40.5mmol)和受体7(8.2g,47.3mmol,1.2当量)合并,并在高真空下干燥一小时。使起始材料在氮气覆盖下溶解于无水DCM(125mL)中,并将烧瓶的内容物用火焰干燥的AW-300分子筛(15g)搅拌30分钟。然后使反应混合物在冰浴上冷却至0℃,并在

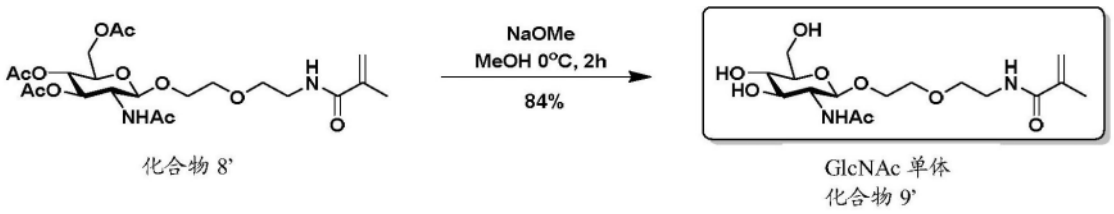
15分钟的时段内滴加TMSOTf(5.5mL,0.75当量)。在4小时之后,平衡至室温,通过TLC观察到大量的起始材料。添加1.0mL的额外TMSOTf(0.14当量)。在室温下搅拌16小时之后,通过TLC分析(50%丙酮:己烷)确定反应完成。将混合物通过硅藻土垫过滤,将滤液用饱和$NaHCO_3$和盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩。使用0-100%丙酮:己烷梯度,在120gHP硅胶柱上纯化粗制油状物。将通过TLC确定的不太纯的级分合并,浓缩,然后再纯化。将通过TLC确定的含有纯产物的所有级分合并,在真空下蒸发,以提供呈油状物的产物8'(12.2g,59%)。

[0724] 或者,以下程序也用于制备8'(例如2-(2-羟基乙氧基)乙基甲基丙烯酰胺-2-乙酰胺基-3,4,6-三-O-乙酰基-2-脱氧-α-D-吡喃葡萄糖苷)。向烧瓶中装入化合物4'(2.0g,6.0mmol)、7(1.1g,6.6mmol)、4Å分子筛(2.5g)和DCE(20mL)。将溶液搅拌30分钟。添加TMSOTf(464mL,2.6mmol)并将混合物在室温下搅拌19小时,然后再次添加TMSOTf(464mL,2.6mmol)并允许反应再搅拌8小时。然后将三乙胺添加到反应中,并将反应再搅拌1小时。经由旋转蒸发移除溶剂,并将粗产物加载到硅胶上,并且经由柱色谱法用己烷:EtOAc(80:20)纯化,以得到呈粘性固体的8'(收率:51%)。^{1}H-NMR:(500MHz,CD3OD):δ(ppm),5.7(s,1H),5.45(s,1H),4.97(dd,J=10.5,10.5Hz,1H),4.65(d,J=8.5Hz,1H),4.32(d,J=8.5Hz,1H),4.27(dd,J=5.0,10.5Hz,1H),4.17-3.69(m,6H),2.01(s,3H),1.99(s,3H),1.97(s,3H),1.89(s X 2,6H).MS m/z:[M+H]+503.31.

[0725] 

[0726] GalNAc单体(9).在0℃和N_2下,向化合物8(14.13g,28.2mmol)的无水MeOH(160mL)溶液中添加NaOMe溶液(4.5M于MeOH中,6.8mL)。使反应温热至室温并通过TLC(10%MeOH/DCM)监测。在2小时之后,反应完成并用Amberlite IR-120(H+)树脂中和。将反应混合物过滤,用MeOH洗涤树脂,并且使合并的滤液蒸发,提供黄色浆液。通过快速色谱法(0-25%MeOH:DCM)纯化粗制油状物,得到呈浅黄色浆液的GalNAc单体9(9.3g,90%)。将GalNAc单体9在氮气覆盖和-20℃下以40重量/重量%浓度储存于DMF中。1H-NMR(499.9MHz,D_2O,25℃,ppm):δ=5.69(s,1H),5.44(s,1H),4.46(d,J=8.5Hz,1H),3.92(d,J=3.2Hz,1H),3.90-3.63(m,10H),3.45(J=10.1Hz,J=6.5Hz),2.01(s,3H),1.91(s,3H).^{13}C-NMR:(125MHz,D_2O,25℃,ppm):δ=176.2;169.34;141.72;120.37;103.0;76.5;73.6;72.43;72.5;69.82;69.3;61.63;62.4;53.9;39.81;23.5;18.86;11.0.MS m/z:[M+H]+377.19.

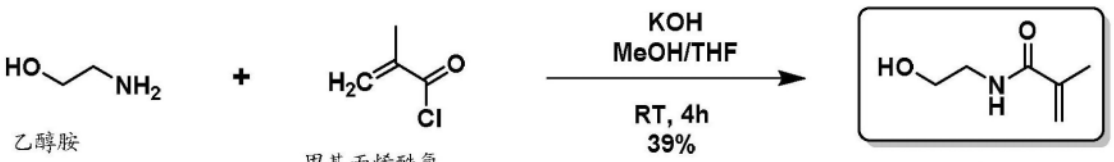
[0727] 或者,以下程序用于提供9(例如2-(2-乙氧基)乙基甲基丙烯酰胺2-乙酰胺基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖苷)。使化合物8(2.0g,3.98mmol)溶解于10mL的MeOH中并在室温下搅拌。将甲醇钠(4mmol)添加到反应中,并将反应在室温下搅拌。在6小时之后,将溶液用Amberlite IR120中和,然后过滤。经由旋转蒸发移除溶剂并加载到硅胶上。经由柱色谱法使用DCM:MeOH(83:17)纯化产物,以得到呈透明固体的9(收率:78%)。^{1}H-NMR:(400MHz,D_2O):δ(ppm),5.69(s,1H),5.44(s,1H),4.46(d,J=8.5Hz,1H),3.92(d,J=3.2Hz,1H),3.90-3.63(m,10H),3.45(J=10.1Hz,J=6.5Hz),2.01(s,3H),1.91(s,3H).^{13}C-NMR:(125MHz,D_2O):δ(ppm),176.2;169.34;141.72;120.37;103.0;76.5;73.6;72.43;72.5;69.82;69.3;61.63;62.4;53.9;39.81;23.5;18.86;11.0.MS m/z:[M+H]+377.19.

[0728] 

化合物 8' GlcNAc 单体 化合物 9'

[0729] GlcNAc单体(9')。在0℃和N_2下,向化合物8'(12.2g,24.3mmol)的无水MeOH(160mL)溶液中添加NaOMe溶液(4.5M于MeOH中,6.5mL)。使反应温热至室温,并通过TLC(20%MeOH/DCM)监测。在2小时之后,反应完成并用Amberlite IR-120(H+)树脂中和。将树脂通过过滤移除,用MeOH洗涤,并且将合并的滤液蒸发,并通过快速色谱法(0-25%MeOH:DCM)纯化,以获得呈浅黄色浆液的GlcNAc单体9'(7.5g,84%)。将GlcNAc单体9'在氮气覆盖和-20℃下以58重量/重量%浓度储存于DMF中。^{1}H-NMR(499.9MHz,D_2O,25℃,ppm):δ=5.7(s,1H),5.45(s,1H),4.44(d,J=8.5Hz,1H),3.83-3.66(m,5H),3.60-3.36(m,6H),2.01(s,3H),1.91(s,3H).^{13}C-NMR:(125MHz,D_2O,25℃,ppm):δ=176.2;169.34;141.72;120.37;103.0;76.5;72.43;72.5;69.82;69.3;61.63;62.4;53.9;39.81;18.86;11.0.MS m/z:[M+H]+377.18.

[0730] 或者,以下程序用于提供9'(例如2-(2-乙氧基)乙基甲基丙烯酰胺2-乙酰胺基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷)。使化合物8'(2.0g,3.98mmol)溶解于10mL的MeOH中并在室温下搅拌。将甲醇钠(4mmol)添加到反应中,并将反应在室温下搅拌。在6小时之后,将溶液用Amberlite Ir120中和,然后过滤。经由旋转蒸发移除溶剂并加载到硅胶上。经由柱色谱法使用DCM:MeOH(83:17)纯化产物,以得到呈透明固体的9'。^{1}H-NMR:(400MHz,D_2O):δ(ppm),5.7(s,1H),5.45(s,1H),4.44(d,J=8.5Hz,1H),3.83-3.66(m,5H),3.60-3.36(m,6H),2.01(s,3H),1.91(s,3H).^{13}C-NMR:(125MHz,D_2O):δ(ppm),176.2;169.34;141.72;120.37;103.0;76.5;72.43;72.5;69.82;69.3;61.63;62.4;53.9;39.81;18.86;11.0.MS m/z:[M+H]+377.18.

[0731] 

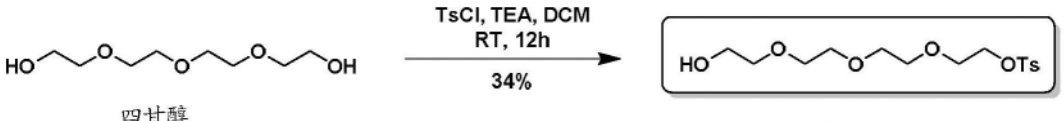
乙醇胺 甲基丙烯酰氯 化合物 6 化合物 11

[0732] N-(2-羟乙基)甲基丙烯酰胺(HEMA)(11)。在N_2覆盖下,向冰冷的乙醇胺(5.0g,82mmol)的70mL甲醇溶液中缓慢添加含甲基丙烯酰氯(9.4g,90mmol,1.1当量)的THF(75mL)。添加氢氧化钾(1.0M,水溶液),以在整个反应中维持8-9的pH。使混合物在4小时的时段内温热至室温。将pH用1.0M盐酸调节至5.0,并在不存在光时使产物浓缩至最小体积。将粗制材料用EtOAc稀释,分离各层,并且将水层用EtOAc萃取三次。将合并的有机物经Na_2SO_4干燥,过滤,并在室温下浓缩。使用丙酮:己烷梯度(0-60%),在120g硅胶柱上进行纯化。合并含有纯产物的级分,并在不存在光时浓缩,得到浅黄色油状物11(4.0g,39%)。将化合物11用DMF以72重量/重量%稀释,并在氮气下于-20℃储存。^{1}H-NMR(499.9MHz,$CDCl_3$,25℃,ppm):δ=6.87(m,1H),5.7(m,1H),5.3(m,1H),4.29(s,1H),3.66(t,J=5.1Hz,2H),3.4(dt,J=5.3,5.1Hz,2H),1.96(s,3H).^{13}C-NMR:(125MHz,$CDCl_3$-d_6,25℃,ppm):δ=166.5,139.2,120.1,61.2,42.3,18.4.MS m/z:[M+H]+130.08.

[0733] 或者,以下程序用于制备化合物11(N-(2-羟乙基)甲基丙烯酰胺)。向200mL冰冷的乙醇胺(12mL)和碳酸钾(15g)的DCM溶液中缓慢添加甲基丙烯酰氯(6)(9mL)的DCM(50mL)溶液。允许反应达到室温并再搅拌4小时。在4小时之后,使反应混合物通过硅藻土过滤,并且经由旋转蒸发移除溶剂。将粗产物加载到硅胶上,并经由快速色谱法用乙酸乙酯(EtOAc):己烷(90:10)纯化,以得到呈无色油状物的11(收率:75%)。^{1}H-NMR:(400MHz,$CDCl_3$-d_6):6.87(m,1H),5.7(m,1H),5.3(m,1H),4.29(s,1H),3.66(t,J=5.1Hz,2H),3.4(dt,J=5.3,5.1Hz,H2),1.96(s,H3).^{13}C-NMR:(125MHz,$CDCl_3$-d_6):δ(ppm),166.5,139.2,120.1,61.2,42.3,18.4.MS m/z:[M+H]+130.08.

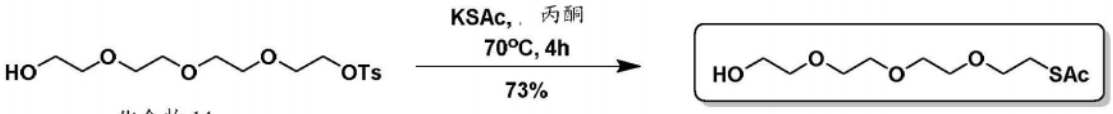
[0734] 实施例2:RAFT试剂合成

[0735] 以下提供了用于合成特定RAFT试剂的示例性程序。

[0736] 

四甘醇
化合物 12
化合物 14

[0737] 四(乙二醇)单对甲苯磺酸酯(14).向四甘醇12(26.6g,137mmol)的CH_2Cl_2(400mL)溶液中添加29.0mL的三乙胺。使反应冷却至0℃,并且添加4-甲基苯-1-磺酰氯(24.8g,130mmol,0.95当量)。允许反应温热至室温并再搅拌12小时。将反应混合物用饱和$NaHCO_3$、盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并浓缩真空。使粗制材料在硅胶柱上纯化,洗脱液为0-60%丙酮:己烷体系。收集呈淡黄色油状物的纯产物14(16.3g,34%)。

[0738] 

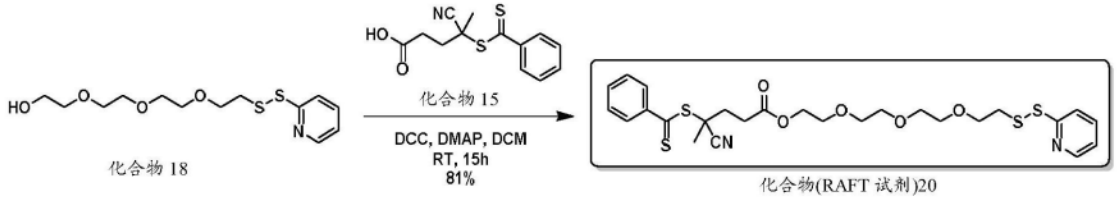
化合物 14
化合物 16

[0739] 四(乙二醇)单硫代乙酸酯(16).向硫代乙酸钾(10.7g,93.6mmol,2当量)在680mL丙酮中的悬浮液添加单对甲苯磺酸酯14(16.3g,46.8mmol)的100mL丙酮溶液。将混合物在室温下搅拌1小时,然后在氮气流和冷凝器下于68℃回流4小时。将反应混合物冷却至室温并通过硅藻土垫过滤。将滤液浓缩至最小体积,用EtOAc(300mL)稀释,用饱和$NaHCO_3$、盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下蒸发。使用丙酮:己烷梯度(0-35%),在120g硅胶柱上纯化粗制材料,得到呈褐色浆液的期望产物16(8.65g,73%)。

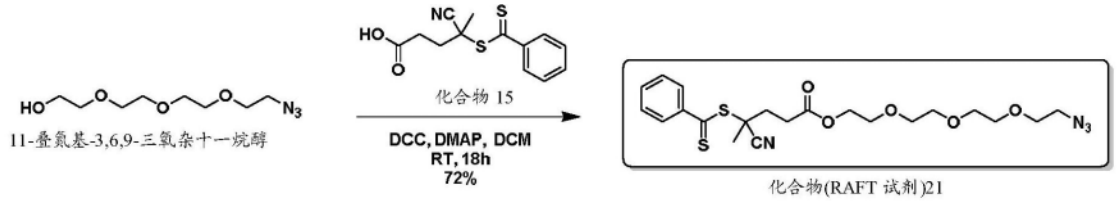
[0740] 

化合物 16
化合物 18

[0741] 2-(2-(2-(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-醇(18).在氮气覆盖下,将甲醇钠(100mL,0.5M,处在甲醇中)缓慢添加到搅拌的单硫代乙酸酯16(5.2g,20.6mmol)和2,2-二硫代二吡啶(5.44g,24.7mmol,1.2当量)的甲醇溶液中。在2小时之后,使反应浓缩并加载到120g HP硅胶快速柱上,并用丙酮:己烷梯度(0-50%)洗脱,以得到呈深黄色油状物的期望产物18(3.15g,48%)。

[0742] 

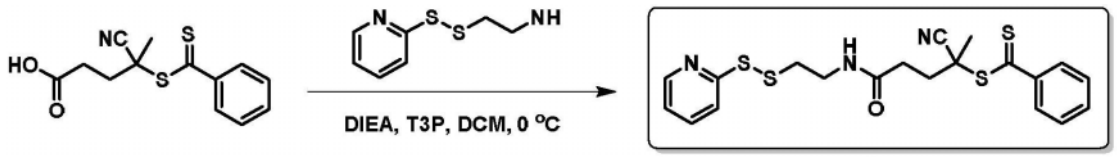
[0743] 硫醇反应性μRAFT试剂(20).使二硫化物化合物18(355mg,1.11mmol)和4-氰基-4-(硫代苯甲酰硫基)戊酸19(345mg,1.24mmol,1.1当量)溶解于无水DCM(7.0mL)中,得到粉色溶液。将5.0摩尔%的4-二甲氨基吡啶(DMAP)添加到溶液中,并使烧瓶冷却至0℃并搅拌30分钟。缓慢添加5.0mL的DCM中的N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC,230mg,1.1mmol,1当量)。将反应搅拌并允许在5小时内平衡至室温。通过TLC确定反应完成,但允许在后处理前搅拌16小时。使粉色悬浮液通过硅藻土垫过滤,并使滤液浓缩。使用0-40%丙酮:己烷梯度,在25g HP硅胶快速柱上进行纯化。将含有纯产物的级分合并,并浓缩,得到呈粉色油状物的RAFT试剂20(0.53g,81%)。将RAFT试剂20用DMF稀释至100mg/mL以直接用于聚合。^{1}H-NMR(499.9MHz,D_2O,25℃,ppm):δ=1.60(br.S,2H),1.93(s,3H,甲基),2.99(t,2H,亚甲基),3.66(m,12H,PEG亚甲基),4.27(t,2H,亚甲基),7.08(t,1H,芳族),7.39(t,2H,芳族),7.57(t,1H,芳族),7.65(t,1H,芳族),7.77(d,1H,芳族),7.90(d,2H,芳族),8.45(d,1H,芳族).

[0744] 

[0745] 炔烃反应性μRAFT试剂(21).在干燥N_2气体的气氛和搅拌下,向4-氰基-4-(苯基硫代甲酰硫基)戊酸(505.1mg,1.81mmol)和4-二甲氨基吡啶(16.4mg,0.13mmol)中添加无水二氯甲烷(7.0mL),给出红色溶液。向烧瓶中添加11-叠氮基-3,6,9-三氧杂十一烷醇(358.4mg,1.64mmol)的无水二氯甲烷(7.0mL)溶液。在干燥N_2气体的气氛下,将混合物在水/冰浴中冷却20分钟。使用气密性注射器,在15分钟内将二环己基碳二亚胺(374mg,1.81mmol)的无水二氯甲烷(7.0mL)溶液缓慢添加到反应混合物中。观察到沉淀缓慢形成,反应混合物变成深粉色。将混合物在水/冰浴中维持3小时,然后允许在18小时内达到环境温度。然后使反应混合物通过硅藻土垫过滤,并且当从硅藻土移除所有红色时,将垫用二氯甲烷(3×15.0mL)冲洗。将溶液在真空下于20℃浓缩至1.0mL,并且在硅胶柱(12.0g)上使用丙酮:己烷梯度(0-40%)进行色谱分离。TLC(己烷:丙酮2:1v/v)显示R_f=0.30的主要产物。将含有产物R_f=0.30的级分汇集,并浓缩成红色油状物。然后,将样品真空干燥30小时,以得到深红色油状物(563.0mg,72%)。然后,将最终产物在2℃下储存于耐光容器中。^{1}H-NMR(499.9MHz,$CDCl_3$,25℃,ppm):δ=1.93(s,3H,CH3-C-(CN)-S);3.37(t,2H,CH2-CH2-C(O)-O);3.6-3.75(m,16H,-C(O)-O-[CH2-CH2-O]3-CH2-CH2-N3);4.26(t,2H,-CH2-(CH3)-CN);7.39(m,2H);7.56(m,1H);7.90(m,2H).

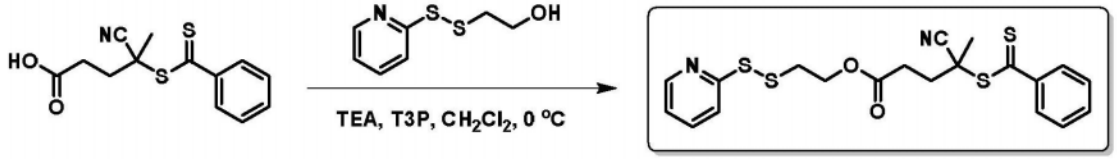
[0746] 或者,以下程序用于提供21(N_3TEG-RAFT)。将叠氮基-四甘醇11(219mg,1.0mmol)、DMAP(12mg,0.1mmol)和RAFT试剂15(279.0mg,1.0mmol)添加到10mL的DCM中并在冰上搅拌30分钟。将DCC(206mg,1.0mmol)的DCM溶液滴加到反应混合物中。允许反应混合物达到室温并再搅拌3小时。将反应过滤,并且经由旋转蒸发移除溶剂。将产物加载到硅胶上,并经由柱

色谱法使用EtOAC分离，以得到呈粉色液体的21(收率:23%)。^{1}H-NMR:(400MHz,$CDCl_3$-d_6):δ(ppm),7.76(m,2H),7.43(m,1H),7.28(m,2H),4.11(m,2H),3.57(m,2H),3.51(m,12H),3.23(m,2H),2.75-2.45(m,4H),1.79(s,3H).^{13}C-NMR:(125MHz,$CDCl_3$-d_6):δ(ppm),221.2;171.34;144.72;135.37;129.0;126.5;119.6;68.43;65.5;44.82;31.3;29.64;24.5;12.4.MS m/z:[M+H]+481.17.

[0747] 

化合物 22

[0748] 吡啶二硫物戊酰胺RAFT试剂(22):使用注射器向氩气下的4-氰基-4-二硫代苯甲酰基戊酸(0.6920g,2.47mmol)中添加无水CH_2Cl_2(10mL)并搅拌10分钟直至红色固体溶解。使溶液在冰浴中冷却5分钟，然后添加DIEA(1.2mL,6.9mmol)。将溶液在氩气下再搅拌10分钟。然后，使用注射器在约5分钟内向溶液中缓慢添加T3P(1.6mL,2.5mmol)。允许溶液在冰浴中搅拌15分钟。移除隔片并添加2-(2-吡啶基硫基)半胱胺盐酸盐(0.5041g,2.27mmol)。更换隔片并在氩气下搅拌混合物。在冰融化时，允许混合物达到环境温度。在4小时之后，使溶液真空浓缩至30%，并用乙酸异丙酯(60mL)稀释。然后，将溶液用水(50mL)、1M盐酸(50mL)、饱和碳酸氢钠(50mL)和水(50mL)萃取。将有机层收集并经无水硫酸钠干燥。滤出固体，并将溶液真空浓缩为红色油状物。在TLC监测下，经由柱色谱法使用硅胶(12g)和己烷/乙酸乙酯梯度0-45%v/v纯化油状物。将含有产物的级分汇集，并浓缩为红色油状物，然后真空干燥，以得到澄清的深红色油状物。

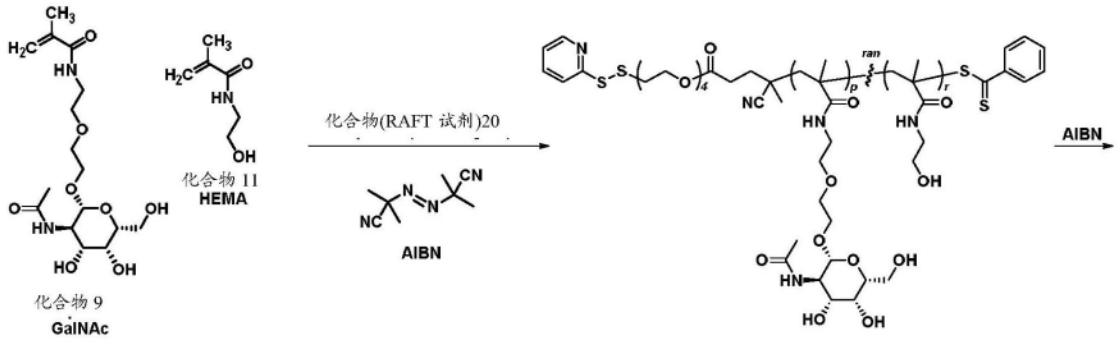
[0749] 

化合物 23

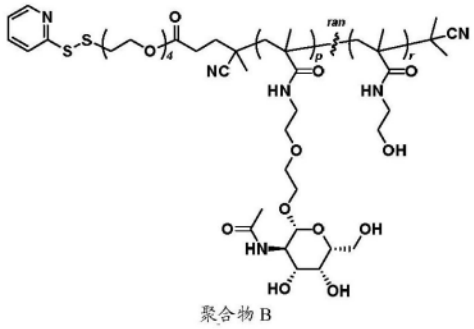
[0750] 吡啶二硫物戊酸酯RAFT试剂(23):使用注射器向在氩气下的4-氰基-4-二硫代苯甲酰基戊酸(0.5070g,1.81mmol)中添加无水CH_2Cl_2(5mL)并搅拌10分钟直至红色固体溶解。使溶液在冰浴中冷却5分钟，然后添加TEA(0.6mL,4.31mmol)。将溶液在氩气下再搅拌5分钟。然后，使用注射器在5分钟内向溶液中缓慢添加T3P(1.05mL,1.81mmol)。允许溶液在冰浴中搅拌20分钟。在5分钟内将2-(2-吡啶基)二硫烷基乙醇(0.308g,1.64mmol)的0.6mL无水CH_2Cl_2溶液缓慢添加到反应混合物中。然后添加额外1.0mL的无水CH_2Cl_2，并且在冰融化时，允许混合物达到环境温度。在搅拌16小时之后，使溶液减压浓缩并溶解于乙酸异丙酯(30mL)中。将溶液用饱和碳酸氢钠(25mL)萃取，并用10%w/v氯化钠(25和20mL)萃取两次。将有机层收集，经无水碳酸钠干燥，过滤，并使溶液真空浓缩为红色油状物。

[0751] 实施例3:聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS以及不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS聚合物合成

