الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

المملكة العربية السعودية
Kingdom of Saudi Arabia

براءة اختراع

إن الرئيس التنفيذي للهيئة السعودية للملكية الفكرية و بموجب أحكام نظام براءات الإختراع و التصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة و الأصناف النباتية و النماذج الصناعية الصادر بالمرسوم الملكي الكريم رقم م/27 وتاريخ 1425/05/29هـ و المعدل بقرار مجلس الوزراء رقم 536 و تاريخ 1439/10/19هـ ، و لائحته التنفيذية.
يقرر منح :

فايزر إنك.
PFIZER INC.

براءة اختراع رقم : SA 12354

بتاريخ : 1444/07/21 هـ
الموافق : 2023/02/12 م

عن الإختراع المسمى :

مستقبلات مولد ضد خيمرية تستهدف صورة متغيرة III لمستقبل عامل النمو البشروي

Chimeric Antigen Receptors Targeting Epidermal Growth Factor Receptor Variant III

وفق ما هو موضح في وصف الاختراع المرفق، ولمالك البراءة الحق في الانتفاع بكامل الحقوق النظامية في المملكة العربية السعودية خلال فترة سريان الحماية.

الرئيس التنفيذي

د. عبدالعزيز بن محمد السويلم

الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

[19] **الهيئة السعودية للملكية الفكرية**
[11] **رقم البراءة:** SA 12354 B1

[12] **براءة اختراع**

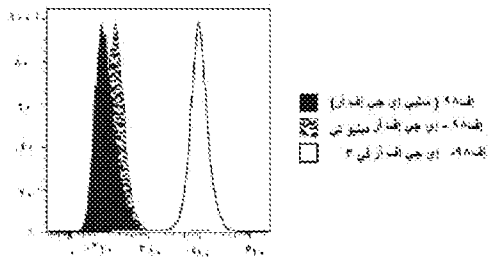
[45] **تاريخ المنح:** 1444/07/21 هـ
الموافق: 2023/02/12 م

[21] رقم الطلب: 518392058
[22] تاريخ دخول المرحلة الوطنية: 1439/11/06 هـ
الموافق: 2018/07/19 م
[30] بيانات الأسبقية:
62/281,533 US 2016/01/21 م
62/431,758 US 2016/12/08 م
[72] اسم المخترع: اوي كوان ونج ، جويسي تشينج تشو ، ماثيلدي برونهيلدي دوسياوكس ، جولياني سميث ، باربرا جونسون ساسو
[73] مالك البراءة: فايزر إنك.
عنوانه: 235 إيست 42 ند ستريت ،نيويورك 10017، امريكا
جنسيته: امريكية
[74] الوكيل: مكتب المحامي سليمان ابراهيم العمار
[86] رقم الطلب الدولي: PCT/IB2017/050108
تاريخ إيداع الطلب الدولي: 2017/01/10 م
[87] رقم النشر الدولي: WO/2017/125830
تاريخ النشر الدولي: 2017/07/27 م
[51] التصنيف الدولي(IPC[8]):
C07K 016/030, C07K 016/028
C07K 014/047
[56] المراجع:
WO 2014130657, WO 2014011988
CAR-Engineered NK Cells Targeting Wild-Type EGFR and EGFRvIII Enhance Killing of Glioblastoma and Patient-Derived Glioblastoma Stem Cells
الفاحص: ماجد بن غرم الله بن زياد الغامدي

[54] اسم الاختراع: مستقبلات مولد ضد خيمرية تستهدف صورة متغيرة III لمستقبل عامل النمو البشروي

Chimeric Antigen Receptors Targeting Epidermal Growth Factor Receptor Variant III

[57] الملخص: يتعلق الاختراع الحالي بتوفير مستقبلات مولد ضد خيمرية chimeric antigen receptos (CARs) ترتبط بشكل خاص بمتغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII). يتعلق الاختراع أيضاً بخلايا مناعية immune cells تشتمل على CARs المذكورة وأحماض نووية مشفرة لمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) وطرق لتحضيرها وخلايا مناعية معدلة وأحماض نووية. يتعلق الاختراع كذلك بطرق علاجية لاستخدام CARs المذكورة وخلايا مناعية معدلة لمعالجة حالات مرضية يسببها EGFRvIII، بما في ذلك السرطانات cancers مثل الورم الأرومي الدبقي glioblastoma. الشكل (1أ)



عدد عناصر الحماية (22)، عدد الأشكال (9)

مستقبلات مولد ضد خيمرية تستهدف صورة متغيرة III لمستقبل عامل النمو البشروي

Chimeric Antigen Receptors Targeting Epidermal Growth Factor Receptor Variant III

الوصف الكامل

خلفية الاختراع

يتعلق الاختراع الحالي بمستقبلات مولد ضد خيمرية chimeric antigen recepto (CAR). تكون CARs قادرة على إعادة توجيه خاصية الخلية المناعية والتفاعلية نحو المستهدف المختار باستخدام خصائص النطاق الرابط لمولد الضد. وبصورة خاصة، يتعلق الاختراع الحالي بـ CARs التي ترتبط بشكل خاص بالصورة المتغيرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) من مستقبل عامل النمو البشروي CARs الخاصة بـ (EGFRvIII) . يتعلق الاختراع أيضاً ببولي نيوكليوتيدات polynucleotides تشفر CARs الخاصة بـ EGFRvIII وخلايا معزولة isolated cells تعبر عن CARs الخاصة بـ EGFRvIII عند سطحها. يتعلق الاختراع أيضاً بطرق لتعديل خلايا مناعية تعبر عن CARs الخاصة بـ EGFRvIII وخلايا معزولة تعبر عن CARs الخاصة بـ EGFRvIII عند سطحها. يكون الاختراع مفيداً بشكل خاص لمعالجة أورام صلبة solid tumors مثل الورم الأرومي الدبقي متعدد الأشكال glioblastoma multiforme (GBM)، سرطان الرئة للخلية غير الصغيرة non-small cell lung cancer ، سرطان الرأس والرقبة سرطان الرأس والرقبة head and neck cancer ، سرطان الثدي breast cancer ، سرطان المبيض ovarian cancer ، سرطان البروستاتا prostate cancer.

يتعلق الاختراع أيضاً بخلايا مناعية تشتمل على CARs الخاصة بـ EGFRvIII (خلايا CAR-T الخاصة بـ EGFRvIII) وتركيبات تشتمل على خلايا CAR-T خاصة بـ EGFRvIII وطرق لاستخدام خلايا CAR-T خاصة بـ EGFRvIII لمعالجة حالات مرضية يتوسطها EGFRvIII.

تكون الصورة المتغيرة III من EGFR (EGFRvIII) وناتج الطفرة الخاص بالورم من EGFR عبارة عن منتج ناتج عن إعادة الترتيب الجينومي والذي يرتبط في الغالب بمضاعفة جين EGFR

من النوع غير المعالج. يتم تشكيل EGFRvIII من خلال الحذف في الإطار الخاص بالإكسونات 2-7 مما يؤدي إلى الحذف الخاص بـ 267 حمض أميني مع استبدال الجلايسين عند الرابطة. يفقد المستقبل المقطوع قدرته على الارتباط بمولدات الضد ولكنه يتطلب نشاطاً بنائياً للكيناز. ومن المثير للاهتمام أن EGFRvIII يُعبر بشكل مشترك عن EGFR من النوع غير المعالج كامل الطول في نفس خلايا الورم. علاوة على ذلك، تعرض الخلايا المعبرة عن EGFRvIII زيادة في التكاثر والاجتياح والتوليد الوعائي ومقاومة الموت المبرمج للخلية.

يوجد EGFRvIII في الغالب في الورم الأرومي الدبقي متعدد الأشكال glioblastoma multiforme (GBM). لقد تم إدراك أن هناك من 25-35% من حاملي GBM لديهم المستقبلات المقطوعة المذكورة. علاوة على ذلك، يعكس التعبير الخاص بها في الغالب نمط ظاهري عدواني وقابلية ضعيفة للتنبؤ به. علاوة على ذلك، فقد تم إيراد GBM والتعبير عن EGFRvIII في أورام صلبة أخرى مثل سرطان خلية الرئة غير الصغيرة، سرطان الرأس والرقبة، وسرطان الثدي وسرطان المبيض وسرطان البروستاتا. وعلى النقيض من ذلك لا يتم التعبير عن EGFRvIII في الأنسجة السليمة. إن عدم التعبير في الأنسجة الطبيعية يجعل EGFRvIII بمثابة المستهدف المثالي لتطوير العلاج الذي يستهدف ورم معين.

يتم تعديل الناقل الاكتسابي لخلايا T بشكل جيني T cells genetically modified لكي يتم التعرف على مولدات الضد المرتبطة بالورم الخبيث والتي اتضح أنها طريقة جديدة لاستهداف السرطان (انظر، على سبيل المثال، Brenner et al., Current Opinion in Immunology, 22(2): 251-257 (2010); Rosenberg et al., Nature Reviews (Cancer, 8(4): 299-308 (2008). يمكن تعديل خلايا T بشكل جيني لكي يتم التعبير عن مستقبلات مولد ضد خيمرية (CARs) التي تكون عبارة عن بروتينات اندماج تشتمل على جزء تعرُف على مولد الضد ونطاقات تنشيط الخلية T (انظر، على سبيل المثال، Eshhar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90(2): 720-724 (1993), and Sadelain et al., (Curr. Opin. Immunol, 21(2): 215-223 (2009). ونتيجة لذلك فإن معالجة ورم صلب مثل الورم الأرومي الدبقي متعدد الأشكال باستخدام مضاد EGFRvIII بما في ذلك EGFRvIII

الخاص بـ CARs وخلايا CAR-T الخاصة بـ EGFRvIII تجعل من تلك المواد عامل علاجي واعد للورم.

الوصف العام للاختراع

تم توفير مستقبلات مولد ضد خيمرية Chimeric antigen receptors (CARs) التي ترتبط بـ EGFRvIII. تم توضيح أن CARs خاصة بـ EGFRvIII معينة تكون فعالة عند التعبير عنها في خلايا T لكي يتم تنشيط الخلايا T عند التلامس مع EGFRvIII. وعلى نحو مفيد، فإن CARs الخاصة بـ EGFRvIII التي تم توفيرها هنا تربط EGFRvIII بشري. وعلى نحو مفيد أيضاً، فإن خلايا CAR-T الخاصة بـ EGFRvIII التي تم توفيرها هنا تعرض نشاطاً تحلُلياً وإنتاج إنترفيرون جاما متزايداً و/أو نشاطا ساماً للخلايا عند تلامسها مع الخلايا المعبرة عن EGFRvIII.

في واحدة من السمات، يوفر الاختراع CAR خاصاً بـ EGFRvIII تشتمل على نطاق رابط لمركب ترابطي خارج الخلية ونطاق عبر الغشاء أول ونطاق إشارة بداخل الخلية حيث يشتمل نطاق الربط الخاص بالمركب الترابطي على (أ) منطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة heavy chain variable (VH) تشتمل على (i) منطقة محددة ومتممة لـ VH واحدة (CDR1) تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 62، 63، 64، 74، 75، 76، 80، 81، 82، 88، 89، 90، 109، 110، 111، 115، 116، 117، 121، 122، 123، 137، 138، أو 139؛ (ii) VH CDR2 تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم:70، 71، 77، 78، 83، 84، 86، 87، 91، 92، 112، 113، 118، 119، 124، 125، 127، 128، 140، أو 141؛ و iii) VH CDR3 التي تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 73، 79، 85، 114، 120، 126، 129، أو 142، و/أو (ب) منطقة متغيرة لسلسلة خفيفة (VL) تشتمل على (i) VL CDR1 يشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 149، 156، 159، 162، 165، 182، 185، 187، أو 195؛ (ii) VL CDR2 تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 152، 157، 160، 163، 183، 186، 188، أو 196؛ و (iii) VL CDR3 تشتمل على المتوالية الموضحة في متوالية بهوية رقم: 153، 158، 161، 164، 184، 189، أو197.

في واحدة من السمات، يوفر الاختراع CAR خاصاً بـ EGFRvIII يشتمل على نطاق رابط للمركب الترابطي خارج الخلية ونطاق عبر الغشاء أول ونطاق إشارة بداخل الخلية حيث يشتمل نطاق الربط الخاص بالمركب الترابطي خارج الخلية على شظية Fv لسلسلة منفردة single chain Fv fragment (scFv) التي تشتمل على منطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة (VH) التي تشتمل على ثلاثة CDRs من منطقة VH التي تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 5، 9، 11، 13، 15، 37، 39، 41، 43، أو 48؛ و/أو منطقة متغيرة لسلسلة خفيفة light chain variable (VL) تشتمل على ثلاثة CDRs من المنطقة VLالتي تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم:6، 10، 12، 14، 16، 38، 40، 42، أو49. في بعض النماذج، يمكن أن تشتمل منطقة VH على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 5، 9، 11، 13، 15، 37، 39، 41، 43، أو 48، أو صورة متغيرة منها مع واحد أو كثر من استبدالات الحمض الأميني المحافظة في الوحدات البنائية التي تم توضيحها في CDR و/أو منطقة VL والتي يمكن أن تشتمل على متوالية الحمض الأميني الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 6، 10، 12، 14، 16، 38، 40، 42، أو 49 أو صورة متغيرة منها مع واحد أو العديد من استبدالات الحمض الأميني في الأحماض الأمينية التي لا تكون في CDR. على سبيل المثال، في بعض النماذج فإن منطقة VH أو VL من scFv يمكن أن تشتمل على متوالية حمض أميني تم وصفها أعلاه أو صورة متغيرة منها بما لا يزد عن 10، 9، 8، 7، 6، 5، 4، 3، 2، أو 1 من الاستبدالات المحافظة في الوحدات البنائية التي لا تكون بداخل CDR.

في بعض النماذج، يوفر الاختراع CAR خاص بـ EGFRvIII يشتمل على نطاق رابط للمركب الترابطي خارج الخلية، نطاق أول عبر الغشاء، ونطاق إشارة بداخل الخلية، حيث يشتمل النطاق الرابط للمركب الترابطي خارج الخلية على شظية Fv لسلسلة منفردة (scFv) تشتمل على منطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة (VH) تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 11، 15، 30، 37، أو 41؛ و/أو المنطقة المتغيرة لسلسلة خفيفة (VL) التي تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 12، 16، 31، 38، أو 42. في بعض النماذج، تشتمل VH على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 11 وتشتمل VL على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 12. في بعض النماذج، تشتمل VH على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 15

وتشتمل VL على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 16. في بعض النماذج، تشتمل VH على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 30 وتشتمل VL على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 31. في بعض النماذج، تشتمل VH على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 37 وتشتمل VL على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 38. في بعض النماذج، تشتمل VH على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 41 وتشتمل VL على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 42.

في بعض النماذج، يشتمل نطاق الإشارة داخل الخلية على نطاق إشارة CD3 زيتا. في بعض النماذج، يشتمل نطاق الإشارة داخل الخلية على نطاق إشارة 4-1BB. في بعض النماذج، يمكن أن يشتمل CAR أيضاً على نطاق إشارة داخل الخلية ثاني. في بعض النماذج، يشتمل نطاق الإشارة داخل الخلية الثاني على نطاق إشارة 4-1BB. في بعض النماذج يشتمل نطاق الإشارة داخل الخلية الأولى على نطاق إشارة CD3 زيتا ونطاق الإشارة داخل الخلية الثاني يشتمل على نطاق إشارة 4-1BB.

في بعض النماذج، يمكن أن يشتمل CAR على نطاق ساق بين النطاق الرابط للمركب الترابطي خارج الخلية ونطاق عبر الغشاء الأول. في بعض النماذج، يمكن اختيار نطاق الساق من المجموعة المكونة من: منطقة مفصلية CD8α بشرية، منطقة مفصلية CD28 بشري، منطقة مفصلية IgG1، ومنطقة مفصلية FcγRIIIα.

في بعض النماذج، يمكن أن يشتمل النطاق عبر الغشاء الأول على نطاق عبر الغشاء للسلسلة CD8α.

في بعض النماذج، يمكن أن يشتمل CAR على نطاق ربط لمولد الضد خارج الخلية آخر الذي لا يكون خاصاً بـ EGFRvIII.

في بعض النماذج من CAR، يكون النطاق (النطاقات) الرابطة للمركب الترابطي خارج الخلية، نطاق عبر الغشاء الأول، ونطاق (نطاقات) الإشارة بداخل الخلية موجودة على بولي ببتيد منفرد.

في بعض النماذج، يمكن أن يشتمل CAR على نطاق عبر الغشاء ثاني، حيث يكون النطاق عبر الغشاء الأول والنطاق (النطاقات) الرابطة للمركب الترابطي خارج الخلية موجودة على البولي ببتيد

polypeptide الأول، وحيث يكون النطاق عبر الغشاء الثاني ونطاق (نطاقات) الإشارة داخل الخلية موجودة على بولي ببتيد ثاني، حيث يشتمل نطاق عبر الغشاء الأول على نطاق عبر الغشاء من السلسلة α من مستقبل IgE عال الألفة (FcεRI) ويشتمل النطاق عبر الغشاء الثاني على نطاق عبر الغشاء من السلسلة γ أو β من FcεRI. في بعض النماذج، يمكن أن يشتمل CAR على بولي ببتيد ثالث يشتمل على نطاق عبر الغشاء ثالث يتم دمجه مع نطاق إشارة بداخل الخلية من جزيء حث مشترك، وحيث يشتمل النطاق عبر الغشاء الثالث على نطاق عبر الغشاء من السلسلة γ أو β من FcεRI.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع بولي نيوكليوتيد معزول يشتمل على متوالية حمض أميني تشفر CAR خاص بـ EGFRvIII كما تم وصفه هنا.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع ناقل تعبير يشتمل على متوالية حمض أميني تشفر CAR خاصة بالجسم المضاد EGFRvIII كما تم وصفه هنا.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع خلية مناعية معدلة تعبر عند السطح الغشائي لها عن CAR خاص بـ EGFRvIII كما تم وصفه هنا. في بعض النماذج، فإن الخلية المناعية المعدلة يمكن أن تشتمل على CAR آخر والذي لا يكون خاصاً بـ EGFRvIII.

في بعض النماذج، فإن الخلية المناعية المعدلة يمكن أن تشتمل على بولي نيوكليوتيد polynucleotide يشفر بولي ببتيد polypeptide خاص بالانتحار. في بعض النماذج، فإن البولي ببتيد الخاص بالانتحار يكون عبارة عن RQR8. في بعض النماذج فإن البولي نيوكليوتيدات المشفرة للبولي ببتيد الخاص بالانتحار يكون عبارة عن جزيء حمض نووي nucleic acid molecule مختلف عن البولي نيوكليوتيد المشتمل على متوالية حمض نووية تشفر CAR خاصة بـ EGFRvIII. في بعض النماذج فإن البولي نيوكليوتيد الذي يشفر بولي ببتيد الانتحار يكون عبارة عن جزء من نفس جزيء الحمض النووي مثل البولي نيوكليوتيد المشتمل على متوالية حمض نووية تشفر CAR الخاص بـ EGFRvIII.

في بعض النماذج، فإن الخلية المناعية المعدلة المشتملة على CAR الخاصة بـ EGFRvIII يمكن أن تشتمل على بولي ببتيد انتحار في سلاسل بولي ببتيد منفصلة من سلسلة البولي ببتيد polypeptide chain من CAR الخاص بـ EGFRvIII.

في بعض النماذج فإن CAR الخاص بـ EGFRvIII كما تم وصفه هنا يمكن أن يشتمل أيضاً على بولي ببتيد انتحار في نفس سلسلة البولي ببتيد مثل CAR. على سبيل المثال، على سبيل المثال، يمكن أن يكون بولي ببتيد الانتحار بين scFv والمتوالية المفصلية من CAR. في بعض النماذج، يمكن أن يشتمل بولي ببتيد الانتحار في CAR على تنسيق R2 كما تم توفيره هنا. في بعض النماذج، يشتمل بولي ببتيد الانتحار على قمة لاصقة epitope والتي يمكن التعرف عليها بواسطة ريتوكسيماب rituximab .

تم هنا أيضاً توفير بولي ببتيد يشفر CAR خاص بـ EGFRvIII الذي يشفر بولي ببتيد الانتحار في CAR.

في بعض النماذج، يمكن اشتقاق الخلية المناعية من الخلية اللمفاوية لـ T الالتهابية والخلايا اللمفاوية T السامة للخلايا، الخلايا اللمفاوية T المنظمة، الخلايا اللمفاوية T المتعلقة بالذاكرة، الخلايا اللمفاوية T للمساعد، الخلايا اللمفاوية T القاتلة الطبيعية، أو خلية قاتلة طبيعية.

في بعض النماذج، تشتمل الخلية المناعية المعدلة على الإتلاف في واحد أو أكثر من الجينات داخلية النمو حيث إن الجين داخلي النمو يشفر TCRα وTCRβ وCD52 ومستقبل قشراني سكري glucocorticoid receptor(GR)، دي أوكسي سيتيدين كيناز deoxycytidine kinase (dCK) أو بروتين نقطة الفحص مثل، على سبيل المثال، بروتين الموت المبرمج 1- programmed death-1 (PD-1).

في بعض النماذج، يتم الحصول على الخلية المناعية من مانح سليم. في بعض النماذج يتم الحصول على الخلية المناعية من أحد المرضى.

في سمة أخرى يوفر الاختراع الحالي خلية مناعية معدلة تعبر على غشاء السطح الخاص بها عن CAR الخاص بـ EGFRvIII كما تم وصفه هنا لاستخدامه في شكل دواء. في بعض النماذج، يتم استخدام الداء لمعالجة سرطان يتعلق بـ EGFRvIII (على سبيل المثال، أي سرطان مع تعبير

EGFRvIII)، ويتم اختياره من مجموعة تتكون من الورم الأرومي الدبقي متعدد الأشكال glioblastoma multiform ، الورم النجمي الكشمي anaplastic astrocytoma ، ورم أرومي دبقي عملاق الخلايا giant cell glioblastoma ، ساركومة دبقية gliosarcoma ، الورم الدبقي قليل التفرع فاقد التمايز الخلوي anaplastic oligodendroglioma ، ورم بطاني عصبي فاقد للتمايز الخلوي anaplastic ependymoma ، الورم الأرومي الدبقي الفاقد للتمايز الخلوي anaplastic oligoastrocytoma ، الورم السرطاني للضفيرة المشيمية choroid plexus carcinoma ، ورم دبقي عقدي كشمي anaplastic ganglioglioma ، ورم الأرومة الصنوبرية pineoblastoma ، ورم الغدة الصنوبرية pineocytoma ، الورم السحائي meningioma ، ورم ظهاري ميالييني medulloepithelioma ، الورم الأرومي البطاني العصبي ependymoblastoma ، ورم أرومي نخاعي medulloblastoma ، ورم الأديم العصبي البدائي فوق الخيمة المخية supraentorial primitive neuroectodermal tumor ، ورم مسخي غير قياسي/ ورم روبيدي atypical teratoid/rhabdoid tumor ، الورم الدبقي المختلط mixed glioma ، سرطان الرأس والرقبة head and neck cancer ، سرطان الرئة للخلية غير الصغيرة non-small cell lung cancer ، سرطان الثدي breast cancer ، سرطان المبيض ovarian cancer ، سرطان البروستاتا prostate cancer ، ورم أرومي نخاعي medullobastoma ، سرطان القولون والمستقيم colorectal cancer ، سرطان الشرج anal cancer ، سرطان عنق الرحم cervical cancer ، سرطان الكلى renal cancer ، سرطان الجلد skin cancer ، سرطان البنكرياس pancreatic cancer ، سرطان الكبد liver cancer ، سرطان المثانة bladder cancer ، سرطان المعدة gastric cancer ، سرطان الغدة الدرقية thyroid cancer ، ورم الظهارة المتوسطة mesothelioma ، سرطان الرحم uterine cancer ، الورم اللمفاوي lymphoma ، وسرطان الدم leukemia.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع طريقة لتعديل خلية مناعية تشتمل الطريقة على: توفير خلية مناعية؛ والتعبير على سطح الخلية لـ CAR خاص بـ EGFRvIII واحد على الأقل كما تم وصفه هنا.

في بعض النماذج، تشتمل الطريقة على: توفير خلية مناعية؛ الإدخال بداخل الخلية لبولي نيوكليوتيد واحد على الأقل يشفر CAR الخاص بـ EGFRvIII المذكور؛ والتعبير عن البولي نيوكليوتيد المذكور بداخل الخلية.

في بعض النماذج، تشتمل الطريقة على توفير خلية مناعية؛ الإدخال بداخل الخلية لبولي نيوكليوتيد واحد على الأقل يشفر CAR الخاص بـ EGFRvIII المذكور؛ والإدخال لواحد على الأقل من CAR آخر الذي لا يكون خاصاً بـ EGFRvIII.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع طريقة لمعالجة خاضع يعاني من حالة مرتبطة بخلايا خبيثة، تشتمل الطريقة على: توفير خلية مناعية تعبر على سطحها عن CAR خاص بـ EGFRvIII كما تم وصفه هنا؛ وإعطاء الخلايا المناعية المذكورة للمريض المذكور.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع تركيبة صيدلانية تشتمل على خلية مناعية معدلة كما تم وصفه هنا.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع طريقة لمعالجة حالة مرتبطة بخلايا خبيثة تعبر عن EGFRvIII لدى خاضع يشتمل على الإعطاء للخاضع الذي في حاجة لها كمية فعالة من تركيبة صيدلانية طبقاً لعنصر الحماية تشتمل على خلية مناعية معدلة كما تم وصفه هنا. في بعض النماذج، تكون الحالة عبارة عن سرطان. في بعض النماذج، يكون السرطان عبارة عن سرطان يتعلق بـ EGFRvIII تم اختياره من المجموعة المكونة من الورم الأرومي الدبقي متعدد الأشكال glioblastoma multiform ، الورم النجمي الكشمي anaplastic astrocytoma ، ورم أرومي دبقي عملاق الخلايا giant cell glioblastoma ، ساركومة دبقية gliosarcoma ، الورم الدبقي قليل التفرع فاقد التمايز الخلوي anaplastic oligodendroglioma ، ورم بطاني عصبي فاقد للتمايز الخلوي anaplastic ependymoma ، الورم الأرومي الدبقي الفاقد للتمايز الخلوي anaplastic oligoastrocytoma ، الورم السرطاني للضفيرة المشيمية choroid plexus carcinoma ، ورم دبقي عقدي كشمي anaplastic ganglioglioma ، ورم الأرومة الصنوبرية pineoblastoma ، ورم الغدة الصنوبرية pineocytoma ، الورم السحائي meningioma ، ورم ظهاري ميالييني medulloepithelioma ، الورم الأرومي البطاني العصبي

ependymoblastoma ، ورم أرومي نخاعي medulloblastoma ، ورم الأديم العصبي البدائي فوق الخيمة المخية supraentorial primitive neuroectodermal tumor ، ورم مسخي غير قياسي/ ورم روبيدي atypical teratoid/rhabdoid tumor ، الورم الدبقي المختلط mixed glioma ، سرطان الرأس والرقبة head and neck cancer ، سرطان الرئة للخلية غير الصغيرة non-small cell lung cancer ، سرطان الثدي breast cancer ، سرطان المبيض ovarian cancer ، سرطان البروستاتا prostate cancer ، ورم أرومي نخاعي medullobastoma ، سرطان القولون والمستقيم colorectal cancer ، سرطان الشرج anal cancer ، سرطان الكلى renal cancer ، سرطان عنق الرحم cervical cancer ، سرطان الكبد liver cancer ، سرطان البنكرياس pancreatic cancer ، سرطان المعدة gastric cancer ، سرطان الغدة الدرقية thyroid cancer ، ورم الظهارة المتوسطة mesothelioma ، سرطان الرحم uterine cancer ، و سرطان المثانة bladder cancer.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع طريقة لتثبيط نمو ورم أو تطوره لدى خاضع مصاب بخلايا ورمية خبيثة تعبر عن EGFRvIII، تشتمل الطريقة على إعطاء الخاضع الذي في حاجة لها كمية فعالة من تركيبة صيدلانية تشتمل على خلية مناعية معدلة كما تم وصفه هنا.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع طريقة لتثبيط انتشار خلايا ورمية خبيثة تعبر عن EGFRvIII لدى خاضع، تشتمل الطريقة على إعطاء الخاضع الذي في حاجة لها كمية فعالة من التركيبة الصيدلانية التي تشتمل على خلية مناعية معدلة كما تم وصفه هنا.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع طريقة لحث تطور ورم لدى خاضع مصاب بخلايا ورمية خبيثة تعبر عن EGFRvIII، تشتمل الطريقة على إعطاء الخاضع الذي في حاجة لها كمية فعالة من التركيبة الصيدلانية التي تشتمل على خلية مناعية معدلة كما تم وصفه هنا.

<u>شرح مختصر للرسومات</u>

يقوم الشكل رقم 1أ والشكل 1ب والشكل 1ج بتوضيح أمثلة لمخططات ربط لـ FACS من ثلاثة من الأجسام المضادة لـ EGFRvIII وهي: mAb 42G9 (الشكل 1أ)، 32A10 (الشكل 1ب) و32G8 (الشكل رقم 1ج) لثلاثة سلالات خلايا وهي: F98 (EGFR سلبي)، F98-

EGFRwt، وEGFRvIII-F98 . يكون محور X عبارة عن شدة التألق؛ ويكون محور Y عبارة عن النسبة المئوية للحد الأقصى/ الحد الطبيعي للنمط.

الشكل رقم 2أ: يوضح مخطط تكراري يلخص تعبير CAR الخاص بـ EGFRvIII الذي يعبر عن مستنسخات خاصة بـ EGFRvIII مختلفة تشتمل على CARs.

الشكل رقم 2ب: عبارة عن مخطط تكراري يلخص النسبة المئوية لخلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII التي ترتبط بـ EGFR-mFc وEGFRvIII-mFc ناتج عودة الارتباط.

الشكل رقم 2ج: يوضح مخطط تكراري يلخص التعبير عن CARs الذي يشتمل على 10 مستنسخات خاصة EGFRvIII مختلفة في خلايا CAR T.

الشكل رقم 3: يوضح مخطط تكراري يلخص أنشطة التحلل الخاصة بخلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII التي تعبر عن خاصة بـ EGFRvIII بمفردها أو مع الزراعة المشتركة مع العديد من سلالات لخلية المختلفة وهي: الخلايا التي لا تعبر عن أي بروتين EGFR (NCI-H522 و U87-KO)، والخلايا التي تعبر عن مستوي عالي من EGFR من النوع غير المعالج (U87-KO-EGFRwt) أو الخلايا التي تعبر عن مستوي منخفض من (NCI-H522-EGFRvIII) ومستوي عالي من مستويات (U87-KO-EGFRvIII) من EGFRvIII.

الشكل رقم 4: يوضح مخطط تكراري يلخص إفراز IFN بواسطة خلايا CAR T خاصة بـ EGFRvIII التي تعبر عن مستنسخات خاصة بـ EGFRvIII مختلفة بمفردها أو عند الزراعة المشتركة مع العديد من سلالات الخلية وهي: الخلايا التي لا تعبر عن أي بروتين EGFR (NCI-H522 و U87-KO)، الخلايا التي تعبر عن مستويات عالية عن EGFR من النوع غير المعالج (U87-KO-EGFRwt) أو الخلايا التي تعبر عن مستويات منخفضة (NCI-H522-EGFRvIII) وتلك المعبرة عن مستويات عالية (U87-KO-EGFRvIII) من EGFRvIII.

يوضح الشكل رقم 5 مخططات قضبان تقارن السمية الخلوية لخلايا CAR T خاصة بـ EGFRvIII

عبر عن نسائل خاصة بـ EGFRvIII مختلفة نحو سلالة خلية معبرة عن EGFR من النوع غير المعالج (U87-KO-EGFRwt) في مقابل سلالات الخلية التي تعبر بالمستويات العالية من (U87-KO-EGFRvIII) والمنخفضة من EGFRvIII (NCI-H522-EGFRvIII).

الشكل رقم 6: يوضح مخططاً يلخص الأنشطة المضادة للورم من خلايا CAR T خاصة بـ EGFRvIII تعبر عن خسائل خاصة بـ EGFRvIII مختلفة في مقابل سلالات خلية GBM في نموذج رقعة غيروية من GBM باطنية النمو.

الشكل رقم 7: يوضح مخطط تكراري يلخص تعبير CAR بواسطة خلايا CAR T التي تعبر عن أربعة مستنسخات خاصة بـ EGFRvIII مختلفة في CAR وتحمل متوالية انتحار خاصة بـ CAR داخلية من R2 في CAR في اليوم 4، واليوم 9 /10 واليوم 14/ 15 بعد نقل العدوي للخلية T.

الشكل رقم 8: يوضح مخطط تكراري يلخص التعبير عن CAR بواسطة خلايا CAR T التي تعبر عن مستنسخات خاصة بـ EGFRvIII مختلفة في CAR التي تحميل متوالية انتحار داخلية لـ CAR من R2 في لايوم 4 ولايوم 14/ 15 بعد نقل العدوى للخلية T.

الشكل رقم 9: عبارة عن مخطط تكراري يلخص السمية الخلوية لخلايا CAR T التي تعبر عن أربعة مستنسخات خاصة بـ EGFRvIII مختلفة والتي تحمل متوالية انتحار CAR داخلية من R2 في مقابل المستوي العالي من سلالة خلية معبرة عن EGFRvIII (U87-KO-EGFRvIII) والمستوي المنخفض للخلية المعبرة عن EGFRvIII (NCI-H522-EGFRvIII).

<u>الوصف التفصيلي:</u>

يكشف الاختراع عن مستقبلات مولد ضد خيمرية (CARs) وخلايا مناعية تشتمل على CARs (على سبيل المثال، خلايا CAR-T) والتي ترتبط بشكل خاص بـ EGFRvIII (على سبيل المثال، EGFRvIII بشري). يوفر الاختراع أيضاً بولي نيوكليوتيدات تشفر CARs المذكورة وتركيبات تشتمل على خلايا CAR-T وطرق لتحضير واستخدام تلك الخلايا من CARs وCAR-T. يوفر الاختراع أيضاً طرق لمعالجة حالة مرتبطة مع أمراض يتوسطها EGFRvIII لدى خاضع مثل السرطان.

التقنيات العامة :

سوف تشتمل ممارسة الاختراع على استخدام، ما لم يتم توضيح خلاف ذلك، تقنيات تقليدية من الكيمياء الجزيئية (بما في ذلك تقنيات ناتجة عودة الارتباط) وعلم الأحياء الدقيقة وعلم أحياء الخلية والكيمياء الحيوية وعلم المناعة وعلم الفيروسات وتوليد الجسم المضاد أحادي النسيلة والتعديل الذي يكون في مقدور الشخص الماهر في المجال. تم شرح تلك التقنيات بشكل كامل في بعض المراجع مثل، Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et al., 1989؛ Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984؛ Methods in Molecular Biology, Humana Press؛ Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press؛ Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed., 1987)؛ Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press؛ Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-1998) J. Wiley and Sons؛ Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.)؛ Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.)؛ Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987)؛ Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987)؛ PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994)؛ Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991)؛ Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999)؛ Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997)؛ Antibodies (P. Finch, 1997)؛ Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989)؛ Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000)؛ Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press,

The Antibodies (M. Zanetti and J.D. Capra, eds., Harwood ؛1999)
.Academic Publishers, 1995)

التعريفات:

يشير المصطلح "نطاق رابط لمركب ترابطي خارج الخلية extracellular ligand-binding domain " كما تم استخدامه هنا إلى قليل – أو بولي ببتيد الذي يكون قادراً على الارتباط بمركب ترابطي. يفضل أن يكون النطاق قادراً على التفاعل مع جزيء سطح الخلية. على سبيل المثال، فإن النطاق الرابط للمركب الترابطي خارج الخلية يمكن اختياره لكي يتعرف على المركب الترابطي الذي يؤثر في شكل مرقم على خلايا مستهدفة ترتبط مع حالة مرضية معينة.

تم استخدام المصطلح "نطاق ساق stalk domain " أو "نطاق مفصلي hinge domain " بحيث يحل أحدهما محل الآخر هنا لكي يشير إلى قليل – أو بولي ببتيد oligo- or polypeptide والذي يعمل في شكل رابط خاص بنطاق عبر الغشاء مع نطاق مركب ترابطي خارج الخلية- نطاق رابط. وبصفة خاصة فإن النطاقات الخاصة بالساق يتم استخدامها لكي توفر المرونة وقابلية الوصول لنطاق ربط مركب ترابطي خارج الخلية.

يشير المصطلح "نطاق إشارة بداخلة الخلية intracellular signaling domain " إلى جزء من البروتين والذي يقوم بنقل الإشارة إلى إشارة وظيفة مرسل عصبي ويعمل على توجيه الخلية لكي تقوم بإجراء وظيفة مخصصة.

يشير المصطلح "جزيء حث مشترك co-stimulatory molecule " كما تم استخدامه هنا إلى مشارك ربط قريب على الخلية T والتي ترتبط بشكل خاص مع المركب الترابطي الخاص بالحث المشترك وبالتالي يتم التسبب في استجابة الحث المشترك بواسطة الخلية مثل، على سبيل المثال لا الحصر التكاثر. تشتمل جزيئات الحث المشتركة، على سبيل المثال لا الحصر، على جزيء MHC من الفئة I وBTLA ومستقبل المركب الترابطي Toll. تشتمل جزيئات الحث المشتركة على CD27، CD28، CD8، 4-1BB (CD137)، OX40، CD30، CD40، PD-1، ICOS ومولد الضد -1 المرتبط بشكل وظيفي (LFA-1)،CD2 ، CD7، LIGHT، NKG2C، B7-H3 والمركب الترابطي الذي يرتبط بشكل خاص مع CD83 وما شابه ذلك.

يشير "مركب ترابطي للحث المشترك co-stimulatory ligand " إلى جزيء على خلية تعرض مولد ضد والذي يرتبط بشكل خاص مع جزيء إشارة بحث مشترك قريب على الخلية T، وبالتالي يتم توفير الإشارة -بالإضافة إلى توفير الإشارة الأولية، على سبيل المثال، لربط معقد TCR/CD3 مع جزيء MHC المحمل مع الببتيد- والتي تتسبب في استجابة الخلية T والتي تشتمل، على سبيل المثال لا الحصر، على تنشيط التكاثر والتمايز وإنتاج السيتوكينات وما شابه ذلك. يمكن أن يشتمل المركب الترابطي الخاص بالحث المشترك، على سبيل المثال لا الحصر على CD7، B7-1 (CD80)، B7-2 (CD86)، PD-L1، PD-L2، 4-1BBL، OX40L والمركب الترابطي بالحث المشترك القابل للحث (ICOS-L)، جزيء الالتصاق بداخل الخلية (ICAM، CD30L، CD40، CD70، CD83، HLA-G، MICA، M1CB، HVEM، مستقبل توكسين لمفاوي β ،3/TR6 ،ILT3 ،ILT4 ، وعامل مساعد أو جسم مضاد الذي يرتبط بمستقبل المركب الترابطي لتنشيط المناعة والمركب الترابطي الذي يرتبط بشكل خاص مع B7-H3. يشتمل المركب الترابطي للحث المشترك على، من بين أشياء أخرى، الجسم المضاد الذي يرتبط بشك خاص مع جزيء حث مشترك الذي يوجد على الخلية T مثل، على سبيل المثال لا الحصر، CD27،CD28، 4-1BB، OX40، CD30، CD40، PD-1، ICOS، ومولد الضد LFA-1) lymphocyte function-associated antigen-1 المرتبط بالوظيفة اللمفاوية 1)، CD7 ،CD2, LIGHT، NKG2C، B7-H3 والمركب الترابطي الذي يرتبط بشكل خاص مع CD83.

يكون "الجسم المضاد antibody " عبارة عن جزيء جلوبيولين مناعي immunoglobulin molecule قادر على الارتباط بشكل خاص مع مستهدف، مثل الكربوهيدرات carbohydrate والبولي نيوكليوتيد polynucleotide والشحم lipid والبولي ببتيد polypeptide ، إلخ، وذلك من خلال موضع تعرف على مولد الضد واحد على الأقل الذي يكون موجوداً في المنطقة المتغيرة من جزيء الجلوبيولين المناعي. وكما تم استخدامه هنا، يشتمل المصطلح على أجسام مضادة متعددة النسيلة أو أحادية النسيلة سليمة، وأيضاً الشظايا الرابطة لمولد الضد antigen binding fragments منها (مثل Fab، Fab'، F(ab')2، Fv) والأجسام المضادة بسلسلة منفردة single chain (scFv) والأجسام المضادة النطاقية (بما في ذلك على سبيل المثال الأجسام

المضادة من سمكة القرش أو من الجمال) وبروتينات الاندماج التي تشتمل على جسم مضاد وأي تصميم معدل آخر من جزيء الجلوبيولين المناعي، والتي تشتمل على موضع التعرف على مولد الضد. يشتمل الجسم المضاد على جسم مضاد من أي فئة، مثل IgG، IgA أو IgM (أو فئة فرعية منها) وليس من المطلوب أن يكون الجسم المضاد من فئة معينة. وبالاعتماد على متوالية الحمض الأميني من المنطقة الثابتة من السلاسل الثقيلة الخاصة بها، فإن الجلوبيولينات المناعية يمكن أن يتم تحديدها بالنسبة لفئات مختلفة. هناك خمسة من الفئات الأساسية من الجلوبيولينات المناعية وهي: IgA، IgD، IgE، IgG ، و IgM ويمكن تقسيم العديد من تلك الفئات إلى فئات فرعية (أنواع متماثلة)، على سبيل المثال، IgG1، IgG2، IgG3، IgG4 ، IgA1 و IgA2. يطلق على المناطق الثابتة من السلسلة الثقيلة المناظرة للفئات المختلفة من الجلوبيولينات المناعية هنا بأنها ألفا، ودلتا وإبسيلون وجاما و mu، على الترتيب. تكون بنيات الوحدة الفرعية والتصميمات ثلاثية الأبعاد من الفئات المختلفة من الجلوبيولينات المناعية معروفة بشكل جيد.

يشير المصطلح "شظية رابطة لمولد الضد" أو " جزء رابط لمولد الضد" من الجسم المضاد، كما تم استخدامه هنا، إلى واحدة أو أكثر من الشظايا من الجسم المضاد السليم والذي يحتفظ بقدرته على الارتباط بشكل خاص مع مولد ضد معين (على سبيل المثال، EGFRvIII). يمكن إجراء وظائف ربط مولد الضد من الجسم المضاد بواسطة شظايا من جسم مضاد سليم. تشتمل أمثلة الشظايا الرابطة الواقعة في مجال المصطلح "شظية رابطة لمولد الضد" من الجسم المضاد على Fab؛ Fab’؛ F(ab’)2 وشظية Fd التي تتكون من نطاقات VH و CH1؛ وشظية Fv التي تتكون من نطاقات VL و VH من الذراع المنفرد من الجسم المضاد ؛ وشظية الجسم المضاد النطاقي المنفرد (dAb) single domain antibody (Ward et al., Nature 341:544-546, 1989) ومنطقة تحديد متممة معزولة complementarity determining region (CDR).

يكون المصطلح جيم مضاد أو مترافق جسم مضاد أو بولي ببتيد الذي "يرتبط بشكل مفضل" أو يرتبط بشكل خاص" (اللذين تم استخدامهما على نحو تبادلي هنا) بمستهدف (على سبيل المثال، بروتين EGFRvIII) عبارة عن مصطلح مفهوم لذوي المهارة في المجال وتكون طرق تحديد الربط المفضل أو الربط الخاص المذكور عبارة عن طرق معروفة بشكل جيد في المجال. يُقال أن أحد الجزيئات يعرض "ربطاً خاصاً" أو "ربطاً مفضلاً"، إذا تم تفاعله أو تم ربطه بشكل متكرر أو بشكل

أكثر سرعة وبمدة أكبر و/أو مع ألفة أكبر بخلية محددة أو بمادة خلاف ما يحدث مع الخلايا البديلة و/أو مع الألفة الأكبر لخلايا محددة أو مواد محددة عما يتم مع خلايا بديلة أو مواد بديلة. إن الجسم المضاد "يرتبط بشكل خاص" أو "يرتبط بشكل مفضل" مع مستهدف إذا ارتبط بألفة أكبر وبشراهة أكبر أو بصورة أكثر ثباتاً و/أو بمدة أكبر بالمقارنة مع ارتباطه بمواد أخرى. على سبيل المثال، فإن الجسم المضاد الذي يرتبط بشكل خاص أو يرتبط بشكل مفضل مع قمة لاصقة من EGFRvIII يكون عبارة عن الجسم المضاد الذي يرتبط بالقمة للاصقة المذكور بألفة أكبر أو بشراهة أكبر أو بثبات أكبر و/أو بمدة أطول من ارتباط EGFRvIII مع قمم لاصقة أخرى أو القمم خلاف قمم EGFRvIII. من المفهوم أيضاً أنه ومن خلال قراءة التعريف، على سبيل المثال، فإن الجسم المضاد (أو جزيء أو قمة لاصقة) التي ترتبط أو ترتبط بشكل مفضل مع مستهدف أول يمكن ألا ترتبط أو لا ترتبط بشكل مفضل مع مستهدف ثاني. وبالتالي فإن "الارتباط بشكل خاص" أو "الربط المفضل" لا يتطلب الربط الحصري (على الرغم من أنه يمكن أن يشتمل عليه). بصفة عامة، ولكن من غير الضروري أن تكون الإشارة إلى الارتباط تعني الإشارة إلى الارتباط بشكل مفضل.