[0752] 以下提供了用于合成特定硫醇封端的Y(Z)-EU单元(例如二硫化物封端的聚合物)的示例性程序。

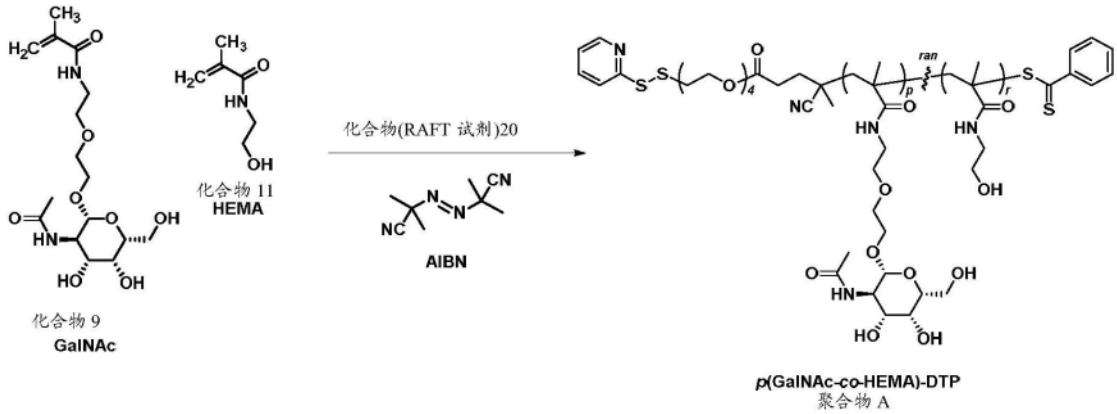


[0753]



[0754] 聚合物A的合成

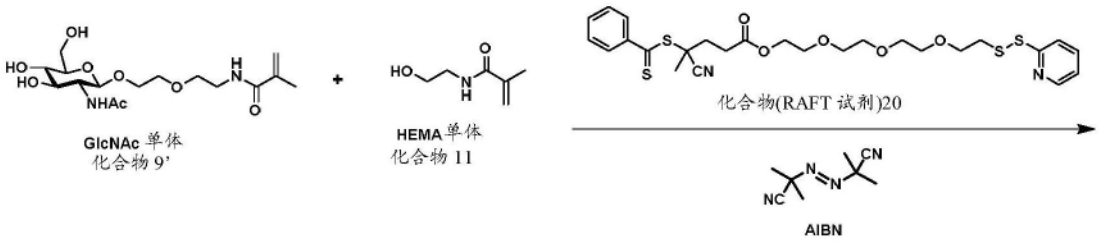
[0755]



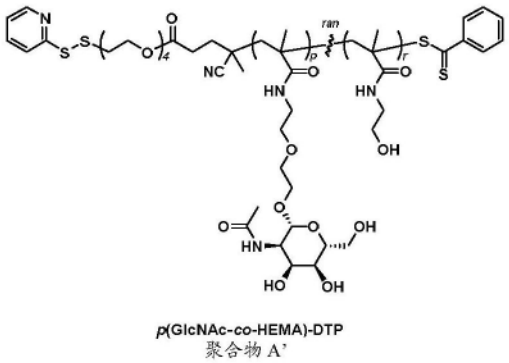
[0756] 聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS(聚合物A).目标分子量为21.0kDa、目标聚合度为100个单体且目标GalNAc:HEMA单体组成为30:70的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS的典型实施例合成如下:将配备有PTFE阀且位于弱光区域中的10mL单颈Schlenk烧瓶用超高纯度氩气(5级)吹扫,置于冰浴中,并装入磁力搅拌棒、化合物9(300mg,0.80mmol,固体)、化合物11(240mg,1.86mmol,作为240μL纯净油状物添加)、化合物20(15.4mg,30μmol,作为283μL的储备溶液以54.53mg/mL添加)、2,2′-偶氮双(2-甲基丙腈)(1.09mg,6.6μmol,作为270μL的储备溶液以4.04mg/mL添加)和N,N-二甲基甲酰胺(827μL)。将烧瓶用橡胶隔片密封,隔片用石蜡膜强化,并使溶液在冰上用超高纯度(5级)氩气鼓泡2小时。在鼓泡之后,使溶液在液氮上经受五个冷冻-泵-解冻循环,每个循环由3分钟冷冻步骤、15分钟泵步骤和2分钟解冻步骤组成。然后,用超高纯度(5级)氩气覆盖溶液,并允许在68℃的预热油浴中以800rpm搅拌18小时。通过将烧瓶浸没在冰浴中,使溶液暴露于空气,并允许溶液在冰上以500rpm搅拌15分钟来淬灭RAFT聚合。然后,在室温下,将粗制聚合物溶液逐滴沉淀到45mL无水乙酸乙酯中,并且经由在4300-G下离心10分钟使所得的析出物沉淀。然后滗出上清液,用新鲜的无水乙酸乙酯替换,将沉淀经由涡旋再悬浮,经由离心再沉淀,并再次滗出上清液,得到所得的沉淀,将其

在高真空和室温下干燥2小时，得到粉色粉末。将干燥的粗制聚合物再溶于8.0mL Milli-Q水中，装入Slide-a-Lyzer透析盒(3.5kDa MWCO)中，并用500体积的Milli-Q水透析24小时，在该期间，在t＝4小时和t＝20小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥4天，以得到呈薄片状淡粉色固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS(222.7mg，40.1％)。GPC：M_n＝22.2kDa，M_w＝24.7kDa，M_p＝21.9kDa，$Đ$=1.11。^{1}H-NMR(499.9MHz，D_2O，25℃，ppm)：δ＝0.8-1.6(m，3H，主链甲基)，1.6-2.3(m，2H，主链亚甲基)，3.2-3.45(br.s，4H，乙氧基亚甲基)，3.5-4.1(m，糖环质子)，4.45-4.6(br.s，1H，异头)，7.0-8.6(m，9H，端基芳族)。

[0757] 聚合物A'的合成



[0758]



[0759] 用于制备聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS的类似程序(如上所示)用于产生聚(GlcNAc-共-HEMA)-PDS。用以上程序产生的硫醇反应性聚合物的某些实施方案描述于表1中。结构和分子量分别通过NMR和GPC确认。

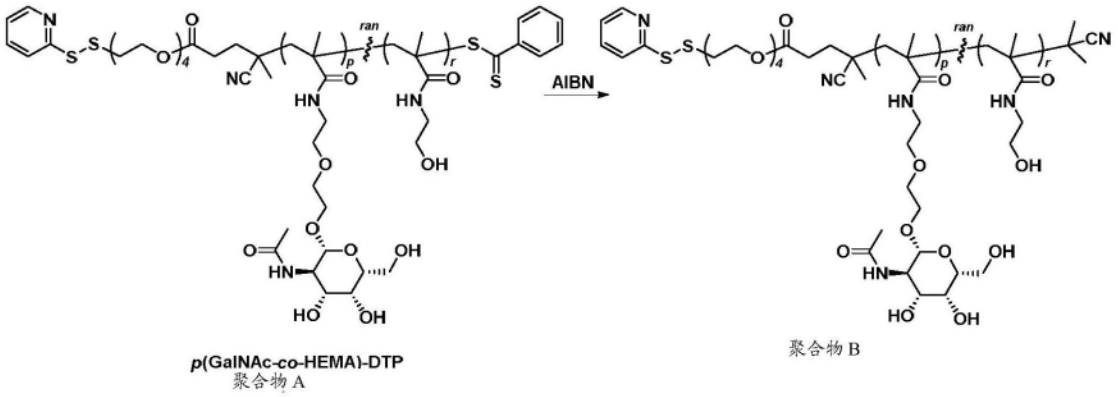
[0760] 表1.使用如实施例3中所公开的程序，使用不同的单体比率产生硫醇反应性聚合物。

[0761]

聚合物	糖:HEMA 比率	M_n	PDI
聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS	4:1	14.9	1.10
聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS	3:7	21.9	1.11
聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS	1:4	13.2	1.10
聚(GlcNAc-共-HEMA)-PDS	4:1	21.5	1.09
聚(GlcNAc-共-HEMA)-PDS	1:1	19.3	1.11
聚(GlcNAc-共-HEMA)-PDS	1:4	14.5	1.12

[0762] 聚合物B的合成

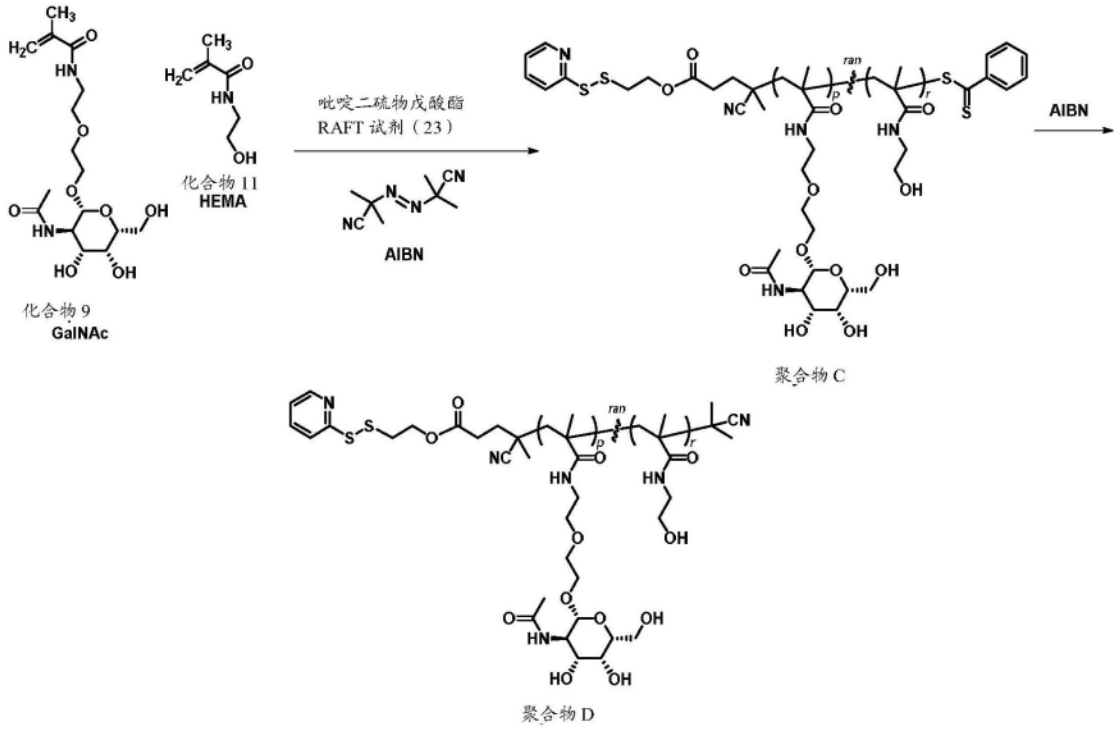
[0763]



[0764] 不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS(聚合物B).将配备有PTFE阀且位于弱光区域中的500mL单颈Schlenk烧瓶用高纯度氩气(6级)吹扫,并装入磁力搅拌棒、聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS中间体(19.4kDa,40.0g,2.0619mmol,1.0当量,固体)、2,2′-偶氮双(2-甲基丙腈)(AIBN)(17.0g,103.09mmol,50当量,固体)和N,N-二甲基甲酰胺(333mL,无水)。添加顺序为:AIBN,pGal,DMF。将烧瓶用橡胶隔片密封,隔片用石蜡膜强化,并且允许悬浮液在冰浴中以700rpm搅拌,同时用氩气鼓泡60分钟。在鼓泡之后,使溶液根据以下程序脱气:将烧瓶的内容物在700rpm下搅拌并暴露于高真空3分钟。然后关闭真空,用氩气回填内容物。使该过程重复10次。在最终的泵循环之后,将脱气的溶液用氩气覆盖,并允许在75℃的预热油浴中以700rpm搅拌2小时。反应根据以下程序猝灭:将烧瓶从油浴中移除,立即浸没在冰浴中,并允许在冰上以700rpm搅拌10分钟。然后从烧瓶移除隔片和Schlenk阀,并允许粗制反应溶液在冰上以700rpm再搅拌15分钟。然后,在室温下将粗制反应溶液沉淀到2000mL EtOAc中。经由一次性聚乙烯烧结漏斗(40微米,2000mL容量)过滤所得析出物,用EtOAc洗涤四次,分离并真空干燥。将干燥的析出物再溶于750mL Milli-Q水中,装入两个Slide-a-Lyzer透析盒(250mL容量,10.0kDa MWCO)中,并用16体积的Milli-Q水透析48小时,在该期间,在t=4、12、24和36小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈薄片状灰白色固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS最终产物(35.8g,89.5%)。GPC:M_n=16.5kDa,M_w=19.2kDa,M_p=19.5kDa,$Đ$=1.17。^{1}H-NMR(499.9MHz,D^2O,25℃,ppm):δ=0.8-1.6(m,3H,主链甲基),1.6-2.3(m,2H,主链亚甲基),3.2-3.45(br.s,4H,乙氧基亚甲基),3.5-4.1(m,糖环质子),4.45-4.6(br.s,1H,异头),7.2-8.6(m,4H,端基芳族).聚合物B的DTB含量使用反相HPLC(在500nm下使用UV检测器)测量。对于五个不同批次的聚合物B,DTB移除后的二硫酯含量为5.1%、4.5%、4.8%、3.8%和6.4%。在移除之前,聚合物A的DTB含量为70%至80%。

[0765] 实施例4:聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙酯以及不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙酯聚合物合成

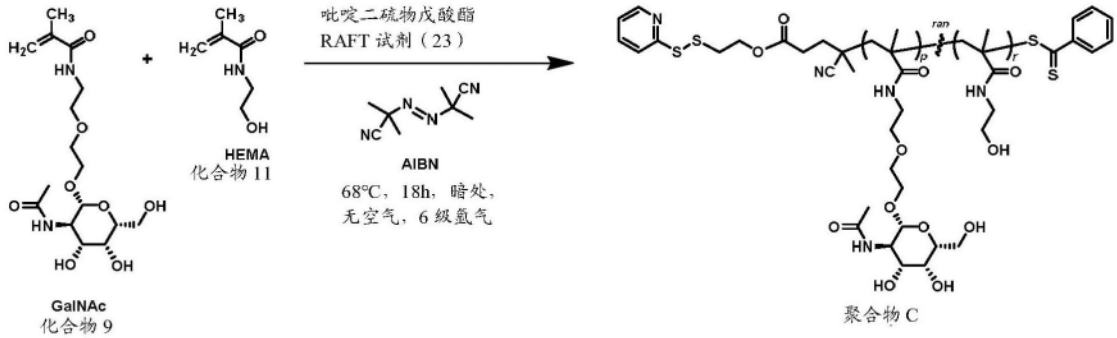
[0766] 以下实施例描述了合成聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙酯(聚合物C)以及不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙酯(聚合物D)的实施方案,如以下路线所显示。



[0767]

[0768] 聚合物C的合成

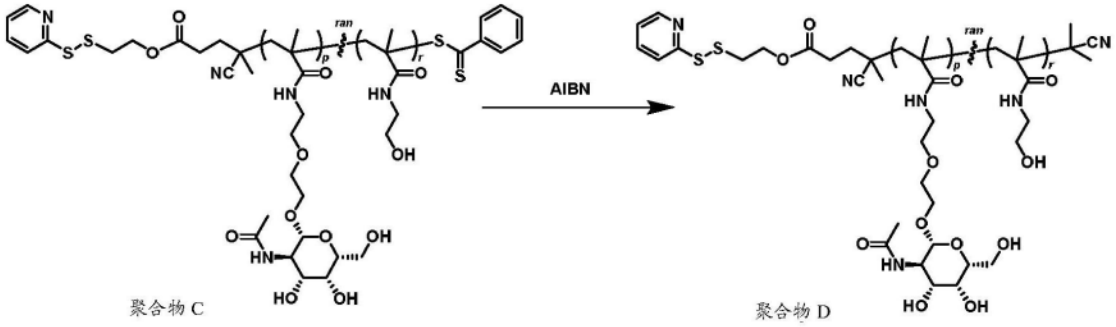
[0769]



[0770] 聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙酯(聚合物C).将配备有PTFE阀且位于弱光区域中的10mL单颈Schlenk烧瓶用氩气(6级)吹扫,置于冰浴中,并装入磁力搅拌棒、化合物9(400mg,1.06mmol,固体)、化合物11(106mg,0.82mmol,作为106μL纯净油状物添加)、吡啶二硫物戊酸酯RAFT试剂23(13.6mg,30.4μmol,作为418μL的储备溶液以32.49mg/mL添加)、2,2′-偶氮双(2-甲基丙腈)(1.50mg,9.1μmol,作为374μL的储备溶液以4.0mg/mL添加)和N,N-二甲基甲酰胺(662μL)。将烧瓶用橡胶隔片密封,隔片用石蜡膜强化,并使溶液在冰上用氩气鼓泡2小时。在鼓泡之后,使溶液在液氮上经受五个冷冻-泵-解冻循环,每个循环由3分钟冷冻步骤、15分钟泵步骤和2分钟解冻步骤组成。然后,用氩气覆盖溶液,并允许在68℃的预热油浴中以800rpm搅拌18小时。通过将烧瓶浸没在冰浴中,使溶液暴露于空气,并允许溶液在冰上以500rpm搅拌15分钟来淬灭RAFT聚合。然后,在室温下,将粗制聚合物溶液逐滴沉淀到45mL无水乙酸乙酯中,并且经由在4300-G下离心10分钟使所得的析出物沉淀。然后滗出上清液,用新鲜的无水乙酸乙酯替换,将沉淀经由涡旋再悬浮,经由离心再沉淀,并再次滗出上清液,得到所得的沉淀,将其在高真空和室温下干燥2小时,得到粉色粉末。将干燥的粗制聚合物再溶于8.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(3.5kDa MWCO)中,并用500体积的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t＝4小时和t＝20小时执行溶剂交换。然后将透析的

水溶液经由冻干干燥4天,以得到呈薄片状淡粉色固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙酯(典型地,272.9mg)。GPC:M_n=21.8kDa,M_w=24.2kDa,M_p=22.3kDa,$Đ$=1.11。^{1}H-NMR(499.9MHz,D_2O,25℃,ppm):δ=0.8-1.6(m,3H,主链甲基),1.6-2.3(m,2H,主链亚甲基),3.2-3.45(br.s,4H,乙氧基亚甲基),3.5-4.1(m,糖环质子),4.45-4.6(br.s,1H,异头),7.0-8.6(m,9H,端基芳族).

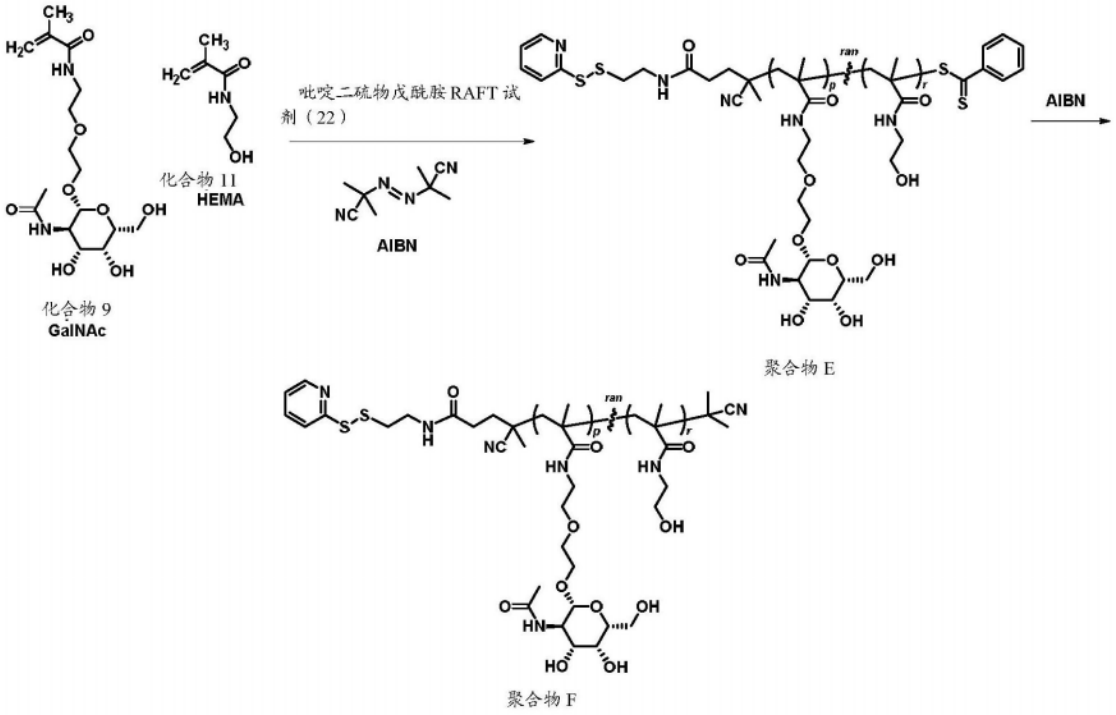
[0771] 聚合物D的合成

[0772] 

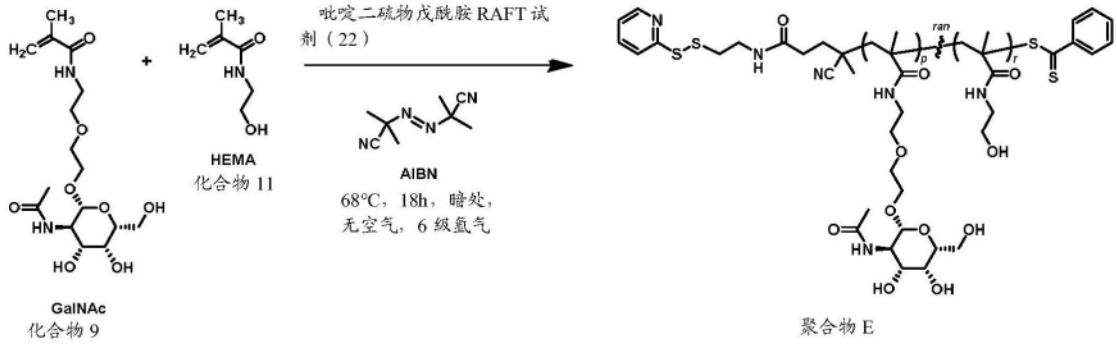
[0773] 不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙酯(聚合物D).据信不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙酯可以使用与来自实施例3的那些类似的条件进行合成。这是假想例。

[0774] 实施例5:聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺以及不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺聚合物合成

[0775] 以下描述了合成聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺(聚合物E)和不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺(聚合物F)的实施方案,如以下路线所显示。

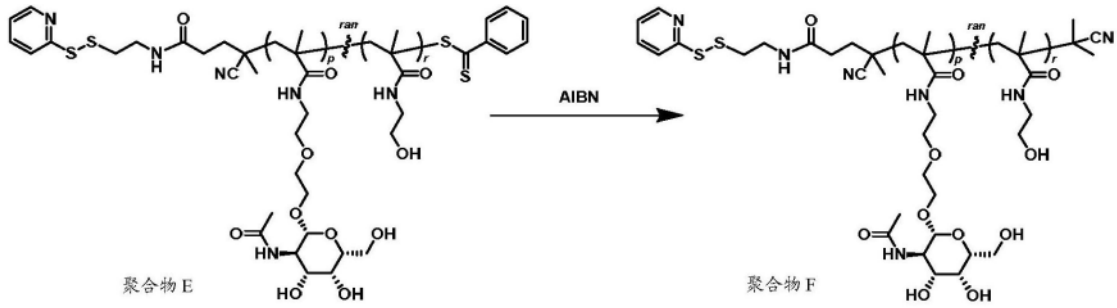
[0776] 

[0777] 聚合物E的合成

[0778] 

[0779] 聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺(聚合物E).将配备有PTFE阀且位于弱光区域中的10mL单颈Schlenk烧瓶用氩气(6级)吹扫,置于冰浴中,并装入磁力搅拌棒、化合物9(400mg,1.06mmol,固体)、化合物11(106mg,0.82mmol,作为106μL纯净油状物添加)、吡啶二硫物戊酰胺RAFT试剂(22)(13.6mg,30.4μmol,作为384μL的储备溶液以35.31mg/mL添加)、2,2′-偶氮双(2-甲基丙腈)(1.50mg,9.1μmol,作为374μL的储备溶液以4.0mg/mL添加)和N,N-二甲基甲酰胺(696μL)。将烧瓶用橡胶隔片密封,隔片用石蜡膜强化,并使溶液在冰上用氩气鼓泡2小时。在鼓泡之后,使溶液在液氮上经受五个冷冻-泵-解冻循环,每个循环由3分钟冷冻步骤、15分钟泵步骤和2分钟解冻步骤组成。然后,用氩气覆盖溶液,并允许在68℃的预热油浴中以800rpm搅拌18小时。通过将烧瓶浸没在冰浴中,使溶液暴露于空气,并允许溶液在冰上以500rpm搅拌15分钟来淬灭RAFT聚合。然后,在室温下,将粗制聚合物溶液逐滴沉淀到45mL无水乙酸乙酯中,并且经由在4300-G下离心10分钟使所得的析出物沉淀。然后滗出上清液,用新鲜的无水乙酸乙酯替换,将沉淀经由涡旋再悬浮,经由离心再沉淀,并再次滗出上清液,得到所得的沉淀,将其在高真空和室温下干燥2小时,得到粉色粉末。将干燥的粗制聚合物再溶于8.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(3.5kDa MWCO)中,并用500体积的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t＝4小时和t＝20小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥4天,以得到呈薄片状淡粉色固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺或乙酯(典型地,267.3mg)。GPC:M_n＝21.3kDa,M_w＝24.0kDa,M_p＝22.1kDa,$Đ$=1.12。^{1}H-NMR(499.9MHz,D_2O,25℃,ppm):δ＝0.8-1.6(m,3H,主链甲基),1.6-2.3(m,2H,主链亚甲基),3.2-3.45(br.s,4H,乙氧基亚甲基),3.5-4.1(m,糖环质子),4.45-4.6(br.s,1H,异头),7.0-8.6(m,9H,端基芳族).

[0780] 聚合物F的合成

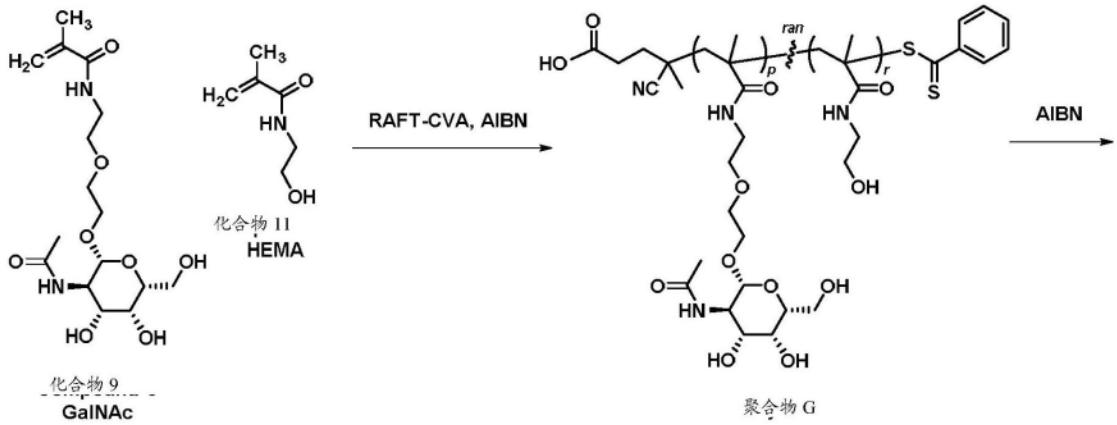
[0781] 

[0782] 不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺(聚合物F).据信不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺可以使用与来自实施例3的那些类似的条件进行合成。这是假想例。

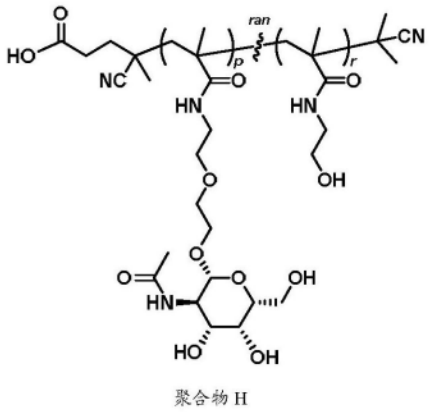
[0783] 实施例6:不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS、不含二硫酯

的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺的替代合成,以及不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺聚合物合成

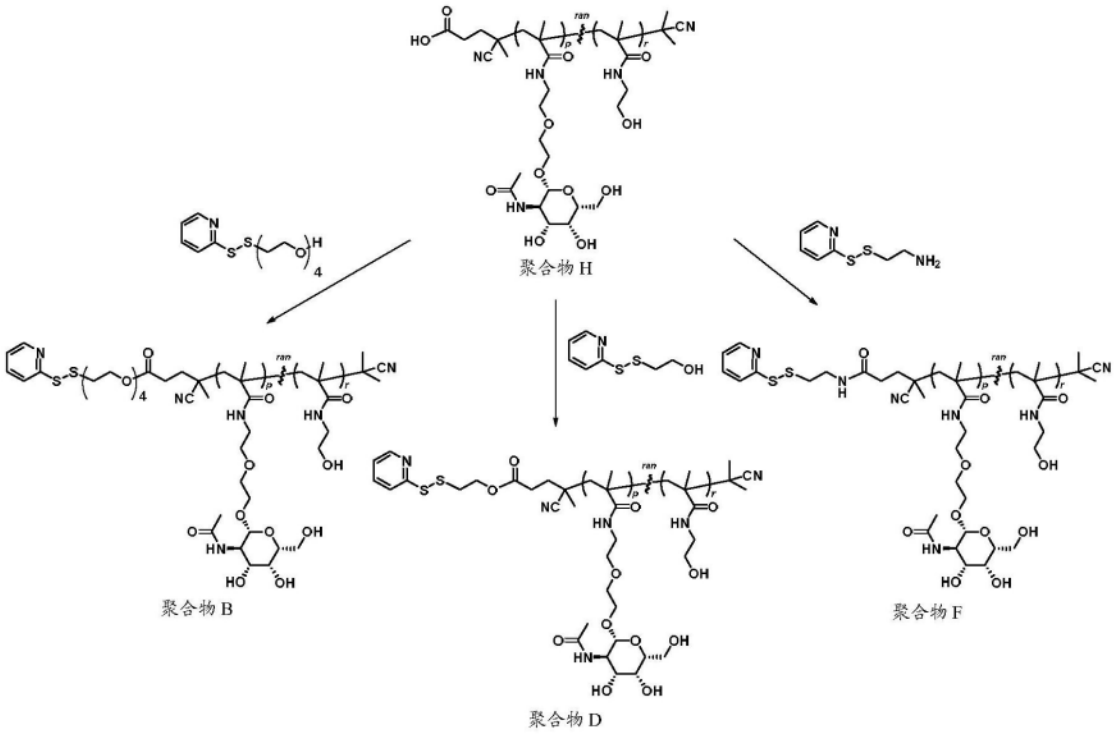
[0784] 以下描述了用于提供羧酸封端的聚合物、羧酸封端的不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚合物,以及由其得到的聚合物B、D和F的合成方法,如以下路线所显示。羧酸封端的聚合物和羧酸封端的不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚合物分别为聚合物G和聚合物H。



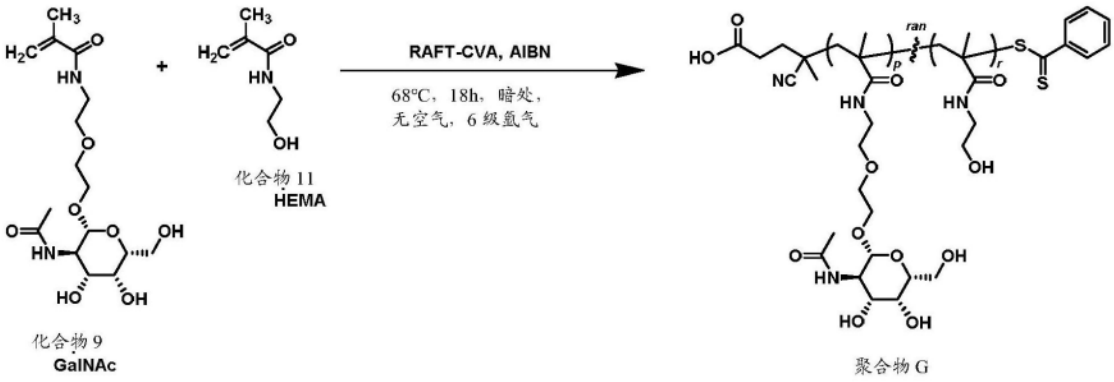
[0785]



[0786] 如上所提及,以下显示了用于制备不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚合物,例如聚合物B、聚合物D和聚合物F的合成路线的实施方案。如所显示,在一些实施方案中,这些聚合物可以使用聚合物H作为起始材料制备。

[0787] 

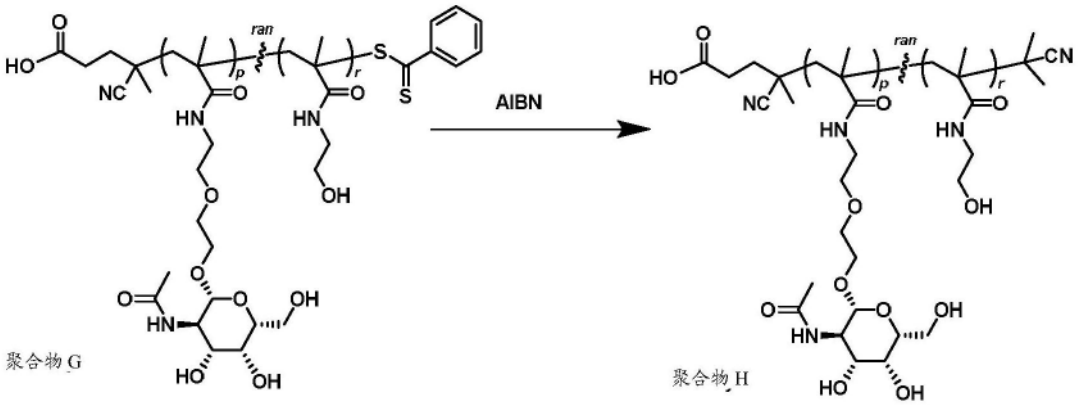
[0788] 聚合物G的合成

[0789] 

[0790] 聚(GalNAc-共-HEMA)-CVA(聚合物G).将配备有PTFE阀且位于弱光区域中的10mL单颈Schlenk烧瓶用氩气(6级)吹扫,置于冰浴中,并装入磁力搅拌棒、化合物9(1000mg,2.66mmol,固体)、化合物11(291mg,2.26mmol,作为292μL纯净油状物添加)、4-氰基-4-(苯基硫代甲酰硫基)戊酸RAFT试剂(RAFT-CVA)(18.56mg,66.4μmol,作为386μL的储备溶液以48.10mg/mL添加)、2,2′-偶氮双(2-甲基丙腈)(5.45mg,33.2μmol,作为1.4mL的储备溶液以4.0mg/mL添加)和N,N-二甲基甲酰胺(1.9mL)。将烧瓶用橡胶隔片密封,隔片用石蜡膜强化,并使溶液在冰上用氩气鼓泡2小时。在鼓泡之后,使溶液在液氮上经受五个冷冻-泵-解冻循环,每个循环由3分钟冷冻步骤、15分钟泵步骤和2分钟解冻步骤组成。然后,用氩气覆盖溶液,并允许在68℃的预热油浴中以800rpm搅拌18小时。通过将烧瓶浸没在冰浴中,使溶液暴露于空气,并允许溶液在冰上以500rpm搅拌15分钟来淬灭RAFT聚合。然后,在室温下,将粗制聚合物溶液逐滴沉淀到45mL无水乙酸乙酯中,并且经由在4300-G下离心10分钟使所得的析出物沉淀。然后滗出上清液,用新鲜的无水乙酸乙酯替换,将沉淀经由涡旋再悬浮,经由离心再沉淀,并再次滗出上清液,得到所得的沉淀,将其在高真空和室温下干燥2小时,得到粉色粉末。将干燥的粗制聚合物再溶于8.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒

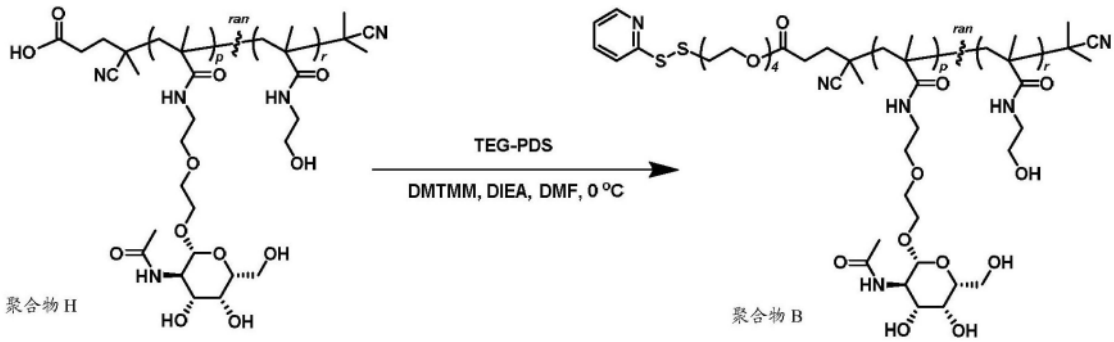
(3.5kDa MWCO)中,并用500体积的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t=4小时和t=20小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥4天,以得到呈薄片状淡粉色固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-CVA(典型地,702.6mg)。GPC:M_n=19.4kDa,M_w=21.4kDa,M_p=23.7kDa,D=1.10。^{1}H-NMR(499.9MHz,D_2O,25℃,ppm):δ=0.8-1.6(m,3H,主链甲基),1.6-2.3(m,2H,主链亚甲基),3.2-3.45(br.s,4H,乙氧基亚甲基),3.5-4.1(m,糖环质子),4.45-4.6(br.s,1H,异头),7.0-8.6(m,9H,端基芳族).

[0791] 聚合物H的合成

[0792] 

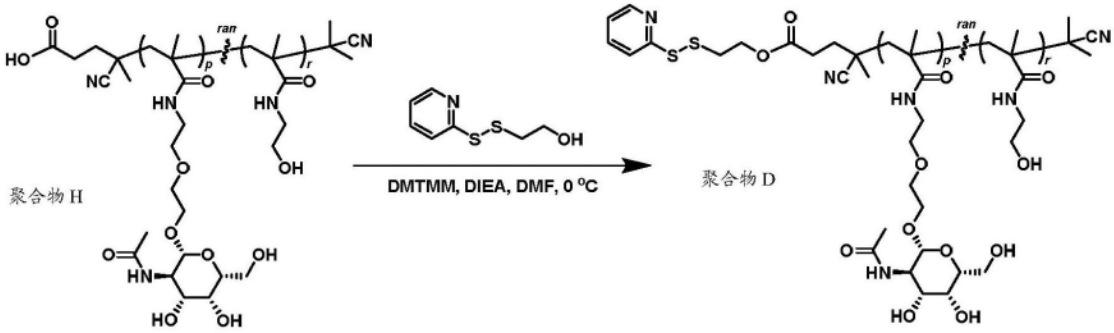
[0793] 不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-CVA(聚合物H)使用与来自实施例3的那些类似的条件合成。

[0794] 聚合物B的合成

[0795] 

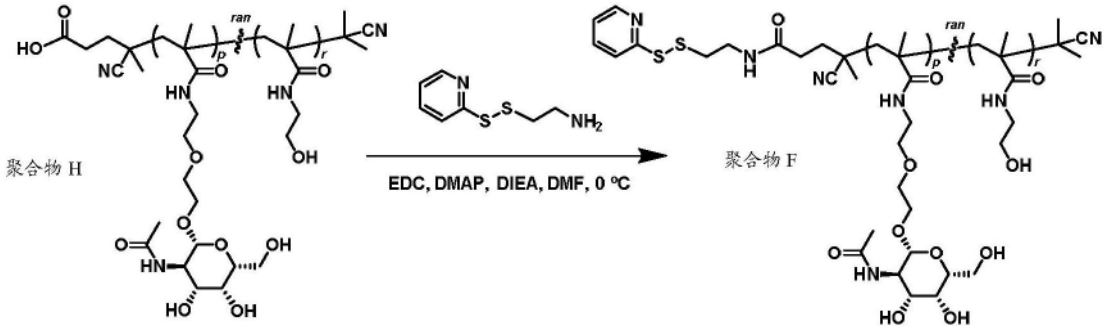
[0796] 不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS(聚合物B).在0℃下,向不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-CVA(26mg,1.3μmol)的DMF(1.0mL)溶液中添加2-(2-(2-(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-醇(TEG-PDS,100mg,0.3mmol)、4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基-吗啉鎓氯化物(DMTMM,5mg,54.3μmol)和N,N-二异丙基乙胺(DIEA,100μL,0.6mmol)。将反应温热至室温,同时搅拌15小时。然后将粗产物逐滴沉淀到EtOAc(45mL)中。将析出物和溶剂混合物在2000-G下离心30分钟,小心移除上清液。将固体再溶于2.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(10kDa MWCO)中,并用4L的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t=4小时和t=8小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS。这是假想例。

[0797] 聚合物D的合成

[0798] 

[0799] 不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS(聚合物D).在0℃下,向不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-CVA(26mg,1.3μmol)的DMF(1.0mL)溶液中添加2-(2-(2-(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-醇(TEG-PDS,100mg,0.3mmol)、4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基-吗啉鎓氯化物(DMTMM,15mg,54.3μmol)和N,N-二异丙基乙胺(DIEA,100μL,0.6mmol)。将反应温热至室温,同时搅拌15小时。然后将粗产物逐滴沉淀到EtOAc(45mL)中。将析出物和溶剂混合物在2000-G下离心30分钟,小心移除上清液。将固体再溶于2.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(10kDa MWCO)中,并用4L的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t=4小时和t=8小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS。这是假想例。

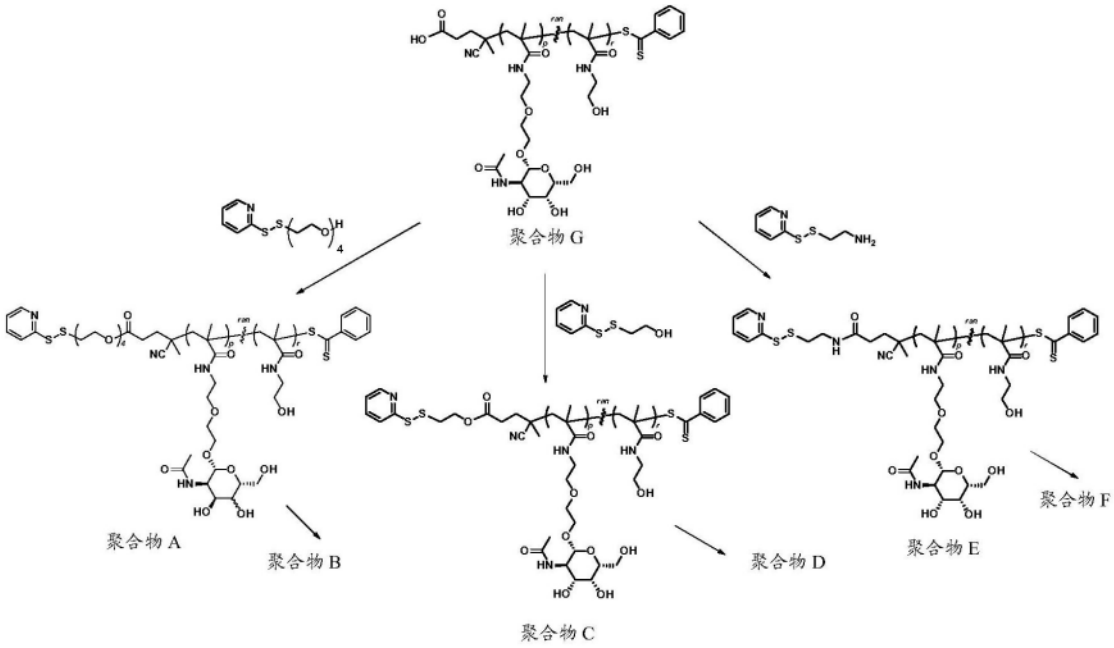
[0800] 聚合物F的合成

[0801] 

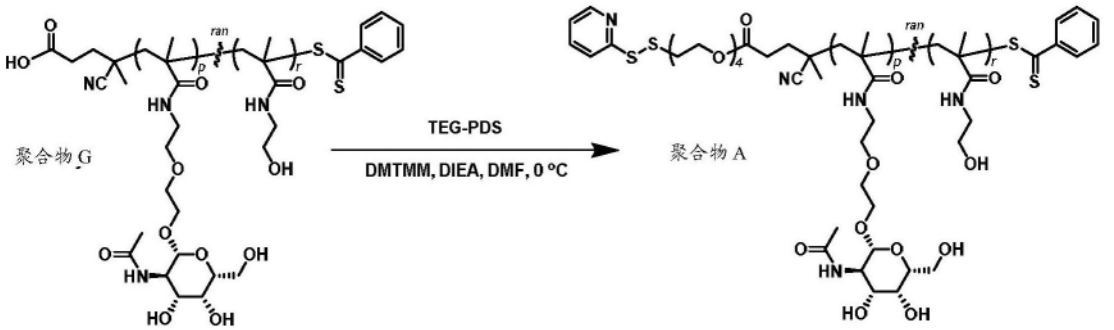
[0802] 不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-乙基酰胺(聚合物F).将不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-CVA(300mg,15.9μmol)的DMF(4.0mL)溶液在室温下搅拌5小时。向该溶液中添加2-(2-吡啶二硫代)乙胺盐酸盐(乙胺-PDS,10.6mg,47.6μmol)和N,N-二异丙基乙胺(DIEA,13.8μL,7.9μmol)。使以上混合物冷却至0℃并添加EDC(7.6mg,39.6μmol)和DMAP(0.5mg,4.1μmol)。将反应温热至室温,同时搅拌15小时。然后将粗产物逐滴沉淀到EtOAc(45mL)中。将析出物和溶剂混合物在2000-G下离心30分钟,小心移除上清液。将固体再溶于2.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(7kDa MWCO)中,并用4L的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t=4小时和t=20小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-乙基酰胺。这是假想例。

[0803] 实施例7:用于合成不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS、不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺的额外方法,以及不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS乙基酰胺聚合物合成

[0804] 以下描述了使用羧酸封端的聚合物制备含DTB聚合物(例如聚合物A、聚合物C和聚合物E)和不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚合物(例如聚合物B、聚合物D和聚合物F)的合成方法的实施方案,如以下路线所显示。

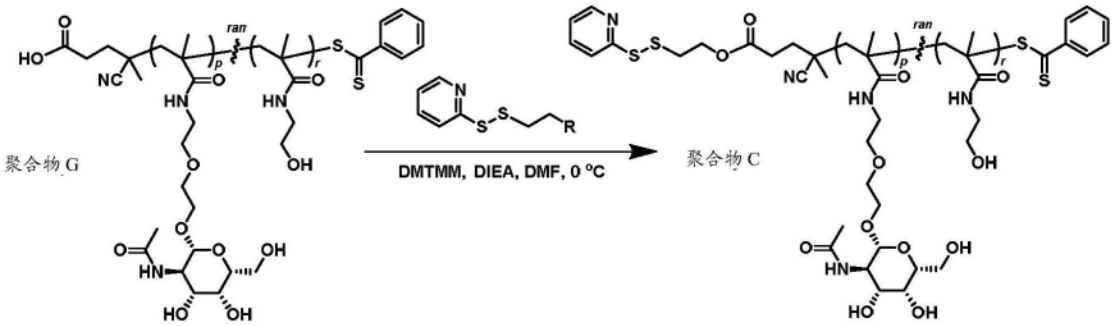
[0805] 

[0806] 聚合物A的合成

[0807] 

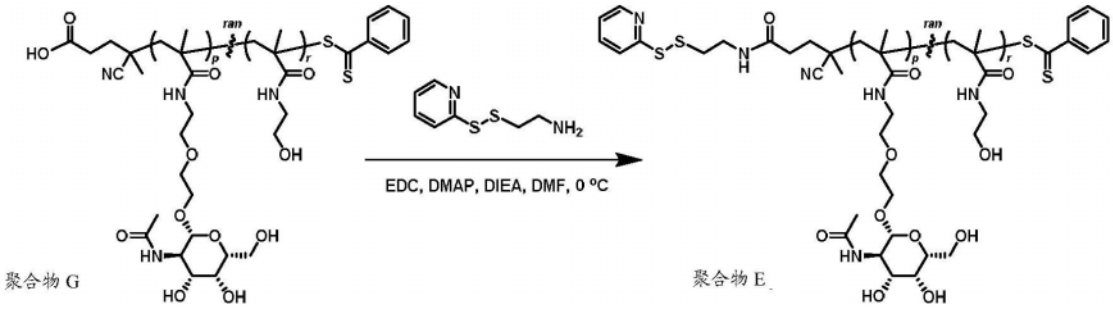
[0808] 聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS(聚合物A).在0℃下,向聚(GalNAc-共-HEMA)-CVA(26mg,1.3μmol)的DMF(1.0mL)溶液中添加2-(2-(2-(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-醇(TEG-PDS,100mg,0.3mmol)、4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基-吗啉鎓氯化物(DMTMM,15mg,54.3μmol)和N,N-二异丙基乙胺(DIEA,100μL,0.6mmol)。将反应温热至室温,同时搅拌15小时。然后将粗产物逐滴沉淀到EtOAc(45mL)中。将析出物和溶剂混合物在2000-G下离心30分钟,小心移除上清液。将固体再溶于2.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(10kDa MWCO)中,并用4L的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t=4小时和t=8小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈粉色固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS(10mg,33%)。

[0809] 聚合物C的合成

[0810] 

[0811] 聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS(聚合物C).在0℃下,向聚(GalNAc-共-HEMA)-CVA(26mg,1.3μmol)的DMF(1.0mL)溶液中添加2-(2-(2-(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-醇(TEG-PDS,100mg,0.3mmol)、4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基-吗啉鎓氯化物(DMTMM,15mg,54.3μmol)和N,N-二异丙基乙胺(DIEA,100μL,0.6mmol)。将反应温热至室温,同时搅拌15小时。然后将粗产物逐滴沉淀到EtOAc(45mL)中。将析出物和溶剂混合物在2000-G下离心30分钟,小心移除上清液。将固体再溶于2.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(10kDa MWCO)中,并用4L的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t=4小时和t=8小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS。这是假想例。聚合物D可根据需要由如上所述的聚合物C合成。

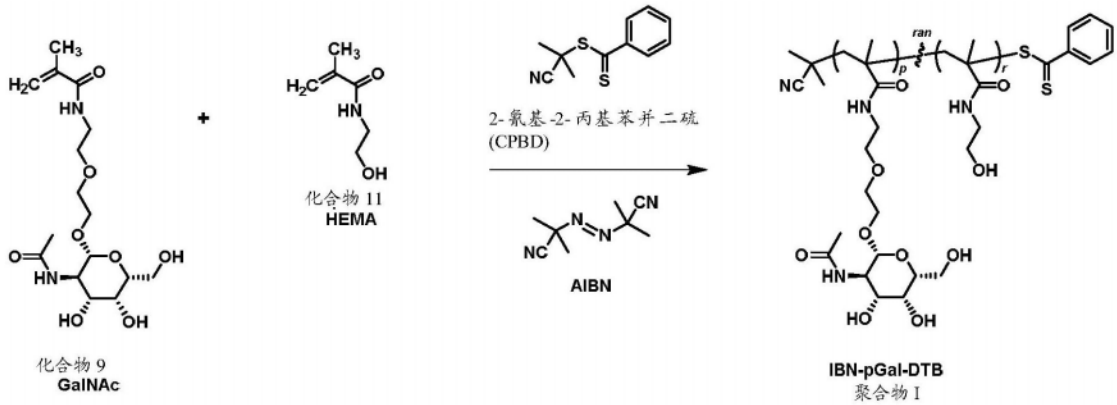
[0812] 聚合物E的合成

[0813] 

[0814] 聚(GalNAc-共-HEMA)-乙基酰胺(聚合物E).将聚(GalNAc-共-HEMA)-CVA(300mg,15.9μmol)的DMF(4.0mL)溶液在室温下搅拌5小时。向该溶液中添加2-(2-吡啶二硫代)乙胺盐酸盐(乙胺-PDS,10.6mg,47.6μmol)和N,N-二异丙基乙胺(DIEA,13.8μL,7.9μmol)。使以上混合物冷却至0℃并添加EDC(7.6mg,39.6μmol)和DMAP(0.5mg,4.1μmol)。将反应温热至室温,同时搅拌15小时。然后将粗产物逐滴沉淀到EtOAc(45mL)中。将析出物和溶剂混合物在2000-G下离心30分钟,小心移除上清液。将固体再溶于2.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(7kDa MWCO)中,并用4L的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t=4小时和t=20小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈粉色固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-乙基酰胺(178mg,58%)。聚合物F可根据需要由如本文别处所述的聚合物F合成。