تشير "المنطقة المتغيرة variable region " من جسم مضاد إلى منطقة متغيرة من السلسلة الخفيفة للجسم المضاد أو منطقة متغيرة من السلسلة الثقيلة للجسم المضاد إما بمفردها أو في توليفة. وكما هو معروف في المجال فإن المناطق المتغيرة من السلسلة الثقيلة والسلسلة الخفيفة تتكون كل منها من أربعة مناطق إطارية framework regions (FR) يتم ربطهما بواسطة ثلاثة من مناطق التحديد المتممة complementarity determining regions (CDRs) المعروفة أيضاً بأنها مناطق مفرطة التغير. يتم تثبيت CDRs في كل سلسلة معاً وبصورة قريبة لـ FRs ومع CDRs من سلسلة أخرى تم تثبيتها في الجزء القريب بواسطة FRs و CDRs من السلسلة الأخرى والتي تسهم في تشكيل موضع ربط لمولد الضد من الأجسام المضادة. هناك على الأقل اثنين من التقنيات الخاصة بتحديد CDRs: (1) طريقة تعتمد على تنوع متوالية من الأنواع التشابكية (أي، متواليات Kabat et al من البحث Proteins of Immunological Interest, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)؛ (2) طريقة تعتمد على دراسات تخطيطية بللورية من معقدات مولد ضد-جسم مضاد (Al-lazikani et al.,

1997, J. Molec. Biol. 273:927-948). وكما تم استخدامه هنا، يمكن أن يشير CDR إلى CDRs تم تحديده بواسطة أي طريقة أو من خلال توليفة من كل من الطريقتين.

تكون "CDR " من النطاق المتغير عبارة عن وحدات بنائية للحمض الأميني amino acid في منطقة متغيرة والتي يتم تحديدها طبقاً للتعريفات الخاصة بكابات وكوثيا Kabat and Chothia وتراكم كل من كابات وكوثيا و AbM والتلامس و/أو التعريفات المتعلقة بالتشاكل أو أي طريقة خاصة بتحديد CDR معروفة في المجال. يمكن تحديد CDRs في شكل مناطق مفرطة التغير والتي تم تعريفها بشكل أصلي بواسطة Kabat et al، انظر، على سبيل المثال، Kabat et al., 1992, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, NIH, Washington D.C. يمكن تحديد مواضع CDRs أيضاً في شكل بنيات حلقة بنائية تم وصفها بشكل أساسي من خلال كوثيا Chothia وآخرين، انظر، على سبيل المثال، Chothia et al., Nature 342:877-883, 1989. تشتمل طرق أخرى خاصة بتحديد CDR على "تعريف AbM" والذي يتم تعادله بين كابات وكوثيا ويتم اشتقاقه باستخدام برنامج قوة الجسم المضاد Oxford Molecular's AbM (المعروف الآن بـ Accelrys®) أو "تعريف التلامس" الخاص بـ CDRs بالاعتماد على أجزاء التلامس لمولد الضد الذي تم اشتقاه وتم توضيحه في MacCallum et al., J. Mol. Biol., 262:732-745, 1996. في طريقة أخرى تمت الإشارة إليها هنا بأنها "التعريف التشاكلي" لـ CDRs فيمكن أن تكون مواضع CDRs متطابقة كما هو الحال مع الوحدات البنائية والتي تسهم في المحتوي الحراري لربط مولد الضد. انظر، على سبيل المثال، Makabe et al., Journal of Biological Chemistry, 283:1156-1166, 2008. ما زال هناك تعريفات حدودية يمكن ألا تتبع بشكل دقيق أيٍ من الطرق السابقة ولكنها تتراكب مع جزء على الأقل من Kabat CDRs وعلى الرغم من ذلك فإنها يمكن أن يتم اختصارها أو تقصير طولها في ضوء التنبؤ أو النتائج التجريبية والتي لا تؤثر فيها وحدات بنائية محدد أو مجموعات من الوحدات البنائية أو حتى CDRs كاملة فيما يتعلق بربط مولد الضد. وكما تم استخدامه هنا، فإن CDR يمكن أن تشير إلى CDRs التي تم تعريفها بواسطة أي طريقة معروفة في المجال والتي تشتمل على توليفات من الطرق. قد تقوم الطرق المستخدمة هنا باستخدام CDRs التي تم تعريفها طبقاً لأيٍ من تلك الطرق. وبالنسبة لأي نموذج

محدد خلاف CDR، فإن CDRs يمكن أن يتم تعريفها طبقاً لأي من كابات أو كوثيا أو الصورة الممتدة منهما أو طبقاً لـ AbM أو من خلال تعريفات التلامس و/أو التشاكل.

وكما تم استخدامه هنا، يشير "جسم مضاد أحادي النسيلة" إلى جسم مضاد تم الحصول عليه من مجموعة من الأجسام المضادة المتجانسة، أي، الأجسام المضادة الفردية التي تشتمل على مجموعة متماثلة باستثناء التطفيرات الحادثة بشكل طبيعي والتي يمكن أن تكون موجودة بكميات أقل. تكون الأجسام المضادة أحادية النسيلة عبارة عن أجسام محددة بشكل خاص أو تم توجيهها في مقابل موضع مولد ضد منفرد. بالإضافة إلى ذلك وفي تناقض لمستحضرات الجسم المضاد أحادي النسيلة والتي تشتمل بشكل نمطي على أجسام مضادة مختلفة فإن تلك الأجسام يتم توجيهها في مقابل مواد محددة مختلفة قمم لاصقة epitopes ، تم توجيه كل جسم مضاد أحادي النسيلة في مقابل محدد منفرد على مولد الضد. توضح وسيلة التحديد "أحادي النسيلة" أن خاصية من الجسم المضاد الذي يمكن الحصول عليه من مجموعة متجانسة إلى حد كبير من الأجسام المضادة لا يجب أن يتم أخذها في الاعتبار للإنتاج المطلوب من الجسم المضاد بواسطة أي طريقة معينة. على سبيل المثال، فإن الأجسام المضادة أحادية النسيلة يمكن استخدامها طبقاً للاختراع ويمكن تحضيرها من خلال أي طريقة ورم هجين تم وصفها أولاً بواسطة :

Kohler and Milstein, Nature 256:495, 1975 أو يمكن تحضيرها بواسطة طرق DNA ناتجة عودة الارتباط مثل تلك التي تم وصفها في البراءة الأمريكية رقم 4,816,567. يمكن أن يتم عزل الأجسام المضادة أحادية النسيلة من مكتبات الملتهمة والتي تم إنتاجها باستخدام التقنيات التي تم وصفها في McCafferty et al., Nature 348:552-554, 1990، على سبيل المثال.

وكما تم استخدامه هنا، يشير المصطلح جسم مضاد "متوافق مع البشر" إلى صيغ من أجسام مضادة غير بشرية (على سبيل المثال، من القوارض) والتي تكون عبارة عن جلوبيولينات مناعية خيمرية أو سلاسل جلوبيولين مناعي أو شظايا منها (مثل Fv، Fab، Fab'، F(ab')2 أو متواليات رابطة لمولد الضد أخرى من الأجسام المضادة) التي تشتمل على متوالية عند الحد الأدنى لها تم اشتقاقها من جلوبيولين مناعي غير بشري. يفضل أن تكون الأجسام المضادة المتوافقة مع البشر عبارة عن جلوبيولينات مناعية بشرية (جسم مضاد متلقي) والتي يتم فيها استبدال الوحدات البنائية من المنطقة المحددة والمتممة complementarity determining region (CDR)

من المتلقي قد تم استبدالها بالوحدات البنائية من CDR من أنواع غير بشرية (جسم مضاد مانح) مثل الفأر أو الجرذ أو الأرنب الذي له الخاصية والألفة والقدرة التي تم وصفها. في بعض الحالات، فإن الوحدات البنائية من المنطقة الإطارية framework region (FR) من Fv من الجلوبيولين المناعي البشري قد تم استبدالها بواسطة وحدات بنائية غير بشرية مناظرة. علاوة على ذلك فإن الجسم المضاد المتوافق مع البشر يمكن أن يشتمل على وحدات بنائية والتي لا توجد في الجسم المضاد المتلقي ولا في CDR التي تم استيرادها أو في متواليات إطارية ولكن تم تضمينها لعرض التنقية الإضافية وتحسين أداء الجسم المضاد. بصفة عامة فإن الجسم المضاد المتوافق مع البشر سوف يشتمل إلى حد كبير على كل أو واحد على الأقل أو بشكل نمطي اثنين من النطاقات المتغيرة والتي يكون كل منها أو معظمها من مناطق CDR المناظرة لتلك الخاصة بالجلوبيولين المناعي غير البشري وتكون كل أو معظم مناطق FR عبارة عن تلك المناطق من متوالية توافقية للجلوبيولين المناعي البشري. سوف يشتمل المضاد المتوافق مع البشر على جزء على الأقل من المنطقة الثابتة للجلوبيولين المناعي أو النطاق immunoglobulin constant region or domain (Fc)، ونمطياً تلك الخاصة بالجلوبيولين المناعي. يفضل الأجسام المضادة التي لها مناطق Fc تم تعديلها ما تم وصفه في الطلب الدولي رقم 58572/99. يكون للصور الأخرى من الأجسام المضادة التي لها واحدة أو أكثر من CDRs (CDR L1، CDR L2، CDR L3، CDR H1، CDR H2 أو CDR H3) والتي تم تغييرها بالنسبة للمنطقة الأصلية والتي يطلق عليها أيضاً واحدة أو أكثر من CDRs "التي تم اشتقاقها من" واحدة أو أكثر من CDRs من الجسم المضاد الأصلي.

وكما تم استخدامه هنا، يشير "جسم مضاد بشري human antibody " إلى جسم مضاد به متوالية حمض أميني مناظرة لتلك الخاصة بالجسم المضاد الذي تم إنتاجه بواسطة بشري و/أو الذي تم تحضيره باستخدام أيٍ من التقنيات الخاصة بتحضير الأجسام المضادة البشرية لمعروفة لذي المهارة في المجال أو التي تم الكشف عنها هنا. يشتمل هذا التعريف للجسم المضاد البشري على بولي ببتيد بسلسلة ثقيلة بشرية واحد على الأقل أو بولي ببتيد بسلسلة خفيفة بشرية واحد على الأقل. ينطوي أحد الأمثلة على الجسم المضاد المشتمل على بولي ببتيدات بسلسلة خفيفة من القوارض وبولي ببتيدات بسلسلة ثقيلة من البشر. يمكن إنتاج الأجسام المضادة البشرية باستخدام

العديد من التقنيات المعروفة في المجال. في أحد النماذج، يتم اختيار الجسم المضاد البشري من مكتبة الملتهمة حيث أن مكتبة الملتهمة تعبر عن الأجسام المضادة البشرية (Vaughan et al., Nature Biotechnology, 14:309-314, 1996; Sheets et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:6157-6162, 1998; Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381, 1991; Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581, 1991). يمكن أيضاً تحضير الأجسام المضادة البشرية بواسطة تحصين الحيوانات والتي تم فيها إدخال نقل العدوى ل مواضع للجلوبيولين المناعي البشري التي تم إدخالها في مكان من مواضع باطنية النمو، على سبيل المثال، فئران يتم فيها إيقاف نشاط جينات جلوبيولين مناعية باطنية النمو بشكل جزئي أو بشكل كامل. تم وصف تلك الطريقة في البراءات الأمريكية أرقام 5,545,807؛ 5,545,806؛ 5,569,825؛ 5,625,126؛ 5,633,425؛ و5,661,016. وعلى نحو بديل، يمكن تحضير الجسم المضاد البشري بواسطة المعالجة المستديمة للخلايا اللمفاوية B البشرية التي تنتج الجسم المضاد الذي تم توجيهه في مقابل مولد الضد المستهدف (بحيث أن الخلايا اللمفاوية B يمكن استخلاصها من خلية فردية أو من خلية منفردة تم انتساخها من cDNA أو يمكن أن يتم تحصينها في المعمل). انظر، على سبيل المثال، Cole et al. Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77, 1985; Boerner et al., J. Immunol., 147 (1):86-95, 1991 والبراءة الأمريكية رقم 5,750,373.

يُقصد من المصطلح "جسم مضاد خيمري chimeric antibody " أن يشير إلى الأجسام المضادة والتي تكون فيها متواليات المنطقة المتغيرة قد تم اشتقاقها من أحد الأنواع وتم اشتقاق متواليات المنطقة الثابتة من أنواع أخرى مثل الجسم المضاد والذي يتم منه اشتقاق متواليات المنطقة المتغيرة من الجسم المضاد من الفأر ويم اشتقاق متواليات المنطقة الثابتة من جسم مضاد بشري.

تم استخدام المصطلحات "بولي ببتيد polypeptide " و "قليل ببتيد oligopeptide " و"ببتيد peptide " و"بروتين protein " بحيث تحل محل بعضها البعض بشكل تبادلي هنا وتشير إلى سلاسل من الأحماض الأمينية من أي طول. على سبيل المثال، فإن السلسلة يمكن أن تكون قصيرة بشكل نسبي (على سبيل المثال، 10-100 حمض أميني) أو أطول. يمكن أن تكون السلسلة عبارة عن سلسلة خطية أو متفرعة ويمكن أن تشتمل على أحماض أمينية معدلة و/أو

يمكن قطعها بواسطة أحماض غير أمينية. تتضمن تلك المصطلحات أيضاً على سلسلة الحمض الأميني التي يتم تعديلها بشكل طبيعي أو من خلال التدخل، على سبيل المثال، بواسطة تشكيل رابطة ثنائية الكبريتيد أو المعالجة بالجلايكوسيل أو المعالجة بالشحوم أو المعالجة بالأسيتيل أو المعالجة بالفسفوريل أو أي معالجة أخرى أو تعديلات مثل الترافق مع مكون مرقم. تم أيضاً في التعريف تضمين، على سبيل المثال، بولي ببتيدات تشتمل على واحد أو أكثر من النظائر من حمض أميني (بما في ذلك، على سبيل المثال، أحماض أمينية غير طبيعية، إلخ) وأيضاً تعديلات أخرى معروفة في المجال. من المفهوم أن البولي ببتيدات يمكن أن، تحدث في شكل سلاسل منفردة single chains أو سلاسل مترابطة associated chains.

يشتمل "الجسم المضاد أحادي التكافؤ monovalent antibody " على موضع رابط لمولد الضد لكل جزيء (على سبيل المثال،IgG أو Fab). في بعض الحالات، يمكن أن يكون للجسم المضاد أحادي التكافؤ أكثر من موضع ربط مولد ضد واحد وأيضاً فإن مواضع الربط تكون من مولدات ضد مختلفة.

يشتمل "جسم مضاد ثنائي التكافؤ bivalent antibody " على اثنين من مواضع ربط مولد الضد لكل جزيء (على سبيل المثال، IgG). في بعض الحالات، يكون لاثنين من مواضع الربط نفس خصائص مولد الضد. وعلى الرغم من ذلك فإن الأجسام المضادة ثنائية التكافؤ يمكن أن تكون عبارة عن أجسام مضادة ثنائية النوعية.

يكون الجسم المضاد "ثنائي النوعية bispecific " أو "ثنائي التحديد dual-specific " عبارة عن جسم مضاد هجين hybrid antibody له اثنين من مواضع ربط مولد الضد المختلفة. ترتبط اثنين من مواضع ربط مولد الضد من الجسم المضاد ثنائي النوعية باثنين من القمم اللاصقة المختلفة والتي يمكن أن تستقر على نفس مستهدفات البروتين أو على مستهدفات بروتين مختلفة.

يكون الجسم المضاد "ثنائي الوظيفة bifunctional " عبارة عن جسم مضاد له مواضع ربط مولد ضد متطابقة (أي، متواليات حمض أميني متطابقة) في اثنين من الأذرع ولكن يمن أن يتم التعرف على كل موضع ربط بواسطة اثنين من مولدات الضد المختلفة.

يمكن إنتاج الأجسام المضادة من الاختراع الحالي باستخدام تقنيات معروفة في المجال، انظر، على سبيل المثال، تقنيات ناتجة عودة الارتباط وتقنيات عرض الملتهمة وتقنيات تخليقية أو توليفات من تلك التقنيات وتقنيات أخرى معروفة بسهولة في المجال، انظر، على سبيل المثال، (انظر، على سبيل المثال، Jayasena, S.D., Clin. Chem., 45: 1628-50, 1999 and Fellouse, F.A., et al, J. Mol. Biol., 373(4):924-40, 2007).

وكما هو معروف في المجال فإن المصطلحان "بولي نيوكليوتيد" أو "حمض نووي" اللذين يتم استدامهما بشكل تبادلي بحيث يحل أحدهما محل الآخر هنا، يشيران إلى سلاسل من النيوكليوتيدات nucleotides من أي طول والتي تشتمل على DNA وRNA. يمكن أن تكون النيوكليوتيدات عبارة عن دي أوكسي شريطي نيوكليوتيدات deoxyribonucleotides أو ريبونيوكليوتيدات أو نيوكليوتيدات تم تعديلها أو قواعد و/أو النظائر الخاصة بها من أي ركيزة يمكن تضمينها بداخل السلسلة بواسطة بوليميراز DNA polymerase أو RNA. يمكن أن يشتمل البولي نيوكليوتيد على مركبات نيوكليوتيدات معدلة، مثل النيوكليوتيدات المعالجة بميثيل والنظائر الخاصة بها. وإذا كانت موجودة فإن تعديل بنية النيوكليوتيد يمكن أن يتم قبل أو بعد تجميع السلسلة. يمكن أن يتم قطع متوالية النيوكليوتيدات بواسطة مكنات خلاف النيوكليوتيد. يمكن أن يتم تعديل البولي نيوكليوتيدات أيضاً بعد المعالجة بالبلمرة مثل، على سبيل المثال، الترافق باستخدام مكون ترقيم. تشتمل أنواع أخرى من التعديل، على سبيل المثال، على "استخدام غطاءات" واستبدال واحد أو أكثر من النيوكليوتيدات الحادثة بشكل طبيعي مع تعديلات نظير أو نيوكليوتيد داخلي، مثل، على سبيل المثال، تلك التي بها روابط غير مشحونة على سبيل المثال، مركبات فوسفونات ميثيل methyl phosphonates وفوسوفات تراي إسترات phosphotriesters وفوسفو ميدات phosphoamidates وكاربامات carbamates ، إلخ وباستخدام روابط مشحونة على سبيل المثال، فوسفورو ثيوات phosphorothioates وفسفور وديا ثيوات phosphorodithioates ، إلخ وتلك التي تشتمل على أجزاء مدلاة مثل، على سبيل المثال، بروتينات على سبيل المثال، إنزيمات نيوكلياز nucleases وتوكسينات toxins وأجسام مضادة وببتيدات إشارة وبولي -L- لايسين poly-L-lysine ، إلخ وتلك التي لها مواد إقحام مثل أكريدين acridine أو بسورالين psoralen ، إلخ وتلك التي تشتمل على مواد خلابية containing chelators مثل الفلزات

metals أو الفلزات النشطة بشكل إشعاعي radioactive metals والبورون boron والفلزات المؤكسدة oxidative metals ، إلخ وتلك المشتمل على المواد المعالجة بألكيل linkages وتلك التي لها روابط معدلة مثل أحماض نووية nucleic acids متعلقة بالمصاوغ الكربونيلي ألفا alpha anomeric، إلخ وأيضاً صور غير معدلة من البولي نيوكليوتيد (نيوكليوتيدات) polynucleotide(s). بالإضافة إلى ذلك يمكن استبدال أي من مجموعات الهيدروكسيل hydroxyl الموجودة بشكل عادي، على سبيل المثال، باستخدام مجموعات الفوسفونات أو مجموعات الفوسفات أو وتتم حمايتها من خلال مجموعات حماية قياسية أو يمكن تنشيطها لكي يتم تحضير روابط إضافية لنيوكليوتيدات إضافية أو يمكن أن يتم ترافقها مع مواد حاملة صلبة. يمكن المعالجة بالفسفوريل للطرف 5’ و3’ من OH أو يمكن استبداله باستخدام أمينات أو أجزاء مجموعة تغطية عضوية من 1 إلى 20 كربون. يمكن أن يتم أيضاً اشتقاق هيدروكسيلات hydroxyls إلى مجموعات حماية قياسية. يمكن أن تشتمل البولي نيوكليوتيدات أيضاً على صور مشابهة من سكريات الريبوز أو دي أوكسي ريبوز ribose or deoxyribose sugars والتي تكون معروفة بشكل عام في المجال وتشتمل، على سبيل المثال، على 2’ –O– ميثيل –O–2’ –methyl، 2’ –O– أليل 2’–O–allyl ، 2’–فلوور – 2’–fluoro– أو 2’ –أزيدو – ريبوز – 2’–azido–ribose مواد مناظرة لسكر كربوكسيلي، ألفا–أو بيتا – alpha– or beta من السكريات من المصاوغ الكربونيلي مثل أرابينوز arabinose ، ومركبات زيلوز xyloses ومركبات ليكسوز lyxoses وسكريات بيريانوز pyranose sugars وسكريات فيورانوز furanose sugars ونظائر غير حلقية acyclic analogsومركبات سيدوهيبتولوز sedoheptuloses ونظائر نيوكليوسيد nucleoside غير حلقية مثل ريبوسيد ميثيل methyl riboside.

يمكن استبدال واحدة أو أكثر من روابط فوسفو إستر بواسطة مجموعات الربط البديلة. تشتمل مجموعات الربط البديلة المذكورة، على سبيل المثال لا الحصر على النماذج التي يتم فيها استبدال الفوسفات phosphate بواسطة P(O)S(“thioate”), P(S)S (“dithioate”), (O)NR2 (“amidate”), P(O)R, P(O)OR’, CO or CH2 (“formacetal”) والتي يكون فيها كل من R أو R’ بشكل مستقل عبارة عن H أو ألكيل (C 20–1) بها استبدال أو ليس بها استبدال والتي

تشتمل بشكل اختياري على رابطة إيثر (–O –) ether (–O–) linkage ، أريل aryl ، ألكينيل alkenyl ، سيكلو ألكيل cycloalkyl ، سيكلو ألكينيل cycloalkenyl، أو ارالديل araldyl. ليس كل الروابط في البولي نيوكليوتيد المطلوبة تكون متطابقة. يتم تطبيق الوصف السابق على كل البولي نيوكليوتيدات التي تمت الإشارة إليها هنا والتي تشتمل على RNA و DNA.

وكما هو معروف في المجال، فإن "المنطقة الثابتة" من الجسم المضاد تشير إلى منطقة ثابتة من سلسلة خفيفة من جسم مضاد أو منطقة ثابتة من سلسلة ثقيلة من الجسم المضاد إما بمفردها أو في توليفة.

وكما تم استخدامه، يشير المصطلح "نقي إلى حد كبير" إلى مادة والتي تكون نقية بنسبة 50% على الأقل (أي خالية من أي ملوثات) ويفضل أكثر أن يكون بها 90% من النقاء ويفضل أكثر أن يكون بها 95% من النقاء ويفضل أكثر أن يكون بها 98% من النقاء والأكثر تفضيلاً أن يكون بها 99% من النقاء.

تشتمل "خلية العائل" على خلية فردية أو مزرعة خلية والتي يمكن أن تكون عبارة عن متلقي أو كانت عبارة عن متلقي لناقل (نواقل) خاصة بتضمين الأجزاء المدرجة من البولي نيوكليوتيد. تشتمل الخلايا العائلة على ذرية من خلية عائلة منفردة وذرية يمكن ألا تكون بالضرورة متطابقة (في الشكل الظهري أو في متمم DNA الجينومي) بالنسبة لخلية أساسية أصلية نتيجة للتطفير الطبيعي أو العَرَضي أو المتعمد. تشتمل الخلية العائلة على خلايا تم نقل العدوى لها في الكائن الحي باستخدام بولي نيوكليوتيدات من الاختراع.

وكما تم استخدامه هنا، يشير المصطلح "خلية مناعية" إلى خلية من أصل خلية مكونة للدم والتي يتم تضمينها بشكل وظيفي في بدء و/أو تنفيذ الاستجابة المناعية الفطرية و/أو المكتسبة.

وكما هو معروف في المجال، يتم استخدام المصطلح " منطقة Fc" لكي يتم تعريف المنطقة من الطرف C– من السلسلة الثقيلة للجلوبيولين المناعي. يمكن أن تكون "منطقة Fc" عبارة عن متوالية أصلية من منطقة Fc أو منطقة Fc بصورة متغيرة. وعلى الرغم من ذلك، فإن الوحدات الحدية من منطقة Fc من السلسلة الثقيلة للجلوبيولين المناعي والتي يمكن أن تختلف، فإن السلسلة

الثقيلة لـ IgG البشرية من منطقة Fc يتم تحديدها بشكل عادي لكي يتم التمديد من الوحدة البنائية للحمض الأميني عند الموضع Cys226 أو من Pro230 فيما يتعلق بطرف الكربوكسيل منه. إن ترقيم الوحدات البنائية في المنطقة Fc يكون عبارة عن مؤشر EU طبقاً لـ Kabat. Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991. تشتمل منطقة Fc من الجلوبيولين المناعي بصفة عامة على اثنين من المناطق الثابتة CH2 و CH3.

وكما تم استخدامه هنا، يقوم "مستقبل Fc" و "FcR " بوصف مستقبل يرتبط مع منطقة Fc من الجسم المضاد. يكون FcR المفضل عبارة عن FcR بشري بمتوالية أصلية. علاوة على ذلك، يكون FcR المفضل عبارة عن إحدى الصور التي ترتبط مع الجسم المضاد لـ IgG (مستقبل جاما) والذي يشتمل على مستقبلات من الفئات الفرعية FcγRI، FcγRIIو FcγRIII والتي تشتمل على صور متغيرة أليلية ويتم اشتقاقها بشكل بديل من تلك المستقبلات. تشتمل مستقبلات FcγRII على FcγRIIA (مستقبل منشط) و FcγRIIB ("مستقبل مثبط") والذي يكون مشابهاً لذلك لمتواليات الحمض الأميني والتي تختلف بشكل أساسي في النطاقات السيتوبلازمية منها. تمت مراجعة FcRs في Ravetch and Kinet, Ann. Rev. Immunol., 9:457-92, 1991; Capel et al., Immunomethods, 4:25-34, 1994; and de Haas et al., J. Lab. Clin. Med., 126:330-41, 1995. تشتمل "FcR " أيضاً على مستقبل ناشئ حديثاً، وFcRn والتي تكون مسئولة عن الناقل من IgGs الأصلي بالنسبة للجنين (Guyer et al., J. Immunol., 117:587, 1976; and Kim et al., J. Immunol., 24:249, 1994).

يشير المصطلح "يتنافس" كما تم استخدامه هنا فيما يتعلق بالجسم المضاد إلى أن جسم مضاد أول أو شظية رابطة لمولد الضد (أو جزء) منها ترتبط مع قمة لاصقة بطريقة مشابهة وبشكل كافي مثل الارتباط مع الجسم المضاد الثاني أو جزء رابط لمولد الضد منه بحيث تكون نتيجة ارتباط الجسم المضاد الأول مع القمة اللاصقة القريبة منه يتم اكتشاف أنها متناقصة في وجود الجسم المضاد الثاني بالمقارنة مع الارتباط الخاص بالجسم المضاد الأول في غياب الجسم المضاد الثاني. وفي الصورة البديلة، حيث يمكن اكتشاف أن الربط الخاص بالجسم المضاد الثاني مع القمة اللاصقة

الخاصة به يتناقص في وجود الجسم المضاد الأول، ولكن ليس بالضرورة أن يكون الأمر كذلك. أي أن الجسم المضاد الأول يمكنه تثبيط ارتباط جسم مضاد ثاني مع القمة اللاصقة الخاصة به بدون أن يقوم الجسم المضاد الثاني بتثبيط ارتباط الجسم المضاد الأول بالقمة اللاصقة الخاصة به. وعلى الرغم من ذلك وعندما يمكن لكل جسم مضاد أن يثبط الارتباط بشكل يمكن اكتشافه لجسم مضاد آخر مع القمة اللاصقة الخاصة به أو المركب الترابطي الخاص به، سواء أكان ذلك بمدى أكبر أو بمدى أل، فإن الأجسام المضادة يطلق عليها في تلك الحالة بأنها أجسام "متنافسة بشكل عرضي" مع بعضها البعض في الارتباط مع القمم اللاصقة الخاصة بهم. تم تضمين كل من الأجسام المضادة التنافسية والأجسام المضادة المتنافسة بشكل عرضي في الاختراع. وبغض النظر عن الآلية التي يحدث فيها التنافس أو التنافس العرض (على سبيل المثال الإعاقة الفراغية أو التغيير التشاكلي أو الارتباط مع قمة لاصقة مشتركة أو جزء منها) فإن الماهر في المجال سوف يدرك، بالاعتماد على التعليمات التي تم توضيحها هنا أن الأجسام المضادة الخاصة بالتنافس و/أو التنافس العرضي قد تم تضمينها هنا ويمكن أن تكون مفيدة في الطرق التي تم الكشف عنها هنا.

وكما تم استخدامه هنا يشير المصطلح "ذاتي" إلى أن الخلايا أو سلالات الخلية أو مجموعة من الخلايا التي يتم استخدامها لمعالجة مريض، فإن تلك الخلايا تكون مأخوذة من هذا المريض أو من مانح بشري متوافق مع مولد الضد من الكريات البيضاء البشرية Human Leucocyte Antigen (HLA).

وكما تم استخدامه هنا يشير المصطلح "خيفي" إلى أن الخلايا أو مجموعات الخلايا المستخدمة لمعالجة مريض لا يكون أصلها من المريض المذكور ولكن من مانح.

وكما تم استخدامه هنا يشير المصطلح "معالجة" إلى طريقة للحصول على نتائج إكلينيكية مفيدة أو مرغوبة. ولأغراض الاختراع، فإن النتائج المفيدة أو النتائج المرغوبة، تشتمل، على سبيل المثال لا الحصر على واحدة أو أكثر مما يلي: تقليل تكاثر (أو تدمير) الخلايا الورمية الحديثة أو الخلايا السرطانية وتثبيط انتشار الخلايا الورمية الحديثة وتضييق أو تقليل حجم الورم الذي يعبر عن EGFRvIII، وتخفيف المرض المرتبط بـ EGFRvIII (على سبيل المثال، السرطان) وتقليل الأعراض الناتجة عن المرض المرتبط بـ EGFRvIII (على سبيل المثال، السرطان) وزيادة نوعية حياة هؤلاء الذين يعانون من المرض المرتبط مع EGFRvIII (على سبيل المثال، السرطان)

وتقليل الجرعة من الأدوية الأخرى المطلوبة لمعالجة مرض يرتبط بـ EGFRvIII (على سبيل المثال، السرطان) وتأخير تطور المرض المرتبط بـ EGFRvIII (على سبيل المثال، السرطان) ومعالجة المرض المرتبط بـ EGFRvIII (على سبيل المثال السرطان) و/أو زيادة البقاء على قيد الحياة للمرضى المصابين بمرض يرتبط بـ EGFRvIII (على سبيل المثال، السرطان).

يشير مصطلح "تخفيف إلى تقليل أو تحسين واحد أو أكثر من الأعراض بالمقارنة بحالة عدم إعطاء CAR الخاص بـ EGFRvIII. يشتمل "تخفيف" أيضاً على تقصير أو تقليل في مدة الأعراض.

وكما تم استخدامه هنا يشير مصطلح "جرعة فعالة" أو "كمية فعالة" من عقار أو مركب أو تركيبة صيدلانية إلى كمية كافية لإحداث تأثير كافي للوصول إلى واحدة أو أكثر من النتائج المفيدة. ولغرض الاستخدام الوقائي، تشتمل النتائج المفيدة أو المرغوبة على القضاء على أو تقليل الخطورة أو تقليل الشدة أو تأخير بداية المرض، بما في ذلك الأعراض الكيميائية الحوية و/أو الأعراض السلوكية من المرض أو المضاعفات الخاصة به والأنماط الظاهرية المتوسطة التي يتم تقديمها أثناء تطوير المرض. وبالنسبة للاستخدام العلاجي، تشتمل النتائج المفيدة أو المطلوبة، على سبيل المثل لا الحصر على تقليل حدوث أو تخفيف واحد أو أكثر من الأعراض الخاصة بأمراض أو حالات ترتبط بـ EGFRvIII متعددة (مثل، على سبيل المثال، الورم الأرومي الدبقي متعدد الأشكال) ونقص جرعة الأدوية الأخرى المطلوبة لمعالجة المرض وتحسين تأثير الدواء الآخر و/أو تأخير تطور مرض يرتبط بـ EGFRvIII للمرضى. يمكن إعطاء جرعة فعالة في واحدة أو أكثر من الجرعات. ولأغراض هذا الاختراع، تكون الجرعة الفعالة من العقار أو المركب أو التركيبة الصيدلانية عبارة عن كمية كافية لتحقيق المعالجة الوقائية أو العلاجية إما بشكل مباشر أو بشكل غير مباشر. وكما يتم فهمه في السياق الإكلينيكي، فإن الجرعة الفعالة من العقار أو المركب أو التركيبة الصيدلانية يمكن ألا يتم تحقيقها في ارتباط مع عقار أو مركب أو تركيبة صيدلانية أخرى. وبالتالي فإن "الجرعة الفعالة" يمكن أخذها في الاعتبار في سياق إعطاء واحد أو أ:ثر من العوامل الكيميائية والعامل المنفرد الذي يمكن أخذه في الاعتبار بحيث يتم إعطاؤه في كمية فعالة، إذا أمكنه، في ارتباط مع واحد أو أكثر من العوامل الأخرى) تحقيق النتيجة المرغوبة.

يكون "الفرد" أو "الخاضع" عبارة عن ثديي، ويفضل أكثر أحد البشر. تشتمل الثدييات، على سبيل المثال لا الحصر، على الرئيسيات، والخيول والكلاب والقطط والفئران والجرذان.

وكما تم استخدامه هنا، يشير "ناقل" إلى بنية والتي تكون قادرة على توصيل ويفضل التعبير عن واحد أو أكثر من العوامل أو المتوالية (المتواليات) محل الاهتمام في خلية عائلة. تشتمل أمثلة النواقل، على سبيل المثال لا الحصر على النواقل الفيروسية أو نواقل تعبير DNA أو RNA والبلازميد والكوزميد أو النواقل للملتهمة، أو نواقل تعبير DNA أوRNA المرتبطة مع عوالم تكثيف كاتيونية، أو نواقل تعبير DNA أو RNA التي تمت كبسلتها في الجسيمات الشحمية وخلايا حقيقية النواع معينة مثل خلايا وسيلة إنتاج.

وكما تم استخدامه هنا، تشير العبارة "متوالية مقارنة خاصة بالتعبير" إلى متوالية حمض نووي والتي يتم توجيهها للانتساخ الخاص بالحمض النووي. يمكن أن تكون متوالية التحكم في التعبير عبارة عن معزز، مثل المعزز الأصلي أو المعزز القابل للحث أو محسن. ترتبط متوالية التحكم في التعبير بشكل فعال مع متوالية الحمض النووي المراد انتساخها.

وكما تم استخدامه هنا، يشتمل المصطلح "مادة حاملة مقبولة صيدلانياً" أو "سواغ مقبول صيدلانياً" على أي مادة، والتي عندما يتم دمجها مع عامل فعال فإنها تسمح بأن يحتفظ المكون بالنشاط البيولوجي ولا تكون متفاعلة مع النظام المناعي للخاضع. تشتمل الأمثلة، على سبيل المثال لا الحصر، على مواد حاملة صيدلانية قياسية مثل محلول ملحي منظم من الفوسفات، وماء ومستحلبات مثل مستحلب زيت/ ماء والعديد من أنواع عوامل الترطيب. تكون المواد المخففة المفضلة لإعطاء الأيروسولات أو للإعطاء عن طريق الحقن عبارة عن محلول ملحي منظم من الفوسفات phosphate buffered saline (PBS) أو الصورة العيارية (0.9%) من المحلول الملحي. تشتمل التركيبات على مثل تلك المواد الحاملة والتي تتم صياغتها نم خلال طرق تقليدية معروفة في المجال (انظر، على سبيل المثال، Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; and Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005).

يشير المصطلح "kon " أو "ka "، كما تم استخدامه هنا إلى ثابت معدل الارتباط للجسم المضاد أو مولد الضد. وبشكل خاص فإن ثوابت المعدل (kon/ka و koff/kd) تكون عبارة عن ثوابت انفصال خاصة بالتعادل والتي يمكن قياسها باستخدام، على سبيل المثال، ثوابت الارتباط الخاصة بالتعادل باستخدام، على سبيل المثال، الأجسام المضادة من الطول الكامل و/أو شظايا الجسم المضاد ومولد الضد المناظر.

يشير المصطلح "koff " أو "kd " كما تم استخدامه هنا إلى ثابت معدل الانفصال الخاص بالجسم المضاد من معقد الجسم المضاد/ مولد الضد.

يشير المصطلح "KD " كما تم استخدامه هنا إلى ثابت الانفصال الخاص بالتعادل من تفاعل جسم مضاد-مولد ضد.

يمكن إجراء التحديدات الخاصة بثوابت معدل الارتباط والانفصال kon و koff على الترتيب باستخدام مستشعر حيوي يعتمد على رنين البلازمون لكي يتم توضيح خصائص تفاعل ناتج التحلل/ المركب الترابطي تحت الظروف التي يكون بها ناتج التحلل عبارة عن مادة أحادية التكامؤ بالنسبة للارتباط مع مركب ترابطي يتم تثبيته عند قدرة منخفضة على سطح المستشعر من خلال مادة التفاعل الخاصة بالإمساك. يتم إجراء التحليل باستخدام تقنية معايرة حركية كما تم وصفه في Karlsson et al., Anal. Biochem 349, 136-147, 2006. تم اختيار شريحة المستشعر ومادة التفاعل الخاصة بالإمساك والمحلول المنظم الخاص بالاختبار المستخدم لاختبار معين لكي يتم إعطاء إمساكاً ثابتاً للمركب الترابطي على سطح المستشعر وتقليل الربط غير المحدد من ناتج التحلل عند السطح وإنتاج استجابة ربط لناتج التحلل تكون مناسبة فيما يتعلق بتحليل الحركيات وطبقاً للتوصيات الموجودة في Myszka, J. Mol. Recognit 12, 279-284, 1999. تمت الإشارة على استجابات مرتبطة بناتج التحلل لكل تفاعل ناتج تحلل/ مركب ترابطي مشكر مزدوج وكانت ملائمة فيما يتعلق بنسق 1: 1 لانجمير "نموذج محدد لنقل الكتلة" مع ka و kd و Rmax كمتغيرات عامة تم وصفها في Myszka & Morton et al., Biophys. Chem 64, 127-137 (1997). تم طرح ثابت الانفصال الخاص بالتعادل KD من نسبة معدل ثوابت معدل الحركة، KD = koff/kon. يفضل أن يتم أخذ تلك التحديدات عند درجة الحرارة 25°م أو عند 37°م.

إن الإشارة إلى قيمة أو متغير تسبقه كلمة "حوالي" تشتمل على (وتصف) نماذج تم توجيهها إلى تلك القيمة أو المتغير بذاته. على سبيل المثال، فإن الوصف الذي يشير إلى "حوالي X " يشتمل على وصف "X ". يتم تضمين الأمداء الرقمية من تلك الأعداد التي تحدد هذا المدى. وبصفة عامة فإن المصطلح "حوالي" يشير إلى قيم مُوضحة من المتغير ويشير إلى كل القيم الخاصة بالمتغير والتي تكون في مدى الخطأ التجريبي من القيمة الموضحة (على سبيل المثال، في مدى 95% من فاصل الثقة الخاصة بالمتوسط) أو في مدى 10% من القيمة الموضحة، أيهما أكبر. بينما يتم استخدام المصطلح "حوالي" في سياق فترة زمنة (سنوات، أشهر، أسابيع، أيام، إلخ)، ويشير المصطلح "حوالي" إلى فترة زمنية زائداً عليها أو مطروحاً منها مقدار الفترة الزمنية الفرعية التالية (على سبيل المثال، حوالي 1 سنة تعني من 11–13 شهراً وحوالي 6 أشهر تعني 6 أشهر زائداً عليها أو مطروحاً منها 1 أسبوع، وحوالي 1 أسبوع تعي من 6–8 أيام؛ إلخ)، أو تكون في مدى 10% من القيمة الموضحة أيهما أكبر.

من المفهوم أنه أينما تم وصف نماذج تشتمل على التعبير "يشتمل على" فإن هناك نماذج مماثلة أخرى تم توفيرها يتم فيها الوصف بالتعبير "يتكون من" و/أو "يتكون بشكل أساسي من".

وحيث تم وصف سمات ونماذج الاختراع الحالي في سياق مجموعة Markush أو أي تجميعة أخرى، أو أي تجميعات بديلة فإن الاختراع يضم فقط القائمة الكاملة ككل ويمكن ن يشكل كل عضو من المجموعة بشكل فردي أو على نحو مجمع كل المجموعات الفرعية الممكنة من المجموعة الأساسية وأيضاً فإن كل مجموعة رئيسية تكون غير موجودة لواحد أو أكثر من المجموعات الفرعية. كما يتوخى الاختراع الاستبعاد الصريح لواحد أو أكثر من أي عضو من أعضاء المجموعة في الاختراع المطلوب حمايته.

وما لم يتم ذكر خلاف ذلك فإن المصطلحات التقنية والعلمية يتم استخدامها هنا ويكون لها نفس المعاني كما هو مفهوم بشكل عام لذي المهارة العادية فيا لمجال الذي ينتمي إليه الاختراع الحالي. وفي حالة التناقض فإن المواصفة الحالية بما فيها التعريفات تكون هي المرجع الأساسي. وخلال تلك المواصفة فإن العبارة "يشتمل على" أو الصور الناتجة منها مثل "مشتملاً على" أو "يتضمن" سوف يتم فهمها بأنها تشتمل على تضمين الرقم المذكور أو المجموعة من الأرقام ولكن بدون

استبعاد لأي من الأرقام أو مجموعات الأرقام الأخرى. وما لم يكن واضحاً من خلال السياق، فإن الإشارة إلى المفرد تشتمل الجمع وتشتمل المصطلحات في صورة الجمع على المفرد أيضاً.

تم وصف الطرق التوضيحية والمواد هنا على الرغم من أن الطرق والمواد تكون متشابهة أو مكافئة لتلك التي تم وصفها هنا وتم استخدامها في تنفيذ أو اختبار الاختراع. تكون المواد والطرق والأمثلة عبارة عن صورة توضيحية فقط ولا يقصد منها أن تكون صورة محددة لمجال الاختراع.

CARs الخاص بـEGFRvIII والطرق الخاصة بتحضيره

يوفر الاختراع الحالي CARs الذي يرتبط مع EGFRvIII (على سبيل المثال، EGFRvIII بشري (على سبيل المثال، المتوالية بهوية رقم 201، رقم الوصول: P00533 Feature Identifier VAR_066493؛ أو برقم وصول في بنك الجينات رقم AJN69267)). تشتمل CARs الخاصة بـ EGFRvIII التي تم توفيرها هنا على سلسلة منفردة من CARS و CARs متعدد السلاسل. يكون لـ CARs القدرة على إعادة توجيه خاصية الخلية T والتفاعلية نحو EGFRvIII في طريقة غير مقيدة MHC مع استخدام خصائص ربط مولد الضد من الأجسام المضادة أحادية النسيلة. يقوم التعرف على مولد الضد غير المقيد MHC بإعطاء CARs المعبر عن خلايا T والقدرة على التعر على مولد الضد المستقل فيما يتعلق بتطور مولد الضد وبالتالي التمرير الخاص بالآلية الأساسية الخاصة بهروب الورم.