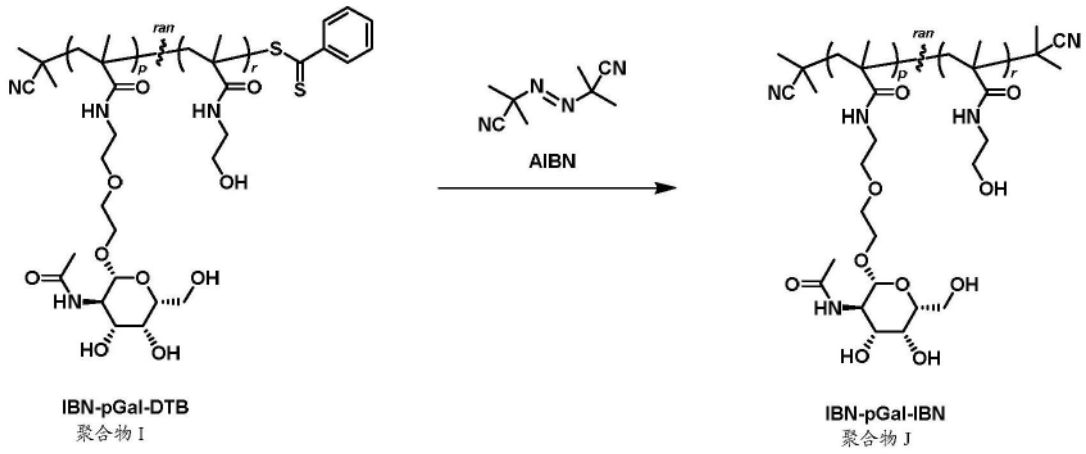
[0815] 实施例8:用于合成不含DTB的聚合物的额外方法

[0816] 聚合物I的合成

[0817] 

[0818] IBN-pGal-DTB(聚合物I).目标分子量为20.0kDa、目标聚合度为大约80个单体且目标GalNAc:HEMA单体比率为50:50的IBN-pGal-DTB的典型实施例合成如下:将配备有PTFE阀且位于弱光区域中的100mL单颈Schlenk烧瓶用超高纯度氩气(6级)吹扫,置于冰浴中,并装入磁力搅拌棒、化合物9(15.0g,39.9mmol,固体)、化合物11(5.1g,39.9mmol,作为5.0mL纯净油状物添加)、2-氰基-2-丙基苯并二硫(176.4mg,0.8mmol,作为7.0mL的储备溶液以25.0mg/mL添加)、2,2′-偶氮双(2-甲基丙腈)(26.2mg,0.2mmol,作为5.2mL的储备溶液以5.04mg/mL添加)和N,N-二甲基甲酰胺(28mL)。将烧瓶用橡胶隔片密封,隔片用石蜡膜强化,并使溶液在冰上用超高纯度(6级)氩气鼓泡1小时。在鼓泡之后,使溶液根据以下程序脱气:将烧瓶的内容物在约500rpm下搅拌并暴露于高真空2分钟。然后关闭真空,用氩气回填内容物。使该过程重复10次。在最终的泵循环之后,将脱气的溶液用氩气覆盖,并允许在75℃的预热油浴中以约700rpm搅拌6小时。通过将烧瓶浸没在冰浴中,使溶液暴露于空气,并允许溶液在冰上以500rpm搅拌15分钟来淬灭RAFT聚合。然后,在室温下将粗制反应溶液沉淀到1000mL 2-丙醇中。经由一次性聚乙烯烧结漏斗(40微米,2000mL容量)过滤所得析出物,用2-丙醇洗涤四次,分离并真空干燥,以得到呈薄片状淡粉色固体的IBN-pGal-DTB(11.1g,55.05%)。GPC:M_p=16.6kDa,$Đ$=1.15。^{1}H-NMR(499.9MHz,D_2O,25℃,ppm):δ=0.8-1.6(m,3H,主链甲基),1.6-2.3(m,2H,主链亚甲基),3.2-3.45(br.s,4H,乙氧基亚甲基),3.5-4.1(m,糖环质子),4.45-4.6(br.s,1H,异头),7.0-8.6(m,9H,端基芳族).

[0819] 聚合物J的合成

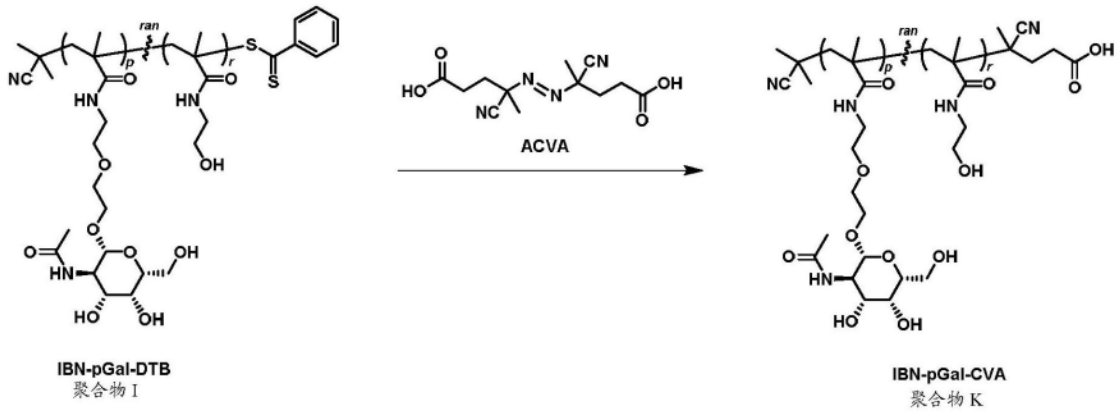
[0820] 

[0821] IBN-pGal-IBN(聚合物J).将配备有PTFE阀且位于弱光区域中的100mL单颈Schlenk烧瓶用高纯度氩气(6级)吹扫,并装入磁力搅拌棒、IBN-pGal-PDS中间体(16.6kDa,

10.0g,0.60mmol,1.0当量,固体)、2,2′-偶氮双(2-甲基丙腈)(AIBN)(2.9g,18.07mmol,30当量,固体)和N,N-二甲基甲酰胺(57mL,无水)。添加顺序为:AIBN,pGal,DMF。将烧瓶用橡胶隔片密封,隔片用石蜡膜强化,并且允许悬浮液在冰浴中以700rpm搅拌,同时用氩气鼓泡60分钟。在鼓泡之后,使溶液根据以下程序脱气:将烧瓶的内容物在约500rpm下搅拌并暴露于高真空2分钟。然后关闭真空,用氩气回填内容物。使该过程重复10次。在最终的泵循环之后,将脱气的溶液用氩气覆盖,并允许在75℃的预热油浴中以约700rpm搅拌2小时。反应根据以下程序猝灭:将烧瓶从油浴中移除,立即浸没在冰浴中,并允许在冰上以700rpm搅拌10分钟。然后从烧瓶移除隔片和Schlenk阀,并允许粗制反应溶液在冰上以700rpm再搅拌15分钟。然后,在室温下将粗制反应溶液沉淀到1000mL 2-丙醇中。经由一次性聚乙烯烧结漏斗(40微米,2000mL容量)过滤所得析出物,用2-丙醇洗涤四次,分离并真空干燥。将干燥的析出物再溶于200mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(250mL容量,10.0kDa MWCO)中,并用16体积的Milli-Q水透析48小时,在该期间,在t=4、12、24和36小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈薄片状灰白色固体的IBN-pGal-IBN最终产物。这是假想例。

[0822] 聚合物K的合成

[0823]



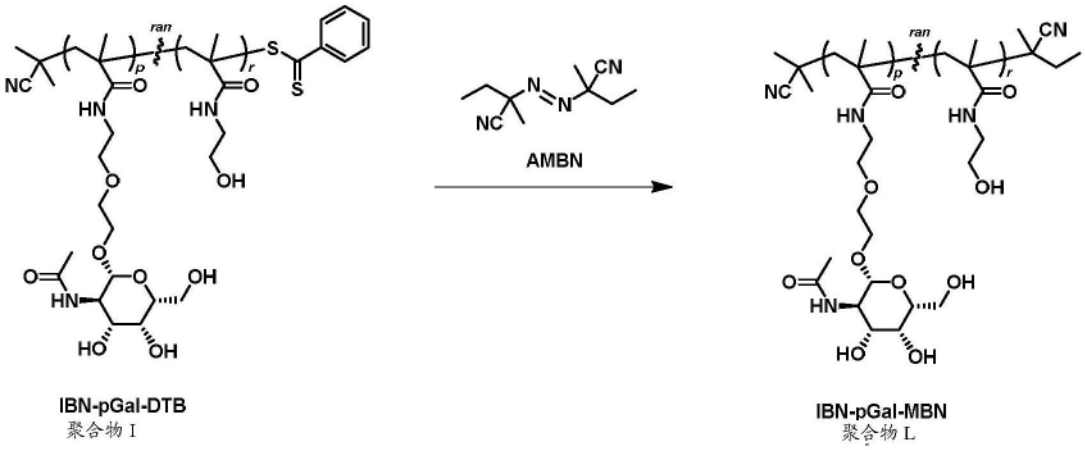
IBN-pGal-DTB
聚合物I

IBN-pGal-CVA
聚合物K

[0824] IBN-pGal-CVA(聚合物K).将配备有PTFE阀且位于弱光区域中的100mL单颈Schlenk烧瓶用高纯度氩气(6级)吹扫,并装入磁力搅拌棒、IBN-pGal-PDS中间体(16.6kDa,10.0g,0.60mmol,1.0当量,固体)、4,4′-偶氮双(4-氰基戊酸)(ACVA)(5.1g,18.07mmol,30当量,固体)和N,N-二甲基甲酰胺(57mL,无水)。添加顺序为:AIBN,pGal,DMF。将烧瓶用橡胶隔片密封,隔片用石蜡膜强化,并且允许悬浮液在冰浴中以700rpm搅拌,同时用氩气鼓泡60分钟。在鼓泡之后,使溶液根据以下程序脱气:将烧瓶的内容物在约500rpm下搅拌并暴露于高真空2分钟。然后关闭真空,用氩气回填内容物。使该过程重复10次。在最终的泵循环之后,将脱气的溶液用氩气覆盖,并允许在75℃的预热油浴中以约700rpm搅拌2小时。反应根据以下程序猝灭:将烧瓶从油浴中移除,立即浸没在冰浴中,并允许在冰上以700rpm搅拌10分钟。然后从烧瓶移除隔片和Schlenk阀,并允许粗制反应溶液在冰上以700rpm再搅拌15分钟。然后,在室温下将粗制反应溶液沉淀到1000mL 2-丙醇中。经由一次性聚乙烯烧结漏斗(40微米,2000mL容量)过滤所得析出物,用2-丙醇洗涤四次,分离并真空干燥。将干燥的析出物再溶于200mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(250mL容量,10.0kDa MWCO)中,并用16体积的Milli-Q水透析48小时,在该期间,在t=4、12、24和36小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈薄片状灰白色固体的IBN-pGal-IBN最终产物

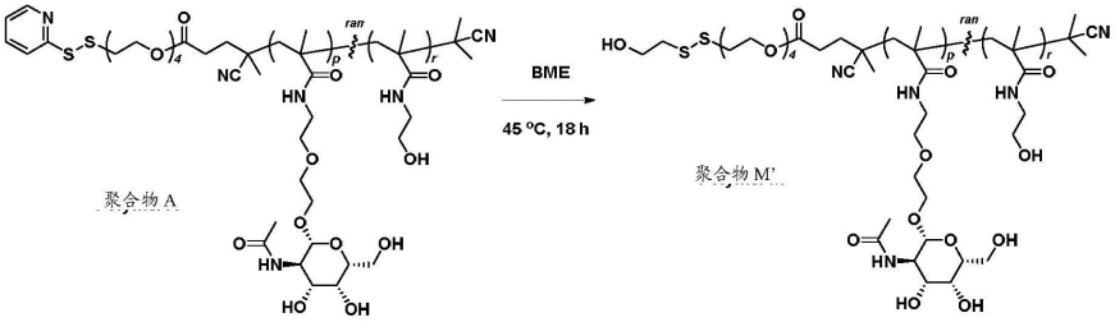
(8.5g,56.5%)。GPC:M_p=16.6kDa,$Đ$=1.15。^{1}H-NMR(499.9MHz,D_2O,25℃,ppm):δ=0.8-1.6(m,3H,主链甲基),1.6-2.3(m,2H,主链亚甲基),3.2-3.45(br.s,4H,乙氧基亚甲基),3.5-4.1(m,糖环质子),4.45-4.6(br.s,1H,异头),7.0-8.6(m,9H,端基芳族).

[0825] 聚合物L的合成

[0826] 

[0827] IBN-pGal-MBN(聚合物L).将配备有PTFE阀且位于弱光区域中的100mL单颈Schlenk烧瓶用高纯度氩气(6级)吹扫,并装入磁力搅拌棒、IBN-pGal-PDS中间体(16.6kDa,10.0g,0.60mmol,1.0当量,固体)、2,2′-偶氮双(2-甲基丁腈)(AMBN)(3.5g,18.07mmol,30当量,固体)和N,N-二甲基甲酰胺(57mL,无水)。添加顺序为:AIBN,pGal,DMF。将烧瓶用橡胶隔片密封,隔片用石蜡膜强化,并且允许悬浮液在冰浴中以700rpm搅拌,同时用氩气鼓泡60分钟。在鼓泡之后,使溶液根据以下程序脱气:将烧瓶的内容物在约500rpm下搅拌并暴露于高真空2分钟。然后关闭真空,用氩气回填内容物。使该过程重复10次。在最终的泵循环之后,将脱气的溶液用氩气覆盖,并允许在75℃的预热油浴中以约700rpm搅拌2小时。反应根据以下程序猝灭:将烧瓶从油浴中移除,立即浸没在冰浴中,并允许在冰上以700rpm搅拌10分钟。然后从烧瓶移除隔片和Schlenk阀,并允许粗制反应溶液在冰上以700rpm再搅拌15分钟。然后,在室温下将粗制反应溶液沉淀到1000mL 2-丙醇中。经由一次性聚乙烯烧结漏斗(40微米,2000mL容量)过滤所得析出物,用2-丙醇洗涤四次,分离并真空干燥。将干燥的析出物再溶于200mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(250mL容量,10.0kDa MWCO)中,并用16体积的Milli-Q水透析48小时,在该期间,在t=4、12、24和36小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈薄片状灰白色固体的IBN-pGal-MBN最终产物。这是假想例。

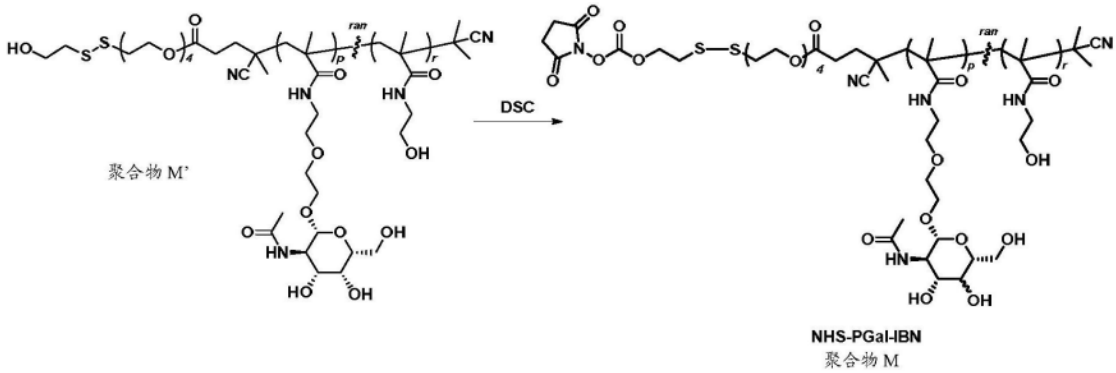
[0828] 聚合物M的合成

[0829] 

[0830] 聚(GalNAc-共-HEMA)-乙醇(聚合物M').将PDS-pGal-IBN(24.7kDa,2g,

80.97mmol)的2-巯基乙醇(BME,10mL)溶液在45℃下加热18小时。然后将粗产物逐滴沉淀到EtOAc(45mL)中。将析出物和溶剂混合物在2500-G下离心30分钟,小心移除上清液,将EtOAc(45mL)添加到固体中。将混合物在2000-G下离心30分钟,将该过程再重复两次。将固体在压力下干燥过夜,并再溶于5.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(7kDa MWCO)中,并用4L的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t=4小时和t=15小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥,以得到呈白色固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-乙醇(24.7kDa,1.5g,75%)。

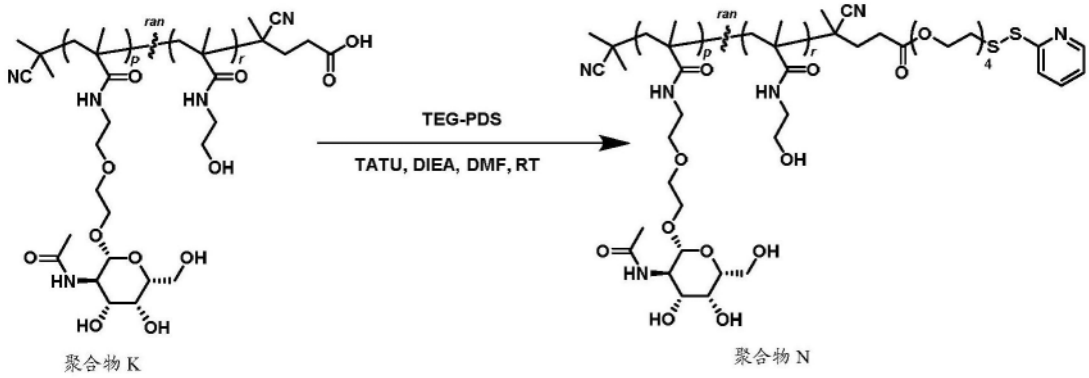
[0831]



[0832] 聚(GalNAc-共-HEMA)-NHS(聚合物M).向聚(GalNAc-共-HEMA)-乙醇(24.7kDa,1.5g,0.60mmol)的DMF(15mL)溶液中添加吡啶(19mL,0.24mmol),使混合物在冰浴中冷却至0℃,并此时添加N,N′-二琥珀酰亚胺基碳酸酯(DSC)(31mg,0.121mmol)。将反应在室温下搅拌15小时。然后将粗产物逐滴沉淀到EtOAc(45mL)中。将析出物和溶剂混合物在2500-G下离心30分钟,小心移除上清液,将EtOAc(45mL)添加到固体中。将混合物在2000-G下离心30分钟,将该过程再重复两次。将固体在减压下干燥18小时,以得到呈白色固体的聚(GalNAc-共-HEMA)-NHS(1.4g,93%)。

[0833] 聚合物N的合成

[0834]

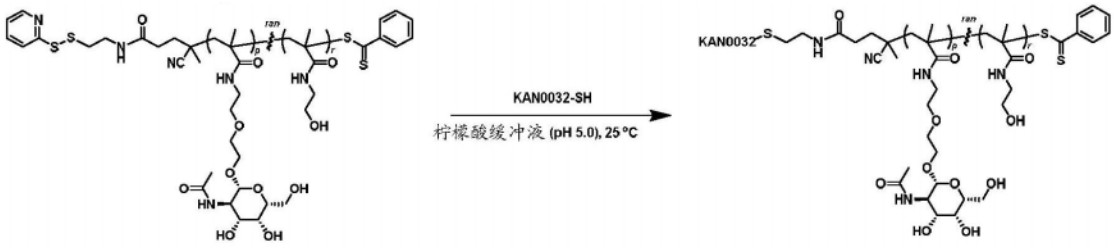


[0835] IBN-pGal-PDS(聚合物N).向IBN-pGal-COOH(15.8kDa,200mg,12.99μmol)的DMF(2.0mL)溶液中添加2-(2-(2-(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-醇(TEG-PDS,20mg,0.063mmol)、O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸酯(TATU,10mg,31.04μmol)和N,N-二异丙基乙胺(10μL,0.06mmol)。将反应在室温下搅拌15小时。然后将粗产物逐滴沉淀到EtOAc(45mL)中。将析出物和溶剂混合物在2500-G下离心30分钟,小心移除上清液,将EtOAc(45mL)添加到固体中。将浆液在2000-G下离心30分钟,将该过程两次再重复。将固体再溶于5.0mL Milli-Q水中,装入Slide-a-Lyzer透析盒(7kDa MWCO)中,并用4L的Milli-Q水透析24小时,在该期间,在t=4小时和t=15小时执行溶剂交换。然

后将透析的水溶液经由冻干干燥，以得到呈白色固体的IBN-pGal-PDS(15.8kDa，168mg，84％)。

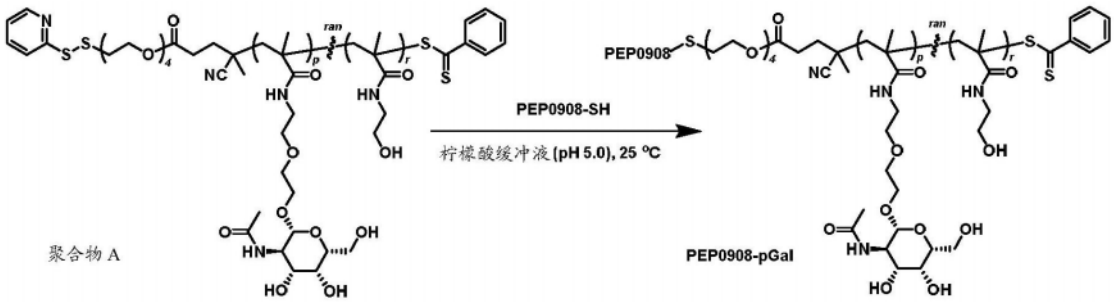
[0836] 实施例9:聚合物的官能化

[0837] KAN0032-pGal-乙基酰胺合成

[0838] 

[0839] KAN0032-pGal-乙基酰胺:使KAN0032(2.2mg，0.8μmol)溶解于水(220μL)中并添加到40mM柠檬酸缓冲液(220μL)中。将该溶液添加到含有聚(GalNAc-共-HEMA)-乙基酰胺(17.2mg，0.9μmol)的小瓶中。将混合物置于定轨摇床上以60rpm保持3小时。将缀合物用Milli-Q水稀释至1.0mL，装入Slide-a-Lyzer透析盒(7kDa MWCO)中，并用4L的Milli-Q水透析24小时，在该期间，在t＝4小时、t＝8小时执行溶剂交换。然后将透析的水溶液经由冻干干燥，以得到呈淡粉色固体的KAN0032-pGal-乙基酰胺(10mg，67％)。图1显示对产物执行的SDS-PAGE凝胶(用Coomassie SimplyBlue染色)，其显示了对应于KAN-0032-pGal缀合物的独特条带——在仅含有肽的泳道中不存在的条带。pGal聚合物不被Coomassie SimplyBlue染色，因此不能可视化。KAN0032是全长抗原的代表性致耐受性部分。它是存在于食物中的外源抗原，可以通过口服途径进入身体，并且是作为不希望的免疫反应的靶标的代表性食物抗原。KAN0032的长度为27个氨基酸，并且包含由沿着KAN0032肽链的赖氨酸残基呈现的游离胺基以及末端游离胺(用于经由酰胺形成或氨基甲酸酯形成进行胺缀合)。KAN0032还包含由沿着KAN0032肽链的半胱氨酸残基呈现的游离巯基(用于基于硫醇的缀合和二硫化物形成)。在这种情况下，形成二硫化物以形成致耐受性构建体。

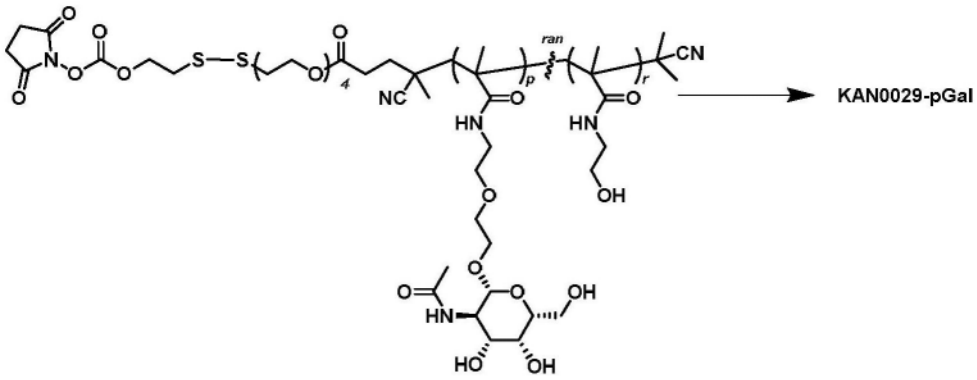
[0840] PEP0908-pGal合成

[0841] 

[0842] PEP0908-pGal:使PEP0908(1.0mg，0.2μmol)溶解于0.1M柠檬酸缓冲液(100μL)中。将该溶液添加到含有聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS(修饰后)(6mg，0.3μmol)的小瓶中。将混合物置于定轨摇床上以60rpm保持3小时。如图2所示，通过SDS-PAGE凝胶(用Coomassie SimplyBlue染色)证实缀合物的形成，其显示了对应于PEP0908-pGal缀合物的独特条带——在仅含有肽的泳道中不存在的条带。pGal聚合物不被Coomassie SimplyBlue染色，因此不能可视化。PEP0908是全长抗原的代表性致耐受性部分。它是作为自身免疫疾病(在这种情况下为MS)中不希望的免疫反应的靶标的自身抗原。PEP0908的长度为45个氨基酸，并且包含由沿着PEP0908肽链的赖氨酸残基呈现的游离胺基以及末端游离胺(用于经由酰