في بعض النماذج فإن CARs الذي تم توفيره هنا يشتمل على نطاق رابط للمركب الترابطي خارج الخلية (على سبيل المثال، شظية قابلة للتغير من السلسلة المنفردة (scFv))، والنطاق عبر الغشاء ونطاق الإشارة بداخل الخلية. في بعض النماذج، يكون نطاق ربط المركب الترابطي داخل الخلية ونطاق عبر الغشاء ونطاق الإشارة بداخل الخلية في بولي ببتيد واحد، أي، في سلسلة منفردة. تم توفير CARs متعددة السلسلة والبولي ببتيدات هنا أيضاً. في بعض النماذج، فإن CARs متعدد السلسلة يشتمل على: بولي ببتيد يشتمل على نطاق عبر الغشاء ونطاق رابط لمركب ترابطي خارج الخلية واحد على الأقل وبولي ببتيد ثاني يشتمل على نطاق عبر الغشاء ونطاق عبر الغشاء ونطاق إشارة بداخل الخلية واحد على الأقل حيث أن البولي ببتيدات يتم تجمعيها معاً لكي يتم تشكيل CAR متعدد السلسلة .

في بعض النماذج فإن CAR متعدد السلسلة الخاص بـ EGFRvIII يعتمد على مستقبل عال الألفة خاص بـ IgE(FcεRI). يتم التعبير عن FcεRI على الخلايا البدينة وتقوم القعدات بحث التفاعلات الخاصة بالحساسية. يكون FcεRI عبارة عن معقد متعدد الوحدات تم تكوينه من وحدة فرعية α منفردة ووحدة فرعية β منفردة واثنين من الوحدات الفرعية المرتبطة بكبريتيد ثنائي γ. تشتمل الوحدة الفرعية α على نطاق رابط لـ IgE. تكون الوحدات الفرعية β و γ مشتملة على ITAMs والتي تتسبب في نقل الإشارة. في بعض النماذج، فإن النطاق خارج الخلية من FcRα السلسلة FcRα يتم حذفه ويتم استبداله بواسطة نطاق ربط مركب ترابطي خارج الخلية خاص بـ EGFRvIII. في بعض النماذج، فإن CAR الخاص بـ EGFRvIII متعدد السلسلة يشتمل على scFv والتي ترتبط بشكل خاص بـ EGFRvIII والمنطقة المفصلية CD8α و ITAM من سلسلة FcRβ. في بعض النماذج فإن CAR يمكن أن تشتمل أو لا تشتمل على أي سلسلة FcRγ.

في بعض النماذج، فإن نطاق ربط المركب الترابطي يشتمل على scFv الذي يتشمل على منطقة متغيرة لسلسلة خفيفة (VL) ومنطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة (VH) والتي تستهدف الجسم المضاد أحادي النسيلة الخاص بمولد الضد الذي تم ربطه مع رابط مرن. يتم تحضير شظايا المنطقة المتغيرة للسلسلة المنفردة من خلال ربط المناطق المتغيرة للسلسلة الخفيفة و/أو السلسلة الثقيلة بواسطة استخدام ببتيد رابط قصير (Bird et al., Science 242:423-426, 1988). ينطوي مثال على الببتيد الرابط في الرابط GS الذي يشتمل على متوالية الحمض الأميني (GGGGS)4 (المتوالية بهوية رقم 202) والتي تربط حوالي 3.5 نانو متر بين طرف الكربوكسيل من منطقة متغيرة وطرف الأمين من منطقة متغيرة أخرى. تم تصميم الروابط من متواليات أخرى وتم استخدامها (Bird et al., 1988, supra). بصفة عامة فإن الروابط يمكن أن تكون قصيرة أو يمكن أن تكون عبارة عن بولي ببتيدات مرنة ويفضل أن تشتمل على حوالي 20 أو أقل من الوحدات البنائية للحمض الأميني. يمكن تعديل الروابط بدورها لوظائف إضافية، مثل ربط العقاقير أو ربط المواد الحاملة الصلبة. يمكن أن يتم إنتاج الصور المتغيرة المنفردة للسلسلة إما بشكل ناتج عودة الارتباط أو بشكل تخليقي. بالنسبة للإنتاج التخليقي لـ scFv، يمكن استخدام وسيلة التخليق الآلي. بالنسبة للإنتاج ناتج عودة الارتباط من scFv، يمكن إدخال بلازميد مناسب يشتمل على بولي نيوكليوتيد والذي يقوم بتشفير scFv بداخل الخلايا العائلة المناسبة إما من الخلايا حقيقة

النواة مثل خلايا الخميرة أو خلايا النباتات أو خلايا حشرية أو خلايا أولية النواة مثل خلايا إيشريشيا كولاي. يمكن تحضير البولي نيوكليوتيدات المشفرة لـ scFv بواسطة معالجة روتينية مثل الارتباط الخاص بالبولي نيوكليوتيدات. يمكن عزل scFv الناتج باستخدام تقنيات التنقية المعروفة في المجال.

في بعض النماذج، يشتمل النطاق الرابط للمركب الترابطي خارج الخلية على (أ) منطقة VH التي تشتمل على (i) منطقة محددة ومتممة لـ VH واحدة (CDR1) تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 62، 63، 64، 74، 75، 76، 80، 81، 82، 88، 89، 90، 93، 94، 95، 99، 100، 101، 109، 110، 111، 115، 116، 117، 121، 122، 123، 132، 134,133، 137، 138، 139، 143، 144، أو 145؛ (ii) VH CDR2 تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 65، 66، 68، 69، 70، 71، 77، 78، 83، 84، 86، 87، 91، 92، 96، 97، 98، 102، 103، 105، 106، 112، 113، 118، 119، 124، 125، 127، 128، 130، 131، 135، 136، 140، 141، 146، أو 147؛ و iii) تشتمل على VH CDR3 على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 67، 72، 73، 79، 85، 104، 107، 108، 114، 120، 126، 129، 142، أو 148؛ و/أو منطقة VL تشتمل على (i) VL CDR1 تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 149، 154، 156، 159، 162، 165، 166، 168، 169، 170، 171، 173، 174، 176، 178، 181، 182، 185، 187، 190، 192، 195، أو 198؛ (ii) VL CDR2 يشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 150، 152، 155، 157، 160، 163، 172، 175، 179، 183، 186، 188، 191، 193، 196، أو 199؛ و (iii) VL CDR3يشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 151، 153، 158، 161، 164، 167، 177، 180، 184، 189، 194، 197، أو 200. في بعض النماذج، يتم ربط VH و VL بواسطة رابط مرن. في بعض النماذج يشتمل الرابط المرن على متوالية الحمض الأميني الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 202.

في بعض النماذج، يشتمل النطاق الرابط للمركب الترابطي خارج الخلية على (أ) منطقة VH التي تشتمل على (i) منطقة محددة ومتممة لـ VH واحدة (CDR1) تشتمل على المتوالية الموضحة في

المتوالية بهوية رقم: 62، 63، 64، 74، 75، 76، 80، 81، 82، 88، 89، 90، 109، 110، 111، 115، 116، 117، 121، 122، 123، 137، 138، أو 139؛ (ii) VH CDR2 تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 70، 71، 77، 78، 83، 84، 86، 87، 91، 92، 112، 113، 118، 119، 124، 125، 127، 128، 140، أو 141؛ و iii) تشتمل على VH CDR3 على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 73، 79، 85، 114، 120، 126، 129، أو 142، و/أو (ب) منطقة VL تشتمل على (i) تشتمل VL CDR1 على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 149، 156، 159، 162، 165، 182، 185، 187، أو 195؛ (ii) VL CDR2 تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 152، 157، 160، 163، 183، 186، 188، أو 196؛ و (iii) VL CDR3 تشتمل على المتوالية الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 153، 158، 161، 164، 184، 189، أو 197.

في سمة أخرى، تم توفير CAR، الذي يرتبط بشكل خاص بـ EGFRvIII، حيث يشتمل CAR على نطاق رابط للمركب الترابطي خارج الخلية يشتمل على: منطقة VH التي تشتمل على VH CDR1، VH CDR2، و VH CDR3 من متوالية VH الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 1، 3، 5، 7، 9، 11، 13، 15، 17، 19، 21، 23، 25، 27، 30، 32، 34، 35، 37، 39، 41، 43، 44، 46، 48، أو 50؛ و/أو منطقة VL تشتمل على VL CDR1، VL CDR2، و VL CDR3 من متوالية VL الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 2، 4، 6، 8، 10، 12، 14، 16، 18، 20، 22، 24، 26، 28، 29، 31، 33، 36، 38، 40، 42، 45، 47، 49، أو 51. في بعض النماذج، يتم ربط VH و VL بواسطة رابط مرن. في بعض النماذج يشتمل الرابط المرن على متوالية الحمض الأميني الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 202.

في بعض النماذج، يشتمل CAR على نطاق رابط للمركب الترابطي خارج الخلية يشتمل على: منطقة VH التي تشتمل على VH CDR1، VH CDR2، و VH CDR3 من متوالية VH الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 5، 9، 11، 13، 15، 37، 39، 41، 43، أو 48؛ و/أو منطقة VL تشتمل على VL CDR1، VL CDR2، و VL CDR3 من متوالية VL الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 6، 10، 12، 14، 16، 38، 40، 42، أو 49. في بعض النماذج، يتم

ربط VH و VL بواسطة رابط مرن. في بعض النماذج يشتمل الرابط المرن على متوالية الحمض الأميني الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 202.

في بعض النماذج، يشتمل CAR من الاختراع الحالي على نطاق رابط لمركب ترابطي خارج الخلية يشتمل على أي واحدة من متوالية السلسلة الخفيفة الجزئية الموضحة في الجدول رقم 1 و/أو أي واحدة من متوالية السلسلة الثقيلة الجزئية الموضحة في الجدول رقم 1. في الجدول رقم 1، تكون المتواليات التي تم وضع خط تحتها عبارة عن متواليات CDR طبقاً لكابات وتكون المتواليات بخط سميك طبقاً لكوثيا. يمكن الإشارة إلى mAbs من الجدول رقم 1 هنا في شكل "مستنسخات" جسم مضاد لـ EGFRvIII مختلفة.

الجدول رقم 1:

mAb	السلسلة الخفيفة	السلسلة الثقيلة
m62G7	dvvmtqtpltlsvtigqpasisckssqslly sngktylnwllqrpgqspkrliylvskldsg vpdrftgsgsgtdftlkisrveaedlgfyyc vqdthfpltfgagtklelk(متوالية بهوية رقم: 2)	evqlqqsgpelvkpgasvkiscktsgytf tdytlhwvkqshvkslewiggidpinggtt ynqkfkgkatltvdkssstaymelrsltse dsavyycargeamdswgqgtsvtvss (متوالية بهوية رقم: 1)
h62G7	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASI SCkssqsllysngktylnWFQQRPG QSPRRLIYlvskldsGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCvqdthfpltFGGGTKVEIK (متوالية بهوية رقم: 4)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTdytlhWVRQAP GQGLEWMGgiNpinGgttynqkfk GRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCARgeaMDSw gqgtLvtvss (متوالية بهوية رقم: 3)

h62G7-L6/EQ	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWFQQRPGQSPRRLIYQVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQDTHFPLTFGGGTKVEIK (متوالية بهوية رقم: 6)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYTLHWVRQAPGQGLEWMGGIWPITGGTTYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEAQGSWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 5)
h62G7-H14/L1-DV	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSNDKTYTNWFQQRPGQSPRRLIYEVSKLDVGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQDTHFPLTFGGGTKVEIK (متوالية بهوية رقم: 8)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYTLHWVRQAPGQGLEWMGGIWPITGGTTYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEAEGSWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 7)
42G9	EVVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVRSNLAWYQQKSGQAPRLLIYGSTIRATGVPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYSDWPFTFGPGTKVDIK (متوالية بهوية رقم: 10)	QVTLKESGPVLLKPTETLTLTCTVSGFSLSNPRMGVSWIRQPPGKALEWFAHIFSTDEKSLKLSLRSRLTLSKDTSKSQVVLTMTNMAPVDSATYYCARDSSNYEGYFDFWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 9)
32A10	EVVMTQSPATLSVSPGERVTLSCRASQSVSSNFAWYQQRPGQAPRLLLYGATTRATGLP	QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSNARMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSTDEKSIR

	GRFSGSGSGTENILTISSLQS EDFAIYFCQQYKDWPFTFGP GSKVDIK(متوالية بهوية رقم: 12)	RSLRSRLTLSKDTSKSQVVLT MTNMDPVDTATYFCARDSSN YEGYFDYWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 11)
20B9	EIVMTQSPATLSVSPGERATL SCRVSQSIGANLAWYQQKFG QAPRLLIYGASTRATGIPVRF SGGGSGTEFTLTISSLQSEDF AIYSCQQYIYWPFTFGPGTTV DIK (متوالية بهوية رقم: 14)	QVTLKESGPVLVKPTETLTLT CTVSGFSLSNARMGVSWIRQ PPGKALEWLGHIFSTDEKSY STSLRGRITISKDTSRGLVVLT LTNMDPVDTATYYCARDSSN YEGYFDFWGPGFLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 13)
14C11	EIVMTQSPATLSVSPGERATL SCRASQSVSNNLAWYQQKP GQAPRLLIYGASTRATGVPAR FSGSDSGTEFSLTISSLQSED FAVYFCQQYKDWPFTFGPGT KVEIK(متوالية بهوية رقم: 16)	QVTLKESGPVLVKPTETLTLT CTVSGFSLNNARMGVSWIRQ PPGKALEWFAHIFSTDEKSFR TSLRSRLTLSKDTSKSQVVLT MTNMDPVDTATYYCARDSS NYEGYFDYWGQGILVTVSS (متوالية بهوية رقم: 15)
21E11	dmvvtqspatlsvspgeratlscrasqsv gsdlawyqqppgqsprlliygastratgv parfsgsgsgtdftltitslesedfavyycq qyndwpftfgpgtkvdik(متوالية بهوية رقم: 18)	qvtlkesgpvlvkptetltltctvsgfslsnvr mgvswirqppgkalewfahifssdeksi rrslrsrltlskdtsksqvvltmtnmdpvdt atyycardssnyegyfdfwgqgtlvtvss n(متوالية بهوية رقم: 17)

49B11	EMEVTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQNIGSDLAWYQQQS GQAPRLLISGASTRATGVPTR FSGSGSGTDFTLTITSLQSED FAVYYCQQYNDWPFTFGPG TKVDIK(متوالية بهوية رقم: 20)	QVTLKESGPVLVKPTETLTLT CTVSGFSLSNVRMGVSWIRQ PPGKALEWFAHIFSSDEKSIR RSLRSRLTLSKDTSKSQVVLT MTNMDPVDTATYYCARDSS NYEGYFDYWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 19)
46E10	EVVMTQSPPNLSVSPGERAT LSCRASQSVTSNFAWYQQR PGQSPRLLLYGASTRATGVP GRFSGSGSGTENILTISSLQS EDFAVYFCQQYKDWPFTFGP GSKVDIK(متوالية بهوية رقم: 22)	qvtlkesgpvlvkptetltltctvsgfslsnA rmgvswirqppgkalewLahifsTdek sirrslrsrltlskdtsksqvvllmtnmdpv dtatyycardssnyegyfdYwgqgtlvt vss(متوالية بهوية رقم: 21)
12H6	EVVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQGVSSNFAWYQQR PGQSPRLLLYGASTRATGVP GRFSGSGSGTENILTISSLQS EDFAIYFCQQYKDWPFTFGP GSKVDIK(متوالية بهوية رقم: 24)	QVTLKESGPVLVKPTETLTLT CTVSGFSLSNARMGVSWIRQ PPGKALEWLAHIFSTDEKSIR RSLRSRLTLSKDTSKSQVVLT MTNMDPVDTATYYCARDSS NYEGYFDYWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 23)
19A9	EVVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSVNRNLAWYQQK PGQAPRLLIFGTSTRATGIPA RFSGSGSGTEFTLTIDSLQSE	QVTLEESGPVLVKPTETLTLT CTVSGFSLSNARMGVSWIRQ PPGKAPEWFAHIFSTDEKSL RLSLRSRLTLSKDTSKSQVVL TMTNMDPVDTATYYCARDSS

	HSGLYYCQQYNDWPFTFGP GTKVDIK(متوالية بهوية رقم: 26)	NYEGYFDYWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 25)
11B11	EVLMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSVSTNFAWYQQR PGQAPRLLLFGASTRATGIPG RFSGSGSGTENILTISSLQSE DFAIYFCQQYKDWPFTFGPG SKVEIK(متوالية بهوية رقم: 28)	QVTLKESGPVLVKPTETLTLT CTVSGFSLSNAKMGVSWIRQ PPGKALEWLAHIFSTDEKSIR RSLRSRLTMSKDTSKSQVVL TMTNMDPVDTATYYCVRDSS NYEGYFDYWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 27)
21E7	DVVLTQSPATLSVSPGERATL SCRASQSVNSNLAWYQQNP GQAPRLLIFGSSTRATGIPAS FSGSGSGTEFTLTINSLQSEH SAVYYCQQYNDWPFTFGPG TKVDIK(متوالية بهوية رقم: 29)	QVTLEESGPVLVKPTETLTLT CTVSGFSLSNARMGVSWIRQ PPGKAPEWFAHIFSTDEKSL RLSLRSRLTLSKDTSKSQVVL TMTNMDPVDTATYYCARDSS NYEGYFDYWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 25)
12B2	EVVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSVINNLAWYQQKP GQAPRLLIYGTSTRATDIPAR FSGSGSGTEFTLTISSLQSED FAVYYCQDYNNWPFTFGPGT KVDIK(متوالية بهوية رقم: 31)	QVTLKESGPVLVKPTETLTLT CTVSGFSLSNPRMGVSWIRQ PPGKALEWLGHIFSSDEKSY RLSLRSRLSISKDTSKSQVVL TMTNMDPVDTATYYCVRDSS NYGGYFDYWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 30)

11F10	EIVMTQSPATLSVSPGERTTLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRASGVPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYSCQEYNNWPFTFGQGTKVEIK(متوالية بهوية رقم: 33)	QVTLKESGPVLVKPIETLTLTCTVCGFSLSNPRMGVSWIRQPPGKALEWLGHIFSSDEKSYRLFLRSRLSISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYYCARDSSDYEGYFDYWGQGTLVTVSS(متوالية بهوية رقم: 32)
17G11	EVVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVINNLAWYQQKPGQAPRLLIYGTSTRATDIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQDYNNWPFTFGPGTKVDIK(متوالية بهوية رقم: 31)	QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVFGFSLSNPRMGVSWIRQPPGKAPEWLGHIFSSDEKSYRLSLRSRLSISKDTSKSQVVFXMTNMDPGDPATYYCVRDSSNYEEYFDYWGQGTLVTVSS(متوالية بهوية رقم: 34)
29D5	KIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRANQIVSSNLAWYQQKPGQAPRLLVFGTSTRATGIPIRFSGSGSGTEFTLTVSSLQSEDFAVYYCQQYNDWPFTFGPGTKVDIK(متوالية بهوية رقم: 36)	QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSNPRMGVSWLRQPPGKALEWFAHIFSTDEKSYSPSLRGRLTVSKDTSKSQVVLTLTNMDPVDTATYYCARDSSNYEGYFDYWGQGTLVTVSS(متوالية بهوية رقم: 35)
30D8	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHNKRNNYLDWFLQKPGQSPQLLIYLASNRASGVPDRFSGGGSGTDFTLKISR	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCEASGFTFSDAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYVVPLNGRFIISRDDSRNT

	VEAEDVGVYYCMQAQQTPIT FGQGTRLEIK(متوالية بهوية رقم: 38)	LYLQLNNLKTEDTAVYYCTTV PGSYGYWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 37)
20E12	DIVLTQSPLSLSVTPGEPASIS CRSSQSLLYSNGKNYLDWFL HKPGQSPQLLIYLGSNRASG VPDRFSGSGSGIDFILKISRVE AEDVGVYYCMQAQQTPITFG QGTRLEIK(متوالية بهوية رقم: 40)	EVNLVESGGGLVKPGGSLRL SCEASGFTFSYAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIKSIADGGA TDYAAPVRNRFTISRDDSRN TLYLEMHSLKTEDTAVYYCTT IPGNDAFDMWGQGTMVTVS S(متوالية بهوية رقم: 39)
26B9	DIVLTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLHRDGFNYLDWFL QKPGQSPQLLIYLASSRASGV PDRFSGSDSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCMQALQTPITFG QGTRLEIK(متوالية بهوية رقم: 42)	EVQLVESWGVLVKPGGSLRL SCAASGFIFNNAWMSWVRQ APGKGLEWIGRIKSKSDGGT TDYAAPVKDRFTISRDDSKDT LYLQMNGLKTEDTAVYFCTT APGGPFDYWGQGTLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 41)
32G8	DIVLTQSPLSLSVTPGEPASIS CRSSQSLLYSNGKNYLDWFL HKPGQSPQLLIYLGSNRASG VPDRFSGSGSGIDFILKISRVE AEDVGVYYCMQAQQTPITFG QGTRLEIK(متوالية بهوية رقم: 40)	EVNLVESGGGLVKPGGSLRL SCEASGFTFSYAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIKSITDGGVI DYAAPVRNRCTISRDDSRNT LYLEMHSLKTEDTAVYYCTTI PGNDDFDMWGQGRMVTVS S(متوالية بهوية رقم: 43)

34E7	DIVLTQSPLSLSVTPGEPASIS CRSTQSLLYSNGKNYLDWFL HKPGQSPQLLIFLGSIRASGV PDRFSGSGSGIDFILKISRVEA EDVGVYYCMQAQQTPITFGQ GTRLEIK(متوالية بهوية رقم: 45)	EVNLVESGGGLVKPGGSLRL SCEASGFTFSYAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIKSINDGGA TDYASPVRNRFTISRDDSRN MLYLEMHSLKTEDTAVYYCT TIPGNDAFDMWGQGTLVTVS S(متوالية بهوية رقم: 44)
20G5	DIVLTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLYSDRRNYLDWFL QKPGQSPHLLIYLGSYRASG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRV EAEDVGVYYCMQALQIPITFG QGTRLEIK(متوالية بهوية رقم: 47)	EVQLVESGGDLVKPGGSLRL SCAASGFTFTNAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIKSKIDGGT TDYAAPVKGRFIISRDDSKNT LSLQMNSLKTEDTAMYYCTT APGGPFDYWGQGSLVTVSS (متوالية بهوية رقم: 46)
C6	ELQSVLTQPPSASGTPGQRV TISCSGSSSNIGSNYVYWYQ QLPGTAPKILIYRNNQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLR SEDEADYYCAAWDDNLSGW VFGTGTKLTVL(متوالية بهوية رقم: 49)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGDTFSSNAISWVRQA PGQGLEWMGVIIPIFGTADYA QKFQGRVTITADESTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARHTY HEYAGGYYGGAMDPWGQG TLVTVSS(متوالية بهوية رقم: 48)
B5	diqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqsis sylnwyqqkpgkapklliyaasslqsgv psrfsgsgsgtdftltisslqpedfatyycq	evqllesggglvqpggslrlscaasgftfs nyamswvrqapgkglewvsdisgggg rtyyadsvkgrftisrdnskntlylqmnslr

aedtavyycaragllygggvypmdiwg qgtlvtvss(متوالية بهوية رقم: 50)	qsystpltfgqgtkveik(متوالية بهوية رقم: 51)	

تم أيضاً هنا توفير أجزاء CDR من نطاقات رابطة لمركب ترابطي خارج الخلية من CARs لـ EGFRvIII (بما في ذلك المناطق السليمة من كوثيا وكابات Chothia, Kabat CDRs، والمناطق السليمة من CDR). إن تحديد مناطق CDR يكون معروفاً بشكل جيد لدى الماهر في المجال. من المعروف أنه في بعض النماذج أن CDRs يمكن أن تكون عبارة عن توليفة من كابات و CDR كوثيا (والتي يطلق عليها أيضاً هنا "CRs مدمجة" أو "CDRs ممتدة"). في بعض النماذج، فإن CDRs تكون عبارة عن كابات CDRs. في نموذج آخر فإن CDRs تكون عبارة عن كوثيا CDRs. بعبارة أخرى وفي النماذج التي بها أكثر من واحدة من CDR فإن CDRs يمكن أن تكون عبارة عن كابات أو كوثيا أو توليفة من CDRs أو توليفات منها كلها. يوفر الجدول رقم 2 أمثلة خاصة بمتواليات CDR التي تم توفيرها هنا.

الجدول رقم 2:

السلسلة الثقيلة			
CDRH3	CDRH2	CDRH1	mAb
geamds (متوالية بهوية رقم: 67)	gidpinggttynqkfkg (متوالية بهوية رقم: 65) (كابات) gidpinggtty(متوالية بهوية رقم: 66) (كوثيا)	TDyTLH(متوالية بهوية رقم: 62) (كابات)؛ GYTFTD(متوالية بهوية رقم: 63) (كوثيا)؛ gYTFTDYTLH(متوالية بهوية رقم: 64) (ممتدة)	m62G7

geamds (متوالية بهوية رقم: 67)	giNpinggttynqkfkg (متوالية بهوية رقم: 68) (كابات) ginpinggtty (متوالية بهوية رقم: 69) (كوثيا)	TDyTLH (متوالية بهوية رقم: 62) (كابات)؛ GYTFTD (متوالية بهوية رقم: 63) (كوثيا)؛ gYTFTDYTLH (متوالية بهوية رقم: 64) (ممتدة)	h62G7
geaEGs (متوالية بهوية رقم: 72)	giWpiTggttynqkfk g (متوالية بهوية رقم: 70) (كابات) giWpiTggtty (متوالية بهوية رقم: 71) (كوثيا)	TDyTLH (متوالية بهوية رقم: 62) (كابات)؛ GYTFTD (متوالية بهوية رقم: 63) (كوثيا)؛ gYTFTDYTLH (متوالية بهوية رقم: 64) (ممتدة)	h62G7-H14
geAQGs (متوالية بهوية رقم: 73)	giWpiTggttynqkfk g (متوالية بهوية رقم: 70) (كابات) giWpiTggtty (متوالية بهوية رقم: 71) (كوثيا)	TDyTLH (متوالية بهوية رقم: 62) (كابات)؛ GYTFTD (متوالية بهوية رقم: 63) (كوثيا)؛ gYTFTDYTLH (متوالية بهوية رقم: 64) (ممتدة)	h62G7-EQ

dssnyegyf df(متوالية بهوية رقم: 79)	hifstdekslklslrs(متوالية بهوية رقم: 77) (كابات) hifstdeksl(متوالية بهوية رقم: 78) (كوثيا)	SNPRMGVS(متوالية بهوية رقم: 74) (كابات)؛ GFSLSNPR(متوالية بهوية رقم: 75) (كوثيا)؛ GFSLSNPRMGVS (متوالية بهوية رقم: 76) (ممتدة)	42G9
dssnyegyf dY(متوالية بهوية رقم: 85)	hifstdekslRRSLRS(متوالية بهوية رقم: 83) (كابات) hifstdeksl(متوالية بهوية رقم: 84) (كوثيا)	SNARMGVS(متوالية بهوية رقم: 80) (كابات)؛ GFSLSNAR(متوالية بهوية رقم: 81) (كوثيا)؛ GFSLSNARMGVS (متوالية بهوية رقم: 82) (ممتدة)	32A10
dssnyegyf df(متوالية بهوية رقم: 79)	hifstdeksYSTSLRG(متوالية بهوية رقم: 86) (كابات) hifstdeksY(متوالية بهوية رقم: 87) (كوثيا)	SNARMGVS(متوالية بهوية رقم: 80) (كابات)؛ GFSLSNAR(متوالية بهوية رقم: 81) (كوثيا)؛ GFSLSNARMGVS (متوالية بهوية رقم: 82) (ممتدة)	20B9

14C11	NNARMGVS(متوالية بهوية رقم: 88) (كابات)؛ GFSLNNAR(متوالية بهوية رقم: 89) (كوثيا)؛ GFSLNNARMGVS (متوالية بهوية رقم: 90) (ممتدة)	hifstdeksFRTSLRS(متوالية بهوية رقم: 91) (كابات) hifstdeksF(متوالية بهوية رقم: 92) (كوثيا)	dssnyegyfdY(متوالية بهوية رقم: 85)
21E11	SNVRMGVS(متوالية بهوية رقم: 93) (كابات)؛ GFSLSNVR(متوالية بهوية رقم: 94) (كوثيا)؛ GFSLSNVRMGVS (متوالية بهوية رقم: 95) (ممتدة)	hifsSdeksIRRSLRS(متوالية بهوية رقم: 96) (كابات) hifsSdeksI(متوالية بهوية رقم: 97) (كوثيا)	dssnyegyfdf(متوالية بهوية رقم: 79)
49B11	SNVRMGVS(متوالية بهوية رقم: 93) (كابات)؛ GFSLSNVR(متوالية بهوية رقم: 94) (كوثيا)؛ GFSLSNVRMGVS (متوالية بهوية رقم: 95) (ممتدة)	hifsSdeksIRRSLRS(متوالية بهوية رقم: 96) (كابات) hifsSdeksI(متوالية بهوية رقم: 97) (كوثيا)	dssnyegyfdY(متوالية بهوية رقم: 85)

dssnyegyf dY(متوالية بهوية رقم: 85)	hifstdekslRRSLR S(متوالية بهوية رقم: 83) (كابات) hifstdeksl(متوالية بهوية رقم: 84) (كوثيا)	SNARMGVS(متوالية بهوية رقم: 80) (كابات)؛ GFSLSNAR(متوالية بهوية رقم: 81) (كوثيا)؛ GFSLSNARMGVS (متوالية بهوية رقم: 82) (ممتدة)	46E10 12H6
dssnyegyf dY(متوالية بهوية رقم: 85)	hifstdekslRLSLRS (متوالية بهوية رقم: 98) (كابات) hifstdeksl(متوالية بهوية رقم: 78) (كوثيا)	SNARMGVS(متوالية بهوية رقم: 80) (كابات)؛ GFSLSNAR(متوالية بهوية رقم: 81) (كوثيا)؛ GFSLSNARMGVS (متوالية بهوية رقم: 82) (ممتدة)	19A9 21E7
dssnyegyf dY(متوالية بهوية رقم: 85)	hifstdekslRRSLR S(متوالية بهوية رقم: 83) (كابات) hifstdeksl(متوالية بهوية رقم: 84) (كوثيا)	SNAKMGVS(متوالية بهوية رقم: 99) (كابات)؛ GFSLSNAK(متوالية بهوية رقم: 100) (كوثيا)؛ GFSLSNAKMGVS (متوالية بهوية رقم: 101) (ممتدة)	11B11

DSSNYG GYFDY (متوالية بهوية رقم: 104)	HIFSSDEKSYRL SLRS(متوالية بهوية رقم: 102) (كابات) HIFSSDEKSY (متوالية بهوية رقم: 103) (كوثيا)	SNPRMGVS(متوالية بهوية رقم: 74) (كابات)؛ GFSLSNPR(متوالية بهوية رقم: 75) (كوثيا)؛ GFSLSNPRMGVS (متوالية بهوية رقم: 76) (ممتدة)	12B2
DSSDYE GYFDY (متوالية بهوية رقم: 107)	hiFSSDEKSYRLF LRS(متوالية بهوية رقم: 105) (كابات) hiFSSDEKSY (متوالية بهوية رقم: 103) (كوثيا)	SNPRMGVS(متوالية بهوية رقم: 74) (كابات)؛ GFSLSNPR(متوالية بهوية رقم: 75) (كوثيا)؛ GFSLSNPRMGVS (متوالية بهوية رقم: 76) (ممتدة)	11F10
DSSNYE EYFDY (متوالية بهوية رقم: 108)	HIFSSDEKSYRL SLRS(متوالية بهوية رقم: 102) (كابات) HIFSSDEKSY (متوالية بهوية رقم: 103) (كوثيا)	SNPRMGVS(متوالية بهوية رقم: 74) (كابات)؛ GFSLSNPR(متوالية بهوية رقم: 75) (كوثيا)؛ GFSLSNPRMGVS (متوالية بهوية رقم: 76) (ممتدة)	17G11

29D5	SNPRMGVS(متوالية بهوية رقم: 74) (كابات)؛ GFSLSNPR(متوالية بهوية رقم: 75) (كوثيا)؛ GFSLSNPRMGVS (متوالية بهوية رقم: 76) (ممتدة)	HIFSTDEKSYSP SLRG(متوالية بهوية رقم: 106) (كابات) HIFSTDEKSY (متوالية بهوية رقم: 87) (كوثيا)	dssnyegyf dY(متوالية بهوية رقم: 85)
30D8	sDAWMS(متوالية بهوية رقم: 109) (كابات)؛ gfTFSD(متوالية بهوية رقم: 110) (كوثيا)؛ gfTFSDAWMS(متوالية بهوية رقم: 111) (ممتدة)	RIKSKTDGGTTD YVVPLNG (متوالية بهوية رقم: 112) (كابات) RIKSKTDGGTTD Y(متوالية بهوية رقم: 113) (كوثيا)	VPGSYG Y(متوالية بهوية رقم: 114)
20E12	sYAWMS(متوالية بهوية رقم: 115) (كابات)؛ gfTFSY(متوالية بهوية رقم: 116) (كوثيا)؛ GFTFSYAWMS(متوالية بهوية رقم: 117) (ممتدة)	RIKSIADGGATD YAAPVRN(متوالية بهوية رقم: 118) (كابات) RIKSIADGGATD Y(متوالية بهوية رقم: 119) (كوثيا)	IPGNDAF DM(متوالية بهوية رقم: 120)

APGGPF DY(متوالية بهوية رقم: 126)	RIKSKSDGGTTD YAAPVKD(متوالية بهوية رقم: 124) (كابات) RIKSKSDGGTTD Y(متوالية بهوية رقم: 125) (كوثيا)	NNAWMS(متوالية بهوية رقم: 121) (كابات)؛ gflFNN(متوالية بهوية رقم: 122) (كوثيا)؛ GFIFNNAWMS(متوالية بهوية رقم: 123) (ممتدة)	26B9
IPGNDDF DM(متوالية بهوية رقم: 129)	riksitdggvidyaapvr n(متوالية بهوية رقم: 127) (كابات) riksitdggvidy (متوالية بهوية رقم: 128) (كوثيا)	sYAWMS(متوالية بهوية رقم: 115) (كابات)؛ gfTFSY(متوالية بهوية رقم: 116) (كوثيا)؛ GFTFSYAWMS(متوالية بهوية رقم: 117) (ممتدة)	32G8
IPGNDAF DM(متوالية بهوية رقم: 120)	RIKSINDGGATD YASPVRN(متوالية بهوية رقم: 130) (كابات) RIKSINDGGATD Y(متوالية بهوية رقم: 131 (كوثيا)	sYAWMS(متوالية بهوية رقم: 115) (كابات)؛ gfTFSY(متوالية بهوية رقم: 116) (كوثيا)؛ GFTFSYAWMS(متوالية بهوية رقم: 117) (ممتدة)	34E7
APGGPF DY(متوالية	RIKSKIDGGTTD YAAPVKG(متوالية	tnawms(متوالية بهوية رقم: 132) (كابات)؛	20G5

بهوية رقم: 126)	بهوية رقم: 135) (كابات) RIKSKIDGGTTDY(متوالية بهوية رقم: 136) (كوثيا)	gftftn(متوالية بهوية رقم: 133) (كوثيا)؛ gfTFtnawms(متوالية بهوية رقم: 134) (ممتدة)	
HTYHEY AGGYYG GAMDP (متوالية بهوية رقم: 142)	VIIPIFGTADYAQ KFQG(متوالية بهوية رقم: 140) (كابات) VIIPIFGTADY (متوالية بهوية رقم: 141) (كوثيا)	SSNAIS(متوالية بهوية رقم: 137) (كابات)؛ GDTFSS(متوالية بهوية رقم: 138) (كوثيا)؛ gDTFSSNAIS(متوالية بهوية رقم: 139) (ممتدة)	C6
AGLLYG GGVYPM DI(متوالية بهوية رقم: 148)	DISGGGGRTYYA DSVKG(متوالية بهوية رقم: 146) (كابات) DISGGGGRTYY (متوالية بهوية رقم: 147) (كوثيا)	SNYAMS(متوالية بهوية رقم: 143) (كابات)؛ GFTFSN(متوالية بهوية رقم: 144) (كوثيا)؛ GFTFSNYAMS(متوالية بهوية رقم: 145) (ممتدة)	B5
السلسلة الخفيفة			
CDRL3	CDRL2	CDRL1	mAb

m62G7 h62G7	KSSQSLLYSNGKTYL N(متوالية بهوية رقم: 149)	lvsklds(متوالية بهوية رقم: 150)	vqdthfplt (متوالية بهوية رقم: 151)
h62G7-L6	KSSQSLLYSNGKTYL N(متوالية بهوية رقم: 149)	Qvsklds(متوالية بهوية رقم: 152)	GQDTHfpl t(متوالية بهوية رقم: 153)
h62G7- L1-DV	KSSQSLLYSNDKTYT N(متوالية بهوية رقم: 154)	EvskldV(متوالية بهوية رقم: 155)	GQDTHfpl t(متوالية بهوية رقم: 153)
42G9	RASQSVRSNLA(متوالية بهوية رقم: 156)	GSTIRAT(متوالية بهوية رقم: 157)	QQYSDW PFT (متوالية بهوية رقم: 158)
32A10	RASQSVSSNFA(متوالية بهوية رقم: 159)	GATTRAT(متوالية بهوية رقم: 160)	QQYKDW PFT (متوالية بهوية رقم: 161)
20B9	RVSQSIGANLA(متوالية بهوية رقم: 162)	GASTRAT(متوالية بهوية رقم: 163)	QQYIYW PFT (متوالية بهوية رقم: 164)

14C11	RASQSVSNNLA(متوالية بهوية رقم: 165)	GASTRAT(متوالية بهوية رقم: 163)	QQYKDW PFT (متوالية بهوية رقم: 161)
21E11	RASQSVGSDLA(متوالية بهوية رقم: 166)	GASTRAT(متوالية بهوية رقم: 163)	QQYNDW PFT (متوالية بهوية رقم: 167)
49B11	RASQNIGSDLA(متوالية بهوية رقم: 168)	GASTRAT(متوالية بهوية رقم: 163)	QQYNDW PFT (متوالية بهوية رقم: 167)
46E10	RASQSVTSNFA(متوالية بهوية رقم: 169)	GASTRAT(متوالية بهوية رقم: 163)	QQYKDW PFT (متوالية بهوية رقم: 161)
12H6	RASQGVSSNFA(متوالية بهوية رقم: 170)	GASTRAT(متوالية بهوية رقم: 163)	QQYKDW PFT (متوالية بهوية رقم: 161)

19A9	RASQSVNRNLA(متوالية بهوية رقم: 171)	GTSTRAT(متوالية بهوية رقم: 172)	QQYNDW PFT (متوالية بهوية رقم: 167)
11B11	RASQSVSTNFA(متوالية بهوية رقم: 173)	GASTRAT(متوالية بهوية رقم: 163)	QQYKDW PFT (متوالية بهوية رقم: 161)
21E7	RASQSVNSNLA(متوالية بهوية رقم: 174)	GSSTRAT(متوالية بهوية رقم: 175)	QQYNDW PFT (متوالية بهوية رقم: 167)
12B2 17G11	RASQSVINNLA(متوالية بهوية رقم: 176)	GTSTRAT(متوالية بهوية رقم: 172)	QDYNNW PFT (متوالية بهوية رقم: 177)
11F10	RASQSVGSNLA(متوالية بهوية رقم: 178)	GASTRASG (متوالية بهوية رقم: 179)	QEYNNW PFT (متوالية بهوية رقم: 180)

29D5	RANQIVSSNLA(متوالية بهوية رقم: 181)	GTSTRAT(متوالية بهوية رقم: 172)	QQYNDW PFT (متوالية بهوية رقم: 167)
30D8	RSSQSLLHNKRNNYL D(متوالية بهوية رقم: 182)	LASNRAS(متوالية بهوية رقم: 183)	MQAQQT PIT(متوالية بهوية رقم: 184)
20E12 32G8	RSSQSLLYSNGKNYL D(متوالية بهوية رقم: 185)	LGSNRAS(متوالية بهوية رقم: 186)	MQAQQT PIT(متوالية بهوية رقم: 184)
26B9	RSSQSLLHRDGFNYL D(متوالية بهوية رقم: 187)	LASSRAS(متوالية بهوية رقم: 188)	MQALQT PIT(متوالية بهوية رقم: 189)
34E7	RSTQSLLYSNGKNYL D(متوالية بهوية رقم: 190)	LGSIRAS(متوالية بهوية رقم: 191)	MQAQQT PIT(متوالية بهوية رقم: 184)

MQALQIP IT(متوالية بهوية رقم: 194)	LGSYRAS(متوالية بهوية رقم: 193)	RSSQSLLYSDRRNYL D(متوالية بهوية رقم: 192)	20G5
AAWDDN LSGWV (متوالية بهوية رقم: 197)	RNNQRPS (متوالية بهوية رقم: 196)	SGSSSNIGSNYVY (متوالية بهوية رقم: 195)	C6
QQSYST PLT(متوالية بهوية رقم: 200)	AASSLQS(متوالية بهوية رقم: 199)	RASQSISSYLN (متوالية بهوية رقم: 198)	B5

يشتمل الاختراع الحالي أيضاً على تعديلات خاصة بـ CARs وبولي ببتيدات من الصور المتغيرة من الاختراع الموضحة في الجدول رقم 1، بما في ذلك CARs المكافئة بشكل وظيفي والمشتملة على تعديلات والتي لا تؤثر بشكل كبير على الخصائص الخاصة بها والصور المتغيرة والتي يتم تحسينها أو تقليل نشاطها و/أو الألفة الخاصة بها. على سبيل المثال، يمكن تطفير متوالية الحمض الأميني لكي يتم الحصول على الجسم المضاد بألفة ربط مرغوبة لـ EGFRvIII. يكون تعديل البولي ببتيدات عبارة عن ممارسة روتينية في المجال وليس هناك حاجة لوصفها بالتفصيل هنا. تشتمل أمثلة البولي ببتيدات المعدلة، على بولي ببتيدات بها تطفيرات محافظة من الوحدات البنائية للحمض الأميني أو واحدة أو أكثر من الحذوفات أو الإضافات الخاصة بالأحماض الأمينية والتي لا تغير بشكل مدمر من النشاط الوظيفي أو التي تعمل على إنضاج (تحسين) الألفة الخاصة بالبولي ببتيد الخاصة بالمركب الترابطي أو استخدام النظائر الكيميائية.

تشتمل إدراجات متوالية الحمض الأميني على اندماجات لطرف الكربوكسيل و/أو الأمينو تتراوح في الطول من وحدة بنائية واحدة إلى بولي ببتيدات تشتمل على مئات من الوحدات البنائية أو

أكثر، وأيضاً ادراجات لمتوالية داخلية من وحدة بنائية للحمض الأميني منفردة أو متعددة. تشتمل أمثلة الإدراجات الطرفية على جسم مضاد مع وحدة بنائية من الميثيونيل عند الطرف –N أو الجسم المضاد المدمج لعلامة قمة لاصقة. تشتمل الصور المتغيرة الخاصة بالإدراج الأخرى من جزيء الجسم المضاد على اندماج للطرف –N أو الطرف –C من الجسم المضاد من الإنزيم أو البولي ببتيد الذي يزيد من فترة نصف العمر الخاصة بالجسم المضاد في دورة الدم.

يكون للصور المتغيرة الخاصة بالاستبدال وحدة بنائية للحمض الأميني واحدة على الأقل في جزيء الجزء المضاد الذي تمت إزالته ووحدة بنائية مختلفة تم إدراجها في مكانها. تشتمل مواضع الاهتمام الأكبر الخاصة بالتطفير الأساسي على سبيل المثال، على مناطق مفرطة التغير ولكن قد يتم استخدام التغييرات لـ FR. تم توضيح الاستبدالات المحافظة في الجدول رقم 3 تحت عنوان "الاستبدالات المحافظة". إذا نتج عن تلك الاستبدالات تغيراً في النشاط البيولوجي فيكون هناك تغييرات كثيرة والتي يطلق عليها "استبدالات توضيحية" في الجدول 3 أو كما تم وصفه فيما يلي عند الإشارة لفئات الحمض الأميني والذي يمكن إدخاله والمنتجات التي تم فحصها. في بعض النماذج فإن الصور المتغيرة من الاستبدالات من الأجسام المضادة التي تم وصفها هنا لا يكون بها أكثر من 15، 14، 13، 12، 11، 10، 9، 8، 7، 6، 5، 4، 3، 2، أو 1 من الاستبدالات المحافظة في VH أو منطقة VL بالمقارنة مع الجسم المضاد الأساسي المرجعي. في بعض النماذج، لا تكون الاستبدالات في مدى CDR من مناطق VH أو VL.

الجدول رقم 3 استبدالات الحمض الأميني:

الوحدة البنائية الأساسية (حمض أميني حادث بشكل طبيعي)	استبدالات محافظة	استبدالات توضيحية
Ala (A)	Val	Ile ؛Leu ؛Val
Arg (R)	Lys	Asn ؛Gln ؛Lys
Asn (N)	Gln	Asp، His ؛Gln ؛Arg ؛Lys

Asp (D)	Glu	Asn ؛Glu
Cys (C)	Ser	Ala ؛Ser
Gln (Q)	Asn	Glu ؛Asn
Glu (E)	Asp	Gln ؛Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Arg	؛Lys ؛Gln ؛Asn Arg
Ile (I)	Leu	؛Met ؛Val ؛Leu ؛Phe ؛Ala نورليوسين
Leu (L)	Ile	نورليوسين؛ Ile؛ ؛Ala ؛Met ؛Val Phe
Lys (K)	Arg	Asn ؛Gln ؛Arg
Met (M)	Leu	Ile ؛Phe ؛Leu
Phe (F)	Tyr	؛Ile ؛Val ؛Leu Tyr ؛Ala
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser

Trp (W)	Tyr	Phe ؛Tyr
Tyr (Y)	Phe	Trp؛ Phe؛ Thr؛ Ser
Val (V)	Leu	Ile؛ Leu؛ Met؛ Phe؛ Ala؛ نورليوسين

في بعض النماذج، يوفر الاختراع الحالي CAR الذي يشتمل على نطاق رابط للمركب الترابطي خارج الخلية والذي يرتبط بـ EGFRvIII ويعمل على التنافس في الارتباط مع EGFRvIII ومع الأجسام المضادة التي تم وصفها هنا أو مع CARs التي تم وصفها هنا (على سبيل المثال، الجدو رقم 5) والذي يشتمل على m62G7، h62G7، h62G7-H14/L1-DV، h62G7-L6/EQ، 42G9، 32A10، 20B9، 14C11، 21E11، 49B11، 46E10، 12H6، 19A9، 21E7، 11B11، 12B2، 11F10، 17G11، 29D5، 30D8، 20E12، 26B9، 32G8، 34E7، 20G5، C6، و B5.

في بعض النماذج، يوفر الاختراع CARs التي تشتمل على أجزاء CDR من الأجسام المضادة للأجسام المضادة لـ EGFRvIII التي تعتمد على مناطق ثابتة لـ CDR. تكون مناطق الاتصال لـ CDR عبارة عن مناطق من الجسم المضاد والتي تسي استخدام الخاصية الخاصة بالجسم المضاد الخاص بمولد الضد. بصفة عامة فإن منطقة التلامس من CDR، تشتمل على مواضع وحدة بنائية في CDRs ومناطق فيرينية والتي يتم تقييدها لكي يتم الحفاظ على البنية الحلقية المناسبة الخاصة بالجسم المضاد لكي يرتبط مع مولد الضد المعين. انظر، على سبيل المثال، Makabe et al., J. Biol. Chem., 283:1156-1166, 2007. يكون تحديد المناطق الثابتة من CDR معروفاً لذي المهارة العادية في المجال.

يمكن أن تكون ألفة الربط binding affinity (KD) من CAR الخاص بـ EGFRvIII كما تم وصفه هنا لـ EGFRvIII(مثل البشري EGFRvIII(على سبيل المثال، (متوالية بهوية رقم: 201)) حوالي 0.001 إلى حوالي 5000 نانو مولار. في بعض النماذج، يمكن أن تكون ألفة

الربط عبارة عن أي قيمة من 5000 نانو مولار، 4500 نانو مولار، 4000 نانو مولار، 3500 نانو مولار، 3000 نانو مولار، 2500 نانو مولار، 2000 نانو مولار، 1789 نانو مولار، 1583 نانو مولار، 1540 نانو مولار، 1500 نانو مولار، 1490 نانو مولار، 1064 نانو مولار، 1000 نانو مولار، 933 نانو مولار، 894 نانو مولار، 750 نانو مولار، 705 نانو مولار، 678 نانو مولار، 532 نانو مولار، 500 نانو مولار، 494 نانو مولار، 400 نانو مولار، 349 نانو مولار، 340 نانو مولار، 353 نانو مولار، 300 نانو مولار، 250 نانو مولار، 244 نانو مولار، 231 نانو مولار، 225 نانو مولار، 207 نانو مولار، 200 نانو مولار، 186 نانو مولار، 172 نانو مولار، 136 نانو مولار، 113 نانو مولار، 104 نانو مولار، 101 نانو مولار، 100 نانو مولار، 90 نانو مولار، 83 نانو مولار، 79 نانو مولار، 74 نانو مولار، 54 نانو مولار، 50 نانو مولار، 45 نانو مولار، 42 نانو مولار، 40 نانو مولار، 35 نانو مولار، 32 نانو مولار، 30 نانو مولار، 25 نانو مولار، 24 نانو مولار، 22 نانو مولار، 20 نانو مولار، 19 نانو مولار، 18 نانو مولار، 17 نانو مولار، 16 نانو مولار، 15 نانو مولار، 12 نانو مولار، 10 نانو مولار، 9 نانو مولار، 8 نانو مولار، 7.5 نانو مولار، 7 نانو مولار، 6.5 نانو مولار، 6 نانو مولار، 5.5 نانو مولار، 5 نانو مولار، 4 نانو مولار، 3 نانو مولار، 2 نانو مولار، 1 نانو مولار، 0.5 نانو مولار، 0.3 نانو مولار، 0.1 نانو مولار، 0.01 نانو مولار، أو 0.001 نانو مولار.

في بعض النماذج، قد تكون ألفة الربط أقل من أي قيمة من 5000 نانو مولار، 4000 نانو مولار، 3000 نانو مولار، 2000 نانو مولار، 1000 نانو مولار، 900 نانو مولار، 800 نانو مولار، 250 نانو مولار، 200 نانو مولار، 100 نانو مولار، 50 نانو مولار، 30 نانو مولار، 20 نانو مولار، 10 نانو مولار، 7.5 نانو مولار، 7 نانو مولار، 6.5 نانو مولار، 6 نانو مولار، 5 نانو مولار، 4.5 نانو مولار، 4 نانو مولار، 3.5 نانو مولار، 3 نانو مولار، 2.5 نانو مولار، 2 نانو مولار، 1.5 نانو مولار، 1 نانو مولار، أو 0.5 نانو مولار.

يكون نطاق الإشارة بداخل الخلية من CAR طبقاً للاختراع مسئولاً عن الإشارة بداخل الخلية بعد الارتباط الخاص بنطاق ربط المركب الترابطي خارج الخلية بالمستهدف الناتج في تنشيط الخلية المناعية والاستجابة المناعية. يكون لنطاق الإشارة بداخل الخلية القدرة على تنشيط واحد على الأقل من وظائف المرسل العصبي الطبيعية من الخلية المناعية التي يتم فيها التعبير عن CAR.

على سبيل المثال، فإن وظيفة المرسل من الخلية T يمكن أن يكون لها نشاط يحلل الخلية أو نشاط مساعد بما في ذلك إفراز السيتوكينات.

في بعض النماذج، يمكن أن يكون نطاق الإشارة بداخل الخلية الخاص بالاستخدام في CAR في متوالية السيتوبلازم من، على سبيل المثال، بدون تحديد مستقبل الخلية T والمستقبلات المشتركة والتي تعمل في تناعم مع النقل العارض للإشارة بد تعشيق مستقبل مولد الضد وأيضاً أي مشتق أو أي صورة متغيرة من تلك المتواليات وأي متوالية تخليقية والتي لها نفس الوظيفة. تشتمل نطاقات الغشارة بداخل الخلية على اثنين من الفئات المستقلة من متواليات الإشارة السيتوبلازمية: وتلك التي تبد في التنشيط الأساسي المعتمد على مولد الضد وتلك التي تعمل في طريقة تعتمد على مولد الضد لكي يتم توفير إشارة ثانوية أو إشارة حث مشتركة. يمكن أن تشتمل متواليات الإشارة السيتوبلازمية على وحدات متكررة خاصة بالإشارة والتي تكون معروفة بأنها وحدات متكررة للتنشيط تعتمد على تيروسين مستقبل مناعي من ITAMs. تكون ITAMs عبارة عن وحدات متكررة خاصة بالإشارة التي تم تحديدها بشكل جيد والموجودة في الذيل السيتوبلازمي من العديد من المستقبلات والتي يتم استخدامها في شكل مواضع ربط خاصة بفئة syk/zap70 من مركبات إنزيم كيناز تيروسين. يمكن أن تشتمل أمثلة ITAM المستخدمة في الاختراع على الأمثلة غير الحصرية من تلك التي تم اشتقاقها من TCRζ، FcRγ، FcRβ، FcRε، CD3γ، CD3δ، CD3ε ، CD5، CD22، CD79a، CD79b و CD66d.في بعض النماذج، يمكن أن يشتمل نطاق الإشارة بداخل الخلية من CAR على نطاق إشارة CD3ζ (زيتا) والذي يكون به متوالية حمض أميني مع على الأقل حوالي 70%، ويفضل على الأقل 80 % والأكثر تفضيلاً على الأقل 90%، 95%، 97% أو 99% من التطابق في هوية المتوالية مع متوالية الحمض الأميني الموضحة في المتوالية بهوية رقم 205. في بعض النماذج، يشتمل نطاق الإشارة بداخل الخلية من CAR من الاختراع على نطاق من جزيء حث مشترك.

في بعض النماذج، يشتمل نطاق الإشارة بداخل الخلية من CAR من الاختراع على جزء من جزيء حث مشترك تم اختياره من مجموعة تتكون من الشظية 41BB(:GenBank AAA53133) و CD28 (NP_006130.1). في بعض النماذج يشتمل نطاق الإشارة داخل الخلية من CAR من الاختراع على متوالية حمض أميني والتي تشتمل على الأقل على حوالي

70%، ويفضل على الأقل 80 % والأكثر تفضيلاً على الأقل 90%، 95%، 97% أو 99% من التطابق في هوية المتوالية مع متوالية الحمض الأميني الموضحة في المتوالية بهوية رقم 213 (نطاق الإشارة CD28) أو المتوالية بهوية رقم 204 (نطاق الإشارة 4-1BB).

يتم التعبير عن CARs على غشاء السطح من الخلية. وبالتالي، يمكن أن يشتمل CAR على نطاق عبر الغشاء. يكون للنطاقات عبر الغشاء المناسبة لـ CAR الذي تم الكشف عنه هنا القدرة على ما يلي (أ) التعبير عند السطح عن خلية ويفضل خلية مناعية مثل، على سبيل المثال وبدون حصر، خلايا لمفاوية، أو خلايا قاتل طبيعي Natural killer (NK) و (ب) خلايا سليمة مع نطاقات رابطة لمركب ترابطي ونطاق إشارة بداخل الخلية لتوجيه الاستجابة الخلوية من الخلية المناعية في مضادة خلية مستهدفة محددة بشكل مسبق. يمكن اشتقاق النطاق عبر الغشاء إما من مصدر طبيعي أو مصدر تخليقي. يمكن اشتقاق النطاق عبر الغشاء من أي بروتين عبر الغشاء أو جزء مرتبط بغشاء. يمكن أن تكون الأمثلة غير الحصرية والبولي ببتيد عبر الغشاء عبارة عن وحدة فرعية من مستقبل الخلية T مثل البولي ببتيد α وβ وγ أو δ أو بولي ببتيد يتكون من معقد CD3، مستقبل IL-2 من p55 (السلسلة α)، p75 (السلسلة β) أو السلسلة γ، السلسلة الفرعية من مستقبلات Fc وعلى نحو خاص مستقبل Fcγ من III أو بروتينات CD. وعلى نحو بديل، فإن النطاق عبر الغشاء يمكن أن يكون عبارة عن نطاق تخليقي ويمكن أن يشتمل على وحدات بنائية غير آلفة للماء بشكل سائد مثل الليوسين والفالين. في بعض النماذج، يتم اشتقاق النطاق عبر الغشاء المذكور من سلسلة CD8α بشري (على سبيل المثال، NP_001139345.1). يمكن أن يشتمل CAR أيضاً على نطاق ساق بين نطاق ربط مركب ترابطي خارج الخلية والنطاق عبر الغشاء المذكور. يمكن أن يشتمل نطاق الساق على ما يصل لحوالي 300 حمض أميني ويفضل من 10 إلى 100 حمض أميني ويفضل أكثر من 25 إلى 50 حمض أميني. يمكن اشتقاق منطقة الساق من كل أو من جزء من الجزيئات الحاملة بشكل طبيعي مثل، من كل أو جزء من المنطقة خارج النطاق من CD8، أوCD4 أو CD28 أو من كل أو جزء من المنطقة الثابتة للجسم المضاد. وعلى نحو بديل، فإن نطاق الساق يمكن أن يكون عبارة عن متوالية تخليقية التي تناظر متوالية ساق تحدث بشكل طبيعي أو يمكن أن تكون عبارة عن متوالية ساق تخليقية بشكل كامل. في بعض النماذج فإن نطاق الساق يكون عبارة عن جزء

من سلسلة CD8α البشرية (على سبيل المثال، NP_001139345.1). في نموذج محدد آخر، فإن النطاق عبر الغشاء المذكور والنطاقات المفصلية تشتمل على جزء من سلسلة CD8α بشرية ويفضل أن تشتمل على الأقل على حوالي 70%، ويفضل على الأقل 80 % والأكثر تفضيلاً على الأقل 90%، 95%، 97% أو 99% من التطابق في هوية المتوالية مع متوالية الحمض الأميني الموضحة في المتوالية بهوية رقم 210 والمتوالية بهوية رقم 208، على الترتيب. في بعض النماذج، يمكن أن تشتمل CARs التي تم الكشف عنها هنا على نطاق رابط لمركب ترابطي خارج الخلية والذي يرتبط بشكل خاص بنطاقات عبر الغشاء ونطاقات مفصلية بشرية EGFRvIII وCD8α ونطاقات إشارة CD3ζ ونطاق إشارة 4-1BB.

يوفر الجدول رقم 4 متواليات مثالية من النطاقات التي يمكن استخدامها في CARs التي تم الكشف عنها هنا.

الجدول رقم 4: المتواليات التوضيحية من مكونات CAR

متوالية بهوية رقم:	متوالية الحمض الأميني	النطاق
206	MALPVTALLLPLALLLHAARP	ببتيد إشارة CD8α
207	GLAVSTISSFFPPGYQ	المنطقة المفصلية FcγRIIIα
208	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACD	المنطقة المفصلية CD8α

المنطقة المفصلية IgG1	EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPK PKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	209
النطاق عبر الغشاء CD8α (TM)	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC	210
نطاق إشارة بداخل الخلية (ISD)41BB	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCEL	203
نطاق إشارة بداخل الخلية (ISD) CD3ζ	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGL YNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	205

FcεRI α-TM-IC (سلسلة لنطاق FcεRI α عبر الغشاء وبداخل الخلية)	FFIPLLVVILFAVDTGLFISTQQQVTFLLKIKRT RKGFRLLNPHPKPNPKNN	211
FcεRIβ-ΔITAM (سلسلة بدون FcεRI β (ITAM	MDTESNRRANLALPQEPSSVPAFEVLEISPQ EVSSGRLLKSASSPPLHTWLTVLKKEQEFLG VTQILTAMICLCFGTVVCSVLDISHIEGDIFSS FKAGYPFWGAIFFSISGMLSIISERRNATYLV RGSLGANTASSIAGGTGITILIINLKKSLAYIHI HSCQKFFETKCFMASFSTEIVVMMLFLTILGL GSAVSLTICGAGEELKGNKVPE	212
41BB-IC (نطاق إشارة مشترك من 41BB)	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCEL	204
IC-28CD (نطاق إشارة مشترك CD28)	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQP YAPPRDFAAYRS	213
FcεRIγ-SP (ببتيد إشارة)	MIPAVVLLLLLLVEQAAA	214

215	LGEPQLCYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKIQVR KAAITSYEKS	FcεRI γ-سلسلة ΔITAM(بدون FcεRI γ ITAM)
216	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	GSG-P2A GSG-P2A) ريبوزومي لبولي ببتيد تخطي)
217	GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP	GSG-T2A GSG-T2A) ريبوزومي لبولي ببتيد تخطي)

يوفر الجدول رقم 5أ متواليات حمض أميني من CARs خاصة بـ EGFRvIII من الاختراع الحالي. في الجدول رقم 5أ، يكون ببتيد الإشارة/ الببتيد الأمامي بخط سميك ويتم وضع خط تحت الرابط 4(GGGGS)] GS (المتوالية بهوية رقم 202)].

يوضح الجدول رقم 5ب: متواليات حمض أميني من scFvs خاصة بـ EGFRvIII توضيحية

الجدول رقم 5ب: متواليات نووية من scFvs خاص بـ EGFRvIII توضيحي

CAR	متوالية حمض نووي scFv
h62G7-L6/EQ scFv	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCTGCCCCTGGCTC TGCTGCTGCACGCTGCTCGCCCTGATGTGGTCATGACTCA GTCTCCCCTGTCTCTGCCCGTCACCCTGGGACAGCCCGCC AGCATCTCCTGCAAGAGCTCCCAGAGCCTGCTGTACTCCA ACGGCAAGACCTATCTGAATTGGTTCCAGCAGAGACCCGG

CCAGAGCCCTCGGAGACTGATCTACCAGGTGTCTAAGCTG GACAGCGGCGTGCCTGATCGCTTCTCTGGAAGCGGATCC GGAACCGACTTTACACTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAG AGGACGTGGGCGTGTACTATTGCGGCCAGGATACCCACTT CCCACTGACATTTGGCGGCGGCACCAAGGTGGAGATCAAG GGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGAAGCGGCGGCGG CGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA GAGCGGAGCAGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCCTCCGTGAA GGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACATTCACCGATTATA CACTGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGCCAGGGACTGG AGTGGATGGGAGGAATCTGGCCTATCACCGGAGGAACCAC ATACAACCAGAAGTTTAAGGGCAGAGTGACAATGACCAGG GACACATCTACCAGCACAGTGTATATGGAGCTGTCTAGCCT GCGCTCCGAGGATACAGCCGTGTACTATTGCGCCAGAGGC GAGGCACAGGGATCTTGGGGACAGGGCACCCTGGTGACA GTGTCCTCT(متوالية بهوية رقم:228)	
ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCTGCCACTGGCCC TGCTGCTGCACGCAGCAAGGCCTCAGGTGACCCTGAAGG AGAGCGGCCCTGTGCTGCTGAAGCCAACAGAGACCCTGA CACTGACCTGCACAGTGTCTGGCTTCAGCCTGTCCAACCC CCGGATGGGCGTGAGCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAA GGCCCTGGAGTGGTTCGCCCACATCTTTTCTACCGATGAG AAGAGCCTGAAGCTGTCCCTGAGATCTAGGCTGACCCTGA GCAAGGACACATCTAAGAGCCAGGTGGTGCTGACCATGAC AAACATGGCCCCTGTGGACTCCGCCACATACTATTGCGCC	42G9 scFv

AGAGACAGCTCCAATTACGAGGGCTATTTCGACTTTTGGG GCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGGCGGAGGAG GATCCGGAGGAGGAGGATCTGGCGGCGGCGGCTCCGGC GGCGGCGGCTCCGAGGTGGTGCTGACCCAGAGCCCTGCC ACACTGTCCGTGTCTCCAGGCGAGAGAGCCACCCTGTCTT GTAGGGCCAGCCAGTCCGTGCGCAGCAATCTGGCCTGGT ACCAGCAGAAGTCCGGCCAGGCCCCAAGACTGCTGATCTA TGGCTCCACCATCAGGGCCACAGGAGTGCCAGCACGCTTC TCTGGAAGCGGATCCGGCACAGAGTTTACCCTGACAATCT CCTCTCTGCAGTCCGAGGATTTCGCCGTGTACTATTGCCA GCAGTACTCTGACTGGCCCTTCACCTTTGGCCCTGGCACA AAGGTGGATATCAAG(متوالية بهوية رقم: 229)	
ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCTGCCACTGGCCC TGCTGCTGCACGCAGCAAGGCCACAGGTGACCCTGAAGG AGTCCGGCCCCGTGCTGGTGAAGCCTACAGAGACCCTGA CACTGACCTGCACAGTGTCCGGCTTCTCTCTGAGCAACGC CCGCATGGGCGTGTCTTGGATCAGGCAGCCCCCTGGCAA GGCCCTGGAGTGGCTGGCCCACATCTTTTCCACCGACGAG AAGTCTATCCGGAGAAGCCTGCGCTCCAGGCTGACCCTGA GCAAGGATACATCCAAGTCTCAGGTGGTGCTGACCATGAC AAACATGGACCCCGTGGATACCGCCACATACTTCTGCGCC AGAGACAGCTCCAATTACGAGGGCTATTTTGATTACTGGG GCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAG GAAGCGGAGGAGGAGGATCTGGCGGCGGCGGCTCTGGC GGCGGCGGCAGCGAGGTGGTCATGACCCAGAGCCCAGCC	32A10 scFv

ACACTGAGCGTGTCCCCTGGCGAGAGGGTGACCCTGTCCT GTAGGGCATCTCAGAGCGTGTCCTCTAACTTCGCCTGGTA TCAGCAGAGACCAGGCCAGGCACCAAGGCTGCTGCTGTA CGGAGCAACCACAAGAGCCACAGGACTGCCCGGCAGGTT TTCCGGATCTGGAAGCGGCACCGAGAATATCCTGACAATC AGCTCCCTGCAGTCTGAGGACTTCGCCATCTATTTTTGCCA GCAGTACAAGGATTGGCCATTCACCTTTGGCCCCGGCAGC AAGGTGGACATCAAG(متوالية بهوية رقم: 230)	
ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCTGCCACTGGCCC TGCTGCTGCACGCAGCAAGACCTCAGGTGACCCTGAAGGA GTCCGGCCCTGTGCTGGTGAAGCCAACAGAGACCCTGACA CTGACCTGCACAGTGTCTGGCTTCAGCCTGTCCAACGCAA GGATGGGCGTGAGCTGGATCAGGCAGCCCCCTGGCAAGG CCCTGGAGTGGCTGGGCCACATCTTTAGCACCGACGAGAA GTCTTACAGCACATCCCTGAGAGGCAGGATCACCATCTCT AAGGATACAAGCAGAGGCCTGGTGGTGCTGACCCTGACAA ACATGGACCCCGTGGATACCGCCACATACTATTGCGCCAG GGACAGCTCCAATTACGAGGGCTATTTCGATTTTTGGGGC CCTGGCTTCCTGGTGACCGTGTCTAGCGGCGGCGGCGGC TCTGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGATCCGGCGG CGGCGGCTCTGAGATCGTGATGACCCAGTCCCCTGCCACA CTGTCTGTGAGCCCAGGCGAGAGAGCCACCCTGTCTTGTA GGGTGTCCCAGTCTATCGGCGCCAATCTGGCCTGGTACCA GCAGAAGTTCGGCCAGGCCCCAAGGCTGCTGATCTATGGA GCATCCACCAGAGCCACAGGAATCCCCGTGAGGTTCTCCG	20B9 scFv

GAGGAGGATCTGGAACCGAGTTTACCCTGACAATCTCCTC TCTGCAGAGCGAGGACTTTGCCATCTACTCCTGCCAGCAG TACATCTATTGGCCCTTCACATTTGGCCCTGGCACCACAGT GGATATCAAG(متوالية بهوية رقم: 231)	
ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCTGCCACTGGCCC TGCTGCTGCACGCAGCAAGACCACAGGTGACCCTGAAGGA GAGCGGACCCGTGCTGGTGAAGCCTACAGAGACCCTGAC ACTGACCTGCACAGTGAGCGGCTTCTCCCTGAACAATGCA AGGATGGGCGTGTCCTGGATCAGGCAGCCCCCTGGCAAG GCCCTGGAGTGGTTCGCCCACATCTTTAGCACCGACGAGA AGTCCTTTCGCACATCTCTGAGAAGCAGGCTGACCCTGAG CAAGGATACAAGCAAGTCCCAGGTGGTGCTGACCATGACA AACATGGACCCCGTGGATACCGCCACATACTATTGCGCCA GAGACAGCTCCAATTACGAGGGCTATTTCGATTACTGGGG CCAGGGCATCCTGGTGACCGTGTCTAGCGGCGGCGGCGG CTCTGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGATCCGGCG GCGGCGGCTCTGAGATCGTGATGACCCAGTCTCCCGCCA CACTGTCTGTGAGCCCTGGCGAGAGAGCCACACTGAGCTG TAGGGCCTCCCAGTCTGTGAGCAACAATCTGGCCTGGTAT CAGCAGAAGCCAGGCCAGGCACCAAGGCTGCTGATCTAC GGAGCATCCACCAGAGCCACAGGAGTGCCAGCAAGGTTCT CCGGATCTGACAGCGGCACCGAGTTTAGCCTGACAATCTC CTCTCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGTATTTTTGCCAG CAGTACAAGGATTGGCCATTCACCTTTGGCCCCGGCACAA AGGTGGAGATCAAG(متوالية بهوية رقم: 232)	14C11 scFv

ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCTGCCACTGGCCC TGCTGCTGCACGCAGCAAGGCCAGAGGTGAACCTGGTGG AGTCCGGCGGCGGCCTGGTGAAGCCTGGCGGATCCCTGA GGCTGTCTTGCGAGGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCTACGC CTGGATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCCCGGCAAGGGACT GGAGTGGGTGGGACGGATCAAGTCCATCGCAGACGGAGG AGCAACCGATTACGCAGCCCCTGTGAGAAACAGGTTCACA ATCTCCAGAGACGATTCTAGGAATACCCTGTATCTGGAGAT GCACTCTCTGAAGACAGAGGACACCGCCGTGTACTATTGC ACCACAATCCCTGGCAACGACGCCTTTGATATGTGGGGCC AGGGCACAATGGTGACCGTGAGCTCCGGCGGCGGCGGCT CTGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGAAGCGGGGGC GGCGGCTCTGACATCGTGCTGACACAGTCCCCACTGTCCC TGTCTGTGACCCCCGGCGAGCCTGCAAGCATCTCCTGTAG ATCTAGCCAGAGCCTGCTGTACTCCAACGGCAAGAATTATC TGGATTGGTTCCTGCACAAGCCAGGCCAGTCTCCCCAGCT GCTGATCTACCTGGGATCTAATAGGGCAAGCGGAGTGCCA GACCGGTTCTCTGGAAGCGGATCCGGCATCGACTTCATCC TGAAGATCAGCAGGGTGGAGGCCGAGGATGTGGGCGTGT ACTATTGCATGCAGGCCCAGCAGACACCCATCACCTTCGG CCAGGGCACAAGACTGGAGATCAAG(متوالية بهوية رقم: 233)	20E12 scFv
ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCTGCCACTGGCCC TGCTGCTGCACGCAGCAAGGCCAGAGGTGAACCTGGTGG AGTCCGGCGGCGGCCTGGTGAAGCCTGGCGGATCCCTGA GGCTGTCTTGCGAGGCAAGCGGCTTCACCTTCAGCTACGC	32G8 scFv

CTGGATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCCCGGCAAGGGACT GGAGTGGGTGGGCCGGATCAAGTCCATCACCGACGGAGG CGTGATCGATTACGCAGCACCTGTGAGAAACAGGTGCACA ATCTCCAGAGACGATTCTAGGAATACCCTGTATCTGGAGAT GCACTCTCTGAAGACAGAGGACACCGCCGTGTACTATTGT ACCACAATCCCTGGCAACGACGATTTCGATATGTGGGGCC AGGGCAGAATGGTGACCGTGAGCTCCGGCGGCGGCGGCT CTGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGAAGCGGGGGC GGCGGCTCTGACATCGTGCTGACACAGTCCCCACTGTCCC TGTCTGTGACCCCCGGCGAGCCTGCAAGCATCTCCTGTAG GTCTAGCCAGAGCCTGCTGTACTCCAACGGCAAGAATTAT CTGGATTGGTTTCTGCACAAGCCAGGCCAGTCTCCCCAGC TGCTGATCTACCTGGGATCTAATAGGGCAAGCGGAGTGCC AGACCGGTTCTCTGGAAGCGGATCCGGCATCGACTTCATC CTGAAGATCAGCCGCGTGGAGGCAGAGGACGTGGGCGTG TACTATTGCATGCAGGCCCAGCAGACACCCATCACCTTCG GCCAGGGCACAAGACTGGAGATCAAG(متوالية بهوية رقم: 234)	
ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCTGCCACTGGCCC TGCTGCTGCACGCAGCAAGGCCAGAGGTGCAGCTGGTGG AGTCTTGGGGCGTGCTGGTGAAGCCTGGCGGATCTCTGA GGCTGAGCTGCGCAGCATCCGGCTTCATCTTTAACAATGC CTGGATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCCCGGCAAGGGACT GGAGTGGATCGGCCGGATCAAGAGCAAGTCCGACGGAGG AACCACAGATTACGCAGCACCTGTGAAGGACCGCTTCACA ATCTCTCGGGACGATAGCAAGGATACCCTGTATCTGCAGA	26B9 scFv

TGAACGGCCTGAAGACAGAGGACACCGCCGTGTACTTCTG CACCACAGCCCCTGGCGGCCCTTTTGATTATTGGGGCCAG GGCACACTGGTGACCGTGAGCTCCGGAGGAGGAGGAAGC GGCGGAGGAGGCAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGCGGCGG CGGCAGCGACATCGTGCTGACACAGAGCCCTCTGTCCCTG CCAGTGACCCCCGGCGAGCCTGCCTCTATCAGCTGTCGCT CTAGCCAGAGCCTGCTGCACCGGGACGGCTTCAATTACCT GGATTGGTTTCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCCAGCTG CTGATCTATCTGGCCTCCTCTAGAGCCTCTGGCGTGCCAG ACAGGTTCTCCGGCTCTGACAGCGGCACAGACTTCACCCT GAAGATCAGCAGAGTGGAGGCCGAGGATGTGGGCGTGTA CTATTGCATGCAGGCCCTGCAGACACCCATCACCTTCGGC CAGGGCACAAGACTGGAGATCAAG(متوالية بهوية رقم: 235)	
ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCTGCCACTGGCCC TGCTGCTGCACGCAGCAAGGCCTGAGGTGCAGCTGGTGG AGAGCGGCGGCGGCCTGGTGAAGCCTGGCGGATCCCTGA GGCTGTCTTGCGAGGCAAGCGGCTTCACCTTTAGCGACGC ATGGATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACT GGAGTGGGTGGGACGGATCAAGAGCAAGACAGACGGCGG CACCACAGATTACGTGGTGCCACTGAACGGCCGCTTCATC ATCTCCCGCGACGATTCTCGGAATACCCTGTATCTGCAGCT GAACAATCTGAAGACAGAGGATACCGCCGTGTACTATTGC ACCACAGTGCCAGGCTCCTACGGCTATTGGGGCCAGGGC ACACTGGTGACCGTGAGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTGGA GGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGAAGCGGGGGCGGCGG	30D8 scFv

CTCTGACATCGTGATGACACAGTCTCCACTGAGCCTGCCA GTGACCCCTGGCGAGCCAGCCTCCATCTCTTGTCGCTCTA GCCAGAGCCTGCTGCACAACAAGCGGAACAATTACCTGGA TTGGTTTCTGCAGAAGCCTGGCCAGTCCCCTCAGCTGCTG ATCTATCTGGCCAGCAATAGAGCCTCCGGAGTGCCAGACA GGTTCTCTGGAGGAGGAAGCGGAACAGACTTCACCCTGAA GATCAGCAGAGTGGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTA TTGCATGCAGGCCCAGCAGACACCTATCACCTTCGGCCAG GGCACAAGACTGGAGATCAAG(متوالية بهوية رقم: 236)	
ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCCC TGCTGCTGCACGCAGCAAGGCCACAGGTGCAGCTGGTGC AGTCCGGAGCAGAGGTGAAGAAGCCTGGCAGCTCCGTGA AGGTGAGCTGCAAGGCCTCCGGCGACACATTCTCTAGCAA CGCAATCAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCCAGGGACT GGAGTGGATGGGCGTGATCATCCCTATCTTCGGCACCGCC GACTATGCCCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACAATCACCG CCGATGAGTCTACAAGCACCGCCTACATGGAGCTGTCCTC TCTGAGATCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTGCCAGG CACACCTATCACGAGTACGCAGGAGGATACTATGGAGGAG CAATGGATCCTTGGGGACAGGGCACACTGGTGACCGTGA GCTCCGGCGGCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGAAGCGGA GGAGGAGGAAGCGGGGGCGGCGGCTCTGAGCTGCAGAG CGTGCTGACCCAGCCACCTTCCGCCTCTGGAACACCAGGC CAGAGGGTGACCATCAGCTGCTCCGGATCTAGCTCCAACA TCGGCTCCAATTACGTGTATTGGTACCAGCAGCTGCCAGG	C6 scFv

	CACAGCCCCCAAGATCCTGATCTACCGCAACAATCAGCGG CCTTCTGGCGTGCCAGATAGATTCTCTGGCAGCAAGTCCG GCACCTCTGCCAGCCTGGCAATCTCCGGCCTGAGGTCTGA GGACGAGGCCGATTACTATTGCGCCGCCTGGGACGATAAC CTGAGCGGCTGGGTGTTTGGCACAGGCACCAAGCTGACA GTGCTG(متوالية بهوية رقم: 237)

الجدول رقم 5ج: يوفر متواليات حمض نووي توضيحية من CARs خاصة بـ EGFRvIII توضيحية من الاختراع الحالي.

الجدول رقم 5ج: متواليات حمض نووي من CARs خاصة بـ EGFRvIII توضيحية

CAR	متوالية حمض نووي CAR	المكونات
h62G7-L6/EQ	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCT GCCCCTGGCTCTGCTGCTGCACGCTGCT CGCCCTGATGTGGTCATGACTCAGTCTCC CCTGTCTCTGCCCGTCACCCTGGGACAGC CCGCCAGCATCTCCTGCAAGAGCTCCCAG AGCCTGCTGTACTCCAACGGCAAGACCTA TCTGAATTGGTTCCAGCAGAGACCCGGCC AGAGCCCTCGGAGACTGATCTACCAGGTG TCTAAGCTGGACAGCGGCGTGCCTGATC GCTTCTCTGGAAGCGGATCCGGAACCGA CTTTACACTGAAGATCAGCCGGGTGGAGG CAGAGGACGTGGGCGTGTACTATTGCGG CCAGGATACCCACTTCCCACTGACATTTG GCGGCGGCACCAAGGTGGAGATCAAGGG	ببتيد إشارة CD8α؛ h62G7-L6/EQ VL(الجدول 1 المتوالية بهوية رقم: 6)؛ الرابط GS [(GGGGS)4 (متوالية بهوية رقم: 202)]؛ h62G7-L6/EQ VH(الجدول 1

المتوالية بهوية رقم: 5)؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ إشارة 4-1BB النطاق؛ إشارة CD3 زيتا النطاق	AGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGAAG CGGCGGCGGCGGCTCTGGCGGCGGCGG CAGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGA GCAGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCCTCCG TGAAGGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTAC ACATTCACCGATTATACACTGCACTGGGT GCGGCAGGCCCCTGGCCAGGGACTGGAG TGGATGGGAGGAATCTGGCCTATCACCG GAGGAACCACATACAACCAGAAGTTTAAG GGCAGAGTGACAATGACCAGGGACACAT CTACCAGCACAGTGTATATGGAGCTGTCT AGCCTGCGCTCCGAGGATACAGCCGTGT ACTATTGCGCCAGAGGCGAGGCACAGGG ATCTTGGGGACAGGGCACCCTGGTGACA GTGTCCTCTACCACAACCCCAGCACCAAG ACCACCTACCCCTGCACCAACAATCGCCT CCCAGCCTCTGTCTCTGCGCCCAGAGGC ATGTAGGCCAGCAGCAGGAGGAGCAGTG CACACCAGGGGCCTGGACTTTGCCTGCG ATATCTACATCTGGGCACCACTGGCAGGA ACATGTGGCGTGCTGCTGCTGAGCCTGGT CATCACCCTGTACTGCAAGCGCGGCCGG AAGAAGCTGCTGTATATCTTCAAGCAGCC CTTCATGAGACCCGTGCAGACAACCCAGG AGGAGGACGGCTGCTCCTGTAGGTTCCC AGAAGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTG	

	AGAGTGAAGTTTTCCAGGTCTGCCGATGC ACCAGCATACCAGCAGGGACAGAATCAGC TGTATAACGAGCTGAATCTGGGCAGGCGC GAGGAGTATGACGTGCTGGATAAGAGGA GAGGAAGGGACCCTGAGATGGGAGGCAA GCCTAGGCGCAAGAACCCACAGGAGGGC CTGTACAATGAGCTGCAGAAGGATAAGAT GGCCGAGGCCTATTCCGAGATCGGCATG AAGGGCGAGCGGAGAAGGGGCAAGGGC CACGACGGGCTGTACCAGGGACTGTCAA CCGCTACCAAGGATACTTACGACGCCCTG CATATGCAGGCACTGCCTCCAAGGTGA (متوالية بهوية رقم:238)	
ببتيد إشارة CD8α؛ 42G9 VH (الجدول 1 المتوالية بهوية رقم: 9)؛ الرابط GS؛ 42G9 VL (الجدول 1 المتوالية بهوية رقم: 10)؛	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCT GCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCA AGGCCTCAGGTGACCCTGAAGGAGAGCG GCCCTGTGCTGCTGAAGCCAACAGAGAC CCTGACACTGACCTGCACAGTGTCTGGCT TCAGCCTGTCCAACCCCCGGATGGGCGT GAGCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAG GCCCTGGAGTGGTTCGCCCACATCTTTTC TACCGATGAGAAGAGCCTGAAGCTGTCCC TGAGATCTAGGCTGACCCTGAGCAAGGAC ACATCTAAGAGCCAGGTGGTGCTGACCAT GACAAACATGGCCCCTGTGGACTCCGCCA	42G9

المنطقة المفصلية CD8α؛	CATACTATTGCGCCAGAGACAGCTCCAAT	
	TACGAGGGCTATTTCGACTTTTGGGGCCA	
CD8α TM؛	GGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGGC	
	GGAGGAGGATCCGGAGGAGGAGGATCTG	
إشارة 4-1BB	GCGGCGGCGGCTCCGGCGGCGGCGGCT	
النطاق؛	CCGAGGTGGTGCTGACCCAGAGCCCTGC	
إشارة CD3 زيتا	CACACTGTCCGTGTCTCCAGGCGAGAGA	
النطاق	GCCACCCTGTCTTGTAGGGCCAGCCAGTC	
	CGTGCGCAGCAATCTGGCCTGGTACCAG	
	CAGAAGTCCGGCCAGGCCCCAAGACTGC	
	TGATCTATGGCTCCACCATCAGGGCCACA	
	GGAGTGCCAGCACGCTTCTCTGGAAGCG	
	GATCCGGCACAGAGTTTACCCTGACAATC	
	TCCTCTCTGCAGTCCGAGGATTTCGCCGT	
	GTACTATTGCCAGCAGTACTCTGACTGGC	
	CCTTCACCTTTGGCCCTGGCACAAAGGTG	
	GATATCAAGACCACAACCCCTGCACCAAG	
	GCCACCAACCCCAGCACCTACAATCGCAA	
	GCCAGCCACTGTCCCTGAGACCCGAGGC	
	CTGTAGGCCTGCAGCAGGAGGAGCAGTG	
	CACACCCGCGGCCTGGACTTTGCCTGCG	
	ATATCTATATCTGGGCACCACTGGCAGGA	
	ACCTGTGGCGTGCTGCTGCTGAGCCTGG	
	TCATCACCCTGTACTGCAAGCGCGGCCG	
	GAAGAAGCTGCTGTATATCTTCAAGCAGC	
	CCTTCATGCGGCCCGTGCAGACAACCCA	

	GGAGGAGGATGGCTGCTCCTGTAGATTCC CTGAGGAGGAGGAGGGAGGATGTGAGCT GAGGGTGAAGTTTTCTCGGAGCGCCGAC GCACCAGCATACCAGCAGGGACAGAACC AGCTGTATAACGAGCTGAATCTGGGCCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGA GGAGGGGAAGAGACCCAGAGATGGGAGG CAAGCCACGGAGAAAGAACCCCCAGGAG GGCCTGTACAATGAGCTGCAGAAGGATAA GATGGCCGAGGCCTATTCTGAGATCGGCA TGAAGGGAGAGAGGCGCCGGGGCAAGG GACACGACGGACTGTACCAGGGACTGTC CACCGCAACAAAGGACACCTATGATGCCC TGCATATGCAGGCACTGCCTCCAAGGTGA (متوالية بهوية رقم: 239)	
ببتيد إشارة CD8α؛ 32A10 VH (الجدول 1 المتوالية بهوية رقم: 11)؛ الرابط GS؛ 32A10 VL (الجدول 1 المتوالية بهوية رقم: 12)؛	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCT GCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCA AGGCCACAGGTGACCCTGAAGGAGTCCG GCCCCGTGCTGGTGAAGCCTACAGAGAC CCTGACACTGACCTGCACAGTGTCCGGCT TCTCTCTGAGCAACGCCCGCATGGGCGT GTCTTGGATCAGGCAGCCCCCTGGCAAG GCCCTGGAGTGGCTGGCCCACATCTTTTC CACCGACGAGAAGTCTATCCGGAGAAGC CTGCGCTCCAGGCTGACCCTGAGCAAGG	32A10

المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ إشارة 4-1BB النطاق؛ إشارة CD3 زيتا النطاق	ATACATCCAAGTCTCAGGTGGTGCTGACC ATGACAAACATGGACCCCGTGGATACCGC CACATACTTCTGCGCCAGAGACAGCTCCA ATTACGAGGGCTATTTTGATTACTGGGGC CAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCG GAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGAT CTGGCGGCGGCGGCTCTGGCGGCGGCG GCAGCGAGGTGGTCATGACCCAGAGCCC AGCCACACTGAGCGTGTCCCCTGGCGAG AGGGTGACCCTGTCCTGTAGGGCATCTCA GAGCGTGTCCTCTAACTTCGCCTGGTATC AGCAGAGACCAGGCCAGGCACCAAGGCT GCTGCTGTACGGAGCAACCACAAGAGCC ACAGGACTGCCCGGCAGGTTTTCCGGATC TGGAAGCGGCACCGAGAATATCCTGACAA TCAGCTCCCTGCAGTCTGAGGACTTCGCC ATCTATTTTTGCCAGCAGTACAAGGATTGG CCATTCACCTTTGGCCCCGGCAGCAAGGT GGACATCAAGACCACAACCCCTGCACCAA GACCACCAACCCCAGCACCTACAATCGCC TCTCAGCCTCTGAGCCTGCGCCCAGAGG CATGTAGGCCAGCAGCAGGAGGAGCAGT GCACACAAGGGGCCTGGACTTCGCCTGC GATATCTATATCTGGGCACCTCTGGCAGG AACCTGTGGCGTGCTGCTGCTGAGCCTG GTCATCACCCTGTATTGCAAGAGAGGCAG	

	GAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAGC CTTTTATGCGCCCAGTGCAGACAACCCAG GAGGAGGACGGCTGCAGCTGTCGGTTCC CTGAAGAGGAGGAGGGCGGCTGTGAGCT GAGAGTGAAGTTTTCCAGGTCTGCCGATG CCCCAGCCTATCAGCAGGGCCAGAATCA GCTGTACAACGAGCTGAATCTGGGCAGG CGCGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGA GGAGAGGAAGGGATCCAGAGATGGGAGG CAAGCCTAGGCGCAAGAACCCACAGGAG GGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAGGACAA GATGGCCGAGGCCTACTCCGAGATCGGC ATGAAGGGAGAGCGGAGAAGGGGCAAGG GACACGATGGCCTGTATCAGGGCCTGTCT ACCGCCACAAAGGACACCTACGATGCCCT GCATATGCAGGCACTGCCTCCAAGGTGA (متوالية بهوية رقم: 240)	
ببتيد إشارة CD8α؛ 20B9 VH (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 13)؛ الرابط GS؛	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCT GCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCA AGACCTCAGGTGACCCTGAAGGAGTCCG GCCCTGTGCTGGTGAAGCCAACAGAGAC CCTGACACTGACCTGCACAGTGTCTGGCT TCAGCCTGTCCAACGCAAGGATGGGCGT GAGCTGGATCAGGCAGCCCCCTGGCAAG GCCCTGGAGTGGCTGGGCCACATCTTTAG	20B9