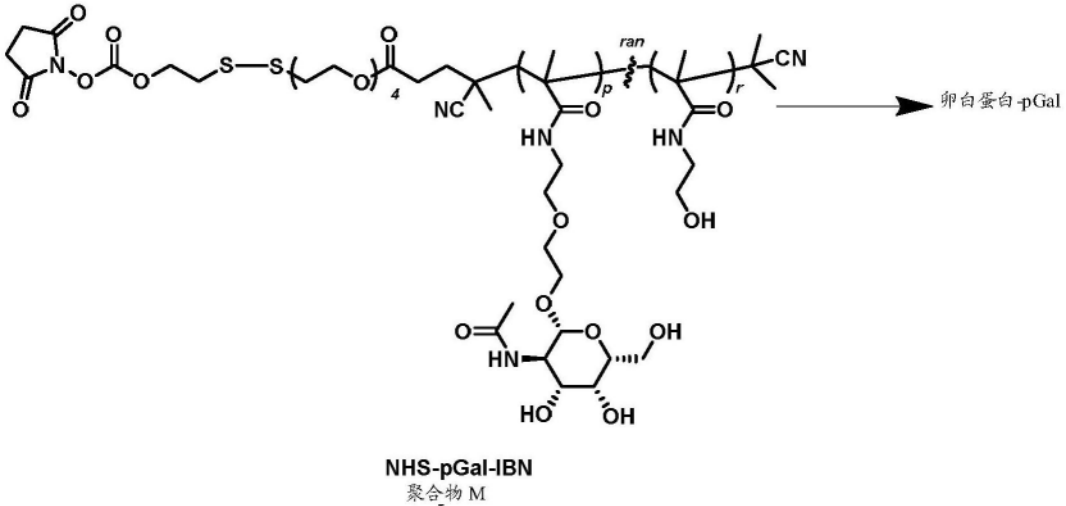
胺形成或氨基甲酸酯形成进行胺缀合)。PEP0908还包含由沿着PEP0908肽链的半胱氨酸残基呈现的游离巯基(用于基于硫醇的缀合和二硫化物形成)。在这种情况下,形成二硫化物以提供致耐受性构建体。

[0843] KAN0029胺缀合

[0844] 

[0845] KAN0029-pGal:使KAN0029(0.3mg,0.106μmol)溶解于PBS缓冲液(60μL)中。将该溶液添加到含有聚(GalNAc-共-HEMA)-NHS(NHS-pGal-IBN,24.7kDa,4mg,0.22μmol)的小瓶中,并且添加N,N-二异丙基乙胺(1μL)。将混合物置于定轨摇床上以60rpm保持18小时。如图3所示,通过SDS-PAGE凝胶(用Coomassie SimplyBlue染色)证实缀合物,其显示了对应于KAN0029-pGal缀合物的独特条带。pGal聚合物不被Coomassie SimplyBlue染色,因此不能可视化。KAN0029是全长抗原的代表性致耐受性部分。它是作为用于基因疗法的代表性病毒载体的病毒抗原,其中对病毒载体表现出不希望的免疫反应。KAN0029的长度为26个氨基酸,并且包含由沿着KAN0029肽链的赖氨酸残基呈现的游离胺基以及末端游离胺(用于经由酰胺形成或氨基甲酸酯形成进行胺缀合)。在这种情况下,如上所示,形成氨基甲酸酯以提供致耐受性构建体。

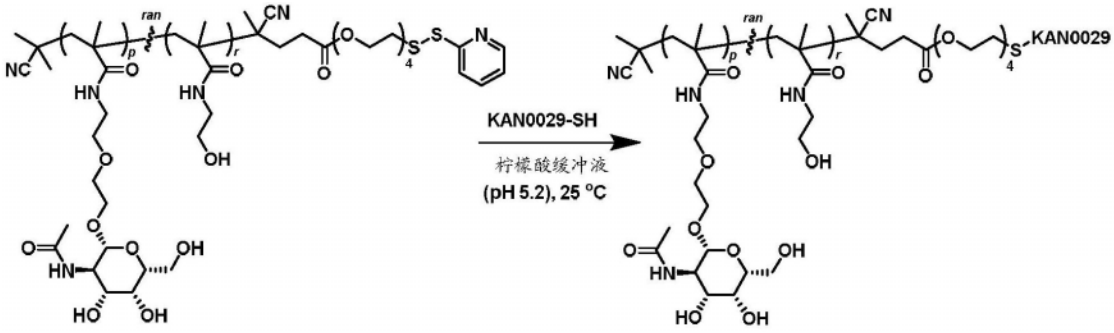
[0846] 卵白蛋白胺缀合

[0847] 

[0848] 卵白蛋白-pGal:使卵白蛋白(0.5mg,0.011μmol)溶解于HEPES缓冲液pH 7(200μL)中。将该溶液添加到含有聚(GalNAc-共-HEMA)-NHS(NHS-pGal-IBN,22.6kDa,121mg,5.35μmol)的小瓶中。将混合物置于定轨摇床上以60rpm保持18小时。如图4所示,通过SDS-PAGE凝

胶(用Coomassie SimplyBlue染色)证实缀合物,其显示了对应于卵白蛋白-pGal缀合物的独特条带。pGal聚合物不被Coomassie SimplyBlue染色,因此不能可视化。OVA(卵白蛋白)是代表性的全长抗原。它是存在于食物中的外源抗原,并且是作为不希望的免疫反应的靶标的代表性食物抗原。OVA的长度为385个残基,并且包含由沿着OVA多肽链的赖氨酸残基呈现的游离胺基以及末端游离胺(用于经由酰胺形成或氨基甲酸酯形成进行胺缀合)。

[0849] KAN0029-pGal-ω合成

[0850] 

[0851] KAN0029-pGal:使KAN0029(1.0mg,0.35μmol)溶解于0.1M醋酸缓冲液(100μL)中。将该溶液添加到含有IBN-pGal-PDS(15.8kDa,11mg,0.69μmol)的小瓶中。将混合物置于定轨摇床上以60rpm保持18小时。如图5所示,通过SDS-PAGE凝胶(用Coomassie SimplyBlue染色)证实缀合物的形成,其显示了对应于KAN0029-pGal缀合物的独特条带——在仅含有肽的泳道中不存在的条带。pGal聚合物不被Coomassie SimplyBlue染色,因此不能可视化。KAN0029是全长抗原的代表性致耐受性部分。它是作为用于基因疗法的代表性病毒载体的病毒抗原,其中对病毒载体表现出不希望的免疫反应。KAN0029的长度为26个氨基酸,并且包含由沿着KAN0029肽链的半胱氨酸残基呈现的游离巯基(用于硫醇基缀合和二硫化物形成)。在这种情况下,形成二硫化物以提供致耐受性构建体。

[0852] 实施例10:体外

[0853] 使用在Biacore T200仪器上进行的表面等离子体共振,测试具有和不具有DTB基团的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS的受体结合。由于碳水化合物-受体相互作用的多价,使用稳态亲和力来报告相互作用的平衡解离常数(K_D)。将2700RU的生物素化重组人受体固定到链霉亲和素包被的葡聚糖表面上。除了受体包被的表面之外,还包括仅含有链霉亲和素包被的葡聚糖的空白参考表面,以监测与表面的非特异性结合并校正本体折射率变化。使用补充有5mM $CaCl_2$和表面活性剂P20(HBS-P)的pH 7.3的HEPES缓冲盐水作为测定缓冲液。按照1:3倍稀释路线,在跨越9.8nM-800nM的5点浓度范围内,使用单循环动力学,将含DTB的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS和不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS依次注射在受体包被表面和参考表面上。在各系列注射之后,用pH 6.3的不含$CaCl_2$的HBS-P再生表面。与各表面相互作用的缔合时间为60秒,并且用于相互作用的流速为30μL/分钟。使用Biacore T200评价软件提供的稳态拟合算法,如下计算平衡解离常数:对于含DTB的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS,$K_{D=}$105nM,并且对于不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS,K_D=182nM。鉴于这些K_D值在彼此的2倍以内——其为这些测量的预期误差容限,含DTB的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS和不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS对它们受体的亲和力被视为等同的。

[0854] 实施例11:体内

[0855] 进行以下实验,以展示本文所公开的含有或不含DTB中间体的致耐受性组合物可以建立对给定抗原的耐受性。OVA01是卵白蛋白抗原的免疫原性片段,含有由OTI抗原特异性CD8+ T细胞识别的表位。在本实施例中使用OVA01作为期望耐受性的抗原的免疫原性片段的非限制性实例。使用生物缀合技术将OVA01与pGal化学缀合。为了确定pGal-抗原缀合物是否诱导OVA01-特异性OTI CD8+ T细胞的免疫耐受,首先向小鼠输注OTI CD8+ T细胞,然后施用聚(GalNAc-共-HEMA)-OVA01缀合物。在聚(GalNAc-共-HEMA)-OVA01处理后两周,然后用佐剂配制的卵白蛋白抗原攻击小鼠,以确定聚(GalNAc-共-HEMA)-OVA01疗法的致耐受性功效。在攻击后4天对小鼠处以安乐死,以评估抗原特异性OTI CD8+ T细胞的频率,这是展示免疫耐受的一个度量。

[0856] 方案:在第0天,同类系CD45.1 C57BL/6小鼠接受静脉内输注的770,000个经磁负分离纯化的OTI CD8+ T细胞。在第1天,用盐水、含有DTB的聚(GalNAc-共-HEMA)-OVA01(以50、250、或1,250pmol抗原/g体重给予)、或移除DTB的聚(GalNAc-共-HEMA)-OVA01(50、250、或1,250pmol抗原/g体重)处理小鼠(每组n=5)。在第15天,采用通过在所有四肢上均等分布施用的总共10μg的卵白蛋白和50ng的脂糖来攻击动物。在第19天,对小鼠处以安乐死,并通过流式细胞术评估脾中OTI T细胞的频率。

[0857] 结果:图6所示的结果说明了在脾中抗原攻击后剩余的OVA01特异性OTI CD8+ T细胞(作为总活CD3+CD8+ T细胞的百分比)。经盐水处理的小鼠在脾中显示高频率的OTI CD8+ T细胞,指示维持着对OVA01抗原特异性的炎性免疫反应。在所有测试的剂量下,用含有DTB的聚(GalNAc-共-HEMA)-OVA01或不含二硫酯(例如不含DTB)的聚(GalNAc-共-HEMA)-OVA01处理的小鼠表现出脾中OVA01特异性OTI CD8+ T细胞的显著减少。具有或不具有DTB中间体的致耐受性聚(GalNAc-共-HEMA)组合物类似地有效。与盐水对照组相比,未配对t检验的统计学显著性指示:*=$p<0.05$,**=$p<0.01$,***=$p<0.001$。

[0858] 实施例12:稳定性研究

[0859] 在含有274mM山梨糖醇的10mM乙酸钠中以1mg/mL的肽浓度(pH为约5至5.5)配制与具有DTB端基的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS缀合的抗原以及与不具有DTB端基的聚(GalNAc-共-HEMA)-PDS缀合的抗原的样品。使用无菌技术,将聚合物缀合物溶液的等分试样填充到1型玻璃小瓶中,然后将其用4023/50G橡胶塞和铝帽密封。将含有各样品的各个小瓶置于经校准的23-27℃培养箱中。

[0860] 图7显示,令人惊奇地,具有可替代端基的两种不同聚合物缀合物(例如,一种具有末端单元,另一种具有二硫酯)在数天时段内的稳定性(使用反相HPLC测量)是不同的。在0、7、14和28天的时间点,对单独的样品小瓶执行分析测试,如图7所示。而且显示,在相同条件下,不含二硫酯(例如不含DTB)的缀合物比含有二硫酯的缀合物具有显著更高的稳定性。

[0861] 如上所指出,通过反相HPLC测试样品。在220nm处测量主峰面积百分比,记录并绘图。相对于具有DTB端基的缀合物而言,不含二硫酯的(例如不含DTB的)聚(GalNAc-共-HEMA)缀合物(具有异丁腈(IBN)端基)具有增强的稳定性。

[0862] 该测试展示,不含二硫酯的(例如不含DTB的)构建体(和/或包含与接头的碳键、缺乏芳基官能团、和/或缺乏含硫原子(如二硫酯)的末端单元)与含二硫酯的构建体相比具有令人惊奇地改善的稳定性。在若干实施方案中,通过使用缺乏二硫酯基团的末端单元(作为使用与偶氮化合物(例如双偶氮化合物)的反应的反应产物,和/或使用该反应产生的末端

单元)、缺乏具有含硫单元(例如二硫酯)的封端基团、和/或缺乏芳基部分的末端单元来改善稳定性。在若干实施方案中,所得的反应产物的稳定性(相对于含有二硫酯的构建体而言)增强约5%、约10%、约15%、约20%、或约25%。在若干实施方案中,就抗原特异性免疫耐受的诱导而言,这样的稳定性的增加导致了本文所公开的组合物的功能改善。在若干实施方案中,随后引入如本文所公开的致耐受性组合物中的反应产物的增加的稳定性了导致组合物在体内更长的功能寿命,允许更快速、更有效、更稳健、或以其他方式改善的对抗原的耐受性的诱导。

[0863] 在若干实施方案中,不含DTB的实施方案(相对于包含DTB的化合物)的稳定性改善了等于或至少约:1.0%、2.5%、5%、10%、15%、20%、或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中,在5、10、14、20、15、28天或更长的时段内,不含DTB的化合物以降低的速率降解,例如,它们的稳定性下降了小于或等于约:0.1%、0.5%、1.0%、2.0%、2.5%、5%。在若干实施方案中,稳定性测试可以使用实施例11中所提供的条件执行。在若干实施方案中,稳定性测试可以在等于或至少约以下的时段内执行:7天、14天、28天,或包括和/或跨越前述值的范围。在若干实施方案中,稳定性测试可以使用包含乙酸钠缓冲液的溶液执行。在若干实施方案中,稳定性测试可以使用包含山梨糖醇的溶液执行。在若干实施方案中,稳定性测试可以使用pH为约5的水溶液执行。在若干实施方案中,稳定性测试可以在约23-27℃的温度下执行。在一些实施方案中,测试使用肽浓度为1mg/mL(pH为约5)的含有274mM山梨糖醇的10mM乙酸钠的溶液执行。在一些实施方案中,测试在23-27℃下14天或28天的时段内执行。

[0864] 实施例13:不含二硫酯的实施方案的额外稳定性研究

[0865] 将两批pGal聚合物最终产物(不含DTB)置于三种储存条件温度下的长期稳定性评价程序:-20℃±5℃、5℃±3℃和25℃±2℃。在25℃储存条件下,维持60%±5%的相对湿度(RH)。在所有情况下,将pGal聚合物储存于高密度聚乙烯(HDPE)塑料瓶中,用聚丙烯(PP)帽密封,用氩气覆盖,并避光。已经展示该容器封闭系统与pGal聚合物兼容。在制造后立即进行初始聚合物表征(t=0)之后,对于-20℃±5℃和5℃±3℃的储存温度以3、6和9个月的时间间隔,以及对于25℃±2℃的储存温度以3和9个月的时间间隔,从各储存温度条件中撤出pGal聚合物样品。在各稳定性时间点,评价pGal聚合物的外观、化学鉴定、分子量、分子量分布、含水量、反应性(硫代吡啶含量)和纯度。

[0866] 在各稳定性时间点,通过视觉检测评价pGal聚合物的外观,并与已知的参考材料比较。基于先前相似规模的制造经验,外观也被确认为符合预期。还使用^{1}H-NMR光谱学确认pGal聚合物的化学鉴定。将pGal聚合物的^{1}H-NMR光谱与已知的参比材料比较,其中确认了在pGal聚合物结构内的各种相关位置中相对积分和质子化学位移。pGal聚合物的尖峰分子量(M_p)和分子量分布(M_W/M_N)经由配备有多角度光散射检测的尺寸排阻色谱法(SEC-MALS)测定,从而基于已知的折射率增量校准而得到pGal聚合物的绝对分子量分布。根据USP<921>,使用卡尔费希尔滴定法测量含水量。通过评价在聚合物链的α末端的2-硫代吡啶(TP)基团的存在来确定pGal聚合物的反应性。该方法涉及经由三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP)还原剂的水性处理,使已知浓度的pGal聚合物的TP基团还原,并经由反相高效液相色谱法(RP-HPLC)分析粗制反应混合物。经由RP-HPLC测量释放的2-巯基吡啶(或其互变异构体吡啶-2-硫酮),并针对2-巯基吡啶标准曲线进行定量。然后执行质量平衡,以基于TP与pGal聚合物

之间的预期1:1摩尔比，建立含有TP官能化的活性α端基的pGal聚合物的摩尔量。通过RP-HPLC测定纯度，其中完整的pGal聚合物与其已知的降解产物充分分离，这基于它们在给定波长下的相对保留时间。使用相同的测定，通过观察跨越各种波长的pGal聚合物峰的存在，可以容易地将具有DTB端基的pGal聚合物与不具有DTB端基的pGal聚合物分离，由此确认在pGal聚合物端基变化的同时存在两种降解杂质。纯度评价报告了总聚合物纯度(相对于降解产物的外观)以及样品中存在的含DTB的聚合物的百分比。

[0867] 下表2-7提供了这些测试的结果。

[0868] 表2:-20℃±5℃下储存的pGal聚合物的稳定性数据

[0869]

测试	技术	初始	3个月	6个月	9个月
外观	视觉检测	--	无变化	无变化	无变化
鉴定	^{1}H-NMR	--	相对于参考确认	相对于参考确认	相对于参考确认
峰MW（M_p）	SEC-MALS	--	无变化	+0.4%	无变化
摩尔质量分散度（M_W/M_N）	SEC-MALS	--	-0.8%	+0.8%	+0.8%
硫代吡啶含量	RP-HPLC	--	+1.4%	无变化	-1.4%
纯度（LC-UV）	RP-HPLC	–	100%总pGal聚合物	100%总pGal聚合物	100%总pGal聚合物

[0870] 缩写:-＝未测试;M_N＝数均分子量;M_p＝尖峰分子量;MW＝分子量;M_W＝重均分子量;NMR＝核磁共振;SEC-MALS＝具有多角度光散射检测的尺寸排阻色谱法;RP-HPLC＝反相高效液相色谱法。

[0871] 表3:5℃±3℃下储存的pGal聚合物的稳定性数据

[0872]

测试	技术	初始	3 个月	6 个月	9 个月
外观	视觉检测	--	无变化	无变化	无变化
鉴定	^{1}H-NMR	--	相对于参考确认	相对于参考确认	相对于参考确认
峰 MW（M_p）	SEC-MALS	--	无变化	无变化	无变化
摩尔质量分散度（M_W/M_N）	SEC-MALS	--	-0.8%	+0.8%	+0.8%
硫代吡啶含量	RP-HPLC	--	无变化	-1.4%	-1.4%
纯度（LC-UV）	RP-HPLC	--	100%总 pGal 聚合物	100%总 pGal 聚合物	100%总 pGal 聚合物

[0873] 缩写:-=未测试;M_N=数均分子量;M_p=尖峰分子量;MW=分子量;M_W=重均分子量;NMR=核磁共振;SEC-MALS=具有多角度光散射检测的尺寸排阻色谱法;RP-HPLC=反相高效液相色谱法。

[0874] 表4:25℃±2℃/60%±5%RH下储存的pGal聚合物的稳定性数据

[0875]

测试	技术	初始	3 个月	9 个月
外观	视觉检测	--	无变化	无变化
鉴定	^{1}H-NMR	--	相对于参考确认	相对于参考确认
峰 MW（M_p）	SEC-MALS	--	+0.4%	无变化
摩尔质量分散度（M_W/M_N）	SEC-MALS	--	-0.8%	+0.8%
硫代吡啶含量	RP-HPLC	--	无变化	无变化
纯度（LC-UV）	RP-HPLC	--	100%总 pGal 聚合物	100%总 pGal 聚合物

[0876] 缩写:-=未测试;M_N=数均分子量;M_p=尖峰分子量;MW=分子量;M_W=重均分子量;NMR=核磁共振;SEC-MALS=具有多角度光散射检测的尺寸排阻色谱法;RP-HPLC=反相

高效液相色谱法;RH＝相对湿度。

[0877] 表5:-20℃±5℃下储存的pGal聚合物的稳定性数据

[0878]

测试	技术	初始	3个月	6个月	9个月
外观	视觉检测	--	无变化	无变化	无变化
鉴定	^{1}H-NMR	--	相对于参考确认	相对于参考确认	相对于参考确认
峰MW（M_p）	SEC-MALS	--	无变化	无变化	无变化
摩尔质量分散度（M_W/M_N）	SEC-MALS	--	无变化	+1.6%	+0.8%
硫代吡啶含量	RP-HPLC	--	无变化	+1.6%	无变化
纯度（LC-UV）	RP-HPLC	--	100%总pGal聚合物	100%总pGal聚合物	100%总pGal聚合物

[0879] 缩写:-＝未测试;M_N＝数均分子量;M_p＝尖峰分子量;MW＝分子量;M_W＝重均分子量;NMR＝核磁共振;SEC-MALS＝具有多角度光散射检测的尺寸排阻色谱法;RP-HPLC＝反相高效液相色谱法。

[0880] 表6:5℃±3℃下储存的pGal聚合物的稳定性数据

[0881]

测试	技术	初始	3个月	6个月	9个月
外观	视觉检测	--	无变化	无变化	无变化
鉴定	^{1}H-NMR	--	相对于参考确认	相对于参考确认	相对于参考确认
峰MW（M_p）	SEC-MALS	--	无变化	无变化	无变化
摩尔质量分散度（M_W/M_N）	SEC-MALS	--	无变化	+1.7%	+1.7%
硫代吡啶含量	RP-HPLC	--	无变化	-1.6%	+1.6%
纯度（LC-UV）	RP-HPLC	--	100%总pGal聚合物	100%总pGal聚合物	100%总pGal聚合物

[0882] 缩写:-＝未测试;M_N＝数均分子量;M_p＝尖峰分子量;MW＝分子量;M_W＝重均分子量;NMR＝核磁共振;SEC-MALS＝具有多角度光散射检测的尺寸排阻色谱法;RP-HPLC＝反相高效液相色谱法。

[0883] 表7:25℃±2℃/60％±5％RH下储存的pGal聚合物的稳定性数据

[0884]

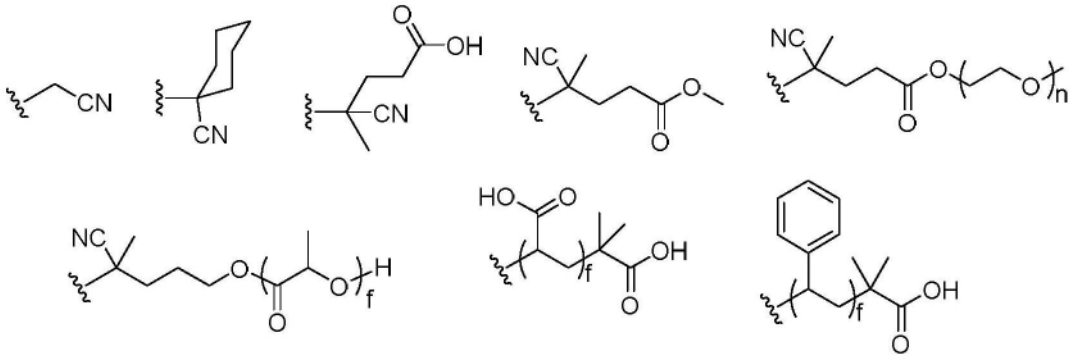
测试	技术	初始	3个月	9个月
外观	视觉检测	--	无变化	无变化
鉴定	^{1}H-NMR	--	相对于参考确认	相对于参考确认
峰MW（M_p）	SEC-MALS	--	无变化	无变化
摩尔质量分散度（M_W/M_N）	SEC-MALS	--	无变化	+1.7%
含水量	KFT	3 重量/重量%	5 重量/重量%	5 重量/重量%
硫代吡啶含量	RP-HPLC	63 摩尔/摩尔%	63 摩尔/摩尔%	63 摩尔/摩尔%
纯度（LC-UV）	RP-HPLC	---	100%总 pGal聚合物	100%总 pGal聚合物

[0885] 缩写:-=未测试;M_N=数均分子量;M_p=尖峰分子量;MW=分子量;M_W=重均分子量;NMR=核磁共振;SEC-MALS=具有多角度光散射检测的尺寸排阻色谱法;RP-HPLC=反相高效液相色谱法;RH=相对湿度。

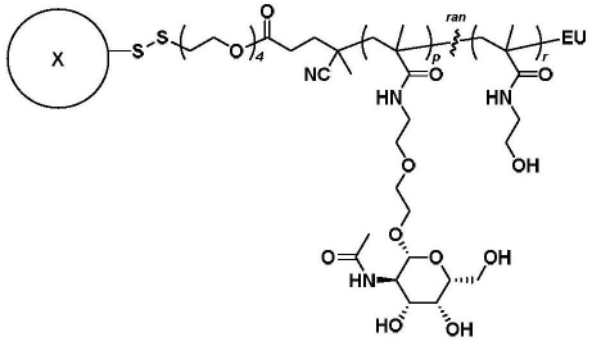
[0886] 实施例14:稳定性研究

[0887] 这是假想例。将聚合物B、D、F、M和N(来自上述实施例)官能化到样品抗原(全长抗原的片段)上,由此提供式(1)的缀合物化合物。聚合物B、D和F提供基于二硫化物的α端连接的抗原缀合物。聚合物M提供基于胺(二硫烷基乙酯)的α端连接的抗原缀合物。聚合物N提供基于二硫化物的ω端连接的抗原缀合物。另外,α端连接的抗原缀合物(包含样品抗原"X")具有/可以具有以下末端:

[0888]



[0889] 并且制备以下聚合物结构:

[0890] 

[0891] 还制备了包含二硫酯封端基团(例如R^2)的对照聚合物并将其官能化到样品抗原上。在三种不同的缓冲溶液条件中配制各聚合物缀合物(实验和对照):1)PBS溶液(pH 7.2)中1mg/mL浓度的缀合物;2)HEPES缓冲盐水(pH 8.04)溶液中1mg/mL浓度的缀合物;以及3)10mM乙酸钠、274mM山梨糖醇的溶液中1mg/mL浓度的缀合物。使用无菌技术,将聚合物缀合物溶液的等分试样填充到1型玻璃小瓶中,然后将其用4023/50G橡胶塞和铝帽密封。将含有各样品的各个小瓶置于经校准的23-27℃培养箱中。