20B9 VL (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 14)؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ إشارة 4-1BB النطاق؛ إشارة CD3 زيتا النطاق	CACCGACGAGAAGTCTTACAGCACATCCC TGAGAGGCAGGATCACCATCTCTAAGGAT ACAAGCAGAGGCCTGGTGGTGCTGACCC TGACAAACATGGACCCCGTGGATACCGCC ACATACTATTGCGCCAGGGACAGCTCCAA TTACGAGGGCTATTTCGATTTTTGGGGCC CTGGCTTCCTGGTGACCGTGTCTAGCGGC GGCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGAAGC GGAGGAGGAGGATCCGGCGGCGGCGGC TCTGAGATCGTGATGACCCAGTCCCCTGC CACACTGTCTGTGAGCCCAGGCGAGAGA GCCACCCTGTCTTGTAGGGTGTCCCAGTC TATCGGCGCCAATCTGGCCTGGTACCAGC AGAAGTTCGGCCAGGCCCCAAGGCTGCT GATCTATGGAGCATCCACCAGAGCCACAG GAATCCCCGTGAGGTTCTCCGGAGGAGG ATCTGGAACCGAGTTTACCCTGACAATCT CCTCTCTGCAGAGCGAGGACTTTGCCATC TACTCCTGCCAGCAGTACATCTATTGGCC CTTCACATTTGGCCCTGGCACCACAGTGG ATATCAAGACCACAACCCCTGCACCAAGG CCACCAACCCCAGCACCTACAATCGCAAG CCAGCCACTGTCCCTGAGACCAGAGGCAT GTAGGCCTGCAGCAGGAGGAGCCGTGCA CACCAGAGGCCTGGACTTTGCCTGCGATA TCTATATCTGGGCACCACTGGCAGGAACC	

	TGTGGCGTGCTGCTGCTGAGCCTGGTCAT CACCCTGTACTGCAAGCGCGGCCGGAAG AAGCTGCTGTATATCTTCAAGCAGCCCTT CATGCGCCCCGTGCAGACAACCCAGGAG GAGGACGGCTGCAGCTGTCGGTTCCCTG AAGAGGAGGAGGGAGGATGTGAGCTGAG GGTGAAGTTTAGCCGGTCCGCCGATGCA CCAGCATACCAGCAGGGCCAGAACCAGC TGTATAACGAGCTGAATCTGGGCCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGA GGGGAAGAGACCCAGAGATGGGAGGCAA GCCACGGAGAAAGAACCCCCAGGAGGGC CTGTACAATGAGCTGCAGAAGGACAAGAT GGCCGAGGCCTATAGCGAGATCGGCATG AAGGGAGAGAGGCGCCGGGGCAAGGGA CACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGTCCA CCGCCACAAAGGACACCTATGATGCCCTG CATATGCAGGCACTGCCTCCAAGGTGA (متوالية بهوية رقم: 241)	
ببتيد إشارة CD8α؛ 14C11 VH (الجدول 1،	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCT GCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCA AGACCACAGGTGACCCTGAAGGAGAGCG GACCCGTGCTGGTGAAGCCTACAGAGAC CCTGACACTGACCTGCACAGTGAGCGGCT TCTCCCTGAACAATGCAAGGATGGGCGTG	14C11

المتوالية بهوية رقم: 15)؛	TCCTGGATCAGGCAGCCCCCTGGCAAGG	
	CCCTGGAGTGGTTCGCCCACATCTTTAGC	
الرابط GS؛	ACCGACGAGAAGTCCTTTCGCACATCTCT	
	GAGAAGCAGGCTGACCCTGAGCAAGGAT	
14C11 VL (الجدول 1،	ACAAGCAAGTCCCAGGTGGTGCTGACCAT	
	GACAAACATGGACCCCGTGGATACCGCCA	
المتوالية بهوية رقم: 16)؛	CATACTATTGCGCCAGAGACAGCTCCAAT	
	TACGAGGGCTATTTCGATTACTGGGGCCA	
المنطقة المفصلية CD8α؛	GGGCATCCTGGTGACCGTGTCTAGCGGC	
	GGCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGAAGC	
CD8α TM؛	GGAGGAGGAGGATCCGGCGGCGGCGGC	
	TCTGAGATCGTGATGACCCAGTCTCCCGC	
إشارة 4-1BB النطاق؛	CACACTGTCTGTGAGCCCTGGCGAGAGA	
	GCCACACTGAGCTGTAGGGCCTCCCAGT	
إشارة CD3 زيتا النطاق	CTGTGAGCAACAATCTGGCCTGGTATCAG	
	CAGAAGCCAGGCCAGGCACCAAGGCTGC	
	TGATCTACGGAGCATCCACCAGAGCCACA	
	GGAGTGCCAGCAAGGTTCTCCGGATCTGA	
	CAGCGGCACCGAGTTTAGCCTGACAATCT	
	CCTCTCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTG	
	TATTTTTGCCAGCAGTACAAGGATTGGCC	
	ATTCACCTTTGGCCCCGGCACAAAGGTGG	
	AGATCAAGACCACAACCCCTGCACCAAGA	
	CCACCAACCCCAGCACCTACAATCGCATC	
	CCAGCCTCTGTCTCTGAGACCAGAGGCAT	
	GTAGGCCAGCAGCAGGAGGAGCAGTGCA	

	CACCAGGGGCCTGGACTTTGCCTGCGATA TCTATATCTGGGCACCTCTGGCAGGAACC TGTGGCGTGCTGCTGCTGAGCCTGGTCAT CACCCTGTATTGCAAGCGCGGCCGGAAG AAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAGCCTTTT ATGCGCCCAGTGCAGACAACCCAGGAGG AGGACGGCTGCTCCTGTCGGTTCCCTGAA GAGGAGGAGGGAGGATGTGAGCTGAGGG TGAAGTTTTCCCGGTCTGCCGATGCCCCA GCCTATCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTA CAACGAGCTGAATCTGGGCCGGAGAGAG GAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGGG GAAGAGATCCAGAGATGGGAGGCAAGCC TCGGAGAAAGAACCCACAGGAGGGCCTG TATAATGAGCTGCAGAAGGACAAGATGGC CGAGGCCTACTCCGAGATCGGCATGAAG GGAGAGAGGCGCCGGGGCAAGGGACAC GATGGCCTGTATCAGGGCCTGTCTACCGC CACAAAGGACACCTACGATGCCCTGCATA TGCAGGCACTGCCTCCAAGGTGA (متوالية بهوية رقم: 242)	
ببتيد إشارة CD8α؛ 20E12 VH (الجدول 1،	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCT GCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCA AGGCCAGAGGTGAACCTGGTGGAGTCCG GCGGCGGCCTGGTGAAGCCTGGCGGATC	20E12

المتوالية بهوية رقم: 39)؛	CCTGAGGCTGTCTTGCGAGGCAAGCGGC	
الرابط GS؛	TTCACCTTCAGCTACGCCTGGATGTCCTG	
20E12 VL (الجدول 1،	GGTGCGCCAGGCCCCCGGCAAGGGACTG	
المتوالية بهوية رقم: 40)؛	GAGTGGGTGGGACGGATCAAGTCCATCG	
المنطقة المفصلية CD8α؛	CAGACGGAGGAGCAACCGATTACGCAGC	
CD8α TM؛	CCCTGTGAGAAACAGGTTCACAATCTCCA	
إشارة 4-1BB النطاق؛	GAGACGATTCTAGGAATACCCTGTATCTG	
إشارة CD3 زيتا النطاق	GAGATGCACTCTCTGAAGACAGAGGACAC	
	CGCCGTGTACTATTGCACCACAATCCCTG	
	GCAACGACGCCTTTGATATGTGGGGCCAG	
	GGCACAATGGTGACCGTGAGCTCCGGCG	
	GCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGAAGCG	
	GAGGAGGAGGAAGCGGGGGCGGCGGCT	
	CTGACATCGTGCTGACACAGTCCCCACTG	
	TCCCTGTCTGTGACCCCCGGCGAGCCTG	
	CAAGCATCTCCTGTAGATCTAGCCAGAGC	
	CTGCTGTACTCCAACGGCAAGAATTATCT	
	GGATTGGTTCCTGCACAAGCCAGGCCAGT	
	CTCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGATCT	
	AATAGGGCAAGCGGAGTGCCAGACCGGT	
	TCTCTGGAAGCGGATCCGGCATCGACTTC	
	ATCCTGAAGATCAGCAGGGTGGAGGCCG	
	AGGATGTGGGCGTGTACTATTGCATGCAG	
	GCCCAGCAGACACCCATCACCTTCGGCCA	
	GGGCACAAGACTGGAGATCAAGACCACAA	
	CCCCAGCACCAAGGCCACCTACACCTGCA	

	CCAACCATCGCATCCCAGCCACTGTCTCT GAGGCCTGAGGCATGTCGGCCAGCAGCA GGAGGAGCAGTGCACACCCGCGGCCTGG ACTTTGCCTGCGATATCTACATCTGGGCA CCACTGGCAGGAACATGTGGCGTGCTGC TGCTGAGCCTGGTCATCACCCTGTACTGC AAGCGCGGCCGGAAGAAGCTGCTGTATAT CTTCAAGCAGCCTTTTATGAGACCAGTGC AGACAACCCAGGAGGAGGACGGCTGCTC CTGTAGGTTCCCTGAAGAGGAGGAGGGC GGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTTTCTAG GAGCGCCGATGCACCAGCATACCAGCAG GGACAGAATCAGCTGTATAACGAGCTGAA TCTGGGCCGGAGAGAGGAGTATGACGTG CTGGATAAGAGGAGGGGAAGGGACCCTG AGATGGGAGGCAAGCCCCGGAGAAAGAA CCCTCAGGAGGGCCTGTACAATGAGCTG CAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTATA GCGAGATCGGCATGAAGGGAGAGAGGCG CCGGGGCAAGGGACACGATGGCCTGTAC CAGGGCCTGTCCACAGCCACCAAGGACA CCTATGATGCCCTGCATATGCAGGCACTG CCTCCAAGGTGA (متوالية بهوية رقم: 243)	

32G8	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCT GCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCA AGGCCAGAGGTGAACCTGGTGGAGTCCG GCGGCGGCCTGGTGAAGCCTGGCGGATC CCTGAGGCTGTCTTGCGAGGCAAGCGGC TTCACCTTCAGCTACGCCTGGATGTCCTG GGTGCGCCAGGCCCCCGGCAAGGGACTG GAGTGGGTGGGCCGGATCAAGTCCATCA CCGACGGAGGCGTGATCGATTACGCAGC ACCTGTGAGAAACAGGTGCACAATCTCCA GAGACGATTCTAGGAATACCCTGTATCTG GAGATGCACTCTCTGAAGACAGAGGACAC CGCCGTGTACTATTGTACCACAATCCCTG GCAACGACGATTTCGATATGTGGGGCCAG GGCAGAATGGTGACCGTGAGCTCCGGCG GCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGAAGCG GAGGAGGAGGAAGCGGGGGCGGCGGCT CTGACATCGTGCTGACACAGTCCCCACTG TCCCTGTCTGTGACCCCCGGCGAGCCTG CAAGCATCTCCTGTAGGTCTAGCCAGAGC CTGCTGTACTCCAACGGCAAGAATTATCT GGATTGGTTTCTGCACAAGCCAGGCCAGT CTCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGATCT AATAGGGCAAGCGGAGTGCCAGACCGGT TCTCTGGAAGCGGATCCGGCATCGACTTC ATCCTGAAGATCAGCCGCGTGGAGGCAG	ببتيد إشارة CD8α؛ 32G8 VH (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 43)؛ الرابط GS؛ 32G8 VL (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 40)؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ إشارة 4-1BB النطاق؛ إشارة CD3 زيتا النطاق

	AGGACGTGGGCGTGTACTATTGCATGCAG	
	GCCCAGCAGACACCCATCACCTTCGGCCA	
	GGGCACAAGACTGGAGATCAAGACCACAA	
	CCCCAGCACCAAGGCCACCTACACCTGCA	
	CCAACCATCGCATCCCAGCCACTGTCTCT	
	GAGGCCTGAGGCATGTAGGCCAGCAGCA	
	GGAGGAGCAGTGCACACCAGAGGCCTGG	
	ACTTTGCCTGCGATATCTACATCTGGGCA	
	CCACTGGCAGGAACATGTGGCGTGCTGC	
	TGCTGAGCCTGGTCATCACCCTGTACTGC	
	AAGCGCGGCCGGAAGAAGCTGCTGTATAT	
	CTTCAAGCAGCCTTTTATGAGACCAGTGC	
	AGACAACCCAGGAGGAGGACGGCTGCTC	
	CTGTAGGTTCCCTGAAGAGGAGGAGGGC	
	GGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTTTCTAG	
	GAGCGCCGATGCACCAGCATACCAGCAG	
	GGACAGAATCAGCTGTATAACGAGCTGAA	
	TCTGGGCCGGAGAGAGGAGTATGACGTG	
	CTGGATAAGAGGAGGGGAAGGGATCCTG	
	AGATGGGAGGCAAGCCCCGGAGAAAGAA	
	CCCTCAGGAGGGCCTGTACAATGAGCTG	
	CAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTATA	
	GCGAGATCGGCATGAAGGGAGAGAGGCG	
	CCGGGGCAAGGGACACGATGGCCTGTAC	
	CAGGGCCTGTCCACAGCCACCAAGGACA	

	CCTATGATGCCCTGCATATGCAGGCACTG CCTCCAAGGTGA (متوالية بهوية رقم: 244)	
26B9	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCT GCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCA AGGCCAGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTT GGGGCGTGCTGGTGAAGCCTGGCGGATC TCTGAGGCTGAGCTGCGCAGCATCCGGC TTCATCTTTAACAATGCCTGGATGTCCTGG GTGCGCCAGGCCCCCGGCAAGGGACTGG AGTGGATCGGCCGGATCAAGAGCAAGTC CGACGGAGGAACCACAGATTACGCAGCA CCTGTGAAGGACCGCTTCACAATCTCTCG GGACGATAGCAAGGATACCCTGTATCTGC AGATGAACGGCCTGAAGACAGAGGACAC CGCCGTGTACTTCTGCACCACAGCCCCTG GCGGCCCTTTTGATTATTGGGGCCAGGGC ACACTGGTGACCGTGAGCTCCGGAGGAG GAGGAAGCGGCGGAGGAGGCAGCGGCG GCGGCGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCG ACATCGTGCTGACACAGAGCCCTCTGTCC CTGCCAGTGACCCCCGGCGAGCCTGCCT CTATCAGCTGTCGCTCTAGCCAGAGCCTG CTGCACCGGGACGGCTTCAATTACCTGGA TTGGTTTCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCC	ببتيد إشارة CD8α؛ 26B9 VH (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 41)؛ الرابط GS؛ 26B9 VL (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 42)؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ إشارة 4-1BB النطاق؛ إشارة CD3 زيتا النطاق

	CCCAGCTGCTGATCTATCTGGCCTCCTCT	
	AGAGCCTCTGGCGTGCCAGACAGGTTCTC	
	CGGCTCTGACAGCGGCACAGACTTCACC	
	CTGAAGATCAGCAGAGTGGAGGCCGAGG	
	ATGTGGGCGTGTACTATTGCATGCAGGCC	
	CTGCAGACACCCATCACCTTCGGCCAGG	
	GCACAAGACTGGAGATCAAGACCACAACC	
	CCAGCACCAAGGCCACCTACACCTGCACC	
	AACCATCGCATCCCAGCCACTGTCTCTGA	
	GACCTGAGGCCTGTAGGCCAGCAGCAGG	
	AGGAGCAGTGCACACCAGGGGCCTGGAC	
	TTTGCCTGCGATATCTACATCTGGGCACC	
	TCTGGCAGGAACATGTGGCGTGCTGCTG	
	CTGAGCCTGGTCATCACCCTGTACTGCAA	
	GAGAGGCAGGAAGAAGCTGCTGTATATCT	
	TCAAGCAGCCTTTTATGAGACCAGTGCAG	
	ACAACCCAGGAGGAGGACGGCTGCTCCT	
	GTAGGTTCCCTGAAGAGGAGGAGGGAGG	
	ATGTGAGCTGAGGGTGAAGTTTTCCCGGT	
	CTGCCGATGCACCAGCATACCAGCAGGG	
	ACAGAACCAGCTGTATAACGAGCTGAATC	
	TGGGCCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCT	
	GGATAAGAGGCGCGGCAGAGATCCAGAG	
	ATGGGCGGCAAGCCCCGGAGAAAGAACC	
	CTCAGGAGGGCCTGTACAATGAGCTGCA	
	GAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTATAGC	

	GAGATCGGCATGAAGGGAGAGAGGCGCC GGGGCAAGGGACACGATGGCCTGTACCA GGGCCTGTCCACAGCCACCAAGGACACC TATGATGCCCTGCATATGCAGGCACTGCC TCCAAGGTGA (متوالية بهوية رقم: 245)	
30D8	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCT GCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCA AGGCCTGAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCG GCGGCGGCCTGGTGAAGCCTGGCGGATC CCTGAGGCTGTCTTGCGAGGCAAGCGGC TTCACCTTTAGCGACGCATGGATGTCCTG GGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTG GAGTGGGTGGGACGGATCAAGAGCAAGA CAGACGGCGGCACCACAGATTACGTGGT GCCACTGAACGGCCGCTTCATCATCTCCC GCGACGATTCTCGGAATACCCTGTATCTG CAGCTGAACAATCTGAAGACAGAGGATAC CGCCGTGTACTATTGCACCACAGTGCCAG GCTCCTACGGCTATTGGGGCCAGGGCAC ACTGGTGACCGTGAGCTCCGGCGGCGGC GGCTCTGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAG GAGGAAGCGGGGGCGGCGGCTCTGACAT CGTGATGACACAGTCTCCACTGAGCCTGC CAGTGACCCCTGGCGAGCCAGCCTCCAT	ببتيد إشارة CD8α؛ 30D8 VH (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 37)؛ الرابط GS؛ 30D8 VL (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 38)؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ إشارة 4-1BB النطاق؛

إشارة CD3 زيتا النطاق	CTCTTGTCGCTCTAGCCAGAGCCTGCTGC	
	ACAACAAGCGGAACAATTACCTGGATTGG	
	TTTCTGCAGAAGCCTGGCCAGTCCCCTCA	
	GCTGCTGATCTATCTGGCCAGCAATAGAG	
	CCTCCGGAGTGCCAGACAGGTTCTCTGGA	
	GGAGGAAGCGGAACAGACTTCACCCTGA	
	AGATCAGCAGAGTGGAGGCCGAGGACGT	
	GGGCGTGTACTATTGCATGCAGGCCCAG	
	CAGACACCTATCACCTTCGGCCAGGGCAC	
	AAGACTGGAGATCAAGACCACAACCCCAG	
	CACCAAGGCCACCTACACCTGCACCAACC	
	ATCGCCTCCCAGCCTCTGTCTCTGAGACC	
	AGAGGCATGTAGGCCAGCAGCAGGAGGA	
	GCAGTGCACACCAGGGGCCTGGACTTTG	
	CCTGCGATATCTACATCTGGGCACCTCTG	
	GCAGGAACATGTGGCGTGCTGCTGCTGA	
	GCCTGGTCATCACCCTGTACTGCAAGAGA	
	GGCAGGAAGAAGCTGCTGTATATCTTCAA	
	GCAGCCCTTCATGAGACCCGTGCAGACAA	
	CCCAGGAGGAGGACGGCTGCTCTTGTAG	
	GTTCCCAGAAGAGGAGGAGGGAGGATGT	
	GAGCTGAGGGTGAAGTTTAGCCGGTCCG	
	CCGATGCACCAGCATACCAGCAGGGACA	
	GAACCAGCTGTATAACGAGCTGAATCTGG	
	GCCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGA	
	TAAGAGGAGGGGAAGGGATCCAGAGATG	

	GGAGGCAAGCCTCGGAGAAAGAACCCAC AGGAGGGCCTGTACAATGAGCTGCAGAA GGACAAGATGGCCGAGGCCTATTCTGAGA TCGGCATGAAGGGAGAGAGGCGCCGGGG CAAGGGACACGATGGCCTGTACCAGGGC CTGAGCACAGCCACCAAGGACACCTATGA TGCCCTGCATATGCAGGCACTGCCTCCAA GGTGA (متوالية بهوية رقم: 246)	
C6	ATGGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCTGCT GCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCA AGGCCACAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCG GAGCAGAGGTGAAGAAGCCTGGCAGCTC CGTGAAGGTGAGCTGCAAGGCCTCCGGC GACACATTCTCTAGCAACGCAATCAGCTG GGTGCGCCAGGCCCCTGGCCAGGGACTG GAGTGGATGGGCGTGATCATCCCTATCTT CGGCACCGCCGACTATGCCCAGAAGTTTC AGGGCCGGGTGACAATCACCGCCGATGA GTCTACAAGCACCGCCTACATGGAGCTGT CCTCTCTGAGATCCGAGGACACAGCCGTG TACTATTGTGCCAGGCACACCTATCACGA GTACGCAGGAGGATACTATGGAGGAGCA ATGGATCCTTGGGGACAGGGCACACTGG TGACCGTGAGCTCCGGCGGCGGCGGCTC	ببتيد إشارة CD8α؛ C6 VH(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 48)؛ الرابط GS؛ C6 VL(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 49)؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛

إشارة 4-1BB النطاق؛ إشارة CD3 زيتا النطاق	TGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGG AAGCGGGGGCGGCGGCTCTGAGCTGCAG AGCGTGCTGACCCAGCCACCTTCCGCCTC TGGAACACCAGGCCAGAGGGTGACCATC AGCTGCTCCGGATCTAGCTCCAACATCGG CTCCAATTACGTGTATTGGTACCAGCAGC TGCCAGGCACAGCCCCCAAGATCCTGATC TACCGCAACAATCAGCGGCCTTCTGGCGT GCCAGATAGATTCTCTGGCAGCAAGTCCG GCACCTCTGCCAGCCTGGCAATCTCCGG CCTGAGGTCTGAGGACGAGGCCGATTACT ATTGCGCCGCCTGGGACGATAACCTGAG CGGCTGGGTGTTTGGCACAGGCACCAAG CTGACAGTGCTGACCACAACCCCTGCACC AAGACCACCAACACCAGCACCTACCATCG CAAGCCAGCCACTGTCCCTGAGACCCGA GGCCTGTAGGCCTGCAGCAGGAGGAGCA GTGCACACCAGGGGCCTGGACTTTGCCT GCGATATCTATATCTGGGCACCACTGGCA GGAACATGTGGCGTGCTGCTGCTGAGCC TGGTCATCACCCTGTATTGCAAGAGAGGC AGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCA GCCCTTTATGCGCCCTGTGCAGACAACCC AGGAGGAGGACGGCTGCAGCTGTCGGTT CCCAGAAGAGGAGGAGGGAGGATGTGAG CTGAGGGTGAAGTTTTCCCGGTCTGCCGA	

	TGCACCAGCATATCAGCAGGGACAGAATC AGCTGTACAACGAGCTGAATCTGGGCCG GAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAG AGGAGGGGAAGGGACCCTGAGATGGGAG GCAAGCCACGGAGAAAAACCCCCAGGAG GGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAGGACAA GATGGCCGAGGCCTACTCTGAGATCGGC ATGAAGGGAGAGAGGCGCCGGGGCAAGG GACACGATGGCCTGTATCAGGGCCTGAG CACAGCCACCAAGGACACCTACGATGCCC TGCATATGCAGGCACTGCCTCCAAGGTGA (متوالية بهوية رقم: 247)	

تمت ملاحظة النقص المتحكم فيه أو التطفير ي مولدات الضد المستهدفة بصورة مشتركة في خلايا السرطان وإنشاء صور متغيرة خاصة بالهروب والفقد من مولد الضد. وبالتالي ولكي تتم إزاحة هروب الورم وجعلة الخلية المناعية أكثر خصوصية للمستهدف فإن CAR الخاصة بـ EGFRvIII يمكن أن يشتمل على واحد أو أكثر من النطاقات الرابطة للمركب الترابطي خارج الخلية لكي تم الربط المتزامن مع عناصر مختلفة وبالتالي زيادة تنشيط ووظيفة الخلية المناعية. في أحد النماذج، يكن أن يتم وضع النطاقات الرابطة للمركب الترابطي خارج الخلية في صورة ترادفية على نفس البولي ببتيد عبر الغشاء ويمكن الفصل بشكل اختياري بواسطة رابط. في بعض النماذج، فإن النطاقات الرابطة للمركب الترابطي خارج الخلية المختلفة يمكن أن يتم وضعها على بولي ببتيدات عبر الخلية المختلفة والتي تشتمل على CAR. في بعض النماذج، فإن الاختراع يتعلق بمجموعة من CARs وكل CAR يشتمل على نطاق رابط لمركب ترابطي خارج الخلية مختلف. وبصورة خاصة فإن الاختراع يتعلق بطريقة لمعالجة خلايا مناعية تشتمل على توفير خلية مناعية والتعبير عند السطح للخلية عن مجموعة من CARs، ويشتمل كل CAR على على نطاقات رابطة لمركب ترابطي خارج الخلية مختلفة. في نموذج محدد آخر، يتعلق الاختراع بطريقة لمعالجة

خلية مناعية تشتمل على توفير خلية مناعية الإدخال بداخل الخلية لبولي نيوكليوتيدات تشفر بولي ببتيدات تشتمل على مجموعة من CARs وكل منها تشتمل على نطاق رابط للمركب الترابطي خارج الخلية مختلف. ومن مجموعة CARs فمن المقصود أن يكون هناك اثنين على الأقل أو ثلاثة أو أربعة أو خمسة أو ستة أو أكثر من CARs تشتمل كل منها على نطاقات رابطة للمركب الترابطي خارج الخلية مختلفة. يفضل أن تقوم نطاقات ربط المركب الترابطي خارج الخلية المختلفة طبقاً للاختراع بالربط المتزامن للعناصر المختلفة في المستهدف وبالتالي زيادة نشاط ووظيفة الخلية المناعية. يتعلق الاختراع أيضاً بخلية مناعية معزولة والتي تشتمل على مجموعة من CARs وتشتمل كل منها على نطاقات رابطة للمركب الترابطي خارج الخلية المختلفة.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع بولي نيوكليوتيدات تشفر أي من CARs وبولي ببتيدات تم وصفها هنا. يمكن تحضير البولي نيوكليوتيدات ويتم التعبير عنها بواسطة إجراءات معروفة في المجال.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع تركيبات (مثل تركيبات صيدلانية) تشتمل على أي من الخلايا الخاصة بالاختراع. في بعض النماذج، تشتمل التركيبة على خلية تشتمل على بولي نيوكليوتيد يشفر أي من CARs التي تم وصفها هنا.

تم أيضاً وصف نواقل التعبير والإعطاء لتركيبات البولي نيوكليوتيد هنا.

في سمة أخرى، يوفر الاختراع طريقة خاصة بتحضير أي بولي نيوكليوتيدات تم وصفها هنا.

تم أيضاً في الاختراع تضمين البولي نيوكليوتيدات المتممة لأي متوالية. يمكن أن تكون البولي نيوكليوتيدات عبارة عن جزيئات منفردة الجديلة (تشفر أو تكون في عكس اتجاه النسخ) أو تكون مزدوجة الجديلة ويمكن أن تكون عبارة عن جزيئات DNA (جينومية، cDNA أو تخليقية) أو جزيئات RNA. تشتمل جزيئات RNA على جزيئات HnRNA والتي تشتمل على إنترونات وتناظر جزيء DNA في طريقة واحد إلى واحد وجزيئات mRNA والتي لا تشتمل على إنترونات. يمكن المتواليات الشفرة أو غير المشفرة الإضافية موجودة في البولي ببتيدات من الاختراع، مع عدم الحاجة لها، ويمكن أن يرتبط البولي نيوكليوتيد، مع عدم الحاجة لذلك، مع جزيئات و/أو مواد حاملة أخرى.

يمكن أن تتشتمل البلوي نيوكلتيدات على متوالية أصلية (أي، متوالية بطانية النمو والتي تشفر جسم مضاد أو جزء منه) أو يمكن أن تشتمل على صورة متغيرة من تلك المتوالية. تشتمل الصور المتغيرة من البولي نيوكليوتيد على واحد أو أكثر من الاستبدالات أو الإضافات أو الحذوفات و/أو الإدراجات بحيث أن التفاعل الناعي من البولي ببتيد المشفر لا يتم تقليله بالنسبة لجزيء متفاعل بكل مناعي أصلي. يمكن أن يتم اختبار تأثير التفاعلية المناعية من البولي ببتيد المشفر كما تم وصفه هنا. توجد الصور المتغيرة بصورة مفضلة عند حوالي 70% ويفضل أكثر عند حوالي 80% من التطابق والأكثر تفضيلاً أن تكون عند حوالي 90% من التطابق والأكثر تفضيلاً أن تكون عند حوالي 95% من التطابق بالنسبة لمتوالية البولي نيوكليوتيد والتي تشفر الجسم المضاد الأصلي أو جزء منه.

يمكن أن يُقال أن اثنين من متواليات البولي نيوكليوتيدات أو البولي ببتيدات "متطابقة" إذا كانت متوالية النيوكليوتيدات أو الأحماض الأمينية في اثنين من المتواليات متطابقة عندما تتم محاذاتها بالنسبة للحد الأقصى من التطابق كما تم وصفه فيما يلي. تكون المقارنات بين اثنين من المتواليات قد تم إجراؤها بشكل نمطي بواسطة مقارنة المتواليات على مدى مقارنة نافذة لكي يتم تحديد ومقارنة مناطق محلية من التشابه الخاص بالمتوالية. تمت الإشارة إلى "نافذة المقارنة" كما تم استخدامه هنا إلى جزء من على الأقل 20 من المواضع المتجاورة وبصورة طبيعية من 30 إلى 75 أو 40 أو حوالي 50 والتي يكون بها المتوالية قد تمت مقارنتها مع متوالية مرجعية من نفس عدد الأجزاء المتجاورة بعد اثنين من المتواليات التي تمت محاذاتها بشكل مثالي.

يمكن أن يتم إجراء المحاذاة المثالية من المتواليات لغرض المقارنة باستخدام برنامج Megalign في برنامج Lasergene suite من bioinformatics (DNASTAR, Inc., Madison, WI)، باستخدام متغيرات أصلية. يقوم هذا البرنامج بتجسيد مخططات محاذاة متعددة في المراجع التالية: Dayhoff, M.O., 1978, A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationships؛ وفي المراجع Dayhoff, M.O. (ed.) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington DC Vol. 5, Suppl. 3, pp. 345-358; Hein J., 1990, Unified Approach to Alignment and Phylogenes pp. 626-645

Methods in Enzymology vol. 183, Academic Press, Inc., San Diego, CA; Higgins, D.G. and Sharp, P.M., 1989, CABIOS 5:151-153; Myers, E.W. and Muller W., 1988, CABIOS 4:11-17; Robinson, E.D., 1971, Comb. Theor. 11:105; Santou, N., Nes, M., 1987, Mol. Biol. Evol. 4:406-425; Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R., 1973, Numerical Taxonomy the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, San Francisco, CA; Wilbur, W.J. and Lipman, D.J., 1983, Proc. Natl. Acad. .Sci. USA 80:726-730

يفضل أن يتم تحديد "النسبة المئوية لهوية المتوالية" بواسطة مقارنة اثنين من المتواليات التي تمت محاذاتها بشكل مثالي على مدى نافذة المقارنة من 20 موضع على الأقل حيث أن جزء من البولي نيوكليوتيد أو متوالية البولي ببتيد في نافذة المقارنة يمكن أن تشتمل على إضافات أو حذوفات (أي، فجوات) من 20 % أو أقل وعلى نحو عادي من 5 إلى 15 % أو من 10 إلى 12 % بالمقارنة مع المتواليات المرجعية (والتي لا تشتمل على إضافات أو حذوفات) وذلك للمحاذاة المثالية لاثنين من المتواليات. يتم حساب النسبة المئوية بواسطة تحديد عدد المواضع والتي يحدث عندها قواعد الحمض النووي المتطابقة أو الوحدة البنائية للحمض الأميني في كل متوالية لكي يتم الحصول على عدد من المواضع المتوافقة وتقسيم عدد المواضع المتطابقة بواسطة العدد الإجمالي للمواضع في متوالية مرجعية (أي، حجم نافذة) وضرب النتيجة × 100 للحصول على النسبة المئوية لهوية المتوالية.

يمكن أن تكون الصور المتغيرة أيضاً، أو على نحو بديل، متجانسة لجين أصلي أو جزء من أو متممة لبعضها. تكون مثل تلك الصور المتغيرة من البولي نيوكليوتيدات من التجانس تحت ظروف شدة صارمة لكي يتم حدوث متوالية DNA بشكل طبيعي مما يعمل على تشفير جسم مضاد أصلي (أو متوالية متممة).

تشتمل "الظروف عالية الشدة بشكل مناسب" على الغسل المسبق في المحلول من 5 × SSC، 0.5% من SDS، 1.0 مل مولار EDTA (برقم هيدروجيني 8.0)؛ والتهجين عند 50° م -

56°م، 5 × SSC، طوال الليل؛ يلي ذلك الغسل مرتين عند 65 م لمدة 20 دقيقة باستخدام كل من 2 ×، 0.5 ×، و0.2 × SSC المشتملة على 0.1 % SDS.

وكما تم استخدامه هنا، يشير المصطلح "ظروف عالية الشدة" أو " ظروف بشدة عالية" إلى مال يلي: (1) استخدام مقاومة أيونية منخفضة ودرجة حرارة علاية خاصة بالغسل، على سبيل المثال، 0.015 مولار من كلوريد الصوديوم sodium chloride / 0.0015 مولار من سيترات الصوديوم sodium citrate / 0.1 % من كبريتات دوديسيل الصوديوم sodium dodecyl sulfateعند 50° م؛ (2) الاستخدام أثناء عملية التهجين لعامل تغيير طبيعة مثل مركب فورماميد formamide ، على سبيل المثال، 50% (حجم/حجم) فورماميد مع 0.1% من ألبومين مصلب بقري bovine serum albumin / 0.1 % من الفيكول Ficoll / 0.1 % من بولي فينيل بيروليدون polyvinylpyrrolidone / 50 مل مولار من المحلول المنظم لفوسفات الصوديوم sodium phosphate عند رقم هيدروجيني 6.5 مع 750 مل مولار من كلوريد الصوديوم sodium chloride و75 مل مولار من سيترات الصوديوم sodium citrate عند 42°م؛ أو (3) استخدام 50% من فورماميد، 5 × SSC (0.75 مولار من NaCl، 0.075 مولار من سيترات الصوديوم sodium citrate ، 50 مل مولار من فوسفات الصوديوم sodium phosphate (برقم هيدروجيني 6.8)، 0.1% من بيروفوسفات الصوديوم sodium pyrophosphate ، 5 × من محلول Denhardt's ومني السلمون المعالج بالموجات الصوتية DNA sonicated salmon sperm (50 ميكرو جرام/مل)، 0.1 % من SDS، و10% من كبريتات ديكستيران dextran sulfate عند 42°م مع الغسل عند 42°م في 0.2 × SSC كلوريد الصوديوم/ سترات الصوديوم sodium chloride/sodium citrate و 50% من الفورماميد عند 55°م، يلي ذلك بواسطة الغسل عال الشدة المتكون من 0.1 × من EDTA المشتمل على SSC عند 55°م. سوف يتعرف الماهر في المجال على كيفية أن يتم ضبط درجة الحرارة أو المقاومة الأيونية، إلخ كما هو ضروري لتحقيق عوامل مثل طول المسبار probe length وما شابه ذلك.

سوف يدرك الماهرون في المجال كنتيجة لضمور الشفرة الجينية أن هنا العديد من متواليات النيوكليوتيد التي تشفر البولي ببتيد كما تم وصفه هنا. تحتمل بعض تلك البولي نيوكليوتيدات التشابه عند الحد الأدنى له مع متوالية النيوكليوتيد من أي جين أصلي. وعلى الرغم من ذلك فإن

البولي نيوكليوتيدات يمكن أن تتنوع نتيجة الاختلافات في استخدام الكودون code ويتم تناولها بشكل خاص في الاختراع. بالإضافة إلى ذلك، تكون الأليلات من الجينات المشتملة على متواليات البولي نيوكليوتيد التي تم توفيرها هنا في مجال الاختراع الحالي. تكون الأليلات عبارة عن جينات داخلية المنشأ والتي يتم تغييرها كنتيجة لواحد أو أكثر من التطفيرات، مثل الحذوفات والإضافات و/أو الاستبدالات الخاصة بالنيوكليوتيدات. يمكن أن يكون لـ mRNA الناتج والبروتين بنية متغيرة أو وظيفة متغيرة مع عدم الحاجة لذلك. يمكن أن تكون الأليلات متطابقة باستخدام تقنيات قياسية مثل التهجين hybridization والتضخيم amplification و/أو مقارنة متوالية قاعدة البيانات database sequence comparison.

يمكن الحصول على البولي نيوكليوتيدات من الاختراع باستخدام طرق التخليق الكيميائي وطرق ناتج عودة الارتباط أو PCR. تكون طرق تخليق البولي نيوكليوتيدات الكيميائية معروفة بشكل جيد في المجال وبالتالي لا حاجة لوصفها هنا. يمكن أن يقوم أحد الماهرين في المجال باستخدام المتواليات التي تم توفيرها هنا ووسيلة تخليق DNA التجارية لكي يتم إنتاج متوالية DNA المطلوبة.

لكي يتم تحضير البولي نيوكليوتيدات باستخدام الطرق ناتجة عودة الارتباط، فإن البولي نيوكليوتيد يمكن أن تشتمل على المتوالية المطلوبة والتي يمكن إدراجها في ناقل مناسب ويمكن إدخال الناقل بدوره في خلية عائلة مناسبة لغرض الانتساخ أو التضخيم كما سوف تتم مناقشته بشكل إضافي هنا. يمكن إدخال البولي نيوكليوتيدات في الخلايا العائلة بواسطة أي طريقة معروفة في المجال. تم تحويل الخلايا بواسطة إدخال البولي نيوكليوتيد خارجي المنشأ من خلال الامتصاص المباشر أو الالتقام أو نقل العدوى، أو التقارن – F أو الاستشراد الكهربي. وبمجرد أن يتم الإدخال، فإن البولي نيوكليوتيد خارجي المنشأ يمكن الحفاظ عليه بداخل الخلية في شكل ناقل غير مدمج (مثل البلازميد) أو يمكن دمجه بداخل جينوم خلية عائلة. يمكن عزل البولي نيوكليوتيد الذي تم تضخيمه بتلك الطريقة من الخلية العائلة باستخدام طرق معروفة بشكل جيد في المجال. انظر، على سبيل المثال، Sambrook et al., 1989.

وعلى نحو بديل، فإن PCR تسمح بإعادة الإنتاج لمتواليات DNA. تكون تقنية PCR عبارة عن تقنية معروفة في المجال وتم وصفها في البراءات الأمريكية أرقام: 4,683,195و 4,800,159,

4,754,065 و4,683,202 وأيضاً PCR: The Polymerase Chain Reaction, Mullis et al. eds., Birkauswer Press, Boston, 1994.

يمكن الحصول على RNA بواسطة استخدام DNA معزول في ناقل مناسب ويتم الإدراج في خلية عائلة مناسبة. عندما تقوم الخلية بالانتساخ فإن DNA يتم انتساخه في RNA ويمكن أن يتم عزل RNA بعد ذلك باستخدام الطرق المعروفة بشكل جيد لذوي المهارة في المجال كما تم توضيحه في Sambrook et al., 1989، على سبيل المثال.

يمكن أن يتم إنشاء نواقل الانتساخ المناسبة طبقاً لتقنيات قياسية أو يمكن اختيارها من عدد أكبر من نواقل الانتساخ المتاحة في المجال. وعلى الرغم من أن نواقل الانتساخ التي تم اختيارها يمكن أن تتنوع طبقاً لخلية العائل المقصود استخدامها فإن نواقل الانتساخ المفيدة سوف يكون لها القدرة بصورة عاملة للانتساخ الذاتي ومكن أن تشتمل على مستهدف منفرد لإندولكياز تقييد محدد و/أو يمكن أن تحمل الجينات الخاصة بالمرقم الذي يمكن استخدامه في اختيار المستنسخات المشتملة على الناقل. تشتمل الأمثلة المناسبة على البلازميدات plasmids والفيروسات البلكتيية bacterial viruses ، على سبيل المثال، pUC18، pUC19، Bluescript (على سبيل المثال، pBS SK+) والمشتقات منها mp18، mp19 و pBR322 وpMB9 وColE1 و pCR1وRP4 و ملتهمة DNAs والنواقل الصاروخية مثل pSA3 وpAT28 . تكون تلك النواقل والعديد من النواقل الانتساخية الأخرى متاحة من مصادر البيع التجارية مثل BioRad و Stategene و Invitrogen .

تكون نواقل التعبير بصفة عامة عبارة عن بنيات بولي نيوكليوتيد قابلة للانتساخ والتي تشتمل على بولي نيوكليوتيد طبقاً للاختراع. من المفترض أن ناقل التعبير يجب أن يكون قابلاً للانتساخ في خلايا العائل إما في شكل مركبات إيبسوم episomes أو في شكل جزء متكامل من DNA الكروموسومي chromosomal. تشتمل نواقل التعبير المناسبة، على سبيل المثال لا الحصر على البلازميدات والنواقل الفيروسية والتي تشتمل على الفيروسات الغدية والفيروسات المرتبطة بالغدة والفيروسات الارتجاعية والكوزميدات cosmids وناقل (نواقل) التعبير التي تم الكشف عنها في نشرة PCT من الطلب الدولي رقم 04462/87. يمكن أن تشتمل مكونات الناقل بصفة عامة، على سبيل المثال لا الحصر على واحد أو أكثر مما يلي: متوالية الإشارة؛ أصل الانتساخ؛ وواحد

أو أكثر من الجينات المرقمة؛ وعناصر التحكم في الانتساخ (مثل المعززات والمحسنات ووسائل الإنهاء). بالنسبة للتعبير (أي، الترجمة) يكون من المطلوب واحدة أو أكثر من عوامل التحكم في الترجمة مثل مواضع ربط الريبوسوم ومواضع بدء الترجمة وكودونات الإيقافstop codons .

يمكن إدخال النواقل المشتملة على البولي نيوكليوتيدات محل الاهتمام بداخل خلية العائل من خلال عدد مناسب من الوسائل والتي تشتمل على الاستشراد الكهربي والقل الذي يستخدم كلوريد الكالسيوم calcium chloride وكلوريد الروبيديوم rubidium chloride وفوسفات الكالسيوم calcium phosphate وديكستيرين DEAE dextran أو أي مواد أخرى؛ ومواد تفضجير مقذوفات دقيقة والمعالجة الشحمية والعدوى على سبيل المثال، حيث أن الناقل يكون عبارة عن عامل معدي مثل الفيروس الوقسي vaccinia virus . إن اختيار إدخال النواقل والبولي ببتيدات سوف يعتمد في الغالب على سمات الخلية العائلة.

يمكن أن يكون البولي نيوكليوتيد المشفر لـ CAR الخاص بـ EGFRvIII الذي تم الكشف عنه هنا موجوداً في كاسيتات التعبير أو ناقل التعبير (على سبيل المثال، البلازميد الخاص بإنتاج خلية عائلة بكتيرية أو ناقل فيروسي مثل ناقل فيروس عصوي لغرض نقل العدوى لخلية عائلة محال الاهتمام أو بلازميد أو ناقل فيروسي مثل الفيروس البطيئة لنقل العدوى الخاصة بخلية عائل ثديية). في بعض النماذج، فإن البولي نيوكليوتيد أو الناقل يمكن أن يشتمل على متوالية حمض نووي تشفير متوالية تخطي الريبوزوم مثل، على سبيل المثال وليس الحصر متوالية مشفرة للببتيد 2A. تكون ببتيدات 2A التي تم تحديدها في المجموعة الفرعية من فيروس القلاع من فيروسات بيكورناوية مسبب لريبيسيوم "التخطي" من أحد الكودونات إلى الآخر بدون تشكيل رابطة ببتيدية بين اثنينم ن الأحماض الأمينية التي يتم تشفيرها بواسطة الكودونات (انظر، Donnelly and Elliott 2001; Atkins, Wills et al. 2007; Doronina, Wu et al. 2008). يقصد من كلمة "كودون" أن هناك ثلاثة من النيوكليوتيدات على mRNA (أو على الجديلة في اتجاه النسخ من جزيء DNA) والتي تمت ترجمتها باستخدام جسيمات شحمية بداخل وحدة بنائية من حمض الأمين. وبالتالي فإن هناك اثنين من البولي ببتيدات يمكن تخليقها من إطار قراءة مفتوح متصل بداخل imRNA عندما يتم فصل البولي ببتيدات بواسطة متوالية قليل نيوكليوتيد oligopeptide 2A sequence التي تكون في الإطار. تكون آليات تخطي الريبوزوم معروفة في المجال ومن

المعروف استخدامها بواسطة العديد من النواقل الخاصةب التعبير عن البروتينات المتعددة والتي تم تشفيرها بواسطة مرسل RNA منفرد.

ولكي يتم توجيه البولي ببتيدات عبر الغشاء بداخل مسار إفراز من الخلية العائلة وفي بعض النماذج فإن متوالية الإشارة (المعروف بأنها ببتيد إشارة أو متوالية أمامية أو متوالية prepro أو متوالية أولية) يتم تزويدها بمتوالية بولي نيوكليوتيد أو متوالية ناقل. يتم ربط متوالية الإشارة الخاصة بالإفراز مع متوالية حمض نووي عبر الغشاء، أي، اثنين من المتواليات اللتين يتم برطهما مع إطار قراءة صحيح ويتم تثبتهما مع بولي ببتيد خاص بالتخليق الجديد المباشر بداخل مسار وسيلة الإفراز من خلية عائلة. يتم تثبيت متواليات الإشارة الخاصة بالإفراز بشكل مشترك عند 5' من متوالية الحمض النووي التي تشفر البولي ببتيد محل الاهتمام على الرغم من أن متواليات الإشارة الخاصة بالإفراز يمكن تثبيتها في مكان آخر في متوالية الحمض النووي محل الاهتمام (انظرن على سبيل المثال، .Welch et al، البراءة الأمريكية رقم 5,037,743؛ Holland et al. والبراءة الأمريكية رقم 5,143,830). في بعض النماذج، فإن ببتيد الإشارة يشتمل على متولاية حمض أميني موضحة في المتوالية بهوية رقم 206 أو 214. سوف يتعرف الماهرون في المجال، في ضوء النقص في الشفرة الجينية أن التغير الكبير في المتوالية يكون ممكناً بين جزيئات البولي نيوكليوتيد. في بعض النماذج، فإن متواليات الحمض النووي من الاختراع تكون عبارة عن متواليات تم تحسينها بالكودون للتعبير في خلايا ثديية ويفضل، على سبيل المثال، للتعبير في خلايا بشرية. يشير التحسين بالكودون إلى التبادل في المتوالية محل الاهتمام من الكودونات التي تكون نادرة بصفة عامة في جينات تم التعبير عنها بصورة عالية من أنواع معينة بواسطة الكودونات والتي تكون متكررة بصفة عامة في الجينات التي تم التعبير عنها بصفة عالية من تلك الأنواع مثل الكودونات المشفرة لأحماض أمينية متطابقة مثل الكودونات التي تم تبادلها.

طريقة معالجة خلية مناعية

تم هنا توفير طريقة لتحضير خلايا مناعية لاستخدامها في العلاج المناعي.

في بعض النماذج، تشتمل الطرق على التقديم لـ CAR طبقاً للاختراع في خلايا مناعية وتمديد الخلايا

في بعض النماذج، يتعلق الاختراع بطريقة لمعالجة خلية مناعية تشتمل: على توفير خلية والتعبير على السطح لتلك الخلية عن CAR كما تم وصفه أعلاه.

تم وصف طرق معالجة الخلايا المناعية، على سبيل المثال، في نشرات للطلبات أرقام 039523/2014، 184741/2014، 191128/2014، 184744/2014، و 184143/2014 والتي تم تضمينها بكاملها كمرجع هنا.في بعض النماذج تشتمل الطريقة على: تحويل خلية باستخدام بولي نيوكليوتيد واحد على الأقل يشفر CAR كما تم وصفه أعلاه، و والتعبير عن البولي نيوكليوتيدات في الخلية.

في بعض النماذج، تكون البولي نيوكليوتيدات موجودة في نواقل الفيروسة البطيئة للتعبير الثابت في الخلايا.

في بعض النماذج، يمكن أن تشتمل الطريقة أيضاً على خطوة التعديل الجيني لخلية بواسطة التنشيط لجين تعبير واحد على الأقل، على سبيل المثال بدون تحديد، لمكون من TCR، ومستهدف خاص بعامل كبت مناعي وجين HLA و/أو بروتين نقطة فحص مناعي، مثل، على سبيل المثال، PDCD1، CTLA-4. ومن خلال تنشيط الجين، من المقصود أن يتم التعبير عن الجين محل الاهتمام في صورة بروتين وظيفي. في بعض النماذج، فإن الجين يتم اختياره من المجموعة المكونة من، على سبيل المثال، بدون حصر، TCRα،TCRβ، dCK، CD52، GR، PD-1، و CTLA-4 . في بعض النماذج، تشتمل الطريقة على إزالة تنشيط واحد أو أكثر من الجينات بواسطة الإدخال في الخلايا لإندوكلياز قطع نادر والذي يتم تثبيطه بشكل انتقائي بواسطة الجين من خلال اختيار انشطار DNA. في بعض النماذج، إن إنزيمات إندوكلياز endonuclease الخاصة بالقطع النادر يمكن أن تكون، على سبيل المثال، نيوكلياز مرسل مشابه للمنشط transcription activator-like effector nuclease (نيوكلياز TALE) أو إندوكلياز Cas9 endonuclease.

في بعض النماذج، يتم استخدام النطاق الحفزي الإضافي بدون إندوكلياز خاص بالقطع النادر لكي يتم تحسين القدرة الخاصة به في تثبيط الجينات المستهدفة. على سبيل المثال، فإن النطاق الحفزي يمكن أن يكون عبارة عن إنزيم معالجة طرفية DNA. تشتمل الأمثلة غير الحصرية من إنزيمات

المعالجة الطرفية على 5-3′ exonucleases, 3-5′ exonucleases, 5-3′ alkaline exonucleases, 5′ flap endonucleases, helicases, hosphatase, hydrolases وبوليميراز DNA مستقل عن الصورة الطبيعية. تشتمل الأمثلة غير الحصرية من النطاق الحفزي على نطاق البروتين أو المشتق الفعال الحفزي من نطاق البروتين المختار من مجموعة مكونة من hExoI (EXO1_HUMAN), Yeast ExoI (EXO1_YEAST), E. coli ExoI, Human TREX2, Mouse TREX1, Human TREX1, Bovine TREX1, Rat TREX1, TdT (terminal deoxynucleotidyl transferase) Human DNA2, Yeast DNA2 (DNA2_YEAST). في بعض النماذج، فإن النطاق الحفزي الإضافي يمكن أن يكون به نشاط إكسونيوكلاز 3′-5′ وفي بعض النماذج فإن النطاق الحفزي الإضافي يكون عبارة عن TREX ويفضل أكثر أن يكون النطاق الحفزي TREX2 (الطلب الدولي رقم 058458/2012). في بعض النماذج، فإن النطاق الحفزي يتم تشفيره بواسطة سلسلة منفردة من البولي ببتيد TREX. يمكن أن يتم دمج النطاق الحفزي الإضافي في بروتين اندماج أو بروتين خيمري. في بعض النماذج، يتم دمج النطاق الحفزي الإضافي باستخدام، على سبيل المثال، رابط ببتيدي.

في بعض النماذج، تشتمل الطريقة أيضاً على خطوة إدخال بداخل الخلايا لحمض نووي خارجي المنشأ يشتمل على متوالية واحدة على الأقل مشابهة لجزء من متوالية الحمض النووي المستهدفة بحيث يحدث تفاعل ناتج عودة الارتباط المتجانس بين متوالية الحمض النووي المستهدفة والحمض النووي خارجي المنشأ. في بعض النماذج، يشتمل الحمض النووي خارجي المنشأ على جزء أول وجزء ثاني والتي تكون متجانسة بالنسبة لـ 5′ و 3′ من متوالية الحمض النووي المستهدفة، على الترتيب. يمكن أن يشتمل الحمض النووي خارجي المنشأ أيضاً على جزء ثالث يتم تثبيته بين الجزء الأول والجزء الثاني والذي لا يشتمل على أي تجانس مع المناطق 5′ و 3′ من متوالية الحمض النووي المستهدفة. وبعد انشطار متوالية الحمض النووي المستهدفة، فإن حادث ناتج عودة الارتباط المتجانس يتم حثه بين متوالية الحمض النووي المستهدفة وحمض نووي خارجي المنشأ. في بعض النماذج فإن المتواليات المتجانسة من حوالي 50 زوج قاعدة، تكون أعلى من حوالي 100 زوج قاعدة أو أعلى من حوالي 100 زوج قاعدة أو أعلى من حوالي 200 زوج قاعدة والتي يمكن استخدامها في قالب المانح. يمكن أن يكون الحمض النووي خارجي المنشأ، على سبيل المثال،

وبدون تحديد من حوالي 200 زوج قاعدة إلى حوالي 6000 زوج قاعدة، ويفضل أكثر من حوالي 1000 زوج قاعدة إلى حوالي 2000 زوج قاعدة. تكون الصور المتجانسة للحمض النووي المشترك موجودة في مناطق تحيط بالجزء السفلي أو الجزء العلوي من موضع الكسر ومتوالية الحمض النووي المراد إدخالها في موضع بين الذراعين.

في بعض النماذج، فغن الحمض النووي يشتمل بشكل تتابعي على منطقة أولى من التجانس بالنسبة للمتوالية أعلى من الانشطار المذكور؛ ومتوالية خاصة بالتنشيط لمستهدف جين تم اختياره من المجموعة المكونة من TCRα، TCRβ، CD52، ومستقبل جلوكورتيكويد glucocorticoid receptor (GR)، دي أوكسي كريتيدين deoxycytidine kinase (dCK)، وبروتين نقطة الفحص المناعية مثل، على سبيل المثال، بروتين الموت المبرمج -1 (PD-1) programmed death-1 (PD-1)؛ و ومنطقة ثانية من التجانس بالنسبة للمتوالية بعد الانشطار. يمكن أن تكون خطوة إدخال البولي نيوكليوتيد عبارة عن خطوة متزامنة أو قبل أو بعد إدخال أو التعبير عن إندوكلياز القطع النادر. وبالاعتماد على موضع متوالية الحمض النووي المستهدفة حيث يحدث الكسر، فإن الحمض النووي خارجي النمو يمكن استخدامه لكي تتم معالجة الجين، على سبيل المثال، عندما يكون الحمض النووي خارجي النمو موجوداً بداخل إطار قراءة مفتوح من الجين أو لكي يتم إدخال متواليات جديدة أو جينات محل الاهتمام. يمكن استخدام إدراجات المتوالية التي تستخدم حمض نووي خارجي المنشأ لكي يتم تعديل جين موجود مستهدف من خلال تصحيح استبدال الجين مبادلة الأليل allele كمثال غير حصري ، أو لكي يتم تتم الزيادة أو النقص المتحكم فيه في التعبير الخاص بالجين المستهدف (مبادلة المعزز كمثال غير حصري) وتصحيح أو استبدال الجين المستهدف. في بعض النماذج، فإن عدم تنشيط الجينات يمكن اختياره من مجموعة تتكون من TCRα وTCRβ وCD52 وGR وdCK وبروتينات نقطة الفحص المناعية والتي يمكن إجراؤها عند الموضع الجينومي الدقيق الذي يتم استهدافه بواسطة نيوكلياز TALE محدد، حيث يتم تحفيز النيوكلياز لـ TALE الخاص المذكور لإندوكلياز وحيث أن الحمض النووي خارجي النمو يشتمل بشكل تتابعي على منطقة على الأقل من المتجانس ومتوالية تعمل على تثبيط نشاط أحد الجينات المستهدفة والذي تم اختياره من مجموعة تتكون من TCRα، TCRβ، CD52، GR، dCK وبروتينات نقطة الفحص المناعية والتي يتم تكاملها بواسطة ناتج

عودة الارتباط المتجانس. في بعض النماذج، فإن الجينات المتعددة يمكن أن تكون متتابعة أو يمكن أن تكون في نفس الزمن غير منشطة من خلال استخدام إنزيمات نيوكلياز TALE متعددة وعلى نحو خاص باستهداف جين محدد والعديد من البولي نيوكليوتيدات المحددة المتنوعة الخاصة بالجين غير المنشط.

في بعض النماذج، فإن الطريقة تشتمل على عدم تنشيط واحد أو أكثر من الجينات الإضافية التي تم اختيارها من مجموعة تتكون من TCRα،TCRβ، CD52، GR، dCK وبروتينات نقطة الفحص المناعية. في بعض النماذج فإن عدم تنشيط الجين يمكن أن يتم تحقيقه من خلال الإدخال في الخلايا لإنزيم إندوكلياز قطع واحد على الأقل مثل إندوكلياز القطع النادر والذي يقوم بالتحفيز الخاص في متوالية مستهدفة من الجينوم؛ وعلى نحو اختياري الإدخال بداخل الخلايا لحمض نووي خارجي المنشأ بشكل متتابع ويشتمل على منطقة أولى من التجانس بالنسبة لمتواليات علوية من الانشطار ومتوالية يتم إدراجها في جينوم الخلية ومنطقة ثانية من التجانس بالنسبة للجزء البعدي من الانشطار؛ حيث يقوم الحمض النووي خارجي المنشأ الذي تم إدخاله بتثبيط نشاط الجين ويتكامل على الأقل مع متوالية البولي نيوكليوتيد خارجية المنشأ المشفرة لبروتين ناتج عودة الارتباط واحد على الأقل محل الاهتمام. في بعض النماذج، فإن متوالية البولي نيوكليوتيد خارجية المنشأ يتم تكاملها بداخل الجين المشفر لبروتين تم اختياره من المجموعة المكونة من TCRα،TCRβ ، CD52، GR، dCK ونقطة الفحص المناعية.

في سمة أخرى، فإن خطوة التعديل الجيني للخلايا يمكن أن تشتمل على: تعديل الخلايا T بواسطة عدم تنشيط جين واحد على الأقل يعبر عن مستهدف خاص بعامل كابت للمناعة؛ وتمديد الخلايا وبشكل اختياري، في وجود العامل الكابت للمناعة. يكون العامل الكابت للمناعة عبارة عن عامل يكبت وظيفة مناعية من خلال واحدة من العديد من آليات التأثير. يمكن أن يقلل العامل الكابت للمناعة من المدى و/أو الشره الخاص بالاستجابة المناعية. تشتمل الأمثلة غير الحصرية من العوامل الكابتة للمناعة على مثبطات كالسينيورين ومستهدفات خاصة بريباميسين، ومعيقات إنترليوكين-2 لسلسلة α ومثبطات خاصة بأيونوسين مونو فوسفات ديهيدروجيناز ومثبطات خاصة بحمض داي هيدروفوليك ريداكتاز ومركبات كورتيكوستيرويد ومضادات لنواتج الأيض الكابتة للمناعة. تعمل المواد الكابتة للمناعة من السمية الخلوية على تثبيط تخليق DNA. يمكن أن تعمل

المواد الأخرى من خلال تنشيط الخلايا T أو من خلال تثبيط تنشيط خلايا المساعد. تسمح الطرق الخاصة بالاختراع بمنح مقاومة كابتة للمناعة خاصة بالخلايا T الخاصة بالعلاج المناعي من خلال تنشيط المستهدف الخاص بعامل كابت مناعي في الخلايا T. وكمثال غير حصري، فإن المستهدفات الخاصة بالعامل الكابت للمناعية يمكن أن يكون عبارة عن مستقبل خاص بعامل كابت للمناعة مثل، على سبيل المثال وليس الحصر CD52، مستقبل جلوكوكورتيكويد (GR)، وأعضاء جين عائلة FKBP وأعضاء جين عائلة سيكلو فيلين.

في بعض النماذج يشتمل التعديل الجيني من الطريقة على التعبير في الخلايا التي تم توفيرها لتعديل، على سبيل المثال، من خلال إندوكلياز قطع نادر مثل إندوكلياز القطع النادر الذي يحفز بشكل خاص الانشطار في الجين المستهدف وبالتالي يعمل على تنشيط الجين المستهدف. في بعض النماذج، فإن الطريقة الخاصة بالتعديل تشتمل، على سبيل المثال لا الحصر على واحدة أو أكثر من الخطوات التالية: توفير خلية T مثل، توفيرها من مزرعة خلية أو من عينة دم؛ واختيار الجين في مستهدف التعبير عن الخلية T الخاصة بعامل كبت مناعي؛ والإدخال في الخلية لإندوكلياز قطع نادر من الخلية T والقادر على التنشيط الانتقائي بواسطة انشطار DNA، ويفضل من خلال التكسر مزدوج الضفير للجين المشفر لمستهدف خاص بعامل كبت مناعي وتمديد الخلايا وبشكل اختياري في وجود عامل كبت مناعي.

في بعض النماذج، تشتمل الطريقة على: توفير خلية T مثل، تلك التي من المزرعة أو من عينة الدم؛ واختيار الجين في الخلية T حيث يعبر الجين عن مستهدف خاص بعامل كبت مناعي؛ وتحويل الخلية T باستخدام حمض نووي يشفر إندوكلياز قطع نادر قادر على التخميد الانتقائي بواسطة انشطار DNA، ويفضل من خلال الكسر الخاص بالجديلة المزدوجة للجين المشفر لمستهدف خاص بعامل كبت مناعي والتعبير عن إنزيمات إندوكلياز قطع نادر في خلايا T؛ وتمديد الخلايا وبشكل اختياري ي وجود عامل كبت مناعي.

في بعض النماذج فإن إنزيم إندوكلياز للقطع النادر يستهدف بشكل خاص CD52 أو GR. في بعض النماذج، يقوم الجين المختار للتنشيط على تشفير CD52 ومعالجة الكبت المناعي التي تشتمل على جسم مضاد متوافق مع البشر يستهدف مولد ضد CD52. في بعض النماذج، فإن الجين يتم اختياره من مجموعة خاصة بتنشيط GR ومعالجة كابتة مناعية تشتمل على مركب

كورتيكوستيوريد مثل ديكساميثاسون. في بعض النماذج، فإن الجين يتم اختياره لتثبيط عضو جين عائلة FKBP أو صورة متغيرة منها ومعالجة كابتة مناعية تشتمل على FK506 والتي يمكن أن تكون عبارة عن تاكلوريموس أو فيوجيميسين. في بعض النماذج، فإن عائلة عضو الجين من FKBP تكون عبارة عن FKBP12 أو صورة متغيرة منها. في بعض النماذج، فإن الجين يتم اختياره للتنشيط ويكون عبارة عن عضو جين عائلة سيكلو فيلين أو صورة متغيرة منه ومعالجة كابتة للمناعة من سيكلوسبورين.

في بعض النماذج، فإن إندوكلياز القطع النادر يمكن أن يكون على سبيل المثال، عبارة عن ميجانيوكلياز وإنزيم إصبع زنك أو إندوكلياز TALE. في بعض النماذج، فإن إندوكلياز القطع النادر يكون عبارة عن إندوكلياز TALE.

تم هنا أيضاً توفير طرق خاصة بتعديل الخلايا T والتي تكون مناسبة للعلاج المناعي حيث أن الطرق تشتمل على: التعديل الجيني لخلايا T بواسطة تنشيط بروتين نقطة فحص مناعية واحدة على الأقل. في بعض النماذج فإن بروتين نقطة الفحص المناعية يكون عبارة عن، على سبيل المثال، PD-1 و/أو CTLA-4. في بعض النماذج، تكون الطرق الخاصة بالتعديل المناعي للخلية مشتملة على: تعديل الخلايا T من خلال تثبيط بروتين نقطة الفحص المناعية الوحد على الأقل؛ وتمديد الخلايا. تشتمل بروتينات نقطة الفحص المناعية، على سبيل المثال لا الحصر، على بروتين الموت المبرمج 1- (PD-1 والمعروف أيضاً بأنه PDCD1 أو CD279 برقم وصول:NM_005018)؛ ومولد ضد 4- سام للخلايا اللمفاوية T (CTLA-4، المعروف أيضاً بأنه CD152، برقم وصول في بنك الجينات AF414120.1) وLAG3 (المعروف أيضاً بأنه CD223 برقم وصول في بنك الجينات: NM_002286.5)؛ وTim3 (المعروف بأنه HAVCR2 برقم وصول في بنك الجينات JX049979.1) وBTLA (المعروف أيضاً بأنه CD272 برقم وصول NM_181780.3)؛ وBY55 (المعروف أيضاً بأنه CD160، برقم وصول في بنك الجينات:CR541888.1)؛ TIGIT (المعروف أيضاً بأنه VSTM3، برقم وصول في بنك الجينات NM_173799)، و B7H5 (المعروف بأنه C10orf54، المتجانس بالنسبة لجين vista برقم وصول NM_022153.1)، LAIR1 (المعروف بأنه CD305 برقم وصول في بنك الجينات (CR542051.1)، SIGLEC10 (برقم وصول في بنك الجينات

AY358337.1، 2B4 (المعروف أيضاً بأنه CD244 برقم وصول في بنك الجينات —NM 001166664.1) والذي يثبط بشكل مباشر الخلايا المناعية. على سبيل المثال، فإن CTLA-4 يكون عبارة عن بروتين سطح الخلية تم التعبير عنه على خلايا CD4 وT CD8 معينة، عندما يتم تعشيقها بواسطة المركبات الترابطية (B7-1 و B7-2) وخلايا تعرض مولد الضد، وتنشيط الخلية T ويتم تثبيط وظيفة المرسل العصبي.

في بعض النماذج، فإن الطريقة المذكورة لتعديل الخلايا تشتمل على الأقل على خطوة واحدة من الخطوات التالية: توفير الخلية T مثلما هو الحال مع خلية المزرعة أو من عينة الدم؛ والإدخال بداخل الخلية T لإندوكلياز قطع نادر قادر على التثبيط الانتقائي لواسطة انشطار DNA، يفضل أن يكون ذلك من خلال قطع الجديلة المزدوج لجين واحد من بروتين نقطة الفحص المناعي؛ وتمديد الخلايا. في بعض النماذج، تشتمل الطريقة على: توفير الخلية T مثلما هو الحال من توفيرها من مزرعة الخلية أو من عينة الدم؛ ونقل العدوى للخلية T المذكورة باستخدام الحمض النووي المشفر لإندوكلياز قطع بشكل نادر قادر على التثبيط الانتقائي بواسطة انشطار DNA ويفضل من خلال قطع جديلة مزدوجة خاصة بالجين المشفر لبروتين نقطة الفحص المناعي؛ التعبير عن إندوكلياز قطع نادر في خلايا T؛ وتمديد الخلايا. في بعض النماذج، يقوم إنزيم بإندوكلياز قطع نادر باستهداف جين تم اختياره من المجموعة المكونة من:PD-1 ، CTLA-4، LAG3، Tim3، BTLA، BY55، TIGIT، B7H5، LAIR1، SIGLEC10، 2B4، TCRα، وTCRβ. في بعض النماذج يمكن أن يكون إنزيم إندوكلياز للقطع النادر عبارة عن ميجا نيوكلياز أو إصبع زنك من نيوكلياز أوTALE من نيوكلياز. في بعض النماذج فإن إندوكلياز الخاص بالقطع النادر يكون عبارة عن إندوكلياز TALE.

في بعض النماذج، فإن الاختراع الحالي يمكن أن يكون مناسباً بشكل خاص للعلاج المناعي الخيفي. في مثل تلك النماذج، فإن الخلايا يمكن أن يتم تعديلها بواسطة طريقة تشتمل على: تثبيط جين واحد على الأقل يشفر مكون من مستقبل الخلية T (TCR) في الخلايا T؛ وتمديد الخلايا T. في بعض النماذج، فإن التعديل الجيني من الطريقة يعتمد على التعبير، في الخلايا التي تم توفيرها لمعالجة، إندوكلياز قطع نادر بحيث يقوم الإندوكلياز الخاص بالقطع النادر بالتحفيز الخاص للانشطار في جين مستهدف واحد وبالتالي تثبيط الجين المستهدف. في بعض النماذ< فإن الطريقة

الخاصة بمعالجة الخلايا تشتمل على خطوة واحدة على الأقل مما يلي: توفير الخلية T، على سبيل المثال من مزرعة خلية أو من عينة دم؛ والإدخال في الخلية T إندوكلياز القطع النادر القادر على التثبيط الانتقائي بواسطة انشطار DNA ويفضل من خلال الكسر مزدوج الجديلة لجين واحد على الأقل يشفر مكون من مستقبل الخلية T (TCR) وتمديد الخلايا.

ي بعض النماذج، تشتمل الطريقة على: توفير الخلية T، على سبيل المثال، من مزرعة الخلية أو من عينة دم؛ ونقل العدوى للخلية T باستخدام حمض نووي يشفر إندوكلياز قط نادر قادر على التثبيط الانتقائي بواسطة DNA ويفضل من خلال الكسر مزدوج الجديلة عند جين واحد على الأقل يشفر مكون من مستقبل الخلية T T cell receptor(TCR)؛ والتعبير عن إندوكلياز قطع نادر بداخل خلايا T؛ تصنيع خلايا T التي تم نقل العدوى لها والتي لا تعبر عن TCR على سطح الخلية؛ وتمديد الخلايا.

في بعض النماذج، فإن إندوكلياز القطع لنادر يمكن أن يكون عبارة عن ميجا نيوكلياز أو نيوكلياز إصبع الزنك أو نيوكلياز TALE. في بعض النماذج، فإن إندوكلياز القطع الدائم يكون عبارة عن نيوكلياز TALE . في بعض النماذج فإن إندوكلياز TALE يتعرف على ويقوم بشطر متوالية تشفر TCRα أو TCRβ. في بعض النماذج فإن TALE يشتمل على متوالية البولي ببتيد التي تم اختيارها من متوالية الحمض الأميني الموضحة في المتوالية بهوية رقم: 218، 219، 220، 221، 222، 223، 224، أو 225.

متواليات بولي ببتيد نيوكلياز:-TALE

TRAC_T01-L المتكررة

LTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGK

QALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQA

HGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDG

GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLC

QAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHD

GGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLC

QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNI
GGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVL
CQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN
GGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPV
LCQAHGLTPQQVVAIASNGGGRPALE (متوالية بهوية رقم: 218)

TRAC_T01-R المتكررة

LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGK
QALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQA
HGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGG
KQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQ
AHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNN
GGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVL
CQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIAS
NIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPV
LCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIAS
HDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLP
VLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGRPALE (متوالية بهوية رقم: 219)

TRBC_T01-L المتكررة

LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGK
QALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQA
HGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGG
GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLC
QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNI
GGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVL

CQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIAS
HDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPV
LCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIA
SHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLP
VLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGRPALE (متوالية بهوية رقم: 220)

TRBC_T01-R المتكررة

NPQRSTVWYLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQV
VAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETV
QRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPE
QVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALE
TVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLT
PQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQ
ALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAH
GLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGG
KQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQ
AHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNN
GGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGRPALE (متوالية بهوية
رقم: 221)

TRBC_T02-L المتكررة

LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGK
QALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQA
HGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGG
KQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQ
AHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNN

GGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLC
QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN
NGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPV
LCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIA
SNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLL
PVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGRPALE(متوالية بهوية رقم: 222)

TRBC_T02-R المتكررة

LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGK
QALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQA
HGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGG
KQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQA
HGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDG
GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLC
QAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN
GGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPV
LCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIA
SNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRL
LPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGRPALE(متوالية بهوية رقم: 223)

CD52_T02-L المتكررة

LTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGK
QALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQA
HGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDG
GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLC
QAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNI

GGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVL
CQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIAS
HDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPV
LCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIA
SHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLP
VLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGRPALE(متوالية بهوية رقم: 224)

CD52_T02-R المتكررة

LTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGK
QALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQA
HGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDG
GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLC
QAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNI
GGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVL
CQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIAS
NGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLP
VLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAI
ASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLL
PVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGRPALE(متوالية بهوية رقم: 225).

في سمة أخرى، يمكن أن تكون خطوة أخرى خاصة بالتعديل الجيني للخلية عبارة عن طريق تمديد خلايا T التي بها نقص في TCRα وتشتمل تلك الطريقة على الإدخال بداخل الخلية T لـ pTα (المعروف أيضاً بأنه TCRα أولي أو صورة وظيفية متغيرة منه وتمديد الخلايا وبشكل خاص من خلال حث معقدCD3 . في بعض النماذج، فإن الطريقة تشتمل على: أ) نقل الخلايا باستخدام حمض نووي يشفر شظية واحدة على الأقل من pTα التي تدعم التعبير السطحي لـ CD3؛ ب)

التعبير عن pTα المذكور في الخلايا؛ و ج) تمديد الخلايا، وبشكل اختياري من خلال حث معقد CD3.

تم أيضاً توفير طرق لتحضير خلايا T لعلاج مناعي يشتمل على خطوات الطريقة التي تم توفيرها هنا لتمديد الخلايا T. في بعض النماذج، يمكن أن يتم إدخال متوالية البولي نيوكليوتيد pTα بشكل عشوائي أو عن طريق ناتج عودة الارتباط الجيني. في بعض النماذج، فإن يمكن أن يرتبط الإدراج مع تثبيط نشاط جين TCRα.

يمكن استخدام الصور المتغيرة الوظيفية المختلفة من pTα. تشير "الصورة المتغيرة الوظيفية" م البولي ببتيد إلى جزيء يكون مشابهاً لأي ببتيد كامل أو شظية منه. تشير "شظية" من pTα أو صورة متغيرة وظيفية منه إلى أي مجموعة فرعية من الجزيء والذي يكون عبارة عن ببتيد أقصر من pTα من الطول الكامل. في بعض النماذج فإن pTα من الصور المتغيرة الوظيفية، يمكن أ، تكون على سبيل المثال، عبارة عن pTα كاملة الطول أو عبارة عن طرف C مقطوع من نسخة pTα. تفتقر pTα من الطرف المقطوع إلى النهاية الطرفية –C وواحد أو أكثر من الوحدات البنائية. وكأمثلة غير حصرية، فإن النسخة pTα المقطوعة من الطرف –C يمكن أن تفتقر للوحدات البنائية 18، 48، 62، 78، 92، 110 أو 114 من الطرف C من البروتين. يمكن تحضير الصور المتغيرة من متوالية الحمض الأميني من الببتيد بواسطة التطفيرات في DNA والتي تشفر الببتيد. تشتمل مثل تلك الصور المتغيرة الوظيفية، على سبيل المثال، على حذوفات أو إدراجات أو استبدالات للوحدات البنائية في متوالية الحمض الأميني. يمكن الوصول لأي توليفة من الحذف أو الإدراج أو الاستبدال عند البنية النهائية بشرط أن البنية النهائية تشتمل على النشاط المطلوب في استعادة محددة من معقد CD3 الوظيفي. في نموذج مفضل، يمكن إدخال تطفير واحد على الأقل في نسخ pTα مختلفة كما تم وصفه أعلاه لكي يتم إجراء عملية الديمرة. وكمثال غير حصري، فإن الوحدات المتطفرة يمكن أن تكون على الأقل عبارة عن D22A،W46R ، K24A، R102A أو R117A من بروتين pTα أو مواضع تمت محاذاتها معها باستخدام طريقة CLUSTALW على عائلة pTα أو عضو متجانس. يفضل أن تشتمل pTα أو الصورة المتغيرة منها على الوحدة البنائية المتطفرة W46R أو الوحدات البنائية المتطفرة D22A وK24A و R102Aو R117A . في بعض النماذج، يتم أيضاً دمج pTα المذكور أو الصور المتغيرة منها

مع نطاقات ناقلة للإشارة مثل CD28وOX40 وICOS وCD27 و (4-1BB) CD137 وCD8، كأمثلة غير حصرية. يمكن أن يتم دمج النطاق خارج الخلية من pTα أو الصور المتغيرة منه كما تم وصفه هنا أعلاه مع شظية من بروتين TCRα، وعلى نحو خاص النطاق عبر الغشاء من نطاق داخل الخلية من TCRα. يمكن أن يتم دمج الصور المتغيرة pTα مع النطاق بداخل الخلية من TCRα.

في بعض النماذج يمكن دمج نسخ pTα مع النطاق الرابط للمركب الترابطي خارج الخلية. في بعض النماذج، يتم دمج pTα أو الصورة المتغيرة الوظيفية منه مع شظية جسم مضاد بسلسلة منفردة (scFv) التي تشتمل على شظية متغيرة بسلسلة خفيفة وثقيلة من جسم مضاد أحادي النسيلة خاص بمولد ضد مستهدف يتم ربطه مع رابط مرن.

يشير المصطلح "خلية T ينقصها TCRα" إلى خلية T والتي تفتقر إلى التعبير عن سلسلة TCRα وظيفية. يمكن تحقيق ذلك بواسطة وسائل مختلفة في شكل أمثلة غير حصرية من خلال المعالجة الخاصة بالخلية T مثل تلك التي لا يتم التعبير عنها بأي TCRα وظيفي على السطح الخاص به أو بأي معالجة لخلية T مثل تلك التي تنتج سلسلة TCRα وظيفية صغيرة على السطح الخاص بها أو من خلال تعديل خلية T لكي يتم التعبير عن الصورة المتطفرة أو الصورة المقطوعة من سلسلة TCRα. يمكن ألا يتم تمديد الخلايا التي بها نقص في TCRα من خلال المعقد CD3. وبالتالي ولكي يتم التغلب على المشكلة والسماح بتكاثر الخلايا التي بها عيوب من TCRα، فإن pTα أو الصورة المتغيرة الوظيفية منها يتم إدخالها في الخلايا وبالتالي استعادة معقد CD3 الوظيفي. في بعض النماذج، فإن الطريقة تشتمل أيضاً على الإدخال في خلايا المذكورة إنزيمات إندوكلياز القاطعة بشكل نادر لخلايا T والتي تكون قادرة على التثبيط الانتقائي لانشطار DNA من جين واحد يشفر أحد مكونات مستقبل الخلية T (TCR). في بعض النماذج، فإن إنزيم إندوكلياز الخاص بالقطع النادر يكون عبارة عن إنزيم إندوكلياز TALE.

في سمة أخرى فإن الخلايا المعدلة لـ T التي تم الحصول عليها بواسطة الطرق الموصوفة هنا يمكن أن يتم تلامسها مع الأجسام المضادة ثنائية النوعية. على سبيل المثال، فإن خلايا T يمكن ملامستها مع الأجسام المضادة ثنائية النوعية خارج الكائن الحي قبل الإعطاء للمريض أو في الكائن الحي بعد الإعطاء للمريض. يمكن أن تشتمل الأجسام المضادة ثنائية النوعية على اثنين

من المناطق المتغيرة مع خصائص مولد ضد متمايزة والتي تعمل على تسهيل جعل الخلايا التي تمت معالجتها في اقتراب مع مولد الضد المستهدف. وكمثال غير حصري، فإن الجسم المضاد ثنائي النوعية يمكن أن يتم توجيهه في مقابل مرقم الورم ومولد الضد الخاص بالخلايا اللمفاوية مثل، على سبيل المثال، بدون تحديد، CD3 الذي يكون به احتمالية لإعادة توجيه وتنشيط أي خلايا T دوارة في مضادة الأورام.

في بعض النماذج، فإن البولي نيوكليوتيدات المشفرة للبولي ببتيدات طبقاً للاختراع الحالي يمكن أن تكون عبارة عن mRNA والتي تم إدخالها بشكل مباشر في الخلايا، على سبيل المثال، بواسطة الاستشراد الكهربي. في بعض النماذج، يمكن استخدام تقنية cytoPulse لكي يتم جعل الخلايا الحية قابلة للنفاذ لكي يتم توصيل مادة بداخل تلك الخلايا. يمكن تعديل المتغيرات لكي يتم تحديد الظروف الخاصة بالفعالية التي بها نقل عدوى عال مع معدل وفاة عند الحد الأدنى له.

تم هنا أيضاً توفير طرق لتحويل الخلايا T. في بعض النماذج تشتمل الطريقة على: ملامسة الخلية T مع RNA والاستخدام مع الخلية T مع متوالية نبضية خفيفة تتكون من: (أ) نبض كهربي مع مدى فولتية من حوالي 2250 إلى 3000 فولت لكل سنتيمتر؛ (ب) عرض نبضة من 0.1 مللي سيمينز؛ (ج) فاصل نبضة من حوالي 0.2إلى 10 مللي سيمنز بين النبضات الكهربية من الخطوة (أ) و (ب)؛ (د) نبض كهربي مع مدى فولتية من حوالي 2250 إلى 3000 فولت مع عرض نبضة من حوالي 100 مللي سيمينز وفاصل نبضة من حوالي 100 مللي سيمينز بين النبضة الكهربائية من الخطوة (ب) و النبضة الكهربائية الأولى من الخطوة (ج)؛ و (هـ) لأربعة نبضات كهربائية مع فولتية من حوالي 325 فولت مع عرض نبضة من حوالي 0.2 مللي سيمينز وفاصل نبضة من 2 مللي سيمينز بين بين كل من 4 نبضات كهربائية. في بعض النماذج، تشتمل طريقة لتحويل الخلية T على ملامسة الخلية المذكورة T مع RNA و استخدام الخلية T لمتوالية نبضية خفيفة تشتمل: (أ) نبض كهربي مع فولتية من حوالي 2250، 2300، 2350، 2400، 2450، 2500، 2550، 2400، 2450، 2500، 2600، 2700، 2800، 2900 أو 3000 فولت لكل سنتيمتر؛ (ب) عرض نبضة من 0.1 مللي سيمينز؛ (ج) وفاصل نبضة من حوالي 0.2، 0.5، 1، 2، 3، 4، 5، 6، 7، 8، 9 أو 10 مللي سيمينز بين النبضات الكهربية من الخطوة (أ) و (ب)؛ (د) نبضة كهربائية واحدة مع مدى فولتية من حوالي 2250، من 2250،

2300، 2350، 2400، 2450، 2500، 2550، 2400، 2450، 2500، 2600، 2700، 2800، 2900 أو 3000 فولت مع عرض نبضة من 100 مللي سيمينز و وفاصل نبضة من 100 مللي سيمينز بين النبضة الكهربائية من الخطوة (ب) و النبضة الكهربائية الأولى من الخطوة (ج)؛ و (هـ) 4 نبضات كهربائية مع فولتية من حوالي 325 فولت مع عرض نبضة من حوالي 0.2 مللي سيمينز و فاصل نبضة من حوالي 2 مللي سيمينز بين بين كل من 4 نبضات كهربائية. تم الكشف عن أي قيم تم تضمينها في مدى القيم التي تم وصفها أعلاه في الطلب الحالي. يمكن أ، يكون وسط الاستشراد الكهربي عبارة عن أي وسط مناسب معروف في المجال. في بعض النماذج، فإن وسط الاستشراد الكهربي يكون له موصلية في مدى من السعة من حوالي 0.01 إلى حوالي 1.0 مللي سيمنز.

في بعض النماذج، وكما هو في الأمثلة غير الحصرية، فإن RNA تشفر إندوكلياز قطع نادر ومونومر من إندوكلياز القطع النادر مثل نيوكلياز TALE نصفي وCAR ومكون واحد على الأقل من مستقبل مولد الضد الخيمري متعدد السلسلة وpTα أو الصورة المتغيرة الوظيفية منه أو حمض نووي خارجي المنشأ و/أو نطاق حفزي إضافي.

الخلايا المناعية المعدلة

يوفر الاختراع أيضاً خلايا معدلة تشتمل على أيٍ من البولي نيوكليوتيدات CAR التي تم وصفها هنا. في بعض النماذج، فإن CAR يمكن إدخاله في خلية مناعية مثل الجين الاتقالي من خلال ناقل بلازميد. في بعض النماذج، يمكن أن يشتمل ناقل البلازميد، على سبيل المثال، على مرقم اختيار والذي يوفر تحديد و/أو انتقاء الخلايا التي تستقبل الناقل.

يمكن أن يتم تخليق بولي ببتيد CAR في الموضع في الخلية بعد إدخال البولي نيوكليوتيدات المشفرة لبولي ببتيد CAR في الخلية. وعلى نحو بديل، فإن بولي ببتيدات CAR يمكن أن يتم إتناجها خارج الخلايا وبعد ذلك إدخالها إلى الخلايا. تكون طرق إدخال بنية البولي نيوكليوتيد بداخل الخلايا معروفة في المجال. في بعض النماذج، يمكن استخدام طرق نقل العدوى لكي يتم تكامل بنية البولي نيوكليوتيد في جينوم الخلية. في نماذج أخرى، يمكن استخدام طرق نقل العدوى العابر لكي يتم التعبير بشكل عابر عن بنية البولي نيوكليوتيد وبنية البولي نيوكليوتيد التي لا يتم

تكاملها بداخل جينوم الخلية. يمكن استخدام نماذج أخرى وطرق يتوسطها الفيروس أخرى. يمكن إدخال البولي نيوكليوتيدات بداخل خلية بواسطة أي وسيلة مناسبة مثل، على سبيل المثال، النواقل الفيروسية ناتجة عودة الارتباط (على سبيل المثال، الفيروسات الارتجاعية، الفيروسات الغدية) والجسيمات الشحمية وما شابه ذلك. تشتمل طرق نقل العدوى العابرة، على سبيل المثال لا الحصر على، الحقن الدقيق والاستشراد الكهربي أو تفجير الجسيم. يمكن تضمين البولي نيوكليوتيدات في النواقل مثل نواقل البلازميد، على سبيل المثال، أو النواقل الفيروسية.

تم هنا أيضاً توفير خلايا معزولة وسلالات خلية تم الحصول عليها بواسطة الطرق الموصوفة أعلاه من الخلايا المعدلة التي تم توفيرها هنا. في بعض النماذج، فإن الخلية المعزولة تشتمل على CAR على الأقل كما تم وصفه أعلاه. في بعض النماذج فإن الخلية المعزولة تشتمل على مجموعة من CARs ويشتمل كل CAR على نطاقات رابطة لمركب ترابطي خارج الخلية مختلفة.

تم هنا أيضاً توفير خلايا مناعية معزولة تم الحصول عليها طبقاً لأيٍ من الطرق الموصوفة أعلاه. يمكن استخدام أي خلية قادرة للتعبير عن DNAs غير المتجانس لغرض التعبير عن CAR محل الاهتمام. في بعض النماذج، فإن الخلية لمناعية تكون عبارة عن الخلية T. في بعض النماذج يتم اشتقاق الخلية المناعية من، على سبيل المثال وليس الحصر، خلية جذعية. يمكن أن تكون الخلايا الجذعية عبارة عن خلايا جذعية لبالغ أو خلايا جذعية من جنين غير بشري وعلى نحو أ:ثر تحديداً خلايا جذعية غير بشرية أو خلايا جذعية لدم الحبل السري أو خلايا سليفة أو خلاليا جذعية لنخاع العظم أو خلايا جذعية متعددة المهام مستحثة أو خلايا جذعية مكتملة النمو أو خلايا جذعية مكونة للدم. تكون الخلايا البشرية التوضيحية عبارة عن خلايا CD34+. يمكن أن تكون الخلية المعزولة عبارة عن خلية تغضنية أو خلية تغضنية قاتلة أو خلية بدينة أو خلية NK أو خلية B أو خلية T تم اختيارها من المجموعة المكونة من الخلايا اللمفاوية T والخلايا اللمفاوية T السامة للخلايا أو الخلايا اللمفاوية T المنظمة أو الخلايا اللمفاوية T الخاصة بالذاكرة أو الخلايا اللمفاوية T للمساعد. في بعض النماذج، فإن الخلية يمكن اشتقاقها من مجموعة تتكون من الخلايا اللمفاوية CD4+ T والخلايا اللمفاوية CD8+ T.

وقبل أن يتم التمديد والمعالجة الجينية، يمكن الحصول على مصدر الخلايا من الخاضع من خلال العديد من الطرق غير الحصرية. يمكن الحصول على الخلايا من عدد من المصادر غير

الحصرية والتي تشتمل على خلايا نووية أحادية من الدم الطرفي ومن نخاع العظم ومن نسيج عقدة لمفية ومن الحبل السري ومن نسيج الغدة الصعترية ومن نسيج من موضع العدوى أو من جزء الاستسقاء أو من جزء الانصباب الجنبي أو من نسيج الطحال ومن الأورام. في بعض النماذج، يمكن استخدام أي عدد من سلالات الخلية T المتاح والمعروف لذوي المهارة في المجال. في بعض النماذج يمكن اشتقاق الخلايا من مانح سليم أو من مريض تم تشخيص أن به سرطان أو من مريض تم تشخيص أن به عدوى. في بعض النماذج يمكن أن تكون الخلايا عبارة عن جزء من مجموعة مختلطة من الخلايا والتي تقدم خصائص أنماط ظاهرية مختلفة.

وتم أيضاً توفير سلالات خلية تم الحصول عليها من الخلية T التي تم نقل العدوى لها طبقاً لأيٍ من الطرق التي تم وصفها أعلاه. تم أيضاً هنا توفير خلايا معدلة مقاومة لمعالجة بالكبت المناعي. في بعض النماذج، تشتمل الخلية المعزولة طبقاً للاختراع على بولي نيوكليوتيد يشفر CAR.