[0892] 令人惊奇地,式(1)的聚合物缀合物相对于具有二硫酯封端基团的对照缀合物在数天内的稳定性(使用反相HPLC测量)是不同的。在0、7、14和28天的时间点,对单独的样品小瓶执行分析测试。在相同条件下,不含CTA残余部分的/不含二硫酯的(例如不含R^2的)缀合物比含有二硫酯的缀合物具有显著更高的稳定性。在220nm处测量主峰面积百分比,记录并绘图。相对于具有二硫酯端基的缀合物而言,不含二硫酯的缀合物(具有末端单元)具有增强的稳定性。例如,在储存(例如,在室温下处于缓冲溶液中)约10天的时段之后,如由HPLC所测量,对应于如本文所公开的完整构建体的峰在220nm处损失不超过其面积的约1%。或者,在储存(例如,在室温下处于缓冲溶液中)约10天的时段之后,如由HPLC所测量,对应于包含二硫酯的完整构建体的峰在220nm处损失其面积的约4%。在储存(例如,在室温下处于缓冲溶液中)约20天的时段之后,如由HPLC所测量,对应于如本文所公开的完整构建体的峰在220nm处损失不超过其面积的约1%。或者,在储存(例如,在室温下处于缓冲溶液中)约20天的时段之后,如由HPLC所测量,对应于包含二硫酯的完整构建体的峰在220nm处损失其面积的约6%。在储存(例如,在室温下处于缓冲溶液中)约28天的时段之后,如由HPLC所测量,对应于如本文所公开的完整构建体的峰在220nm处损失不超过其面积的约2%。或者,在储存(例如,在室温下处于缓冲溶液中)约28天的时段之后,如由HPLC所测量,对应于包含二硫酯的完整构建体的峰在220nm处损失其面积的约10%。

[0893] 该测试展示,不含二硫酯的构建体(和/或包含与接头的碳键、缺乏芳基官能团、和/或缺乏含硫原子(如二硫酯)的末端单元)与含二硫酯的构建体相比具有令人惊奇地改善的稳定性。

[0894] 实施例15:体内研究(与MS相关联的自身抗原的片段)

[0895] 髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(MOG)30-60是与多发性硬化症相关联的自身抗原的片段,其在本文中用作MOG的免疫原性片段的非限制性实例。小鼠实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)模型用来展示与自身抗原片段缀合的pGal(例如聚合物B)的有效免疫耐受诱导,因为有效免疫耐受诱导改善了EAE模型中的疾病结果。为了诱导多发性硬化症病理学(EAE疾病),在第0天用从单独的先前接种的供体小鼠获得的MOG35-55-反应性T细胞过继转移受者

小鼠。在第0、3和6天，小鼠接受经静脉内注射的MOG30-60肽、与pGal化学缀合的MOG-30-60肽(LT-MOG-30-60)、或盐水；额外的对照组接受施用的结合VLA-4(整联蛋白α4β1)的单克隆抗体。对组身份不知情的药理学专家每天对多发性硬化症病理学进行评估和评分。如图8所说明，施用pGal-MOG30-60的小鼠抵御多发性硬化症病理学(EAE疾病)；与之形成鲜明对比，施用单独的MOG30-60抗原、盐水、或结合VLA-4(整联蛋白α4β1)的单克隆抗体的小鼠基本上无法抵御疾病。这些数据说明，包含MS相关抗原的组合物(以举例的方式，此处为pGal-MOG30-60)有效地诱导对MOG的免疫耐受，并预防中枢神经系统的自身免疫病理学和相关联的多发性硬化症症状学(EAE疾病)。应当理解，根据本文所公开的额外实施方案，MOG的其他免疫原性片段有效诱导对MOG的耐受性，并因此治疗MS。

[0896] 实施例16：体内研究(1型糖尿病的自身抗原的模拟表位)

[0897] P31是嗜铬粒蛋白-A的模拟表位，其为1型糖尿病中的自身抗原。在本实施例中使用P31作为期望耐受性的抗原的模拟表位的非限制性实例。NOD.BDC2.5小鼠模型用于说明与自身抗原的模拟表位缀合的pGal(例如聚合物B)的致耐受性功效。简而言之，将来自NOD BDC2.5转基因小鼠的p31特异性T细胞过继转移到NOD.SCID小鼠中，以通过驱动对胰岛抗原嗜铬粒蛋白-A的炎症性自身免疫反应来诱导1型糖尿病。在第0、3和6天，小鼠接受经静脉内施用的单独的p31肽、与pGal化学缀合的p31肽(LT-p31)、或盐水，并且经由血糖测量来监测1型糖尿病的发作。如图9中所说明，与单独施用p31以及与盐水施用相比，pGal-p31诱导了对1型糖尿病诱导的长期抵御。在该小鼠模型中，对1型糖尿病的抵御指示了对驱动疾病的自身抗原的有效免疫耐受诱导。应当理解，根据本文所公开的额外实施方案，I型糖尿病相关抗原的其他免疫原性片段(包括抗原的模拟表位和/或免疫原性片段)有效诱导对TID相关抗原的耐受性，并因此治疗I型糖尿病。

[0898] 实施例17：体内研究(人胰岛素原的致耐受性部分)

[0899] 本实施例采用的期望耐受性的抗原是人胰岛素原(LT-Ins肽或“KAN0014”)的致耐受性部分。通过测量对后续用佐剂化KAN0014肽的抗原攻击的耐受性的诱导，在HLA-DR4转基因小鼠中表征pGal-LT-Ins肽的致耐受性功效。耐受原(pGal-LT-Ins肽)的给予在相对于抗原攻击而言的-20至-14天之间发生。在第0天通过皮内(i.d.)途径用佐剂化LT-Ins肽攻击所有小鼠。相对于第一抗原攻击的时间而言，在第0天和第+1天通过腹膜内途径(i.p.)用百日咳毒素处理小鼠。在抗原攻击后第7天，分离来自脾和引流(腋窝、腹股沟和髂)淋巴结(LN)的细胞，并分析对LT-Ins肽特异性的T细胞反应。在图10中，左图说明了用盐水或pGal-LT-Ins肽处理的动物中LT-Ins肽特异性T细胞的增殖降低，而右图说明用LT-Ins肽体外刺激T细胞后炎性细胞因子干扰素-γ的表达。两种免疫测定的结果说明了通过施用pGal-LT-Ins肽诱导的LT-Ins肽特异性T细胞炎症反应的量值的明显和统计学显著的降低，因此有效地展示对LT-Ins肽的免疫耐受诱导。应当理解，根据本文所公开的额外实施方案，I型糖尿病相关抗原的其他免疫原性片段(包括抗原的模拟表位和/或免疫原性片段)有效诱导对TID相关抗原的耐受性，并因此治疗I型糖尿病。

[0900] 实施例18：额外体内研究

[0901] 这是假想例。如实施例11所概述，使用具有不是二硫代苯甲酸酯、不是三硫代碳酸酯和不是黄原酸酯的末端单元(例如EU)的构建体执行实验。制备和测试总共十二种构建体。第一构建体包含与乳糜泻相关联的全长抗原。第二构建体包含全长乳糜泻抗原的片段。

第三构建体包含全长乳糜泻抗原的致耐受性部分。第四构建体包含全长乳糜泻抗原的模拟物。第五构建体包含与多发性硬化症相关联的全长抗原。第六构建体包含全长多发性硬化症抗原的片段。第七构建体包含全长多发性硬化症抗原的致耐受性部分。第八构建体包含全长多发性硬化症抗原的模拟物。第九构建体包含与1型糖尿病相关联的全长抗原。第十构建体包含全长1型糖尿病抗原的片段。第十一构建体包含全长1型糖尿病抗原的致耐受性部分。第十二构建体包含全长1型糖尿病抗原的模拟物。经盐水处理的小鼠在血液和淋巴器官(即脾)中显示高频率的OTI CD8+ T细胞,指示维持着对抗原特异性的炎性免疫反应。在所有测试的剂量下,用如本文所公开的构建体处理的小鼠表现出血液和淋巴器官(即脾)中OVA01特异性CD8+ T细胞的显著减少。统计学检验指示,与盐水对照组相比,诱导的耐受性具有统计学显著性($p<0.05$)。将研究在人体内重复,并且诱导的耐受性与对照盐水组相比同样具有统计学显著性($p<0.05$)。

[0902] 因此,应当理解,本文描述的本发明的实施方案仅仅是对本发明原理的应用的说明。本文对所说明的实施方案的细节的提及并不旨在限制权利要求的范围,权利要求本身列举了被视为本发明必需的那些特征。附图仅是为了说明本发明的实施方案,而非为了对其限制。

[0903] 预期可进行以上所公开的实施方案的具体特征和方面的各种组合或子组合,并且仍然落入本发明的一个或多个内。另外,本文关于实施方案的任何特定特征(feature)、方面、方法、特性、特征(characteristic)、质量、属性、要素等的公开内容可用于本文阐述的所有其他实施方案中。因此,应当理解,所公开的实施方案的各种特征和方面可以彼此组合或取代,从而形成所公开的本发明的各种模式。因此,本文所公开的本发明的范围不应旨在由上述具体公开的实施方案限制。此外,虽然本发明易受各种修改和替代形式影响,但其特定实例已在附图中显示出并在本文中详细描述。然而,应当理解,本发明不限于所公开的特定形式或方法,而是相反,本发明覆盖落入所述各种实施方案和所附权利要求的精神和范围内的所有修改、等同物和替代。本文所公开的任何方法不需要以所列举顺序执行。本文所公开的方法包括由从业者采取的某些动作;然而,它们也可明确地或隐含地包括那些动作的任何第三方指令。例如,如“施用诱导耐受性的肝靶向组合物”的动作包括“指导施用诱导耐受性的肝靶向组合物”。此外,在本公开的特征或方面以马库什组的形式描述的情况下,本领域的技术人员将认识到,本公开也由此以马库什组的任何单独成员或成员亚组的形式描述。在一个实施方案的上下文中公开的任何变量可以应用于其他实施方案。例如,当在一个实施方案的上下文中定义整数“v”时,v的该定义也可应用于第二实施方案(即使并未对第二实施方案定义“v”)。

[0904] 本文所公开的范围还涵盖任何和所有重叠、子范围、以及它们的组合。如“多至”、“至少”、“大于”、“小于”、“在…之间”等的语言包括所列举的数字。如“约”或“大约”的术语之后的数字包括所列举的数字。例如,“约90%”包括“90%”。在一些实施方案中,至少95%相同的序列包括与参考序列96%、97%、98%、99%和100%相同的序列。此外,当序列被公开为“包含”核苷酸或氨基酸序列时,除非另外指明,这样的提及也应包括该序列“包含”所列举序列、“由所列举序列组成”或“基本上由所列举序列组成”。本文所用的任何标题或副标题是出于组织目的,而不应当用于限制本文所公开的实施方案的范围。

[0905] 除非另行明确指出,在本申请中(尤其是在所附权利要求中)使用的术语和短语以

及它们的变型形式应解释为开放式的而不是限制性的。作为前述的实例，术语“包括”应解读为意指“包括，但不限于”、“包括但不限于”等；如本文所用，术语“包含”与“包括”、“含有”或“特征在于”同义，并且是包括性或开放式的，并且不排除额外的未列举要素或方法步骤；术语“具有”应解释为“具有至少”；术语“包括”应解释为“包括但不限于”；术语“实例”用于提供所讨论的项目的示例性实例，而非其穷举或限制其列表；术语如“优选地”、“优选的”、“期望的”或“可期望的”和类似含义的词语的使用不应理解为暗示某些特征对于本发明的结构或功能是关键的、必需的、或甚至重要的，而是仅旨在强调在本发明的特定实施方案中可以或可以不利用的替代或额外特征。此外，术语“包含”应与短语“具有至少”或“包括至少”同义地解释。当在过程的上下文中使用时，术语“包含”意指该过程包括至少所列举步骤，但可以包括额外的步骤。当在化合物、组合物或装置的上下文中使用时，术语“包含”意指化合物、组合物或装置包括至少所列举特征或组分，而且还可包括额外的特征或组分。同样，与连接词“和”连接的一组项目不应解读为要求那些项目中的每个和每一个均存在于分组中，而是应解读为“和/或”，除非另行明确指出。类似地，与连接词“或”连接的一组项目不应解读为要求该组中的相互排他性，而是应解读为“和/或”，除非另行明确指出。

[0906] 另外，短语“基本上由……组成”应理解为包括具体列举的那些要素和不实质上影响所要求保护的技术的基本和新颖特征的那些额外要素。短语“由……组成”排除未指定的任何要素。

序列表

<110> Anokion SA

<120> 具有改善的稳定性的组合物及其在诱导免疫耐受的方法中的用途

<130> ANOK.037WO

<150> 62/903609

<151> 2019-09-20

<150> 63/062858

<151> 2020-08-07

<160> 70

<170> 专利版本3.5

<210> 1

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 胰岛素

<400> 1

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

<210> 2

<211> 585

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> GAD-65

<400> 2

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

290 295 300

Asp Glu Arg Gly Lys Met Ile Pro Ser Asp Leu Glu Arg Arg Ile Leu
305 310 315 320

Glu Ala Lys Gln Lys Gly Phe Val Pro Phe Leu Val Ser Ala Thr Ala
325 330 335

Gly Thr Thr Val Tyr Gly Ala Phe Asp Pro Leu Leu Ala Val Ala Asp
340 345 350

Ile Cys Lys Lys Tyr Lys Ile Trp Met His Val Asp Ala Ala Trp Gly
355 360 365

Gly Gly Leu Leu Met Ser Arg Lys His Lys Trp Lys Leu Ser Gly Val
370 375 380

Glu Arg Ala Asn Ser Val Thr Trp Asn Pro His Lys Met Met Gly Val
385 390 395 400

Pro Leu Gln Cys Ser Ala Leu Leu Val Arg Glu Glu Gly Leu Met Gln
405 410 415

Asn Cys Asn Gln Met His Ala Ser Tyr Leu Phe Gln Gln Asp Lys His
420 425 430

Tyr Asp Leu Ser Tyr Asp Thr Gly Asp Lys Ala Leu Gln Cys Gly Arg
435 440 445

His Val Asp Val Phe Lys Leu Trp Leu Met Trp Arg Ala Lys Gly Thr
450 455 460

Thr Gly Phe Glu Ala His Val Asp Lys Cys Leu Glu Leu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Leu Tyr Asn Ile Ile Lys Asn Arg Glu Gly Tyr Glu Met Val Phe Asp
485 490 495

Gly Lys Pro Gln His Thr Asn Val Cys Phe Trp Tyr Ile Pro Pro Ser
500 505 510

Leu Arg Thr Leu Glu Asp Asn Glu Glu Arg Met Ser Arg Leu Ser Lys
515 520 525

Val Ala Pro Val Ile Lys Ala Arg Met Met Glu Tyr Gly Thr Thr Met
530 535 540

Val Ser Tyr Gln Pro Leu Gly Asp Lys Val Asn Phe Phe Arg Met Val
545 550 555 560

Ile Ser Asn Pro Ala Ala Thr His Gln Asp Ile Asp Phe Leu Ile Glu
565 570 575

Glu Ile Glu Arg Leu Gly Gln Asp Leu
580 585

<210> 3

<211> 355

<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> IGRP
<400> 3

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

260 265 270

Ile Asn Ser Glu Met Phe Leu Leu Ser Cys Arg Gly Gly Asn Asn Tyr
275 280 285

Thr Leu Ser Phe Arg Leu Leu Cys Ala Leu Thr Ser Leu Thr Ile Leu
290 295 300

Gln Leu Tyr His Phe Leu Gln Ile Pro Thr His Glu Glu His Leu Phe
305 310 315 320

Tyr Val Leu Ser Phe Cys Lys Ser Ala Ser Ile Pro Leu Thr Val Val
325 330 335

Ala Phe Ile Pro Tyr Ser Val His Met Leu Met Lys Gln Ser Gly Lys
340 345 350

Lys Ser Gln
355

<210> 4
<211> 86
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 胰岛素原
<400> 4

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr Arg Arg
20 25 30

Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys
50 55 60

Arg Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80

Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 5
<211> 70
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE

<223> 人胰岛素原 1-70
<400> 5
Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr Arg Arg
20 25 30
Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
35 40 45
Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys
50 55 60
Arg Gly Ile Val Glu Gln
65 70
<210> 6
<211> 62
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人胰岛素原 9-70
<400> 6
Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe
1 5 10 15
Phe Tyr Thr Pro Lys Thr Arg Arg Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly
20 25 30
Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu
35 40 45
Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly Ile Val Glu Gln
50 55 60
<210> 7
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人胰岛素原 9-38
<400> 7
Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe
1 5 10 15
Phe Tyr Thr Pro Lys Thr Arg Arg Glu Ala Glu Asp Leu Gln

20 25 30

<210> 8
<211> 38
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人胰岛素原 1-38
<400> 8

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr Arg Arg
20 25 30
Glu Ala Glu Asp Leu Gln
35

<210> 9
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人胰岛素原 9-23
<400> 9

Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly
1 5 10 15

<210> 10
<211> 27
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人胰岛素原 45-71 (C13-A6)
<400> 10

Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly
1 5 10 15
Ser Leu Gln Lys Arg Gly Ile Val Glu Gln Cys
20 25

<210> 11
<211> 11

<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人胰岛素原 C24-A1
<400> 11
Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly
1 5 10
<210> 12
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人胰岛素原 C19-A3
<400> 12
Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly
1 5 10 15
Ile Val
<210> 13
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人胰岛素原 C13-32
<400> 13
Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly
1 5 10 15
Ser Leu Gln Lys
20
<210> 14
<211> 28
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人胰岛素原 B9-C4
<400> 14

Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe
1 5 10 15
Phe Tyr Thr Pro Lys Thr Arg Arg Glu Ala Glu Asp
20 25

<210> 15
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人胰岛素原 C22-A5
<400> 15
Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys Arg Gly Ile Val Glu
1 5 10 15
Gln

<210> 16
<211> 65
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人 IA-2 718-782
<400> 16
Ala Tyr Gln Ala Glu Pro Asn Thr Cys Ala Thr Ala Gln Gly Glu Gly
1 5 10 15
Asn Ile Lys Lys Asn Arg His Pro Asp Phe Leu Pro Tyr Asp His Ala
20 25 30
Arg Ile Lys Leu Lys Val Glu Ser Ser Pro Ser Arg Ser Asp Tyr Ile
35 40 45
Asn Ala Ser Pro Ile Ile Glu His Asp Pro Arg Met Pro Ala Tyr Ile
50 55 60
Ala
65

<210> 17
<211> 35
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE

<223> 人 IA-2 785-819
<400> 17
Gly Pro Leu Ser His Thr Ile Ala Asp Phe Trp Gln Met Val Trp Glu
1 5 10 15
Ser Gly Cys Thr Val Ile Val Met Leu Thr Pro Leu Val Glu Asp Gly
20 25 30
Val Lys Gln
35
<210> 18
<211> 56
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人 IA-2 828-883
<400> 18
Gly Ala Ser Leu Tyr His Val Tyr Glu Val Asn Leu Val Ser Glu His
1 5 10 15
Ile Trp Cys Glu Asp Phe Leu Val Arg Ser Phe Tyr Leu Lys Asn Val
20 25 30
Gln Thr Gln Glu Thr Arg Thr Leu Thr Gln Phe His Phe Leu Ser Trp
35 40 45
Pro Ala Glu Gly Thr Pro Ala Ser
50 55
<210> 19
<211> 39
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人 IA-2 943-979
<400> 19
Glu His Val Arg Asp Gln Arg Pro Gly Leu Val Arg Ser Lys Asp Gln
1 5 10 15
Phe Glu Phe Ala Leu Thr Ala Val Ala Glu Glu Val Asn Ala Ile Leu
20 25 30
Lys Ala Leu Pro Gln Cys Gly
35
<210> 20

<211> 304
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 髓鞘碱性蛋白, MBP
<400> 20

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

Pro Gly Phe Gly Tyr Gly Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys Ser Ala His
260 265 270
Lys Gly Phe Lys Gly Val Asp Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe
275 280 285
Lys Leu Gly Gly Arg Asp Ser Arg Ser Gly Ser Pro Met Ala Arg Arg
290 295 300

<210> 21
<211> 247
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 髓鞘少突胶质细胞糖蛋白 (MOG)
<400> 21

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

195 200 205

Ile Thr Leu Phe Val Ile Val Pro Val Leu Gly Pro Leu Val Ala Leu
210 215 220

Ile Ile Cys Tyr Asn Trp Leu His Arg Arg Leu Ala Gly Gln Phe Leu
225 230 235 240

Glu Glu Leu Arg Asn Pro Phe
245

<210> 22
<211> 277
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 蛋白脂质蛋白
<400> 22

Met Gly Leu Leu Glu Cys Cys Ala Arg Cys Leu Val Gly Ala Pro Phe
1 5 10 15

Ala Ser Leu Val Ala Thr Gly Leu Cys Phe Phe Gly Val Ala Leu Phe
20 25 30

Cys Gly Cys Gly His Glu Ala Leu Thr Gly Thr Glu Lys Leu Ile Glu
35 40 45

Thr Tyr Phe Ser Lys Asn Tyr Gln Asp Tyr Glu Tyr Leu Ile Asn Val
50 55 60

Ile His Ala Phe Gln Tyr Val Ile Tyr Gly Thr Ala Ser Phe Phe Phe
65 70 75 80

Leu Tyr Gly Ala Leu Leu Leu Ala Glu Gly Phe Tyr Thr Thr Gly Ala
85 90 95

Val Arg Gln Ile Phe Gly Asp Tyr Lys Thr Thr Ile Cys Gly Lys Gly
100 105 110

Leu Ser Ala Thr Val Thr Gly Gly Gln Lys Gly Arg Gly Ser Arg Gly
115 120 125

Gln His Gln Ala His Ser Leu Glu Arg Val Cys His Cys Leu Gly Lys
130 135 140

Trp Leu Gly His Pro Asp Lys Phe Val Gly Ile Thr Tyr Ala Leu Thr
145 150 155 160

Val Val Trp Leu Leu Val Phe Ala Cys Ser Ala Val Pro Val Tyr Ile
165 170 175

Tyr Phe Asn Thr Trp Thr Thr Cys Gln Ser Ile Ala Phe Pro Ser Lys
180 185 190

Thr Ser Ala Ser Ile Gly Ser Leu Cys Ala Asp Ala Arg Met Tyr Gly
195 200 205
Val Leu Pro Trp Asn Ala Phe Pro Gly Lys Val Cys Gly Ser Asn Leu
210 215 220
Leu Ser Ile Cys Lys Thr Ala Glu Phe Gln Met Thr Phe His Leu Phe
225 230 235 240
Ile Ala Ala Phe Val Gly Ala Ala Ala Thr Leu Val Ser Leu Leu Thr
245 250 255
Phe Met Ile Ala Ala Thr Tyr Asn Phe Ala Val Leu Lys Leu Met Gly
260 265 270
Arg Gly Thr Lys Phe
275

<210> 23
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 13-32
<400> 23
Lys Tyr Leu Ala Thr Ala Ser Thr Met Asp His Ala Arg His Gly Phe
1 5 10 15
Leu Pro Arg His
20

<210> 24
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 83-99
<400> 24
Glu Asn Pro Trp His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro
1 5 10 15

<210> 25
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人
<220>

<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 111-129
<400> 25
Leu Ser Arg Phe Ser Trp Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly
1 5 10 15
Tyr Gly Gly
<210> 26
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 146-170
<400> 26
Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe Lys Leu Gly Gly Arg Asp Ser
1 5 10 15
Arg Ser Gly Ser Pro Met Ala Arg Arg
20 25
<210> 27
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MOG 1-20
<400> 27
Gly Gln Phe Arg Val Ile Gly Pro Arg His Pro Ile Arg Ala Leu Val
1 5 10 15
Gly Asp Glu Val
20
<210> 28
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MOG 35-55
<400> 28
Met Glu Val Gly Trp Tyr Arg Pro Pro Phe Ser Arg Trp His Leu Tyr

1 5 10 15
Arg Asn Gly Lys
20
<210> 29
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> PLP 39-154
<400> 29
His Cys Leu Gly Lys Trp Leu Gly His Pro Asp Lys Phe Val Gly Ile
1 5 10 15
<210> 30
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MOG 30-60
<400> 30
Lys Asn Ala Thr Gly Met Glu Val Gly Trp Tyr Arg Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15
Arg Val Val His Leu Tyr Arg Asn Gly Lys Asp Gln Asp Ala Glu
20 25 30
<210> 31
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 83-99
<400> 31
Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr
1 5 10 15
Pro
<210> 32
<211> 21
<212> PRT

<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MOG 35-55
<400> 32
Met Glu Val Gly Trp Tyr Arg Pro Pro Phe Ser Arg Val Val His Leu
1 5 10 15
Tyr Arg Asn Gly Lys
20
<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 82-98
<400> 33
Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg
1 5 10 15
Thr
<210> 34
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 82-99
<400> 34
Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg
1 5 10 15
Thr Pro
<210> 35
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 82-106
<400> 35

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg
1 5 10 15
Thr Pro Pro Pro Ser Gln Gly Lys Gly
20 25

<210> 36
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 87-106
<400> 36
Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro Pro Ser
1 5 10 15
Gln Gly Lys Gly
20

<210> 37
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 131-155
<400> 37
Ala Ser Asp Tyr Lys Ser Ala His Lys Gly Leu Lys Gly Val Asp Ala
1 5 10 15
Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe Lys
20 25

<210> 38
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> PLP 41-58
<400> 38
Gly Thr Glu Lys Leu Ile Glu Thr Tyr Phe Ser Lys Asn Tyr Gln Asp
1 5 10 15
Tyr Glu

<210> 39
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> PLP 89-106
<400> 39
Gly Phe Tyr Thr Thr Gly Ala Val Arg Gln Ile Phe Gly Asp Tyr Lys
1 5 10 15
Thr Thr
<210> 40
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> PLP 95-116
<400> 40
Ala Val Arg Gln Ile Phe Gly Asp Tyr Lys Thr Thr Ile Cys Gly Lys
1 5 10 15
Gly Leu Ser Ala Thr Val
20
<210> 41
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> PLP 178-197
<400> 41
Asn Thr Trp Thr Thr Cys Gln Ser Ile Ala Phe Pro Ser Lys Thr Ser
1 5 10 15
Ala Ser Ile Gly
20
<210> 42
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> PLP 190-209
<400> 42
Ser Lys Thr Ser Ala Ser Ile Gly Ser Leu Cys Ala Asp Ala Arg Met
1 5 10 15
Tyr Gly Val Leu
20
<210> 43
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MOG 11-30
<400> 43
Pro Ile Arg Ala Leu Val Gly Asp Glu Val Glu Leu Pro Cys Arg Ile
1 5 10 15
Ser Pro Gly Lys
20
<210> 44
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MOG 21-40
<400> 44
Glu Leu Pro Cys Arg Ile Ser Pro Gly Lys Asn Ala Thr Gly Met Glu
1 5 10 15
Val Gly Trp Tyr
20
<210> 45
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MOG 64-86

<400> 45
Glu Tyr Arg Gly Arg Thr Glu Leu Leu Lys Asp Ala Ile Gly Glu Gly
1 5 10 15
Lys Val Thr Leu Arg Ile Arg
20
<210> 46
<211> 62
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MOG 1-62
<400> 46
Gly Gln Phe Arg Val Ile Gly Pro Arg His Pro Ile Arg Ala Leu Val
1 5 10 15
Gly Asp Glu Val Glu Leu Pro Cys Arg Ile Ser Pro Gly Lys Asn Ala
20 25 30
Thr Gly Met Glu Val Gly Trp Tyr Arg Pro Pro Phe Ser Arg Val Val
35 40 45
His Leu Tyr Arg Asn Gly Lys Asp Gln Asp Gly Asp Gln Ala
50 55 60
<210> 47
<211> 63
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MBP 76-136
<400> 47
Ser His Gly Arg Thr Gln Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys
1 5 10 15
Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro Pro Ser Gln Gly Lys Gly Arg
20 25 30
Gly Leu Ser Leu Ser Arg Phe Ser Trp Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro
35 40 45
Gly Phe Gly Tyr Gly Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys Ser Cys Gly
50 55 60
<210> 48
<211> 118

<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MART1, T细胞识别的黑色素瘤抗原 1
<400> 48

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

<210> 49
<211> 529
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 酪氨酸酶
<400> 49

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

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

Ile Phe Leu Leu His His Ala Phe Val Asp Ser Ile Phe Glu Gln Trp
385 390 395 400
Leu Arg Arg His Arg Pro Leu Gln Glu Val Tyr Pro Glu Ala Asn Ala
405 410 415
Pro Ile Gly His Asn Arg Glu Ser Tyr Met Val Pro Phe Ile Pro Leu
420 425 430
Tyr Arg Asn Gly Asp Phe Phe Ile Ser Ser Lys Asp Leu Gly Tyr Asp
435 440 445
Tyr Ser Tyr Leu Gln Asp Ser Asp Pro Asp Ser Phe Gln Asp Tyr Ile
450 455 460
Lys Ser Tyr Leu Glu Gln Ala Ser Arg Ile Trp Ser Trp Leu Leu Gly
465 470 475 480
Ala Ala Met Val Gly Ala Val Leu Thr Ala Leu Leu Ala Gly Leu Val
485 490 495
Ser Leu Leu Cys Arg His Lys Arg Lys Gln Leu Pro Glu Glu Lys Gln
500 505 510
Pro Leu Leu Met Glu Lys Glu Asp Tyr His Ser Leu Tyr Gln Ser His
515 520 525
Leu

<210> 50
<211> 661
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 黑色素细胞蛋白 PMEL, gp100
<400> 50
Met Asp Leu Val Leu Lys Arg Cys Leu Leu His Leu Ala Val Ile Gly
1 5 10 15
Ala Leu Leu Ala Val Gly Ala Thr Lys Val Pro Arg Asn Gln Asp Trp
20 25 30
Leu Gly Val Ser Arg Gln Leu Arg Thr Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu
35 40 45
Tyr Pro Glu Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp Cys Trp Arg Gly Gly
50 55 60
Gln Val Ser Leu Lys Val Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu Ile Gly Ala
65 70 75 80
Asn Ala Ser Phe Ser Ile Ala Leu Asn Phe Pro Gly Ser Gln Lys Val
85 90 95

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

405 410 415
Gln Val Thr Thr Thr Glu Trp Val Glu Thr Thr Ala Arg Glu Leu Pro
420 425 430
Ile Pro Glu Pro Glu Gly Pro Asp Ala Ser Ser Ile Met Ser Thr Glu
435 440 445
Ser Ile Thr Gly Ser Leu Gly Pro Leu Leu Asp Gly Thr Ala Thr Leu
450 455 460
Arg Leu Val Lys Arg Gln Val Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr Arg Tyr
465 470 475 480
Gly Ser Phe Ser Val Thr Leu Asp Ile Val Gln Gly Ile Glu Ser Ala
485 490 495
Glu Ile Leu Gln Ala Val Pro Ser Gly Glu Gly Asp Ala Phe Glu Leu
500 505 510
Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met Glu Ile
515 520 525
Ser Ser Pro Gly Cys Gln Pro Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln Pro Val
530 535 540
Leu Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln Ile Leu Lys Gly
545 550 555 560
Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Thr Asn Ser
565 570 575
Leu Ala Val Val Ser Thr Gln Leu Ile Met Pro Gly Gln Glu Ala Gly
580 585 590
Leu Gly Gln Val Pro Leu Ile Val Gly Ile Leu Leu Val Leu Met Ala
595 600 605
Val Val Leu Ala Ser Leu Ile Tyr Arg Arg Arg Leu Met Lys Gln Asp
610 615 620
Phe Ser Val Pro Gln Leu Pro His Ser Ser Ser His Trp Leu Arg Leu
625 630 635 640
Pro Arg Ile Phe Cys Ser Cys Pro Ile Gly Glu Asn Ser Pro Leu Leu
645 650 655
Ser Gly Gln Gln Val
660

<210> 51
<211> 323
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE

<223> 水通道蛋白-4

<400> 51

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

290 295 300

Asp Arg Gly Glu Glu Lys Lys Gly Lys Asp Gln Ser Gly Glu Val Leu
305 310 315 320

Ser Ser Val

<210> 52

<211> 405

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> S-抑制蛋白

<400> 52

Met Ala Ala Ser Gly Lys Thr Ser Lys Ser Glu Pro Asn His Val Ile
1 5 10 15

Phe Lys Lys Ile Ser Arg Asp Lys Ser Val Thr Ile Tyr Leu Gly Asn
20 25 30

Arg Asp Tyr Ile Asp His Val Ser Gln Val Gln Pro Val Asp Gly Val
35 40 45

Val Leu Val Asp Pro Asp Leu Val Lys Gly Lys Lys Val Tyr Val Thr
50 55 60

Leu Thr Cys Ala Phe Arg Tyr Gly Gln Glu Asp Ile Asp Val Ile Gly
65 70 75 80

Leu Thr Phe Arg Arg Asp Leu Tyr Phe Ser Arg Val Gln Val Tyr Pro
85 90 95

Pro Val Gly Ala Ala Ser Thr Pro Thr Lys Leu Gln Glu Ser Leu Leu
100 105 110

Lys Lys Leu Gly Ser Asn Thr Tyr Pro Phe Leu Leu Thr Phe Pro Asp
115 120 125

Tyr Leu Pro Cys Ser Val Met Leu Gln Pro Ala Pro Gln Asp Ser Gly
130 135 140

Lys Ser Cys Gly Val Asp Phe Glu Val Lys Ala Phe Ala Thr Asp Ser
145 150 155 160

Thr Asp Ala Glu Glu Asp Lys Ile Pro Lys Lys Ser Ser Val Arg Leu
165 170 175

Leu Ile Arg Lys Val Gln His Ala Pro Leu Glu Met Gly Pro Gln Pro
180 185 190

Arg Ala Glu Ala Ala Trp Gln Phe Phe Met Ser Asp Lys Pro Leu His
195 200 205

Leu Ala Val Ser Leu Asn Lys Glu Ile Tyr Phe His Gly Glu Pro Ile

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

<210> 53
<211> 1247
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> IRBP
<400> 53
Met Met Arg Glu Trp Val Leu Leu Met Ser Val Leu Leu Cys Gly Leu
1 5 10 15
Ala Gly Pro Thr His Leu Phe Gln Pro Ser Leu Val Leu Asp Met Ala
20 25 30
Lys Val Leu Leu Asp Asn Tyr Cys Phe Pro Glu Asn Leu Leu Gly Met
35 40 45

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

355 360 365

Val Thr Lys Leu Asn Ala Gly Leu Gln Ala Ala Ser Glu Asp Pro Arg

370 375 380

Leu Leu Val Arg Ala Ile Gly Pro Thr Glu Thr Pro Ser Trp Pro Ala

385 390 395 400

Pro Asp Ala Ala Ala Glu Asp Ser Pro Gly Val Ala Pro Glu Leu Pro

405 410 415

Glu Asp Glu Ala Ile Arg Gln Ala Leu Val Asp Ser Val Phe Gln Val

420 425 430

Ser Val Leu Pro Gly Asn Val Gly Tyr Leu Arg Phe Asp Ser Phe Ala

435 440 445

Asp Ala Ser Val Leu Gly Val Leu Ala Pro Tyr Val Leu Arg Gln Val

450 455 460

Trp Glu Pro Leu Gln Asp Thr Glu His Leu Ile Met Asp Leu Arg His

465 470 475 480

Asn Pro Gly Gly Pro Ser Ser Ala Val Pro Leu Leu Leu Ser Tyr Phe

485 490 495

Gln Gly Pro Glu Ala Gly Pro Val His Leu Phe Thr Thr Tyr Asp Arg

500 505 510

Arg Thr Asn Ile Thr Gln Glu His Phe Ser His Met Glu Leu Pro Gly

515 520 525

Pro Arg Tyr Ser Thr Gln Arg Gly Val Tyr Leu Leu Thr Ser His Arg

530 535 540

Thr Ala Thr Ala Ala Glu Glu Phe Ala Phe Leu Met Gln Ser Leu Gly

545 550 555 560

Trp Ala Thr Leu Val Gly Glu Ile Thr Ala Gly Asn Leu Leu His Thr

565 570 575

Arg Thr Val Pro Leu Leu Asp Thr Pro Glu Gly Ser Leu Ala Leu Thr

580 585 590

Val Pro Val Leu Thr Phe Ile Asp Asn His Gly Glu Ala Trp Leu Gly

595 600 605

Gly Gly Val Val Pro Asp Ala Ile Val Leu Ala Glu Glu Ala Leu Asp

610 615 620

Lys Ala Gln Glu Val Leu Glu Phe His Gln Ser Leu Gly Ala Leu Val

625 630 635 640

Glu Gly Thr Gly His Leu Leu Glu Ala His Tyr Ala Arg Pro Glu Val

645 650 655

Val Gly Gln Thr Ser Ala Leu Leu Arg Ala Lys Leu Ala Gln Gly Ala

660 665 670

Tyr Arg Thr Ala Val Asp Leu Glu Ser Leu Ala Ser Gln Leu Thr Ala
675 680 685
Asp Leu Gln Glu Val Ser Gly Asp His Arg Leu Leu Val Phe His Ser
690 695 700
Pro Gly Glu Leu Val Val Glu Glu Ala Pro Pro Pro Pro Pro Ala Val
705 710 715 720
Pro Ser Pro Glu Glu Leu Thr Tyr Leu Ile Glu Ala Leu Phe Lys Thr
725 730 735
Glu Val Leu Pro Gly Gln Leu Gly Tyr Leu Arg Phe Asp Ala Met Ala
740 745 750
Glu Leu Glu Thr Val Lys Ala Val Gly Pro Gln Leu Val Arg Leu Val
755 760 765
Trp Gln Gln Leu Val Asp Thr Ala Ala Leu Val Ile Asp Leu Arg Tyr
770 775 780
Asn Pro Gly Ser Tyr Ser Thr Ala Ile Pro Leu Leu Cys Ser Tyr Phe
785 790 795 800
Phe Glu Ala Glu Pro Arg Gln His Leu Tyr Ser Val Phe Asp Arg Ala
805 810 815
Thr Ser Lys Val Thr Glu Val Trp Thr Leu Pro Gln Val Ala Gly Gln
820 825 830
Arg Tyr Gly Ser His Lys Asp Leu Tyr Ile Leu Met Ser His Thr Ser
835 840 845
Gly Ser Ala Ala Glu Ala Phe Ala His Thr Met Gln Asp Leu Gln Arg
850 855 860
Ala Thr Val Ile Gly Glu Pro Thr Ala Gly Gly Ala Leu Ser Val Gly
865 870 875 880
Ile Tyr Gln Val Gly Ser Ser Pro Leu Tyr Ala Ser Met Pro Thr Gln
885 890 895
Met Ala Met Ser Ala Thr Thr Gly Lys Ala Trp Asp Leu Ala Gly Val
900 905 910
Glu Pro Asp Ile Thr Val Pro Met Ser Glu Ala Leu Ser Ile Ala Gln
915 920 925
Asp Ile Val Ala Leu Arg Ala Lys Val Pro Thr Val Leu Gln Thr Ala
930 935 940
Gly Lys Leu Val Ala Asp Asn Tyr Ala Ser Ala Glu Leu Gly Ala Lys
945 950 955 960
Met Ala Thr Lys Leu Ser Gly Leu Gln Ser Arg Tyr Ser Arg Val Thr
965 970 975
Ser Glu Val Ala Leu Ala Glu Ile Leu Gly Ala Asp Leu Gln Met Leu

980 985 990
Ser Gly Asp Pro His Leu Lys Ala Ala His Ile Pro Glu Asn Ala Lys
995 1000 1005
Asp Arg Ile Pro Gly Ile Val Pro Met Gln Ile Pro Ser Pro Glu
1010 1015 1020
Val Phe Glu Glu Leu Ile Lys Phe Ser Phe His Thr Asn Val Leu
1025 1030 1035
Glu Asp Asn Ile Gly Tyr Leu Arg Phe Asp Met Phe Gly Asp Gly
1040 1045 1050
Glu Leu Leu Thr Gln Val Ser Arg Leu Leu Val Glu His Ile Trp
1055 1060 1065
Lys Lys Ile Met His Thr Asp Ala Met Ile Ile Asp Met Arg Phe
1070 1075 1080
Asn Ile Gly Gly Pro Thr Ser Ser Ile Pro Ile Leu Cys Ser Tyr
1085 1090 1095
Phe Phe Asp Glu Gly Pro Pro Val Leu Leu Asp Lys Ile Tyr Ser
1100 1105 1110
Arg Pro Asp Asp Ser Val Ser Glu Leu Trp Thr His Ala Gln Val
1115 1120 1125
Val Gly Glu Arg Tyr Gly Ser Lys Lys Ser Met Val Ile Leu Thr
1130 1135 1140
Ser Ser Val Thr Ala Gly Thr Ala Glu Glu Phe Thr Tyr Ile Met
1145 1150 1155
Lys Arg Leu Gly Arg Ala Leu Val Ile Gly Glu Val Thr Ser Gly
1160 1165 1170
Gly Cys Gln Pro Pro Gln Thr Tyr His Val Asp Asp Thr Asn Leu
1175 1180 1185
Tyr Leu Thr Ile Pro Thr Ala Arg Ser Val Gly Ala Ser Asp Gly
1190 1195 1200
Ser Ser Trp Glu Gly Val Gly Val Thr Pro His Val Val Val Pro
1205 1210 1215
Ala Glu Glu Ala Leu Ala Arg Ala Lys Glu Met Leu Gln His Asn
1220 1225 1230
Gln Leu Arg Val Lys Arg Ser Pro Gly Leu Gln Asp His Leu
1235 1240 1245
<210> 54
<211> 33
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> DQ-2相关,天然α-麦醇溶蛋白“33-mer”
<400> 54
Leu Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro
1 5 10 15
Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Pro
20 25 30
Phe
<210> 55
<211> 33
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> DQ-2相关,脱酰胺化α-麦醇溶蛋白“33-mer”
<400> 55
Leu Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr Pro Gln Pro
1 5 10 15
Glu Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Pro
20 25 30
Phe
<210> 56
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> DQ-8相关,α-麦醇溶蛋白
<400> 56
Gln Gln Tyr Pro Ser Gly Gln Gly Ser Phe Gln Pro Ser Gln Gln Asn
1 5 10 15
Pro Gln
<210> 57
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE

<223> DQ-8相关,ω-麦醇溶蛋白
<400> 57
Gln Pro Phe Pro Gln Pro Glu Gln Pro Phe Pro Trp
1 5 10
<210> 58
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> α-麦醇溶蛋白“15-mer”片段
<400> 58
Glu Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr Pro Gln Pro
1 5 10 15
<210> 59
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 麦醇溶蛋白接头
<400> 59
Gly Cys Arg Gly Gly Gly Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro Ser Gln Gln
1 5 10 15
Pro Tyr
<210> 60
<211> 48
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 延长的麦醇溶蛋白
<400> 60
Gly Cys Gly Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro Ser Gln Gln Pro Tyr Leu
1 5 10 15
Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln
20 25 30
Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Pro Phe
35 40 45

<210> 61
<211> 48
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 延长的脱酰胺化麦醇溶蛋白
<400> 61

Gly Cys Gly Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro Ser Gln Gln Pro Tyr Leu
1 5 10 15
Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Glu
20 25 30
Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Pro Phe
35 40 45

<210> 62
<211> 140
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> α突触核蛋白
<400> 62

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

130 135 140

<210> 63
<211> 735
<212> PRT
<213> 腺相关病毒2
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> AAV2 VP1
<400> 63

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

Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
245 250 255
Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr
260 265 270
Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His
275 280 285
Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp
290 295 300
Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val
305 310 315 320
Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu
325 330 335
Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr
340 345 350
Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp
355 360 365
Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser
370 375 380
Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser
385 390 395 400
Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu
405 410 415
Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg
420 425 430
Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr
435 440 445
Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln
450 455 460
Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly
465 470 475 480
Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ser Ala Asp Asn Asn
485 490 495
Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly
500 505 510
Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp
515 520 525
Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys
530 535 540
Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr

545 550 555 560
Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr
565 570 575
Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr
580 585 590
Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp
595 600 605
Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr
610 615 620
Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys
625 630 635 640
His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn
645 650 655
Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln
660 665 670
Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys
675 680 685
Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr
690 695 700
Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr
705 710 715 720
Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
725 730 735

<210> 64
<211> 598
<212> PRT
<213> 腺相关病毒2
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> AAV2 VP2
<400> 64
Met Ala Pro Gly Lys Lys Arg Pro Val Glu His Ser Pro Val Glu Pro
1 5 10 15
Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys
20 25 30
Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro
35 40 45
Gln Pro Leu Gly Gln Pro Pro Ala Ala Pro Ser Gly Leu Gly Thr Asn
50 55 60

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

370 375 380
Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser
385 390 395 400
Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp
405 410 415
Ile Glu Lys Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn
420 425 430
Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg
435 440 445
Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu
450 455 460
Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile
465 470 475 480
Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu
485 490 495
Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
500 505 510
Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys
515 520 525
Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu
530 535 540
Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu
545 550 555 560
Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr
565 570 575
Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg
580 585 590
Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
595

<210> 65
<211> 533
<212> PRT
<213> 腺相关病毒2
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> AAV2 VP3
<400> 65
Met Ala Thr Gly Ser Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala
1 5 10 15

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

325 330 335
Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile
340 345 350
Glu Lys Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro
355 360 365
Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly
370 375 380
Asn Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro
385 390 395 400
Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp
405 410 415
Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met
420 425 430
Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn
435 440 445
Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe
450 455 460
Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile
465 470 475 480
Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile
485 490 495
Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val
500 505 510
Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr
515 520 525
Leu Thr Arg Asn Leu
530

<210> 66
<211> 736
<212> PRT
<213> 腺相关病毒血清型9
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> AAV9 VP1
<400> 66

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Gln Pro
20 25 30

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

340 345 350

Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Glu Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro
355 360 365

Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asp
370 375 380

Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe
385 390 395 400

Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Glu
405 410 415

Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu
420 425 430

Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser
435 440 445

Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln Thr Leu Lys Phe Ser
450 455 460

Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly Arg Asn Tyr Ile Pro
465 470 475 480

Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Val Thr Gln Asn
485 490 495

Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser Ser Trp Ala Leu Asn
500 505 510

Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys
515 520 525

Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly Ser Leu Ile Phe Gly
530 535 540

Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala Asp Lys Val Met Ile
545 550 555 560

Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Ser
565 570 575

Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Ala Gln Ala Gln Ala Gln
580 585 590

Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
595 600 605

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
610 615 620

Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Met
625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655

Asp Pro Pro Thr Ala Phe Asn Lys Asp Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr
660 665 670
Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685
Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700
Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly Val
705 710 715 720
Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
725 730 735

<210> 67
<211> 599
<212> PRT
<213> 腺相关病毒血清型9
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> AAV9 VP2
<400> 67

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

165 170 175
Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Glu
180 185 190
Gly Thr Lys Thr Ile Ala Asn Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe
195 200 205
Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln
210 215 220
Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp Val Phe Met Val Pro Gln Tyr
225 230 235 240
Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser Gln Ala Leu Gly Arg Ser Ser
245 250 255
Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn
260 265 270
Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser
275 280 285
Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp
290 295 300
Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Val Arg Thr Gln Thr Thr Gly Thr Gly Gly
305 310 315 320
Thr Gln Thr Leu Ala Phe Ser Gln Ala Gly Pro Ser Ser Met Ala Asn
325 330 335
Gln Ala Arg Asn Trp Val Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val
340 345 350
Ser Thr Thr Thr Asn Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly
355 360 365
Ala Ala Lys Phe Lys Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Met Asn Pro Gly
370 375 380
Val Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Asp Arg Phe Phe Pro Ser
385 390 395 400
Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Asn Asp Gly Val
405 410 415
Asp Tyr Ser Gln Val Leu Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr
420 425 430
Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ala Val Ala Ile Asn Asn Gln
435 440 445
Ala Ala Asn Thr Gln Ala Gln Thr Gly Leu Val His Asn Gln Gly Val
450 455 460
Ile Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro
465 470 475 480

Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro
485 490 495
Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile
500 505 510
Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asp Pro Pro Leu Thr Phe Asn Gln Ala
515 520 525
Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val
530 535 540
Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro
545 550 555 560
Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Asn Val Asp Phe
565 570 575
Ala Val Asn Thr Glu Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr
580 585 590
Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
595

<210> 68
<211> 534
<212> PRT
<213> 腺相关病毒血清型9
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> AAV9 VP3
<400> 68

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

115 120 125

Thr Lys Thr Ile Ala Asn Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr

130 135 140

Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly

145 150 155 160

Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly

165 170 175

Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser Gln Ala Leu Gly Arg Ser Ser Phe

180 185 190

Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn

195 200 205

Phe Gln Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr

210 215 220

Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln

225 230 235 240

Tyr Leu Tyr Tyr Leu Val Arg Thr Gln Thr Thr Gly Thr Gly Gly Thr

245 250 255

Gln Thr Leu Ala Phe Ser Gln Ala Gly Pro Ser Ser Met Ala Asn Gln

260 265 270

Ala Arg Asn Trp Val Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser

275 280 285

Thr Thr Thr Asn Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala

290 295 300

Ala Lys Phe Lys Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Met Asn Pro Gly Val

305 310 315 320

Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Asp Arg Phe Phe Pro Ser Ser

325 330 335

Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Asn Asp Gly Val Asp

340 345 350

Tyr Ser Gln Val Leu Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn

355 360 365

Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ala Val Ala Ile Asn Asn Gln Ala

370 375 380

Ala Asn Thr Gln Ala Gln Thr Gly Leu Val His Asn Gln Gly Val Ile

385 390 395 400

Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile

405 410 415

Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu

420 425 430

Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
435 440 445
Asn Thr Pro Val Pro Ala Asp Pro Pro Leu Thr Phe Asn Gln Ala Lys
450 455 460
Leu Asn Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu
465 470 475 480
Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu
485 490 495
Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Asn Val Asp Phe Ala
500 505 510
Val Asn Thr Glu Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg
515 520 525
Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
530

<210> 69
<211> 256
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 成髓细胞素
<400> 69

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

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

<210> 70
<211> 745
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 髓过氧化物酶
<400> 70
Met Gly Val Pro Phe Phe Ser Ser Leu Arg Cys Met Val Asp Leu Gly
1 5 10 15
Pro Cys Trp Ala Gly Gly Leu Thr Ala Glu Met Lys Leu Leu Leu Ala
20 25 30
Leu Ala Gly Leu Leu Ala Ile Leu Ala Thr Pro Gln Pro Ser Glu Gly
35 40 45
Ala Ala Pro Ala Val Leu Gly Glu Val Asp Thr Ser Leu Val Leu Ser
50 55 60
Ser Met Glu Glu Ala Lys Gln Leu Val Asp Lys Ala Tyr Lys Glu Arg
65 70 75 80
Arg Glu Ser Ile Lys Gln Arg Leu Arg Ser Gly Ser Ala Ser Pro Met
85 90 95
Glu Leu Leu Ser Tyr Phe Lys Gln Pro Val Ala Ala Thr Arg Thr Ala
100 105 110
Val Arg Ala Ala Asp Tyr Leu His Val Ala Leu Asp Leu Leu Glu Arg
115 120 125

Lys Leu Arg Ser Leu Trp Arg Arg Pro Phe Asn Val Thr Asp Val Leu
130 135 140
Thr Pro Ala Gln Leu Asn Val Leu Ser Lys Ser Ser Gly Cys Ala Tyr
145 150 155 160
Gln Asp Val Gly Val Thr Cys Pro Glu Gln Asp Lys Tyr Arg Thr Ile
165 170 175
Thr Gly Met Cys Asn Asn Arg Arg Ser Pro Thr Leu Gly Ala Ser Asn
180 185 190
Arg Ala Phe Val Arg Trp Leu Pro Ala Glu Tyr Glu Asp Gly Phe Ser
195 200 205
Leu Pro Tyr Gly Trp Thr Pro Gly Val Lys Arg Asn Gly Phe Pro Val
210 215 220
Ala Leu Ala Arg Ala Val Ser Asn Glu Ile Val Arg Phe Pro Thr Asp
225 230 235 240
Gln Leu Thr Pro Asp Gln Glu Arg Ser Leu Met Phe Met Gln Trp Gly
245 250 255
Gln Leu Leu Asp His Asp Leu Asp Phe Thr Pro Glu Pro Ala Ala Arg
260 265 270
Ala Ser Phe Val Thr Gly Val Asn Cys Glu Thr Ser Cys Val Gln Gln
275 280 285
Pro Pro Cys Phe Pro Leu Lys Ile Pro Pro Asn Asp Pro Arg Ile Lys
290 295 300
Asn Gln Ala Asp Cys Ile Pro Phe Phe Arg Ser Cys Pro Ala Cys Pro
305 310 315 320
Gly Ser Asn Ile Thr Ile Arg Asn Gln Ile Asn Ala Leu Thr Ser Phe
325 330 335
Val Asp Ala Ser Met Val Tyr Gly Ser Glu Glu Pro Leu Ala Arg Asn
340 345 350
Leu Arg Asn Met Ser Asn Gln Leu Gly Leu Leu Ala Val Asn Gln Arg
355 360 365
Phe Gln Asp Asn Gly Arg Ala Leu Leu Pro Phe Asp Asn Leu His Asp
370 375 380
Asp Pro Cys Leu Leu Thr Asn Arg Ser Ala Arg Ile Pro Cys Phe Leu
385 390 395 400
Ala Gly Asp Thr Arg Ser Ser Glu Met Pro Glu Leu Thr Ser Met His
405 410 415
Thr Leu Leu Leu Arg Glu His Asn Arg Leu Ala Thr Glu Leu Lys Ser
420 425 430
Leu Asn Pro Arg Trp Asp Gly Glu Arg Leu Tyr Gln Glu Ala Arg Lys