يمكن أن يتم تنشيط الخلايا المناعية من الاختراع ويمكن تمديدها، إما قبل أو بعد التعديل الجيني لخلايا T باستخدام طرق تم وصفها بشكل عام، وعلى سبيل المثال وبدون حصر في البراءات في الولايات المتحدة أرقام: 6,352,694؛ 6,534,055؛ 6,905,680؛ 6,692,964؛ 5,858,358؛ 6,887,466؛ 6,905,681؛ 7,144,575؛ 7,067,318؛ 7,172,869؛ 7,232,566؛ 7,175,843؛ 5,883,223؛ 6,905,874؛ 6,797,514؛ 6,867,041 و نشرة طلب البراءة الأمريكي رقم. 20060121005. يمكن أن يتم تحديد الخلايا في لمعمل أو في الكائن الحي. وبصفة عامة فإن الخلايا T من الاختراع يمكن أن يتم تحديدها، على سبيل المثال، من خلال التلامس مع عامل يعمل على حث معقد CD3 TCR وجزيء الحث المشترك على سطح الخلايا T لإنشاء إشارة تنشيط خاصة بالخلية T. على سبيل المثال، يمكن استخدام المواد الكيميائية مثل أيزو فوسفور كالسيوم A23187، فوربول 12-ميريستات و13- أسيتات (PMA) أو راصة دموية نباتية مشابهة لمركبات ليكتين مولدة للتفتل (PHA) لكي يتم إنشاء إشارة تنشيط خاصة بالخلية T.

في بعض النماذج، يمكن حث مجموعات الخلية T في المعمل من خلال التلامس مع، على سبيل المثال، مضاد الجسم المضاد لـ CD3 أو شظية رابطة لمولد الضد منها أو جسم مضاد لـ CD2

مثبط على السطح أو من خلال التلامس مع منشط C كيناز من البروتين (على سبيل المثال، بريوستاتين) في ارتباط مع أيزو فوسفور كالسيوم. وبالنسبة للحث المشترك الخاص بجزيء إضافي على سطح الخلايا T فقد تم استخدام مركب ترابطي يربط الجزيء الإضافي. على سبيل المثال، يمكن إنشاء الخلايا T مع الجسم المضاد لـ CD3 والجسم المضاد لـ CD28 تحت ظروف مناسبة للتكاثر الذي تم حثه بالخلايا T. تشتمل الحالات المناسبة لمزرعة الخلية T على أوساط مناسبة (على سبيل المثال، وسط من نوع Minimal Essential Media أو وسط RPMI 1460 أو X-Vivo 15 (Lonza)) التي تشتمل على عوامل ضرورية للتكاثر والإتاحة بما في ذلك المصل (على سبيل المثال، مصل جنين البقر أو مصر بشري) وإنترليوكين -2 (IL-2) وأنسولين، IFN-γ، IL-4، IL-7، GM-CSF، IL-10، IL-2، IL-15، TGFp، وTNF أو أي مادة إضافة خاصة بنمو الخلايا معروفة لذوي المهارة في المجال. تشتمل مواد الإضافة الأخرى الخاصة بنمو الخلايا، على سبيل المثال لا الحصر على، المادة الخافضة للتوتر السطح والبلازمانات وعوامل اختزال مثل N -أسيتيل سيستين و 2- ميركابتو إيثانوا. يمكن أن تشتمل الأوساط على RPMI 1640، AIM-V، DMEM، MEM، a- MEM، F-12، X-Vivo 10، وX-Vivo 20. يتم توفير المحسن الذي به أحماض أمينية مضافة أو بيورفات صوديوم أو فيتامينات إما أن يكون خالياً من المصل أو مزوداً بكمية مناسبة من المصل (أو البلازما) أو مجموعة محددة من الهرمونات و/أو كمية من السيتوكينات الكافية لنمو وتمديد الخلايا T. تم تضمين المضادات الحيوية مثل البنسيلين والستربتوميسين في المزارع التجريبية ولكن ليس في مزارع الخلية والتي يتم دمجها بداخل الخاضع. تم الحفاظ على الخلايا المستهدفة تحت الظروف الضرورية لدعم النمو، على سبيل المثال، على سبيل المثال، في درجة حرارة مناسبة (على سبيل المثال، 37 ْم) وعند جو (على سبيل المثال هواء به 5% من CO2). تقوم الخلايا T التي تم تعريضها لأزمنة حث مختلفة بعض خصائص مختلفة.

في بعض النماذج، يمكن تمديد الخلايا من الاختراع بواسطة الزراعة المشتركة باستخدام نسيج أو خلايا. يمكن تمديد الخلايا في الكائن الحي، على سبيل المثال، في دم الخاضع بعد إعطاء الخلية في الخاضع.

في بعض النماذج، فإن الخلية المعزولة طبقاً للاختراع الحالي تشتمل على جين غير منشط واحد تم اختياره من مجموعة تتكون من: CD52، dCK، GR، PD-1، CTLA-4، LAG3، Tim3، BTLA، BY55، TIGIT، B7H5، LAIR1، SIGLEC10، 2B4، HLA، TCRαو TCRβ و/أو تعبر عن CAR و CAR من سلسلة متعددة و/أو جين انتقالي من pTα. في بعض النماذج، فإن الخلية المعزولة تشتمل على بولي نيوكليوتيدات تشفر بولي ببتيدات تشتمل على CAR من سلسلة متعددة. في بعض النماذج، فإن الخلية المعزولة طبقاً للاختراع الحالي تشتمل على اثنين من الجينات غير المنشطة التي تم اختيارها من المجموعة المكونة من: CD52 و GR، CD52 و TCRα، CDR52 و TCRβ، GR و TCRα، GR و TCRβ، TCRα و TCRβ، PD-1 و TCRα، PD-1 و TCRβ، CTLA-4 و TCRα، CTLA-4 و TCRβ، LAG3 و TCRα، LAG3 و TCRβ، Tim3 و TCRα، Tim3 و TCRβ، BTLA و TCRα، BTLA و TCRβ، BY55 و TCRα، BY55 و TCRβ، TIGIT و TCRα، TIGIT و TCRβ، B7H5 و TCRα، B7H5 و TCRβ، LAIR1 و TCRα، LAIR1 و TCRβ، SIGLEC10 و TCRα، SIGLEC10 و TCRβ، 2B4 و TCRα، 2B4 و TCRβو/أو، والتي تعبر عن CAR، CAR من السلسلة المتعددة والجين الانتقالي pTα.

في بعض النماذج يتم جعل TCR غير وظيفي في الخلايا طبقاً للاختراع من خلال تثبيط جين TCRαو/أو جين (جينات) gene and/or TCRβ gene(s). في بعض النماذج، يتم توفير الطريقة الخاصة بالحصول على الخلايا المعدلة يتم اشتقاقها من فرد حيث أن الخلايا يمكن أن تقوم بالتكاثر بشكل مستقل فيما يتعلق بمسار إشارة لمعقد قابل للتوافق النسيجي عند الحد الكامل له major histocompatibility complex (MHC). يمكن الحصول على الخلايا المعدلة والتي تكون متكاثرة بشكل غير مستقل من مسار إشارة MHC والتي يمكن الحصول عليها بواسطة تلك الطريقة وتم تضمينها في مجال الاختراع الحالي. يمكن استخدام الخلايا المعدلة التي تم الكشف عنها هنا لمعالجة مرضى في حاجة للمعالجة من مرض رفض العضو المزروع من قِبل العائل Host versus Graft (HvG) والجزء المزروع في مقابل مرض العائل Graft versus Host Disease (GvHD)؛ وبالتالي وفي مجال الاختراع الحالي تم توفير طريقة لمعالجة مرضى في

حاجة للمعالجة من رفض العائل في مقابل العضو المزروع Host versus Graft (HvG) ومرض العضو المزروع في مقابل مرض العائل Graft versus Host Disease (GvHD) الذي يشتمل على معالجة المريض المذكور من خلال إعطاء المريض المذكورة كمية فعالة من خلايا معدلة تشتمل على TCRα غير منشط و/أو جينات TCRβ.

في بعض النماذج، فإن الخلايا المناعية تتم معالجتها لكي تكون مقاومة لواحد أو أكثر من عقاقير العلاج الكيماوي. يمكن أن يكون العلاج الكيميائي، على سبيل المثال، عبارة عن نظير نيوكليوتيد بيورين purine nucleotide analogue (PNA) وبالتالي تحضير الخلية المناعية المناسبة لمعالجة السرطان مدمجة مع علاج مناعي تكيفي وعلاج مناعي. تشتمل PNAs التوضيحية، على سبيل المثال، على كلوفاربين clofarabine وفلودارابين fludarabine وسيتارابين cytarabine بمفردها أو في توليفة. تمت معالجة PNAs بصورة أيضية بواسطة دي أوكسي سيتيدين كيناز deoxycytidine kinase (dCK) في تراي فوسفات أحادية أو ثنائية أو ثلاثية من PNA. وتقوم صور الفوسفات الثلاثية منها بالتنافس مع ATP فيما يتعلق بتخليق DNA والتأثير على العوامل المساعدة للموت المبرمج للخلية والتي تكون عبارة عن مثبطات فعالة خاصة بريداكتاز ريبونيوكليوتيد ribonucleotide reductase (RNR)، والذي تم إدخاله في إنتاج تراي نيوكليوتيد. تم هنا توفير خلايا CAR-T الخاصة بـ EGFRvIII التي تشتمل على جين dCK غير المنشط. في بعض النماذج، فإن الخلايا المعالجة بـ dCK قد تم تحضيرها بواسطة نقل العدوى لخلايا T باستخدام البولي نيوكليوتيدات المشفرة لنيوكلياز TAL معينة وتم توجيهها في مضادة جينات dCK بواسطة، على سبيل المثال، الاستشراد الكهربي من mRNA. تكون خلايا CAR-T الخاصة بـ EGFRvIII التي تمت معالجتها بـ dCK مقاومة لـ PNAs، بما في ذلك، على سبيل المثال، كلوروفارابين و/أو فلودارابين والحفاظ على السمة الخليوة للخلية T نحو الخلايا المعبرة عن EGFRvIII. في مثال آخر، فإن عقار العلاج الكيماوي يكن أن يكون، على سبيل المثال، عبارة عن جزيء يستهدف CD52، مثل الجسم المضاد لـ CD52 أحادي النسيلة (على سبيل المثال، أليمتوزوماب). يكون CD52 عبارة عن بروتين يوجد على سطح الخلايا اللمفاوية ويمكن أ تكون الأجسام المضادة لـ CD52 قد تم حثها بواسطة العلاج الكيماوي وتحلل الخلايا المناعية خلال الجسم المضاد والسمية الخلوية المعتمدة على المتمم مما يؤدي لتدمير النسيج

اللمفاوي. تم هنا أيضاً توفير خلايا CAR-T خاصة بـ EGFRvIII التي تشتمل على جين CD52 غير منشط. في بعض النماذج، فإن الخلايا المعالجة بـ CD52 يتم تجهيزها من خلال نقل العدوي للخلايا T باستخدام البولي نيوكليوتيدات المشفرة لنيوكلياز TAL محدد تم توجيهه في مضادة جين CD52، بواسطة، على سبيل المثال، الاستشراد الكهربي من mRNA. تكون خلايا CAR-T الخاصة بـ EGFRvIII المعالة بـ CD52 مقاومة بالنسبة لجزيئات CD52، بما في ذلك، على سبيل المثال، أليميتوزوماب والحفاظ على النشاط السام للخلية T نحو الخلايا المعبرة عن EGFRvIII في وجود جزيئات مضادة لـ CD52.

في بعض النماذج، فإن الخلايا المعزولة أو سلالات الخلية من الاختراع يمكن أن تشتمل على pTα أو الصورة المتغيرة الوظيفية منها. في بعض النماذج فإن الخلية المعزولة أ, سلالة الخلية يمكن أن يتم تعديلها بشكل جيني بواسطة تثبيط جين TCRα.

في نماذج أخرى، فإن خلايا CAR-T تشتمل على بولي نيوكليوتيد يشفر بولي ببتيد خاص بالانتحار، مثل، على سبيل المثال، RQR8. انظر، على سبيل المثال، الطلب الدولي رقم 2013153391أ ، والذي تم تضمينه كمرجع هنا بكامله. في خلايا CAR-T التي تشتمل على البولي نيوكليوتيد المشفر لبولي ببتيد انتحار فإن البولي ببتيد الخاص بالانتحار يتم التعبير عنه على سطح خلية CAR-T. في بعض النماذج، فإن البولي ببتيد الخاص بالانتحار يشتمل على متوالية حمض أميني موضح في المتوالية بهوية رقم 226:

CPYSNPSLCSGGGGSELPTQGTFSNVSTNVSPAKPTTTACPYSNPSLCS

GGGGSP

APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT

CGVLLLS LVITLYCNHRNRRRVCKCPRPW (المتوالية بهوية 226).

في بعض النماذج، فإن البولي ببتيد الخاص بالانتحار يمكن أن يشتمل على ببتيد إشارة عند طرف الأمين. عندما تم التعبير عن البولي ببتيد الخاص بالانتحار عند سطح خلية CAR-T فإن ربط ريتوكسيماب بالقمم اللاصقة من R [أي القمة اللاصقة بواسطة ريتوكسيماب CPYSNPSLC – (المتوالية بهوية رقم 256)] من البولي ببتيد يمكن أن تسبب في تحلل الخلية. وهناك أكثر من

جزيء ريتوكسيماب يمكن ربطه مع البولي ببتيد الذي تم التعبير عنه على سطح الخلية. يمكن أن ترتبط كل قمة لاصقة من R من البولي ببتيد مع جزيء منفصل من ريتوكسيماب. يمكن أن يتم حث حذف خلايا CAR-T الخاصة بـ EGFRvIII في الكائن الحي، على سبيل المثال، بواسطة إعطاء ريتوكسيماب للمريض. إن قرار حذف الخلايا التي تم نقل العدوى لها يمكن أن يكون ناتجة من التأثيرات غير المرغوبة التي يمكن أن يتم اكتشافها في المريض حيث ترجع تلك التأثيرات إلى الخلايا التي تم نقل العدوى لها، مثل، على سبيل المثال، عندما يتم اكتشاف مستويات غير مرغوبة من سمية الخلية.

في بعض النماذج، يمكن أن يشتمل البولي ببتيد الخاص بالانتحار على واحد أو اثنين أو ثلاثة أو أكثر من القمم الرابطة التي يمكن التعرف عليها بواسطة جسم مضاد (على سبيل المثال، ريتوكسيماب).

في بعض النماذج، فإن البولي ببتيد الخاص بالانتحار يمكن أن يتم توفيره في خلية CAR T الخاصة بـ EGFRvIII في البولي ببتيد والذي يتم فصله عن بولي ببتيد يشتمل على CAR. في بعض النماذج، فإن البولي ببتيد الخاص بالانتحار يمكن أن يتم توفيره في شكل خلية CAR T الخاصة بـ EGFRvIII في نفس سلسلة البولي ببتيد كما هو الحال مع بولي ببتيد CAR. في CARs المشتملة على بولي ببتيد انتحار فإن البولي ببتيد الخاص بالانتحار يتم توفيره في جزء خارج الخلية من CAR.

في بولي ببتيد الانتحار المشتمل على CAR، فإن البولي ببتيد الخاص بالانتحار يمكن أن يشتمل، على سبيل المثال، على وحدة أو أكثر من نسخ متوالية الحمض الأميني من القمة اللاصقة التي تم التعرف عليها بواسطة ريتوكسيماب [CPYSNPSLC (المتوالية بهوية رقم256)]. يمكن أن يوجد البولي ببتيد الخاص بالانتحار على سبيل المثال، عند مواضع مختلفة من CAR. على سبيل المثال، فإن البولي ببتيد الخاص بالانتحار يمكن أن يكون عبارة عن الطرف – N بالنسبة لـ scFv أو يمكن أن يكون الطرف –C بالنسبة لـ scFv في CAR. في بعض النماذج يكون الببتيد الخاص بالانتحار بين scFv والمنطقة المفصلية من CAR. في بعض النماذج يمكن أن يشتمل CAR على أكثر من بولي ببتيد واحد خاص بالانتحار. على سبيل المثال، يمكن أن يشتمل CAR على طرف N من بولي ببتيد الانتحار بالنسبة لـ scFv والطرف C

من بولي ببتيد الانتحار بالنسبة لـ scFv. تشتمل كل من تلك الببتيدات على نسخة واحدة أو أكثر من القمم اللاصقة التي يتم التعرف عليها بواسطة ريتوكسيماب. على سبيل المثال، فإن CAR يمكن أن يشتمل على بولي ببتيد انتحار عند موضع الطرف N بالنسبة لـ scFv، حيث يشتمل بولي ببتيد الانتحار الأول على نسخة واحدة من القمة اللاصقة التي تم التعرف عليها بواسطة ريتوكسيماب وبولي ببتيد انتحار ثاني عند موضع الطرف C من scFv حيث أن البولي ببتيد الانتحار الثاني يشتمل على اثنين من نسخ القمة اللاصقة التي يتم التعرف عليها بواسطة ريتوكسيماب.

تم أيضاً توفر أحماض نووية تشفر CARs خاص بـ EGFRvIII الذي يشتمل على متوالية بولي ببتيد خاص بالانتحار في CAR.

في أحد الأمثلة، يمكن أن يشتمل بولي ببتيد الانتحار كما هو الحال مع سلسلة البولي ببتيد مثلما هو الحال مع CAR الخاصة بـ EGFRvIII على متوالية تم توفيرها ووصفها هنا في شكل "متوالية انتحار R2". تشتمل متوالية الانتحار R2 على اثنين من النسخ من القمة اللاصقة التي يتم التعرف عليها بواسطة ريتوكسيماب CPYSNPSLC [(المتوالية بهوية رقم 256)]. يمكن أن يطلق على CARs الخاصة بـ EGFRvIII المذكورة هنا بأنها "EGFRvIII–R2 CARs ". يوفر الجدول رقم 5 د متواليات حمض أميني من EGFRvIII–R2 CARs توضيحية من الاختراع الحالي. في الجدول رقم 5د، فإن متوالية الببتيد الخاصة بالإشارة/ متوالية الببتيد الأمامية تكون بخط كبير ويتم وضع خط تحت الرابطGS [4(GGGGS)] (المتوالية بهوية رقم 202)] وتكون متوالية الانتحار R2 بخط سميك ويتم ضع خط تحتها. يوفر الجدول رقم 5هـ أيضاً متواليات حمض نووية توضيحية تشفر EGFRvIII–R2 CARs توضيحي من الاختراع الحالي.

الجدول رقم 5: متواليات حمض أميني من CARs خاص بـ EGFRvIII التوضيحية مع متوالية الانتحار R2.

المكونات (بالترتيب، من الطرف N- إلى الطرف C-)	CAR متوالية الحمض الأميني	CAR

ببتيد إشارة CD8α؛ 14C11 VH(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 15)؛ الرابط GS؛ 14C11 VL(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 16)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVT LKESGPVLVKPTETLTLTCTVSG FSLNNARMGVSWIRQPPGKALE WFAHIFSTDEKSFRTSLRSRLTL SKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTA TYYCARDSSNYEGYFDYWGQGI LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEIVMTQSPATLSVSPGE RATLSCRASQSVSNNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGVPARF SGSDSGTEFSLTISSLQSEDFAV YFCQQYKDWPFTFGPGTKVEIK GSGGGGSCPYSNPSLCSGGGG SCPYSNPSLCSGGGGSTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSADA PAYQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (متوالية بهوية رقم: 248)	14C11-R2

32A10-R2	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVT LKESGPVLVKPTETLTLTCTVSG FSLSNARMGVSWIRQPPGKALE WLAHIFSTDEKSIRRSLRSRLTLS KDTSKSQVVLTMTNMDPVDTAT YFCARDSSNYEGYFDYWGQGTL VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSEVVMTQSPATLSVSPGER VTLSCRASQSVSSNFAWYQQRP GQAPRLLLYGATTRATGLPGRFS GSGSGTENILTISSLQSEDFAIYF CQQYKDWPFTFGPGSKVDIKGS GGGGSCPYSNPSLCSGGGGSC PYSNPSLCSGGGGSTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG TCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF PEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR(متوالية بهوية رقم: 249)	ببتيد إشارة CD8α؛ 32A10 VH(الجدول 1 المتوالية بهوية رقم: 11)؛ الرابط GS؛ 32A10 VL(الجدول 1 المتوالية بهوية رقم: 12)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا

26B9-R2	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESWGVLVKPGGSLRLSCAASGFIFNNAWMSWVRQAPGKGLEWIGRIKSKSDGGTTDYAAPVKDRFTISRDDSKDTLYLQMNGLKTEDTAVYFCTTAPGGPFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSDIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHRDGFNYLDWFLQKPGQSPQLLIYLASSRASGVPDRFSGSDSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPITFGQGTRLEIK GSGGGGSCPYSNPSLCSGGGGSCPYSNPSLCSGGGGSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG	CD8α ببتيد إشارة؛ 26B9 VH(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 41)؛ الرابط GS؛ 26B9 VL(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 42)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا

	MKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (متوالية بهوية رقم: 250)	
ببتيد إشارة CD8α؛ VH 30D8(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 37)؛ الرابط GS؛ VL 30D8(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 38)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQ LVESGGGLVKPGGSLRLSCEAS GFTFSDAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYVVPLNG RFIISRDDSRNTLYLQLNNLKTED TAVYYCTTVPGSYGYWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPA SISCRSSQSLLHNKRNNYLDWFL QKPGQSPQLLIYLASNRASGVPD RFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCMQAQQTPITFGQGTRLEI KGSGGGGSCPYSNPSLCSGGG GSCPYSNPSLCSGGGGSTTTPA PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAP LAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYQQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI	30D8-R2

	GMKGERRRGKGHDGLYQGLST ATKDTYDALHMQALPPR(متوالية بهوية رقم: 251)	

الجدول رقم 5 هـ: متوالية الحمض الأميني من CARs الخاصة بـ EGFR VIII التوضيحية مع متوالية الانتحار R2

الجدول رقم 5: متواليات حمض أميني من CARs خاص بـ EGFRvIII التوضيحية مع متوالية الانتحار R2.

المكونات (بالترتيب، من الطرف N- إلى الطرف C-)	CAR متوالية الحمض الأميني	CAR
ببتيد إشارة CD8α؛ 14C11 VH(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 15)؛ الرابط GS؛ 14C11 VL(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 16)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛	MALPVTALLLPLALLLHAAR PQVTLKESGPVLVKPTETLT LTCTVSGFSLNNARMGVSW IRQPPGKALEWFAHIFSTDE KSFRTSLRSRLTLSKDTSKS QVVLTMTNMDPVDTATYYC ARDSSNYEGYFDYWGQGIL VTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEIVMTQSPATLS VSPGERATLSCRASQSVSN NLAWYQQKPGQAPRLLIYG ASTRATGVPARFSGSDSGT EFSLTISSLQSEDFAVYFCQ QYKDWPFTFGPGTKVEIKG	14C11-R2

نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا	SGGGGSCPYSNPSLCSGG GGSCPYSNPSLCSGGGGS TTTPAPRPPTPAPTIASQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYIWAPLAGTCGVL LLSLVITLYCKRGRKKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR (متوالية بهوية رقم: 248)	
ببتيد إشارة CD8α؛ VH 32A10(الجدول 1 المتوالية بهوية رقم: 11)؛ الرابط GS؛ VL 32A10(الجدول 1 المتوالية بهوية رقم: 12)؛	MALPVTALLLPLALLLHAAR PQVTLKESGPVLVKPTETLT LTCTVSGFSLSNARMGVSW IRQPPGKALEWLAHIFSTDE KSIRRSLRSRLTLSKDTSKS QVVLTMTNMDPVDTATYFC ARDSSNYEGYFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEVVMTQSPAT LSVSPGERVTLSCRASQSV	32A10-R2

متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا	SSNFAWYQQRPGQAPRLLL YGATTRATGLPGRFSGSGS GTENILTISSLQSEDFAIYFC QQYKDWPFTFGPGSKVDIK GSGGGGSCPYSNPSLCSG GGGSCPYSNPSLCSGGGG STTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR(متوالية بهوية رقم: 249)	
ببتيد إشارة CD8α؛ 26B9 VH(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 41)؛	MALPVTALLLPLALLLHAAR PEVQLVESWGVLVKPGGSL RLSCAASGFIFNNAWMSWV RQAPGKGLEWIGRIKSKSD GGTTDYAAPVKDRFTISRD	26B9-R2

الرابط GS؛ 26B9 VL(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 42)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا	DSKDTLYLQMNGLKTEDTA VYFCTTAPGGPFDYWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSDIVLTQSPLS LPVTPGEPASISCRSSQSLL HRDGFNYLDWFLQKPGQS PQLLIYLASSRASGVPDRFS GSDSGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCMQALQTPITFGQGT RLEIK GSGGGGSCPYSNPSLCSG GGGSCPYSNPSLCSGGGG STTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR (متوالية بهوية رقم: 250)	

30D8-R2	MALPVTALLLPLALLLHAAR PEVQLVESGGGLVKPGGSL RLSCEASGFTFSDAWMSW VRQAPGKGLEWVGRIKSKT DGGTTDYVVPLNGRFIISRD DSRNTLYLQLNNLKTEDTAV YYCTTVPGSYGYWGQGTL VTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSDIVMTQSPLSLP VTPGEPASISCRSSQSLLHN KRNNYLDWFLQKPGQSPQ LLIYLASNRASGVPDRFSGG GSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQAQQTPITFGQGTRL EIKGSGGGGSCPYSNPSLC SGGGGSCPYSNPSLCSGG GGSTTTPAPRPPTPAPTIAS QPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYQQGQNQLYN ELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKG	ببتيد إشارة CD8α؛ VH 30D8(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 37)؛ الرابط GS؛ VL 30D8(الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 38)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا

	ERRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR(متوالية بهوية رقم: 251)	

الجدول رقم 5 هـ: متوالية الحمض الأميني من CARs الخاصة بـ EGFR VIII التوضيحية مع متوالية الانتحار R2 suicide sequence

المكونات	CAR متوالية حمض نووي	CAR
ببتيد إشارة CD8α؛ 14C11 VH (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 15)؛ الرابط GS؛ 14C11 VL (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 16)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛	ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGC TGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC CAGACCCCAGGTGACACTGAAGGAGAGC GGCCCCGTGCTGGTGAAGCCTACAGAGA CACTGACCCTGACCTGCACAGTGAGCGG CTTCTCCCTGAACAATGCAAGGATGGGCG TGTCCTGGATCAGGCAGCCACCTGGCAA GGCCCTGGAGTGGTTCGCCCACATCTTTA GCACCGACGAGAAGTCCTTTCGCACATCT CTGAGAAGCAGGCTGACCCTGAGCAAGG ATACAAGCAAGTCCCAGGTGGTGCTGACC ATGACAAACATGGACCCTGTGGATACCGC CACATACTATTGTGCCCGGGACAGCTCCA ATTACGAGGGCTATTTCGATTACTGGGGC CAGGGCATCCTGGTGACCGTGTCTAGCG GCGGCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGAA GCGGAGGAGGAGGATCCGGCGGCGGCG GCTCTGAGATCGTGATGACCCAGTCCCCA GCCACACTGTCTGTGAGCCCAGGAGAGA	14C11 -R2

	GAGCCACCCTGTCTTGCAGGGCCTCCCA GTCTGTGAGCAACAATCTGGCCTGGTATC AGCAGAAGCCTGGCCAGGCCCCAAGGCT GCTGATCTACGGAGCAAGCACCAGAGCA ACAGGAGTGCCTGCAAGGTTCTCCGGATC TGACAGCGGCACCGAGTTTTCTCTGACAA TCTCCTCTCTGCAGAGCGAGGACTTCGCC GTGTATTTTTGTCAGCAGTACAAGGATTG GCCATTCACCTTTGGCCCCGGCACAAAGG TGGAGATCAAGGGCTCCGGAGGAGGAGG ATCCTGCCCCTATTCCAACCCTTCTCTGT GCAGCGGAGGAGGAGGAAGCTGTCCATA CTCCAATCCCTCCCTGTGCTCCGGCGGC GGAGGATCCACCACAACCCCAGCACCTA GACCACCAACCCCAGCACCAACAATCGCA TCCCAGCCTCTGTCTCTGCGGCCCGAGG CATGCAGGCCAGCAGCAGGCGGCGCCGT GCACACCAGGGGCCTGGACTTTGCCTGC GATATCTATATCTGGGCACCACTGGCAGG AACCTGTGGCGTGCTGCTGCTGAGCCTG GTCATCACCCTGTATTGCAAGCGCGGCCG GAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAGC CTTTTATGCGCCCAGTGCAGACAACCCAG GAGGAGGACGGCTGCTCCTGTCGGTTCC CTGAAGAGGAGGAGGGAGGATGTGAGCT GCGCGTGAAGTTTTCCCGGTCTGCCGATG	CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا

	CCCCAGCCTATCAGCAGGGCCAGAACCA GCTGTACAACGAGCTGAATCTGGGCCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGA GGAGGGGAAGAGATCCCGAGATGGGAGG CAAGCCTCGGAGAAAGAACCCACAGGAG GGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAGGACAA GATGGCCGAGGCCTACTCTGAGATCGGC ATGAAGGGAGAGAGGCGCCGGGGCAAG GGACACGATGGCCTGTATCAGGGCCTGT CCACCGCCACAAAGGACACCTACGATGC CCTGCACATGCAGGCCCTGCCTCCAAGG TGA (متوالية بهوية رقم: 252)	
32A10 -R2	ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGC TGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC CAGACCCCAGGTGACACTGAAGGAGTCC GGCCCCGTGCTGGTGAAGCCTACAGAGA CACTGACCCTGACCTGCACAGTGAGCGG CTTCTCTCTGAGCAACGCAAGGATGGGCG TGTCCTGGATCAGGCAGCCACCTGGCAA GGCCCTGGAGTGGCTGGCCCACATCTTTT CCACCGACGAGAAGTCTATCCGGAGAAG CCTGCGCTCCCGGCTGACCCTGAGCAAG GATACATCCAAGTCTCAGGTGGTGCTGAC CATGACAAACATGGACCCTGTGGATACCG	ببتيد إشارة CD8α؛ 32A10 VH (الجدول 1 المتوالية بهوية رقم: 11)؛ الرابط GS؛ 32A10 VL (الجدول 1

المتوالية بهوية رقم: 12)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا	CCACATACTTCTGTGCCCGGGACAGCTCC AATTACGAGGGCTATTTTGATTACTGGGG CCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGC GGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGA TCAGGCGGCGGCGGCTCTGGCGGCGGC GGCAGCGAGGTGGTCATGACCCAGTCTC CAGCCACACTGAGCGTGTCCCCAGGAGA GCGCGTGACCCTGAGCTGCCGGGCCTCT CAGAGCGTGTCCTCTAACTTCGCCTGGTA TCAGCAGCGGCCCGGACAGGCACCAAGG CTGCTGCTGTACGGAGCAACCACAAGAG CAACAGGCCTGCCTGGCAGGTTTTCCGG CTCTGGCAGCGGCACCGAGAATATCCTGA CAATCAGCTCCCTGCAGAGCGAGGACTTC GCCATCTATTTTTGTCAGCAGTACAAGGAT TGGCCATTCACCTTTGGCCCCGGCTCCAA GGTGGACATCAAGGGATCCGGAGGAGGA GGATCTTGCCCCTATTCTAACCCTAGCCT GTGCTCCGGAGGAGGAGGATCCTGTCCA TACTCTAATCCATCCCTGTGCAGCGGAGG AGGAGGATCTACCACAACCCCAGCACCTA GACCACCAACCCCAGCACCCACAATCGC CTCTCAGCCTCTGAGCCTGCGCCCAGAG GCATGCAGGCCAGCAGCAGGAGGAGCAG TGCACACCAGGGGCCTGGACTTCGCCTG CGATATCTATATCTGGGCACCACTGGCAG	

	GAACCTGTGGCGTGCTGCTGCTGTCCCT GGTCATCACCCTGTATTGCAAGAGAGGCA GGAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAG CCTTTTATGCGCCCAGTGCAGACAACCCA GGAGGAGGACGGCTGCAGCTGTCGGTTC CCTGAAGAGGAGGAGGGCGGCTGTGAGC TGAGAGTGAAGTTTTCCAGGTCTGCCGAT GCCCCAGCCTATCAGCAGGGCCAGAATC AGCTGTACAACGAGCTGAATCTGGGCAG GCGCGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAG AGGAGAGGACGCGATCCCGAGATGGGAG GCAAGCCTAGGCGCAAGAACCCACAGGA GGGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAGGACA AGATGGCCGAGGCCTACTCTGAGATCGG CATGAAGGGAGAGCGGAGAAGGGGCAAG GGACACGATGGCCTGTATCAGGGCCTGA GCACCGCCACAAAGGACACCTACGATGC CCTGCACATGCAGGCCCTGCCTCCAAGG TGA (متوالية بهوية رقم: 253)	
26B9-R2	ATGGCCCTGCCAGTGACCGCCCTGCTGC TGCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCCGC CAGACCTGAGGTGCAGCTGGTGGAGAGC TGGGGCGTGCTGGTGAAGCCAGGAGGCT CTCTGAGGCTGAGCTGCGCAGCATCCGG	ببتيد إشارة CD8α؛ 26B9 VH (الجدول 1،

المتوالية بهوية رقم: 41)؛ الرابط GS؛ 26B9 VL (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 42)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛ نطاق إشارة CD3 زيتا	CTTCATCTTTAACAATGCCTGGATGTCCTG GGTGAGACAGGCACCAGGCAAGGGCCTG GAGTGGATCGGCAGGATCAAGAGCAAGT CCGACGGAGGAACCACAGATTACGCAGC ACCCGTGAAGGACCGCTTCACAATCTCTC GGGACGATAGCAAGGATACCCTGTATCTG CAGATGAACGGCCTGAAGACAGAGGACA CCGCCGTGTACTTCTGCACCACAGCCCCA GGCGGCCCCTTTGATTATTGGGGCCAGG GCACACTGGTGACCGTGAGCTCCGGAGG AGGAGGAAGCGGCGGAGGAGGCAGCGG CGGCGGCGGCTCTGGCGGCGGCGGCAG CGACATCGTGCTGACACAGAGCCCACTGT CCCTGCCTGTGACCCCAGGAGAGCCCGC CTCTATCAGCTGTCGCTCTAGCCAGAGCC TGCTGCACCGGGACGGCTTCAATTACCTG GATTGGTTTCTGCAGAAGCCTGGCCAGAG CCCACAGCTGCTGATCTATCTGGCCTCCT CTAGAGCATCCGGAGTGCCTGACAGGTTC TCCGGATCTGACAGCGGCACAGACTTCAC CCTGAAGATCTCCCGCGTGGAGGCAGAG GATGTGGGCGTGTACTATTGCATGCAGGC CCTGCAGACACCAATCACCTTCGGCCAGG GCACACGGCTGGAGATCAAGGGATCCGG AGGAGGAGGATCTTGCCCCTACTCTAACC CTAGCCTGTGCAGCGGCGGAGGAGGATC	

	TTGTCCATATTCTAATCCAAGCCTGTGCAG	
	CGGGGGAGGAGGAAGCACCACAACCCCT	
	GCACCAAGACCCCCTACACCAGCACCTAC	
	CATCGCATCCCAGCCACTGTCTCTGCGGC	
	CCGAGGCATGTAGGCCAGCAGCAGGAGG	
	AGCAGTGCACACCAGGGGCCTGGACTTT	
	GCCTGCGATATCTACATCTGGGCACCACT	
	GGCAGGAACATGTGGCGTGCTGCTGCTG	
	AGCCTGGTCATCACCCTGTACTGCAAGAG	
	AGGCAGGAAGAAGCTGCTGTATATCTTCA	
	AGCAGCCTTTTATGCGCCCAGTGCAGACA	
	ACCCAGGAGGAGGACGGCTGCTCCTGTA	
	GGTTCCCAGAAGAGGAGGAGGGAGGATG	
	TGAGCTGCGCGTGAAGTTTTCCCGGTCTG	
	CCGATGCACCTGCATACCAGCAGGGACA	
	GAACCAGCTGTATAACGAGCTGAATCTGG	
	GCCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGA	
	TAAGAGGAGGGGACGCGATCCTGAGATG	
	GGAGGCAAGCCCCGGAGAAAGAACCCTC	
	AGGAGGGCCTGTACAATGAGCTGCAGAA	
	GGACAAGATGGCCGAGGCCTATTCCGAG	
	ATCGGCATGAAGGGAGAGAGGCGCCGGG	
	GCAAGGGACACGATGGCCTGTACCAGGG	
	CCTGTCTACAGCCACCAAGGACACCTATG	

	ATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCACC AAGGTGA (متوالية بهوية رقم: 254)	
ببتيد إشارة CD8α؛ 30D8 VH (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 37)؛ الرابط GS؛ 30D8 VL (الجدول 1، المتوالية بهوية رقم: 38)؛ متوالية الانتحار R2؛ المنطقة المفصلية CD8α؛ CD8α TM؛ نطاق إشارة 4-1BB؛	ATGGCACTGCCAGTGACAGCCCTGCTGCT GCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCC AGACCAGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCG GAGGAGGCCTGGTGAAGCCAGGAGGCTC CCTGAGGCTGTCTTGCGAGGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCGACGCCTGGATGTCCTG GGTGAGACAGGCACCAGGCAAGGGCCTG GAGTGGGTGGGCAGGATCAAGAGCAAGA CAGACGGCGGCACCACAGATTACGTGGT GCCTCTGAACGGCCGGTTCATCATCTCCC GCGACGATTCTCGGAATACCCTGTATCTG CAGCTGAACAATCTGAAGACAGAGGATAC CGCCGTGTACTATTGCACCACAGTGCCTG GCTCCTACGGCTATTGGGGCCAGGGCAC ACTGGTGACCGTGAGCTCCGGCGGCGGC GGCTCTGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGA GGAGGAAGCGGGGGCGGCGGCTCTGAC ATCGTGATGACACAGTCTCCACTGAGCCT GCCAGTGACCCCAGGAGAGCCTGCCTCC ATCTCTTGTCGCTCTAGCCAGTCCCTGCT GCACAACAAGCGGAACAATTACCTGGATT GGTTCCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCC	30D8-R2

	CCAGCTGCTGATCTATCTGGCCAGCAATA	نطاق إشارة
	GAGCCTCCGGAGTGCCAGACAGGTTCTC	CD3 زيتا
	TGGAGGAGGAAGCGGAACAGACTTCACC	
	CTGAAGATCAGCCGCGTGGAGGCAGAGG	
	ACGTGGGCGTGTACTATTGCATGCAGGCC	
	CAGCAGACACCCATCACCTTTGGCCAGG	
	GAACCCGGCTGGAGATCAAGGGCTCCGG	
	AGGAGGAGGATCCTGCCCTTACTCCAACC	
	CATCTCTGTGCAGCGGAGGAGGAGGATC	
	TTGTCCATATTCCAATCCTTCCCTGTGCTC	
	CGGAGGAGGAGGAAGCACCACAACCCCT	
	GCACCAAGACCCCCTACACCAGCACCTAC	
	CATCGCATCCCAGCCTCTGTCTCTGCGGC	
	CCGAGGCATGTAGGCCAGCAGCAGGCGG	
	CGCCGTGCACACCAGGGGCCTGGACTTT	
	GCCTGCGATATCTACATCTGGGCACCACT	
	GGCAGGAACATGTGGCGTGCTGCTGCTG	
	TCTCTGGTCATCACCCTGTACTGCAAGAG	
	AGGCAGGAAGAAGCTGCTGTATATCTTCA	
	AGCAGCCCTTCATGCGGCCCGTGCAGAC	
	AACCCAGGAGGAGGACGGCTGCAGCTGT	
	CGGTTCCCTGAAGAGGAGGAGGGAGGAT	
	GTGAGCTGCGCGTGAAGTTTAGCCGGTC	
	CGCCGATGCACCAGCATACCAGCAGGGC	
	CAGAACCAGCTGTATAACGAGCTGAATCT	
	GGGCCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTG	

	GATAAGAGGAGGGGACGCGATCCTGAGA TGGGAGGCAAGCCTCGGAGAAAGAACCC ACAGGAGGGCCTGTACAATGAGCTGCAG AAGGACAAGATGGCCGAGGCCTATAGCG AGATCGGCATGAAGGGAGAGAGGCGCCG GGGCAAGGGACACGATGGCCTGTACCAG GGCCTGTCCACAGCCACCAAGGACACCT ATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCA CCAAGGTGA (متوالية بهوية رقم: 255)	

الاستخدامات العلاجية

يمكن استخدام الخلايا المعزولة التي تم الحصول عليها بواسطة الطرق التي تم وصفها أعلاه أو بواسطة سلالات خلية تم اشتقاقها من الخلايا المعزولة والتي يمكن استخدامها في شكل دواء. في بعض النماذج، فإن الدواء المذكور يمكن استخدامه لمعالجة سرطان بما في ذلك سرطانات صلبة وأورام سائلة. في بعض النماذج يمكن أن يكون السرطان عبارة عن سرطان مرتبط بـ EGFRvIII (على سبيل المثال، سرطان التعبير عن EGFRvIII)، بما في ذلك على سبيل المثال وليس الحصر، الورم الأرومي الدبقي (على سبيل المثال، الورم الأرومي الدبقي متعدد الأشكال)، الورم النجمي الكشمي، ورم أرومي دبقي عملاق الخلايا، ساركومة دبقية، الورم الدبقي قليل التفرع فاقد التمايز الخلوي، ورم بطاني عصبي فاقد للتمايز الخلوي، الورم الأرومي الدبقي الفاقد للتمايز الخلوي، الورم السرطاني للضفيرة المشيمية، ورم دبقي عقدي كشمي، ورم الأرومة الصنوبرية، ورم الغدة الصنوبرية، الورم السحائي، ورم ظهاري ميالييني، الورم الأرومي البطاني العصبي، ورم أرومي نخاعي، ورم الأديم العصبي البدائي فوق الخيمة المخية، ورم مسخي غير قياسي/ ورم روبيدي، الورم الدبقي المختلط، سرطان الرأس والرقبة، سرطان الرئة للخلية غير الصغيرة، سرطان الثدي، سرطان المبيض، سرطان البروستاتا، ورم أرومي نخاعي، سرطان القولون والمستقيم، سرطان الشرج، سرطان عنق الرحم، سرطان الكلى، سرطان الجلد، سرطان البنكرياس، سرطان

الكبد، سرطان المثانة، سرطان المعدة، سرطان الغدة الدرقية، ورم الظهارة المتوسطة، سرطان الرحم، الورم اللمفاوي، أو سرطان الدم.

في بعض النماذج، يمكن استخدام الدواء الذي تم وصفه هنا لغرض 1) تثبيط نمو الورم أو تطور في الخاضع الذي له خلايا مصابة بورم خبيث وتعبر عن EGFRvIII؛ 2) تثبيط انتشار الخلايا الخبيثة التي تعبر عن EGFRvIII في الخاضع؛ و 3) حث تراجع الورم في الخاضع الذي يكون به خلايا خبيثة تعبر عن EGFRvIII.

في بعض النماذج، فإن الخلية المعزولة طبقاً للاختراع أو سلالة الخلية المشتقة من الخلايا المعزولة يمكن استخدامها في تصنيع دواء خاص بمعالجة سرطان في مريض في حاجة لذلك.

تم أيضاً توفير طرق لمعالجة المرضى. في بعض النماذج، تشتمل الطريقة على توفير خلايا مناعية من الاختراع للمريض الذي في حاجة لذلك. في بعض النماذج، تشتمل الطريقة على خطوة إعطاء خلية مناعية متحولة من الاختراع للمريض الذي في حاجة لذلك.

في بعض النماذج، يمكن أن تخضع خلايا T بصورة قوية لتمدد الخلية T في المعمل ويمكن أن تكون مقاومة للمدة الزمنية الطويلة الممتدة.

يمكن أن تكو طرق الاختراع الحالي عبارة عن طرق لتلطيف المرض أو يمكن أن تكون تلك الطرق عبارة عن طرق علاجية أو وقائية. يمكن أن تكون طريقة الاختراع الحالي عبارة عن جزء من العلاج المناعي الذاتي أو جزء من معالجة مناعية جينية. يكون الاختراع مناسباً بشكل خاص للعلاج المناعي الجيني الخيفي. يمكن تحويل خلايا T من المانحين إلى خلايا خيفية غير متفاعلة باستخدام بروتوكولات قياسية ويمكن إعادة إنتاجها طبقاً لما هو مطلوب وبالتالي إنتاج خلايا CAR-T والتي يمكن إعطاؤها لواحد أو أكثر من المرضى. يمكن جعل علاج الخلية CAR-T متاحاً في شكل متنج علاجي جاهز للاستخدام.

يمكن استخدام الخلايا مع الطرق التي تم الكشف عنها كما تم وصفه، على سبيل المثال، في الجزء السابق. يمكن استخدام المعالجة لمعالجة المرضى الذين تم تشخيص أن لديهم، على سبيل المثال، سرطان. تشتمل السرطانات التي يمكن معالجتها، على سبيل المثال، على السرطانات المتعلقة بـ EGFRvIII، والتي تشتمل على أي سرطانات تم توضيحها أعلاه. تشتمل أنواع السرطانات التي

يمكن معالجتها باستخدام CARs أو الخلايا CAR-T من الاختراع، على سبيل المثال لا الحصر، على أورام سائلة معينة وأورام صلبة مثل الورم الأرومي الدبقي متعدد الأشكال وسرطان الرأس والرقبة وسرطان خلية الرئة غير الصيغة وسرطان الثدي وسرطان المبيض وسرطان البروستاتا. تم أيضاً تضمين أورام البالغين/ السرطانات وأورام /سرطانات الأطفال.