435 440 445

Ile Val Gly Ala Met Val Gln Ile Ile Thr Tyr Arg Asp Tyr Leu Pro

450 455 460

Leu Val Leu Gly Pro Thr Ala Met Arg Lys Tyr Leu Pro Thr Tyr Arg

465 470 475 480

Ser Tyr Asn Asp Ser Val Asp Pro Arg Ile Ala Asn Val Phe Thr Asn

485 490 495

Ala Phe Arg Tyr Gly His Thr Leu Ile Gln Pro Phe Met Phe Arg Leu

500 505 510

Asp Asn Arg Tyr Gln Pro Met Glu Pro Asn Pro Arg Val Pro Leu Ser

515 520 525

Arg Val Phe Phe Ala Ser Trp Arg Val Val Leu Glu Gly Gly Ile Asp

530 535 540

Pro Ile Leu Arg Gly Leu Met Ala Thr Pro Ala Lys Leu Asn Arg Gln

545 550 555 560

Asn Gln Ile Ala Val Asp Glu Ile Arg Glu Arg Leu Phe Glu Gln Val

565 570 575

Met Arg Ile Gly Leu Asp Leu Pro Ala Leu Asn Met Gln Arg Ser Arg

580 585 590

Asp His Gly Leu Pro Gly Tyr Asn Ala Trp Arg Arg Phe Cys Gly Leu

595 600 605

Pro Gln Pro Glu Thr Val Gly Gln Leu Gly Thr Val Leu Arg Asn Leu

610 615 620

Lys Leu Ala Arg Lys Leu Met Glu Gln Tyr Gly Thr Pro Asn Asn Ile

625 630 635 640

Asp Ile Trp Met Gly Gly Val Ser Glu Pro Leu Lys Arg Lys Gly Arg

645 650 655

Val Gly Pro Leu Leu Ala Cys Ile Ile Gly Thr Gln Phe Arg Lys Leu

660 665 670

Arg Asp Gly Asp Arg Phe Trp Trp Glu Asn Glu Gly Val Phe Ser Met

675 680 685

Gln Gln Arg Gln Ala Leu Ala Gln Ile Ser Leu Pro Arg Ile Ile Cys

690 695 700

Asp Asn Thr Gly Ile Thr Thr Val Ser Lys Asn Asn Ile Phe Met Ser

705 710 715 720

Asn Ser Tyr Pro Arg Asp Phe Val Asn Cys Ser Thr Leu Pro Ala Leu

725 730 735

Asn Leu Ala Ser Trp Arg Glu Ala Ser

740 745

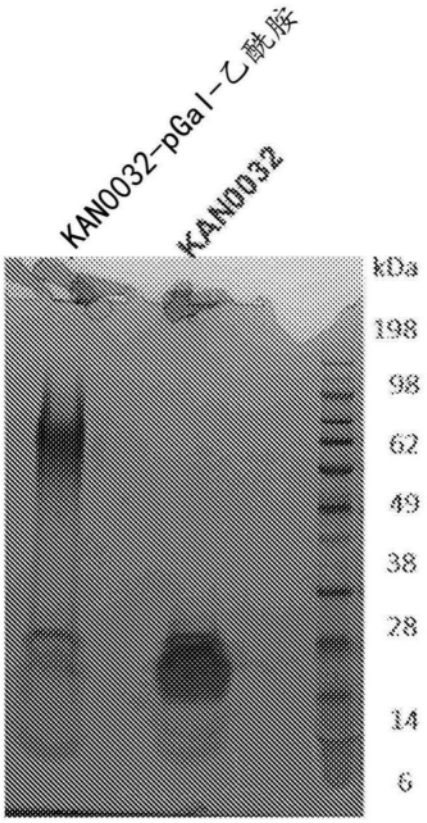


图1

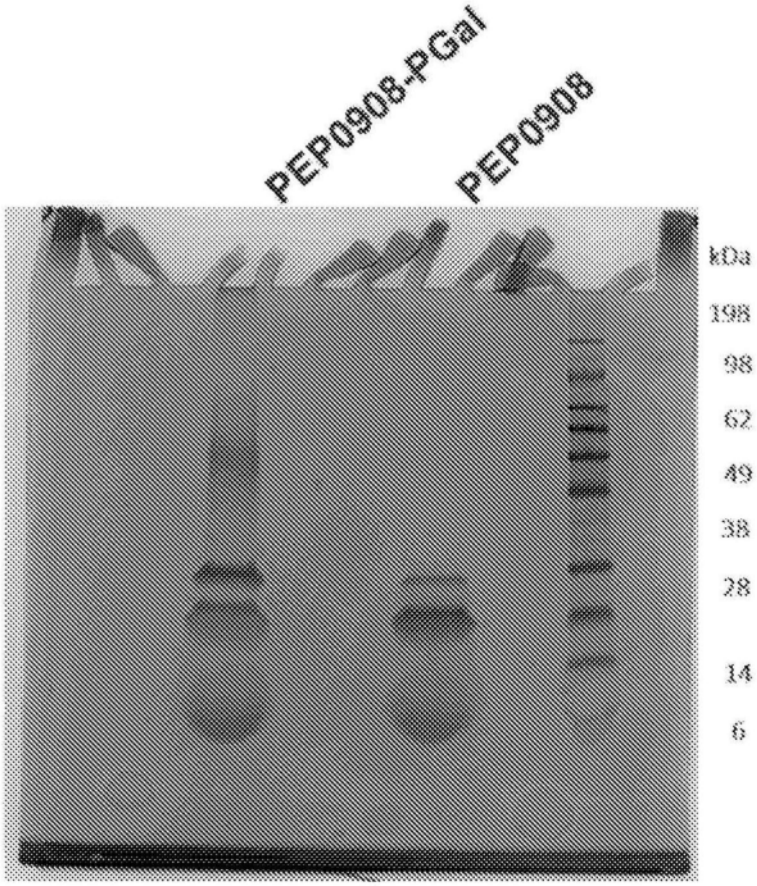


图2

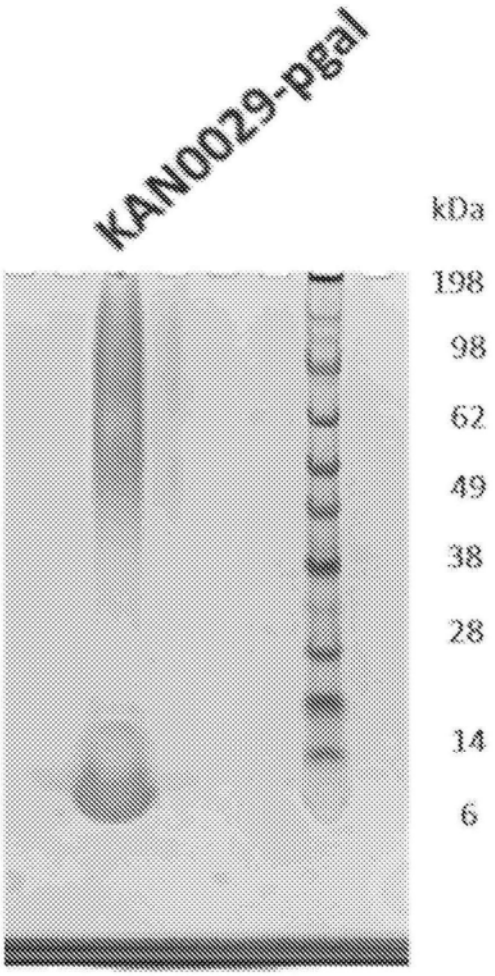


图3

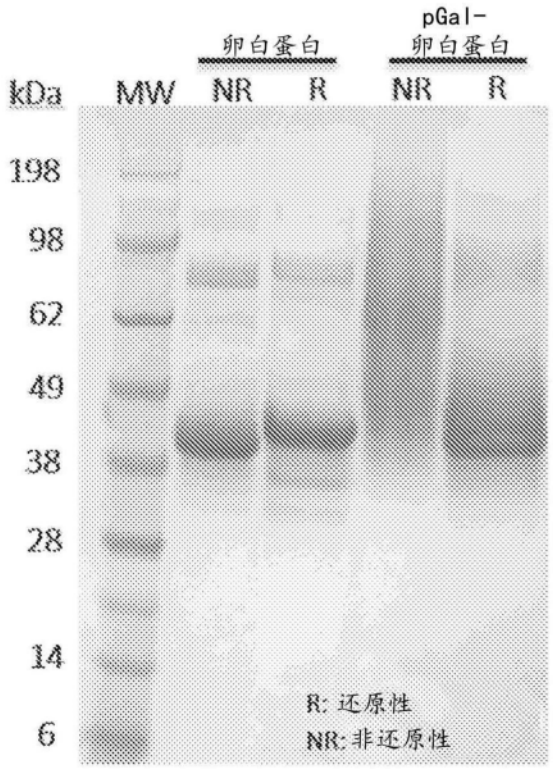

pGal-
卵白蛋白
卵白蛋白
kDa
MW
NR
R
NR
R
198
98
62
49
38
28
14
6
R: 还原性
NR: 非还原性

图4

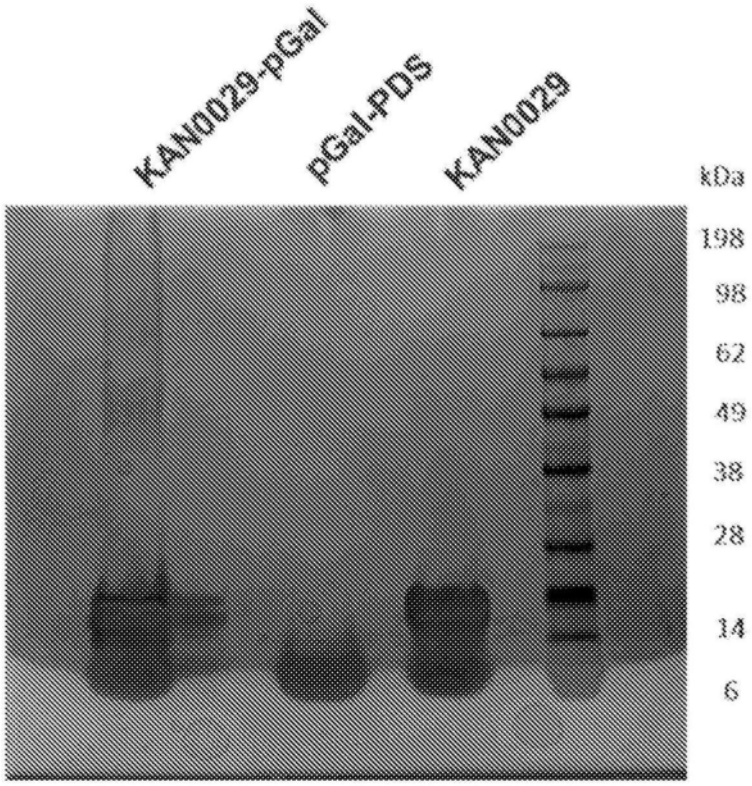

KAN0029-pGal
pGal-PDS
KAN0029
kDa
198
98
62
49
38
28
14
6

图5

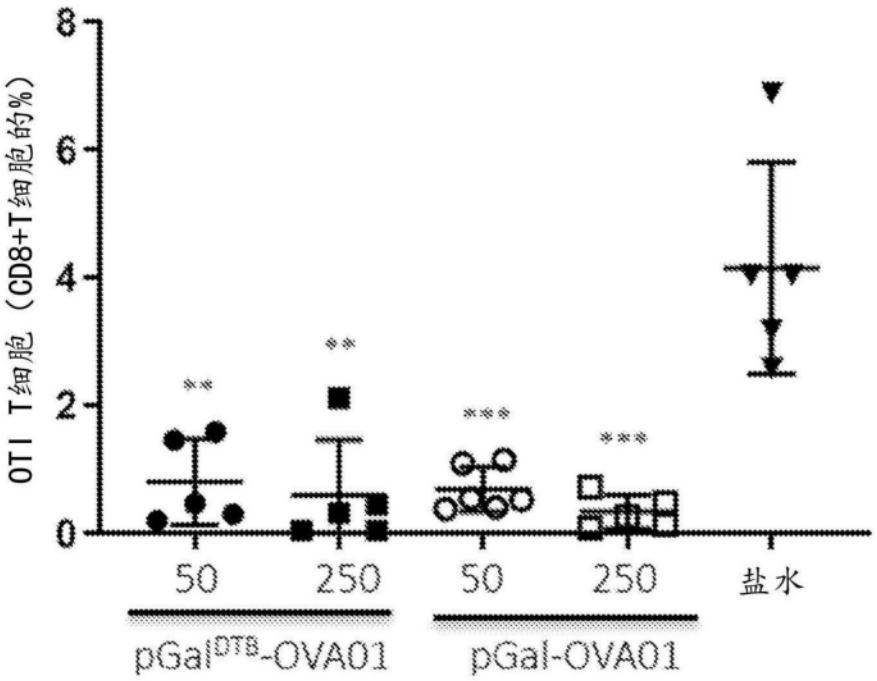

OTI T细胞（CD8+T细胞的%）
8
6
4
2
0
**
**
***
***
50
250
50
250
盐水
pGal^DTB-OVA01
pGal-OVA01

图6

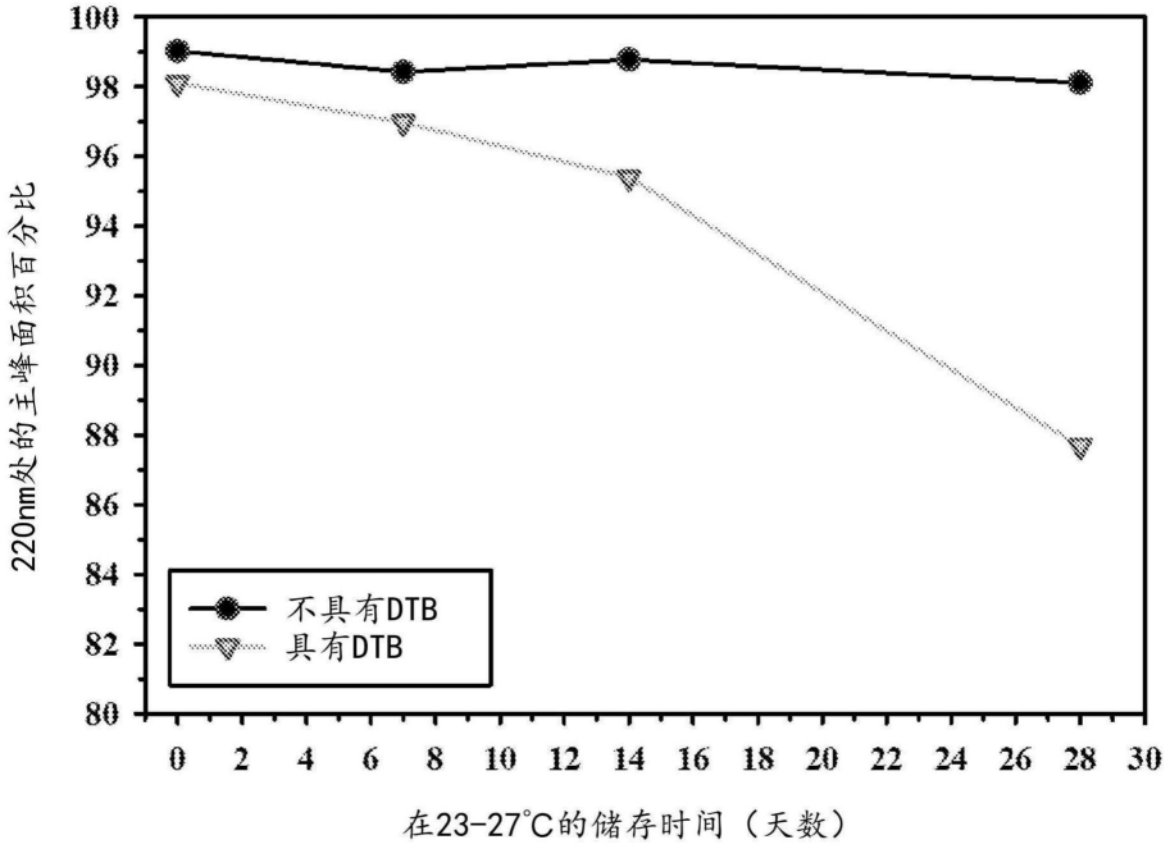

220nm处的主峰面积百分比
100
98
96
94
92
90
88
86
84
82
80
不具有DTB
具有DTB
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30
在23-27℃的储存时间（天数）

图7

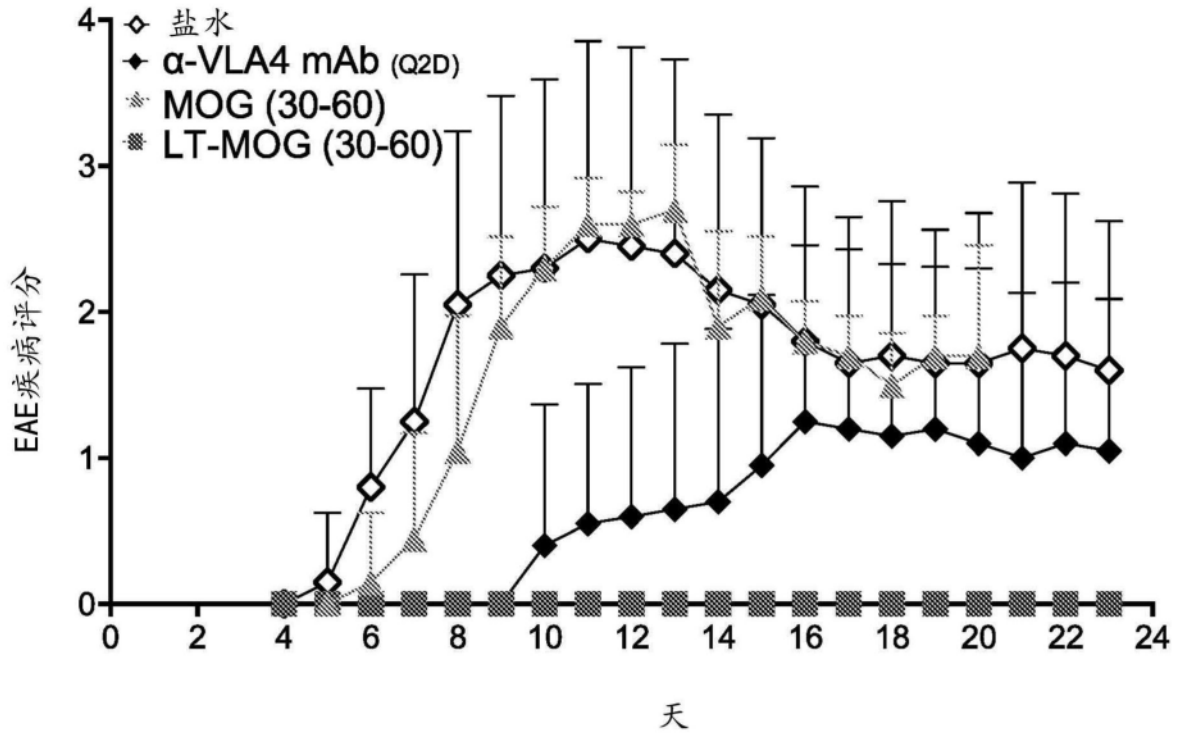

盐水
α-VLA4 mAb (Q2D)
MOG (30-60)
LT-MOG (30-60)
EAE疾病评分
0
1
2
3
4
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
天

图8

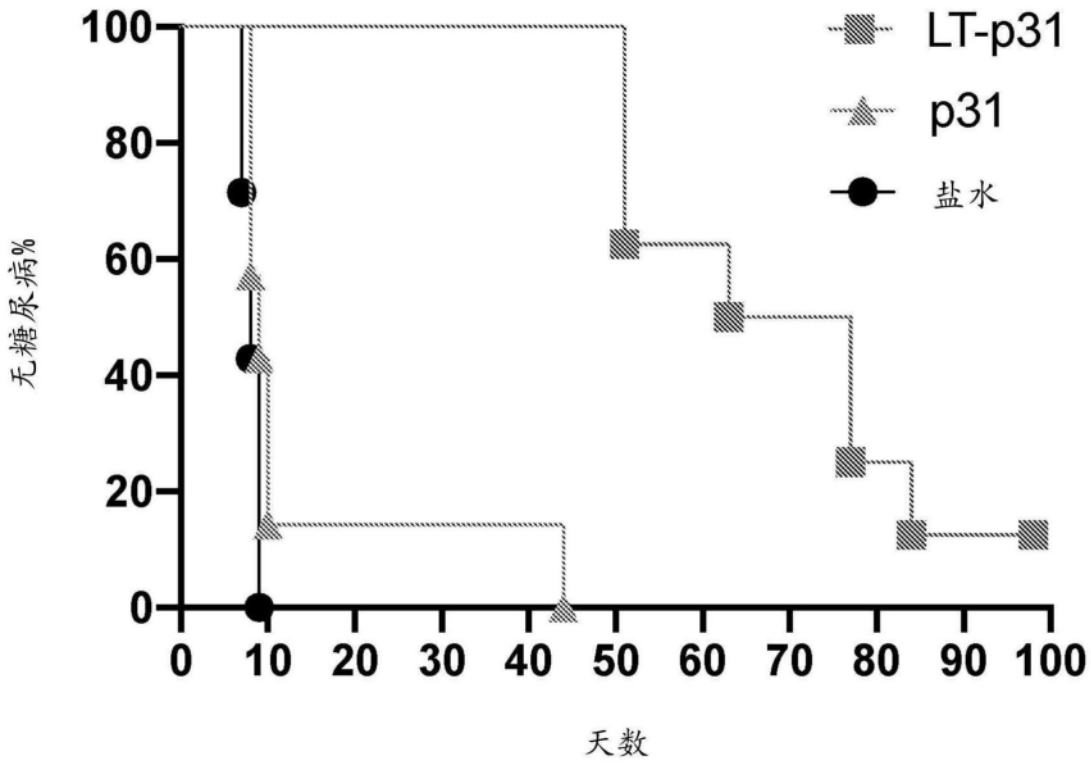

LT-p31
p31
盐水
无糖尿病%
0
20
40
60
80
100
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
天数

图9

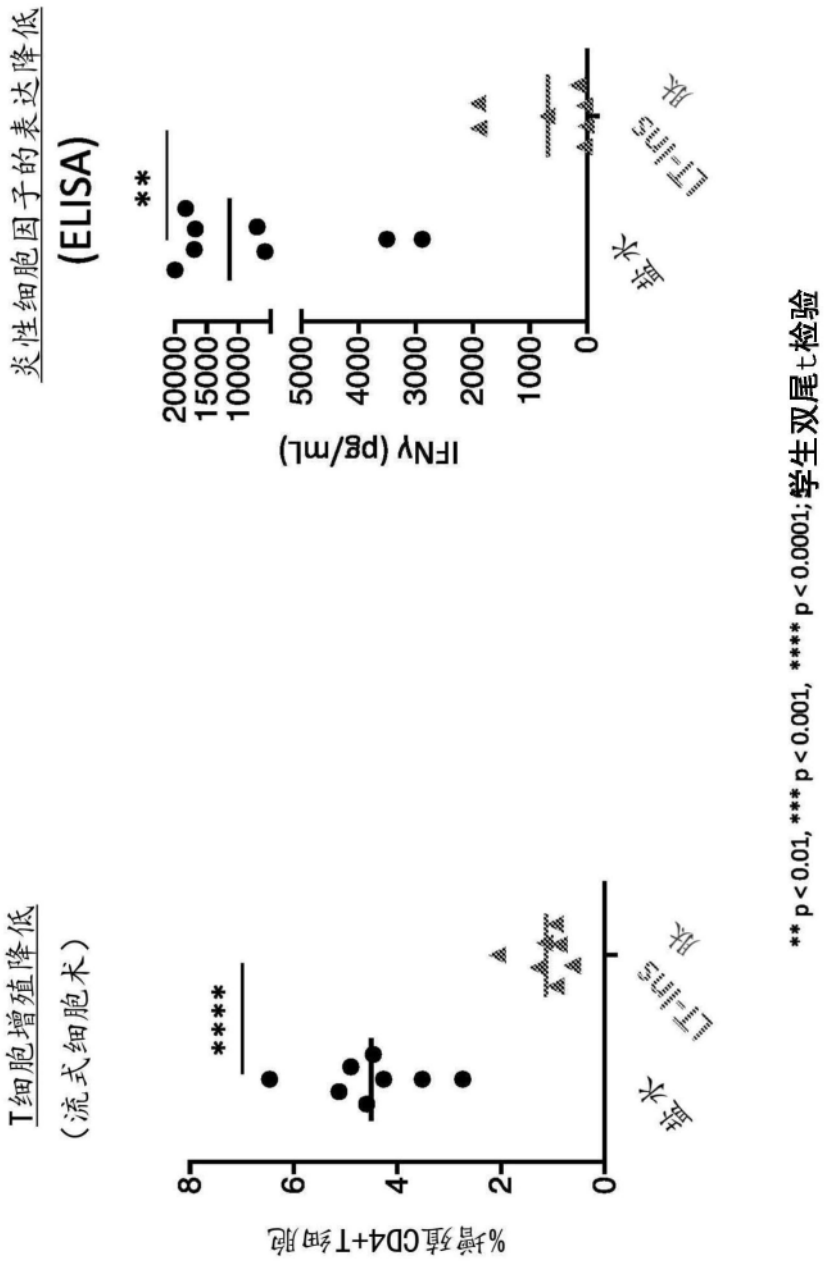

炎性细胞因子的表达降低
(ELISA)
IFNγ (pg/mL)
20000
15000
10000
5000
4000
3000
2000
1000
0
**
盐水
LT-ins
肽
T细胞增殖降低
(流式细胞术)
%增殖CD4+T细胞
8
6
4
2
0
****
盐水
LT-ins
肽
** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0.0001; 学生双尾t检验

图10