في بعض النماذج يمكن أن تكون المعالجة في توليفة وع واحد أو أكثر من العلاجات في مضادة سرطان وتم اختيار العلاج من مجموعة م العلاج بالأجسام المضادة أو العلاج بمترافق جسم مضاد وعقار والعلاج الكيماوي والعلاج المستهدف والعلاج بالسيتوكينات والعلاج باللقاح والعلاج بفيروس تحلل الأورام والعلاج بالخلية المتغضنة والعلاج الجيني والعلاج بجسيم في حجم النانو والعلاج الهرموني والاستئصال الجراحي والعلاج الخفيف بالليزر ومجالات معالجة الورم والعلاج بالإشعاع. على سبيل المثال، يمكن إعطاء CARs وخلايا CAR-T من الاختراع إلى مريض في ارتباط مع (على سبيل المثال، قبل أو على نحو متزامن أو بعد) 1) المعيار الخاص بالرعاية والذي يشتمل على العلاج الإشعاعي والاستئصال الجراحي أو العلاج الكيماوي (على سبيل المثال، باستخدام تيموزولوميد، بروكاربازين، كارميوستين، ولوميوستين وفينكريستين، إلخ)، والعلاج بالجسم المضاد مثل بيفاسيزوماب والعلاج بمضاد مولد مناعي و/أو المجالات التي تستهدف الورم؛ 2) واللقاح وبما في ذلك لقاح EGFRvIII؛ و3) العلاج بمترافق جسم مضاد-عقار بما في ذلك، على سبيل المثال لا الحصر على المترافقات التي تستهدف عائلة HER من المستقبلات مثل EGFR و HER2 و HER3 و HER4 ؛ 4) العلاج المستهدف، مثل مثبطات كيناز (على سبيل المثال، إيفيروليموس)؛ و5) العلاجات المناعية والتي تشتمل، على سبيل المثال لا الحصر على الأجسام المضادة لمضاد PD-1 ومضاد PD-L1 ومضاد PD-L2 ومضاد 41BB ومضاد TIM3 ومضاد LAG3 ومضاد TIGIT ومضاد OX40 ومضاد HVEM ومضاد BTLA ومضاد CD40 ومضاد CD47 ومضاد CSF1R ومضاد CSF1 ومضاد MARCO ومضاد IL8 ومضاد CXCR4 والأجسام المضادة لمضاد CTLA4.

في بعض النماذج، يمكن إعطاء المعالجة للمرضى الخاضعين لمعالجة كابتة للمناعة. وبالفعل فإن الاختراع يفضل أن يعتمد على خلايا أو مجموعة من الخلايا التي تم جعلها مقاومة لعامل كابت للمناع واحد على الأقل (على سبيل المثال، سيكلو سبورين أو أزاثيوبرين أو ميثوتريكسات أو

ميكفينولات وFK506) وذلك نتيجة تنشيط الجين المشفر للمستقبل الخاص بالعامل الكابت للمناعة المذكور. في هذه السمة فإن المعالجة الكابتة المناعية يجب أن تساعد على اختيار وتمدد الخلايا T طبقاً للاختراع بداخل المريض. يمكن أن يتم إجراء إعطاء الخلايا أو مجموعة من الخلايا طبقاً للاختراع في أي طريقة تقليدية، والتي تشتمل على استنشاق الأيروسول أو الحقن أو الهضم أو التسريب أو الغرس أو الزراعة. يمكن إعطاء التركيبات التي تم وصفها هنا إلى المريض تحت الجلد أو بداخل الجلد أو بداخل الورم أو بداخل القحف أو بداخل العقدة الداخلية أو بداخل البصيلة أو بداخل العضلات أو في الوريد أو من خلال الحقن في النسيج اللمفاوي أو في البريتون. في أحد النماذج، يفضل أن يتم إعطاء تركيبات الخلية من الاختراع بواسطة الحقن في الوريد.

في بعض النماذج، فإن المعالجة يمكن إعطاؤها للمريض الذي يخضع لنظام تدمير الأنسجة اللمفاوية. إن تدمير عناصر منتظمة مناعية باستخدام عوامل سامة للخلايا أو باستخدام إشعاع الذي يعم الجسم كله يمكن أن يحسن من النشاط لمضاد للورم من CARs وخلايا CAR-T من المريض. على سبيل المثال، فإن العامل السام للخلايا في نظام تدمير الخلايا اللمفاوية يشتمل على سبيل المثال لا الحصر على، فيودارابين وسيكلو فوسفاميد و/أو أليمتوزوماب.

في بعض النماذج فإن إعطاء الخلايا أو مجموعة من الخلايا يمكن أن يشتمل على إعطاء، على سبيل المثال، حوالي 10 4 إلى 10 9 خلية لكل كجم من وزن الجسم بما في ذلك كل القيم الرقمية من أعداد الخلايا التي في تلك الأمداء. وفي بعض النماذج فإن الإعطاء الخاص بالخلايا أو المجموعة من الخلايا يمكن أن يشتمل على إعطاء حوالي 10 5 إلى 10 6 خلية لكل كجم من وزن الجسم بما في ذلك كل قيم الأعداد السليمة في تلك الأمداء. يمكن إعطاء الخلايا أو مجموعة من الخلايا في واحدة أو أكثر من الجرعات. في بعض النماذج فإن الكمية الفعالة من الخلايا يمكن إعطاؤها في شكل جرعة منفردة. في بعض النماذج فإن الكمية الفعال من الخلايا يمكن إعطاؤها في أكثر من جرعة واحدة على مدى فترة زمنية. يكون تحديد المدى الزمني في مقدور قياس الطبيعي ويعتمد على الحالة الإكلينيكية للمريض. يمكن الحصول على الخلايا أو مجموعات الخلايا من مصدر مثل بنك الدم أو من مانح. وعلى الرغم من أن الاحتياجات الفردية تتنوع فإن تحديد المدى المثالي للكميات الفعالة من نوع خلية معين من مريض معين أو حالات معينة يكون في مقدور الماهر في المجال. تعني الكمية الفعالة عبارة عن كمية توفر فائدة علاجية أو فائدة

وقائية. سوف تكون الجرعة المعطاة معتمدة على العمر والصحة ووزن المتلقي ونوع المعالجة المتزامنة، إذا وجدت، وتكرار المعالجة وطبيعة التأثير المطلوب. في بعض النماذج، يتم إعطاء الكمية الفعالة من الخلايا أو التركيبة المشتملة على تلك الخلايا عن طريق الحقن. في بعض النماذج فإن الإعطاء يمكن أن يكون عبارة عن الإعطاء في الوريد. وفي بعض النماذج فإن الإعطاء يمكن أن يتم إجراؤه بشكل مباشر من خلال الحقن بداخل الورم.

الأطقم

يوفر الاختراع أيضاً أطقماً لاستخدامها في الطرق الحالية. تشتمل أطقم الاختراع على واحد أو أكثر من الحاويات التي تشتمل على بولي نيوكليوتيد يشفر CAR خاص بـ EGFRvIII أو الخلية المناعية المعدلة التي تشتمل على البولي نيوكليوتيد المشفر لـ CAR الخاص بـ EGFRvIII كما تم وصفه هنا وتشتمل الحاوية على تعليمات لاستخدامها طبقاً لأيٍ من الطرق الخاصة بالاختراع الذي تم وصفه هنا. وبصفة عامة فإن تلك التعليمات تشتمل على وصف إعطاء خلية مناعية تمت معالجتها للمعالجات العلاجية التي تم وصفها أعلاه.

تشتمل التعليمات المتعلقة باستخدام الخلية المناعية المعدلة كما تم وصفه هنا بصورة عامة على معلومات تتعلق بالجرعة ونظام إعطاء الجرعة ومسار الإعطاء الخاص بالمعالجة المقصودة. يمكن أن تكون الحاويات عبارة عن حاويات لها وحدات جرعات محددة أو عبوات للمواد السائبة (على سبيل المثال، عبوات للجرعات المتعددة) أو بجرعات وحدات فرعية. تكون التعليمات الموجودة في الأطقم الخاص بالاختراع بشكل نمطي في شكل تعليمات مكتوبة على بطاقة أو نشرة داخلية (على سبيل المثال، ورقة يتم تضمينها بداخل الطقم) ولكن قد يكون من المقبول وجود تعليمات يمكن قراءتها بواسطة الآلة (على سبيل المثال، التعليمات التي يمكن حملها على قرص مغناطيسي أو قرص تخزين ضوئي.

تكون أطقم الاختراع الحالي في عبوة مناسبة. تشتمل العبوات المناسبة، على سبيل المثال لا الحصر، على القنينات و الزجاجات والمرطبانات العبوات المرنة (على سبيل المثال، أكياس مانعة للتسرب من نوع Mylar أو عبوات بلاستيكية) وما شابه ذلك. تم أيضاً استخدام العبوات في توليفة مع وسيلة خاصة باستخدام معين مثل وسيلة استنشاق أو وسيلة إعطاء في الأنف (على سبيل

المثال، وسيلة ترذيذ) أو وسيلة تسريب مثل مضخة دقيقة. يمكن أن يشتمل الطقم على منفذ وصول معقم (على سبيل المثال، حاوية يمكن أن تكون عبارة عن كيس محلول خاص بالوريد أو زجاجة لها غطاء قابل للثقب بواسطة إبرة حقن تحت الجلد). يمكن أن تشتمل الحاوية، أيضاً على منفذ معقم (على سبيل المثال، يمكن أن تكون الحاوية في كيس محلول للإعطاء في الوريد أو من خلال زجاجة لها سدادة قابلة للثقب بواسطة إبرة حقن تحت الجلد). يكون هناك عامل فعال واحد على الأقل عبارة عن تركيبة لها جسم مضاد لـ EGFRvIII. يمكن أن تشتمل الحاوية على عامل فعال علاجي ثاني.

يمكن أن توفر الأطقم بشكل اختياري مكونات إضافية مثل المحاليل المنظمة والمعلومات التفسيرية. وبصفة طبيعية فإن الطقم يشتمل على حاوية ومرقم أو نشرة أو نشرات إدراج أو حاوية ما يرتبط بالحاوية.

وفيما يتعلق بالتضمين كمراجع هنا لكافة الأغراض فقد تم تضمين محتويات طلب البراءة الأمريكي المؤقت 281,533/62 (والذي تم إيداعه في 21 يناير 2016) و 431,758/62 (الذي تم إيداعه في 8 ديسمبر 2016).

الإيداع البيولوجي

تم إيداع المواد التوضيحية من الاختراع الحالي في مجموعة المزرعة من النوع الأمريكي برقم 10801 بجامعة بوليفارد Manassas, Va. 20110-2209, USA في يوم _____. بعنوان ناقل _____ له رقم وصول في بنك الجينات _____ والذي يكون عبارة عن بولي نيوكليوتيد يشفر _____ المنطقة المتغيرة للسلسلة الخفيفة والناقل _____ الذي يكون له رقم وصول ATCC تحت رقم والذي يكون عبارة عن بولي نيوكليوتيد يشفر منطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة لـ ____.

تم إجراء الإيداع في ظل أحكام اتفاقية بودابست فيما يتعلق بالتعريف الدولي للإيداع للمؤسسات الصغيرة ولغرض إجراءات إعطاء براءة الاختراع والأحكام المنظمة لذلك (اتفاقية بودابست). يؤكد ذلك الحفاظ على المزرعة قابلة للنمو في نظام الإيداع لمدة 30 سنة من تاريخ الإيداع. إن الاختراع المودع سوف يكون متاحاً في ظل ATCC وذلك اتساقاً مع شروط اتفاقية بودابست وما أُتفق عليه بين Pfizer, Inc و ATCC حيث تم التأكيد على الإتاحة المستمرة وغير المشروطة لذرية

المزرعة التي تم إيداعها للعرض العام عند إصدار براءة الاختراع الأمريكية المتعلقة بالموضع ويتم عرضها للنشر العام لأي طلب في الولايات المتحدة أو ي طلب براءة أجنبي آخر أيهما أسبق مع التأكيد على إتاحة ذرية المزرعة التي يتم تحديدها من خلال مفوض براءات الاختراع والعلامات التجارية في الولايات المتحدة الأمريكية وذلك في ظل القانون الأمريكي رقم 122 § .35 U.S.C والقواعد المتعلقة بالمفوض بموجبه (بما في ذلك القانون رقم 1.14 § .37 C.F.R مع الإشارة بصفة خاصة إلى 638 OG 886).

إن المتنازل له في الطلب الحالي قد وافق على أنه إذا تم موت مواد المزرعة عند إيداعها أو أنه كان من المفروض إماتتها أو عندما يتم فقدها أو تدميرها عند زراعتها في ظل الظروف الملائمة فيمكن استبدال تلك المواد في الحال وذلك بعد إصدار إشعار بذلك. إن إتاحة المادة التي تم إيداعها لا يعني أن ذلك إذناً بإجراء الاختراع فيما يتعارض بالحقوق الممنوحة له في ظل أي سلطة أو أي حقوق حكومية استناداً لقوانين البراءات الخاصة بها.

تم عرض الأمثلة التالية لغرض التوضيح فقط ولا يتم اعتبارها بأنها محددة لمجال الاختراع بأي طريقة. وبالفعل فإن العديد من التعديلات الخاصة بالاختراع بالإضافة إلى تلك المعروضة والتي تم وصفها هنا سوف تكون واضحة للشخص ذي المهارة في المجال من الوصف السابق وستكون كلها واقعة في مجال عناصر الحماية اللاحقة.

الأمثلة

المثال رقم 1: تحديد ألفة الجسم المضاد البشري –القوارض لـ EGFRvIII ناتج عودة الارتباط والخيمري والأجسام المضادة المتوافقة مع البشر

يحدد هذا المثال الألفة الخاصة بالأجسام المضادة الخيمرية والأجسام المضادة المتوافقة مع البشر من EGFRvIII عند 25°م و 37°م.

تم جعل الجسم المضاد (m) من الفئران EGFRvIII، m62G7 والذي تم إنشاؤه من سلالات الورم الهجين وتم انتساخه بشكل فرعي بداخل نواقل مناسبة فيما يتعلق بالتعبير كما هو الحال مع الأجسام المضادة الخيمرية الفأرية- البشرية. تم تطعيم CDRs من الجسم المضاد من الفئران m62G7 على الإطار البشري وتم التعبير عنه كما هو الحال مع الجسم المضاد ناتج عودة

الارتباط IgG1 من h62G7. تم تحضير الصور المتغيرة للألفة من h62G7 بواسطة إدخال التطفيرات في CDRs من السلاسل الثقيلة والخفيفة. تم قياس ألفات الجسم المضاد الخيمري لـ EGFRvIII ناتج عودة الارتباط من m62G7 والأجسام المضادة h62G7 المتوافق مع البشر على مستشعر حيوي من نوع Biacore™ T200 يستخدم رنين البلازمون السطح مجهز بـFc مضاد بشري بدرجة عالية ومقترن بشريحة مستشعر CM4 (GE Healthcare Inc., Piscataway, NJ). تم بعد ذلك إمساك الأجسام المضادة لـ EGFRvIII من خلال Fc المضادة للبشر. تم بعد ذلك حقن نطاق خارج الخلية من EGFRvIII بشري تم عليه وضع علامة هيستيدين -8 في شكل ناتج تحلل عند مجموعات تحلل 10 أضعاف مع تركيز علوي يصل لحوالي 1000 نانو مولار. تم قياس الألفة الخاصة بالأجسام المضادة لـ EGFRvIII نحو EGFRvIII بشري عند كل من 25 ْم و37 ْم (الجدول رقم 6). لم توضح أي من تلك الأجسام المضادة ارتباط تم اختياره لـ 1000 نانو مولار من 8-الهيستيدين الذي تم وضع علامة عليه باستخدام EGFRwt من البروتين من النوع غير المعالج تحت نفس الظروف.

في الجدول رقم 6، فإن الصور المتغيرة من h62G7 يتم وصفها بالإشارة إلى الصورة المتغيرة من السلسلة الثقيلة وبعد ذلك الصورة المتغيرة للسلسلة الخفيفة. على سبيل المثال ،تشير نسيلة الجسم المضاد "h62G7-EQ/L6 " إلى نسيلة h62G7 التي تشتمل على الصورة المتغيرة من "EQ " في السلسلة الثقيلة (والتي يطلق عليها هنا أيضاً بأنها "h62G7-EQ ") والصور المتغيرة من " L6" في السلسلة الخفيفة (التي يطلق عليها هنا بأنها "h62G7-L6 "). تم توفير متواليات الحمض الأميني من السلسلة الثقيلة والسلسلة الخفيفة في الجدول رقم 2. وأيضاً وفي الطلب الحالي فيمكن أن تتم الإشارة إلى الصورة المتغيرة h62G7 مع أي من الصور المتنوعة من السلسلة الثقيلة أو السلسلة الخفيفة التي يتم كتابتها أولا-على سبيل المثال، "h62G7-EQ/L6 " و" h62G7-L6/EQ ". تتم الإشارة إلى الجسم المضاد بأنه يشتمل على h62G7-EQ من السلسلة الثقيلة والسلسلة الخفيفة h62G7-L6.

الجدول رقم 6:

الجسم المضاد	25°م			37°م		
	ka(1/مو لار ثانية)	kd (1/ الثانية)	KD (نانو مولار)	ka (1/مولار ثانية)	kd (1/ الثانية)	KD(نانو مولار)
m62G7	7.30E+05	6.40E-02	88.7	8.00E+05	1.70E-01	207.0
h62G7-EQ/L6	2.40E+05	1.00E-02	43.8	6.60E+05	7.40E-02	112.8
h62G7-EQ/L1-DV	2.00E+05	1.20E-05	59.9	3.70E+05	6.90E-02	185.8
h62G7-H14/L1-DV	1.80E+04	2.00E-02	1087.9	6.60E+04	1.00E-01	15396.
h62G7-H14/L6	1.30E+04	1.30E-02	992.2	4.30E+04	6.80E-02	15833.

المثال رقم 2: تحديد الألفة الخاص بالأجسام المضادة البشرية لـ EGFRvIII

يوضح المثال الحالي ألفة الأجسام المضادة لـ البشرية المتعددة EGFRvIII عند 37°م.

لكي يتم إنتاج الأجسام المضادة في مقابل EGFRvIII فإن الفئران التي تمت معالجتها من AlivaMab المعالجة بالجين (Ablexis LLC, San Francisco, CA) يتم تحصينها باستخدام نموذج بديل من سلالة خلية خاصة بالورم الدبقي للجرذان مثبتة ببارافورمالديهيد تعبر عن EGFRvIII, F98-npEGFRvIII (American Type Culture Collection,

(Manassas, VA) والببتيدات (المتوالية بهوية رقم 227: CGSGSGLEEKKGNYVVTDH) والتي تم توجيهها إلى منطقة مرتبطة في EGFRvIII. تم إنتاج الورم الهجين باستخدام تقنيات قياسية. لكي يتم تحديد ألفة الارتباط والخاصة الخاصة بالأورام المذكور لـ EGFRvIII فإن الأجسام المضادة في المواد الطافية في المزرعة يتم الإمساك بها بواسطة Fc مضاد للفئران يستخدم مستشعر حيوي Biacore™ T200 مزود بمضاد Fc فأري مقترن بشرائح مستشعر CM4 (Biacore™ AB, Uppsala, Sweden – now GE Healthcare). تم بعد ذلك حقن النطاق خارج الخلية لـ EGFRvIII البشري المعلم بـ 8-أحادي الوحدات في شكل ناتج حقن عند سلاسل التخفيف لمدة 10 أضعاف بداية مع التركيز العلوي لـ 1000 نانو مولار. تم قياس الألفة الخاصة بالأجسام المضادة لـ EGFRvIII نحو EGFRvIII عند 37°م (الجدول رقم 7). لم توضح أي من الأجسام المضادة الخاصة بالورم الهجين أي ارتباط قابل للاكتشاف بالنسبة لـ 1000 نانو مولار من بروتين غير معالج ناتج عودة الارتباط معلم بالهيستيدين -8 من EGFRwt تحت نفس ظروف الاختبار.

الجدول رقم 7

ارتباط EGFRvIII عند 37°م			
KD (نانو مولار)	kd (1/ الثانية)	ka (1 /مولار ثانية)	الجسم المضاد
8.2	5.63E-04	6.88E+04	42G9
9.6	6.26E-04	6.54E+04	32A10
9.5	6.32E-04	6.66E+04	21E11
9.1	6.95E-04	7.64E+04	49B11
12.0	7.16E-04	5.97E+04	46E10
12.4	7.33E-04	5.93E+04	12H6

19A9	5.58E+04	1.04E-03	18.6
11B11	5.21E+04	1.13E-03	21.7
21E7	6.52E+04	1.30E-03	19.9
20B9	4.67E+04	1.50E-03	32.1
12B2	7.38E+04	1.79E-03	24.3
11F10	6.63E+04	2.81E-03	42.4
17G11	5.61E+04	3.00E-03	53.5
29D5	1.02E+05	4.24E-03	41.6
14C11	7.55E+04	5.93E-03	78.5
20E12	3.99E+04	1.41E-02	353.4
20G5	1.25E+05	2.89E-02	231.2
26B9	1.31E+05	3.20E-02	244.3
30D8	1.61E+05	2.77E-02	172.0
32G8	6.82E+03	1.22E-02	1788.9
34E7	3.77E+04	1.28E-02	339.5

الجدول رقم 3: خاصية الارتباط الخاصة بالأجسام المضادة لـ EGFRvIII بالنسبة لسلالات الخلية المعبرة عن EGFRvIII من خلال قياس التدفق الخلوي

يوضح هذا المثال خاصية الارتباط الخاصة بالخلية من الأجسام المضادة لـ EGFRvIII بالنسبة للخلايا المعبرة عن EGFRvIII

لكي يتم اختبار خاصية الربط الخاصة بالخلية من الأجسام المضادة لـ EGFRvIII التي تم توليدها من فئران AlivaMab، تم الحصول على ثلاثة من سلالات خلية الورم الدبقي الجرذي وسلالة خلية السرطان البشري التي تم استخدامها: F98 (لا يعبر عن أي صورة من EGFR بشري)، F98-EGFRwt (يعبر عن النوع غير المعالج من EGFR) و F98-npEGFRvIII (يعبر عن EGFRvIII) و A431 (سلالة خلية ورم سرطاني على البشرة مع التعبير المفرط عن EGFR غير المعالج) من معامل American Type Culture Collection (Manassas, VA). بالنسبة لتبقيع الخلية تمت حضانة 500000 خلية باستخدام 50 ميكرو لتر من المواد الطافية من الورم الجين لمدة 45 دقيقة عند 4° م وتم الغسل مع محلول منظم خاص بالارتباط (PBS(محلول ملحي منظم من الفوسفات) +0.5 % من BSA (ألبومين مصل بقري))، يلي ذلك الحضانة باستخدام جسم مضاد ثانيو خاص بـ Fc مضاد للفئران مأخوذ من الماعز مترافق FITC لجسم مضاد ثانوي من معامل Jackson ImmunoResearch Laboratories (West Grove, PA). أوضح الجدولان 8أ و 8ب متوسط كثافات التألق (MFI) من الأجسام المضادة لـ EGFRvIII (باستثناء النسيلة 20G5) على سلالة خلية معبرة عن EGFRvIII والتي تكون بها 10 أضعاف على الأقل أعلى وبها سلالات خلية لم يتم التعبير عنها. يوضح الشكل رقم 1أ، 1ب و1ج أمثلة خاصة بمخططات ربط FACS من ثلاثة نسائل EGFRvIII والتي تم انتساخها والتعبير عنها في شكل أجسام مضادة ناتجة عودة الارتباط من IgG1 بشري، 42G9 (الشكل رقم 1أ)، 32A10 (الشكل رقم 1ب) و 32G8 (الشكل رقم 1ج) وثلاثة من سلالات الخلية F98.

الجدول رقم 8أ

	F98		F98-EGFRwt		F98-EGFRvIII		A431	
الجسم المضاد	MFI	% إيجابي	MFI	% إيجابي	MFI	% إيجابي	MFI	% إيجابي
Ab ثاني فقط	170	0.6	202	1.7	258	2.3	592	0.4

مضاد - wt) EGFR و vIII)	163	0.5	9608	98.3	5329	99.4	55240	100.0
42G9	159	0.4	185	1.6	3247	98.5	538	0.3
32A10	159	0.5	185	1.4	3349	98.3	531	0.2
21E11	159	0.3	184	1.3	3105	98.5	555	0.5
49B11	156	0.6	185	1.3	2980	98.5	599	0.8
46E10	158	0.4	187	1.6	2986	98.7	560	0.5
12H6	157	0.5	188	1.9	3445	98.3	569	0.8
19A9	158	0.5	168	1.6	3100	98.1	578	1.0
11B11	161	0.6	187	1.7	3391	98.2	589	1.2
21E7	159	0.3	184	1.3	3105	98.5	603	1.1

20B9	157	0.3	189	1.8	3418	98.3	558	0.7
12B2	156	0.4	185	1.5	2749	97.9	571	0.8
11F10	155	0.5	187	1.6	3283	98.0	582	1.1
17G11	157	0.6	184	1.5	3357	98.1	556	0.7
29D5	155	0.3	185	1.3	2829	97.9	531	0.4
14C11	157	0.4	185	1.3	3213	98.2	580	0.8

الجدول 8ب

	A431		F98-EGFRvIII		F98-EGFRwt		F98	
الجسم المضاد	% إيجابي	MFI	% إيجابي	MFI	% إيجابي	MFI	% إيجابي	MFI
Ab ثاني فقط	0.7	185	1.3	322	0.2	252	0.2	235
مضاد - EGFR	100.0	44493	99.4	5827	97.2	6857	0.3	245

و wt) (vIII								
20E12	381	6.0	348	3.4	3976	97.9	302	2.6
20G5	1248	16.8	1070	12.6	4639	98.5	391	2.0
26B9	310	4.1	298	2.3	5405	98.6	276	1.7
30D8	296	4.0	280	1.7	5165	98.6	269	1.3
32G8	329	4.9	301	1.6	3734	98.6	271	1.2
34E7	485	6.9	371	4.0	4128	98.5	294	1.1

أوضحت

تلك النتائج خاصية الارتباط الخاصة بالأجسام المضادة لـ EGFRvIII للخلية التي تعبر عن EGFRvIII.

المثال رقم 4: تحديد الألفة الخاصة بالأجسام المضادة البشرية الكاملة من EGFRvIII من مكتبة الملتهمة

يحدد هذا المثال ألفة العديد من الأجسام المضادة لـ EGFRvIII البشرية عند 25° م. تم تتالي الأجسام المضادة لـ EGFRvIII تم نسخها بشكل فرعي في نواقل مناسبة للتعبير في شكل أجسام مضادة لـ IgG1 بشرية ناتجة عودة الارتباط. تم قياس ألفات الأجسام المضادة عند 25° م (الجدول

رقم 9) على مستشعر حيوي من نوع Biacore™ T200 برنين البلازمون السطحي المزود بشريحة مستشعر CM4 مقترنة بـ Fc مضاد للبشر (GE Healthcare Inc., Piscataway, NJ). تم التقاط الأجسام المضادة لـ EGFRvIII بواسطة Fc بشري. تم بعد ذلك حقن نطاق خارج الخلية من EGFRvIII بشري معلم بهيستيدين -8 في شكل ناتج تحلل مع تخفيفات لعشرة أضعاف بدءاً من 1000 نانو مولار. ومن بين الاثنين من الأجسام المضادة هناك فقط C6 الذي ظهر أنه ضعيف جداً ولكن كان مرتبطاً بشكل قابل للاكتشاف مع 1000 نانو مولار من EGFRwt من بروتين من النوع غير المعالج ناتج عودة الارتباط المعلم بهيستيدين -8 عند 25°م.

الجدول رقم 9

ارتباط EGFRvIII عند 25°م			
KD (نانو مولار)	kd (1/ الثانية)	ka (1 /مولار ثانية)	الجسم المضاد
677.9	1.41E-02	2.08E+04	B5
532.1	8.94E-03	1.68E+04	C6

المثال رقم 5: تحديد الألفة الخاصة بسلسلة منفردة ناتجة عودة الارتباط Fv تمت صياغتها من الأجسام المضادة لـ EGFRvIII

يحدد هذا المثال الألفة الخاصة بالعديد من السلسلة المنفردة لناتج عودة الارتباط لـ Fv التي تمت صياغتها في الأجسام المضادة لـ EGFRvIII عند 37°م.

لكي يتم تحويل الجسم المضاد التقليدي على سلسلة منفردة من شظية Fv (scFv)، فإن النطاق المتغير للسلسلة الثقيلة والنطاق المتغير للسلسلة الخفيفة يتم ربطهما معاً من خلال الرابط (GGGGS)4 (المتوالية بهوية رقم 202). يتم بعد ذلك دمج شظية scFv مع جزء Fc IgG1 بشري لكي يتم تسهيل التعبير ناتج عودة الارتباط والتنقية. تم قياس ألفات بروتينات الاندماج scFv-Fc والتي تم قياسها عند 37°م على مستشعر حيوي Biacore™ T200 برنين البلازمون

السطحي المزود بشريحة مستشعر CM4 الذي تم إقرانها مع Fc المضاد البشري (GE Healthcare Inc., Piscataway, NJ) كما تم وصفه هنا أعلاه. تم الحصول على بروتينات scFv-Fc بواسطة Fc مضادة للبشر. تم بعد ذلك حقن نطاق خارج الخلية من EGFRvIII البشري المعلم بهيستيدين -8 في شكل ناتج تحليل عند 10 أضعاف من التخفيفات بدءاً من 1000 نانو مولار. يوضح الجدول رقم 10 بروتينات اندماج تمت إعادة تشكيلها من scFv التي تحتفظ بالارتباط مع EGFRvIII، وتلك الخاصة بالألفات الخاصة بالبروتينات scFv-Fc في كل من HL (مع النطاق المتغير للسلسلة الثقيلة وعند الطرف N) وLH (مع نطاق متغير لسلسلة خفيفة عند الطرفN) وقد تمت مقارنة تلك الاتجاهات بالأجزاء العكسية التقليدية للجسم المضاد التي تم توضيحها ي الجداول 6، 7 و9. تم اختبار تلك البروتينات أيضاً فيما يتعلق بـ scFv-Fc للارتباط مع 1000 نانو مولار من بروتين من نوع غير معالج ناتج عودة الارتباط معلم بهيستيدين -8 من EGFRwt عند 25°م، ولكن لم يتم لأيٍ منها توضيح الربط الهام.

الجدول رقم 10:

بروتين scFv-Fc	EGFRvIII مرتبط عند 37°م		
	ka (1 /مولار ثانية)	kd (1/ الثانية)	KD (نانو مولار)
h62G7-L6/EQ	7.5E+05	7.6E-02	100.9
C6.HL	1.9E+04	2.0E-02	1063.8
14C11.HL	4.2E+04	4.3E-03	104.3
14C11.LH	4.8E+04	6.5E-03	136.0
20B9.HL	2.4E+04	1.8E-03	73.8
20B9.LH	3.0E+04	2.5E-03	82.7

32A10.HL	4.7E+04	1.2E-03	24.5
32A10.LH	4.1E+04	1.2E-03	29.8
42G9.HL	5.6E+04	1.1E-03	18.8
42G9.LH	4.0E+04	8.8E-04	22.1
26B9.HL	5.7E+04	4.0E-02	704.9
26B9.LH	6.9E+04	3.4E-02	494.2
30D8.HL	2.3E+05	5.3E-02	224.6
30D8.LH	1.1E+05	3.8E-02	348.6
20E12.HL	2.1E+04	1.9E-02	893.7
20E12.LH	1.6E+04	1.5E-02	932.5
32G8.HL	8.7E+03	1.3E-02	1490.0

المثال رقم 6 : إنتاج واكتشاف خلايا T لمستقبل مولد الخيمري (CAR) الخاصة بـ EGFRvIII

يحدد هذا المثال التعبير وخاصية الربط لمولد الضد في خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII.

تمت إذابة PBMC من مانحين أصحاء التي تم توفيرها بواسطة AllCells (Alameda, CA) طبقاً لموفر المواصفة وتمت الزراعة طوال الليل في وسط X-VivoTM-15 (Lonza, Walkersville, MD) والذي تم تزويده بـ 5% من المصل البشري. تم تنشيط الخلايا T لمدة ثلاثة أيام في وسط X-VivoTM-15 (Lonza) والذي تم تزويده بـ 20 نانو جرام/مل من IL-2، و5% من المصل البشري ومنشط T بشري من Dynabeads من CD3/CD28 عند نسبة خرزة: خلية من 1: 1 (Life Technologies, Carlsbad, CA). تم بعد ذلك نقل الإشارة باستخدام ناقل فيروس بطيء ثنائي السيسترون يشتمل على كاسيت تعبير CAR خاص بـ BFP-T2A-EGFRvIII تحت تحكم المعزز EF1α عند مضاعفة خاصة بالعدوى (MOI) من 5. في

هذه البنية، يتم التعبير المشترك عن CAR الخاص بـ EGFRvIII باستخدام BFP (بروتين تألق أزرق) لكي يتم تسهيل الاكتشاف الخاص بـ CAR خاص بـ EGFRvIII. تم الحفاظ على CARs الخاص بـ EGFRvIII الموجود في متواليات VH وVL من نسائل مضاد EGRRvIII مختلف (h62G7-L6/EQ، 14C11، 20B9، 32A10، 42G9، C6، 20E12، 26B9، 30D8، و32G8؛ التي تم وصفها هنا فيما بعد). تم الحفاظ على خلايا CAR T في المزرعة في مدة تصل لحوالي 14 يوماً بعد نقل العدوى. تمت مراقبة النسبة المئوية الخاصة بالخلايا من CAR الخاصة بـ EGFRvIII على مدى الفترة الزمنية (اليوم 4 و9 و14 بعد تحويل الإشارة الخاصة بالفيروس البطيء من خلايا T أساسية) بواسطة قياس تدفق الخلايا باستخدام BFP (بروتين تألق أزرق) خاص بالاكتشاف (الشكل رقم 2أ) (تم تحديد النسبة المئوية من خلايا قابلة للنمو الموجب من BFP).

لتحديد خاصية الربط المستهدفة لـ CARs، يتم دمج بروتينات ناتجة عودة الارتباط من EGFRvIII-mFc وEGFR-mFc والتي تشتمل على نطاق خارج الخلية من أي من EGFRvIII بشري أو EGFR من النوع غير المعالج البشري، على الترتيب، مع نطاق IgG1-Fc فأري في خلايا HEK293. تم تحديد خاصية الارتباط المستهدفة بواسطة حضانة خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII المختلفة مع أي من بروتين EGFRvIII-mFc أو EGFR-mFc الذي يليه الجسم المضاد الثانوي لـ Fc المضاد للفئران والمأخوذ من الماعز المرقم بـ PE (Jackson ImmunoResearch) وتم التحليل بواسطة قياس التدفق الخلوي في اليوم 4 بعد نقل الإشارة لخلايا T باستخدام نواقل مشفرة لـ CARs المشتملة على نسائل خاصة بـ EGFRvIII المختلفة (h62G7-L6/EQ، 14C11، 20B9، 32A10، 42G9، C6، 20E12، 26B9، 30D8، و32G8). وكما هو موضح في الشكل رقم 2ب، تشتمل خلايا CAR T على متواليات VH وVL من النسائل h62G7-L6/EQ، 14C11، 20B9، 32A10، 42G9، 20E12، 26B9، و30D8 التي ترتبط بـ EGFRvIII-mFc ولكنها لا ترتبط بشكل هام بـ EGFR-mFc. في اليوم 14 بعد نقل الإشارة فإن الارتباط الخاص بالتعبير عن CAR كما تم اكتشافه بواسطة BFP على الخلايا وعلى ربط EGFRvIII-mFc ناتج عودة الارتباط بالخلايا. تم توضيح مجموعة توضيحية في الشكل رقم 2ج والذي يوضح التعبير عن CARs المشتمل على

عشرة من نسائل خاصة بـ EGFRvIII مختلفة (h62G7-L6/EQ، 14C11، 20B9، 32A10، 42G9، C6، 20E12، 26B9، 30D8، و32G8) في خلايا CAR T في اليوم 14 بعد نقل العدوى كما تم تحديده بواسطة اكتشاف BFP على الخلايا وربط EGFRvIII-mFc ناتج عودة الارتباط بواسطة الخلايا.

أوضحت تلك النتائج أن خلايا CAR T تشتمل على خلايا CARs التي تشتمل على متواليات VH وVL من النسائل h62G7-L6/EQ، 14C11، 20B9، 32A10، 42G9، 20E12، 26B9، و 30D8 التي ترتبط بـ EGFRvIII-mFc ولكنها لا ترتبط بشكل هام بـ EGFR-mFc.

المثال رقم 7: التحلل المستقل وغير المستقل للمستهدف من خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII

يحدد هذا المثال نشاط التحلل من خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII في وجود أو غياب سلالات خلية سرطان من تعبير المستهدف.

تم استخدام سلالات الخلية الخمسة لكي يتم تقييم نشاط التحلل الخاص بخلايا. تم استخدام خمسة سلالات تحلل لكي يتم تقييم نشاط التحلل الخاص بخلايا CAR T. تم الحصول على سلالة خلية سرطان رئة بشري NCI-H522 وسلالة خلية ورم أرومي دبقي U87MG من مزرعة American Type Culture Collection (Manassas, VA) وتمت الزراعة في وسط RPMI 1640 الذي تم تزويده بـ 10% من مصل بقري جنيني غير نشط (Mediatech Inc., Manassas, VA). وحيث أن معظم سلالات خلية السرطان لا يتم التعبير عنها في EGFRvIII و NCI-H522 (والتي لا تعبر عن مستوي يمكن قبوله من EGFR أو EGFRvIII غير معالج) فإنه يمكن نقل الإشارة له باستخدام ناقل فيروسة بطيئة يشفر جين EGFRvIII كامل الطول (المتوالية بهوية رقم 201) لكي يتم إنتاج NCI-H522-EGFRvIII والتي تعبر عن مستوي منخفض من EGFRvIII. ولكي يتم إنشاء سلالات خلية الورم الأرومي الدبقي البشري المتماثلة جينياً والتي تعبر عن العديد من بروتينات EGFR، فتتم المعالجة لجين EGFR من النوع غير المعالج باطني النمو من U87MG أولاً لكي يتم إنشاء سلالة خلية U87-KO EGFR-null "".

يتم بعد ذلك نقل الإشارة لخلية U87-KO باستخدام ناقل فيروس بطيء يشفر جينEGFR من النوع كامل الطول (رقم ارتباط NP_005219) للحصول على سلالة خلية مفرطة التعبير عن EGFR، "U87-KO-EGFRwt" ". وبصورة مشابهة فإن "U87-KO-EGFRvIII " (التي تعبر بشكل مفرط عن EGFRvIII) قد تم إنشاؤها من U87-KO بواسطة نقل الإشارة بالفيروس البطيء مع ناقل يشفر جين EGFRvIII كامل الطول (المتوالية بهوية رقم 201).

بالنسبة لاختبار التحلل، تمت حضانة 100000 خلية T معبرة عن CARs خاص EGFRvIII متنوع (والتي تشتمل على النسائل h62G7-L6/EQ، 14C11، 20B9، 32A10، 42G9، C6، 20E12، 26B9، 30D8، و32G8) في أطباق بها 96 عيناً مع حجم مساوي لعدد خلايا سلالات الورم التي تعبر عن مستويات متعددة من بروتين EGFRvIII أو بروتين EGFRwt. تم الحفاظ على المزارع المشتركة في حجم نهائي من 100 ميكرو لتر من وسط X-VivoTM-15 (Lonza, Walkersville, MD) لمدة 6 ساعات عند 37° م مع 5% من CO2. تم إجراء عملية تبقيع CD107a أثناء عملية حث الخلية بواسطة إضافة جسم مضاد لـ CD107a خاص بالفلوروسنت (Miltenyi Biotec, San Diego, CA) عند بداية الزراعة المشتركة مع تركيز نهائي من حوالي 1 ميكرو جرام/مل من مضاد CD49d (BD Pharmingen, San Diego, CA)، 1 ميكرو جرام/مل من مضاد CD28 (Miltenyi Biotec) و1 × من محلول مونينيسين (eBioscience, San Diego, CA). وبعد الحضانة لمدة 6 ساعات، تم تبقيع الخلية باستخدام صبغة قابلة للنمو مرنة وجسم مضاد لـ CD8 مترافق مع فلورو كروم (Miltenyi Biotec) وتم التحليل بواسطة قياس تدفق الخلايا. تم تحديد نشاط التحلل في شكل نسبة مئوية من خلايا CD8+/BFP+/CD107a+قابلة للنمو وعن طريق تحديد إشارة كثافة التألق المتوسطة (MFI) لتبقيع CD107a بين خلايا CD8+/BFP+. تم إجراء اختبار التحلل في اليوم 14 بعد نقل العدوى لـ CAR. أوضح الشكل رقم 3 النتائج من اثنين من مانحين من PBMC لـ CAR خاص بـ EGFRvIII. وباستثناء الخلايا CAR T المشتملة على نسائل C6 و32G8، تم فقط ملاحظة نشاط التحلل (أكثر من CAR-T بمفردها) عندما تتم الزراعة المشتركة لخلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII باستخدام سلالات خلية التي تعبر عن EGFRvIII مثل NCI-H522-EGFRvIII و U87-KO-EGFRvIII.

أوضحت تلك النتائج أن خلايا CAR T الخاصة بـEGFRvIII تعرض نشاطاً خاصاً بالتحلل في وجود خلايا ورم تعبر عن EGFRvIII ولكنها لا تعرض نشاطاً خاصاً بالتحلل في وجود خلايا ورم والتي لا تعبر عن EGFRvIII.

المثال رقم 8: إفراز إنترفيرون جاما (IFN) من خلايا CAR T خاصة بـ EGFRvIII

يعرض هذا المثال مستوي إفراز IFN من خلايا CAR T عند الزراعة باستخدام خلايا CAR T خاصة بـ EGFRvIII عند الزراعة باستخدام خلايا CAR T خاصة بـ EGFRvIII باستخدام سلالات خلية تعبر عن بروتين مستهدف.

تمت حضانة خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII والمعبرة عن CARs المشتمل على نسائل خاصة بـ EGFRvIII مختلفة (h62G7-L6/EQ، 14C11، 20B9، 32A10، 42G9، C6، 20E12، 26B9، 30D8، و32G8) في أطباق بها 96 عيناً (100000 خلية/ العين) مع عدد مساوي من الخلايا التي تعبر عن مستويات مختلفة من بروتينات EGFRvIII أو EGFRwt (الخلايا NCI-H522، NCI-H522-EGFRvIII، U87-KO، U87-KO-EGFRwt، و U87-KO-EGFRvIII؛ تم وصف كل مها أعلاه في المثال رقم 7). تم الحفاظ على المزارع المشتركة في حجم نهائي من 100 ميكرو لتر من وسط X-VivoTM-15 (Lonza) لمدة 18 ساعة عند 37° م مع 5% من CO2. تم بعد ذلك تجميع المادة الطافية وتم تجميدها. تم قياس IFN في المادة الطافية باستخدام IFN -جاما بشري من طقم Quantikine ELISA (R&D systems, Minneapolis, MN) طبقاً لتعليمات المصنع. وكما هو موضح في الشكل رقم 4 الخاص بمعظم خلايا CAR T فإن مستوي إفراز IFN يرتبط مع كمية من EGFRvIII التي تعبر عن خلايا مزرعة مشتركة: مع كمية صغيرة تم حثها بـ NCI-H522-EGFRvIII ناتج التعبير بكمية صغيرة من IFN، كمية كبيرة تم حثها من U87-KO-EGFRvIII بوسيلة تعبير عالية من خلايا IFN التي تعبر عن نسيلة خاصة بـEGFRvIII من 32G8 CAR التي لا تفرز مستويات كبيرة من IFN تحت كل الظروف التي تم اختبارها. تقوم نسيلة خاصة بـ EGFRvIII من خلايا C6 CAR T على الجانب الآخر وتم إفرازها من مستويات عالية من IFN عند الزراعة باستخدام أي من خلايا U87-KO-EGFRwt أو خلايا U87-KO- EGFRvIII.

أوضحت النتائج أن العديد من خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII ومستوي إفراز IFN ترتبط مع كمية من EGFRvIII الذي تم التعبير عنه بواسطة خلايا مزرعة مشتركة.

المثال رقم 9: السمية الخلوية من خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII

يحدد هذا المثال، السمية الخلوية لخلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII عند الزراعة المشتركة باستخدام خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII مع سلالات خلية تعبر عن بروتين مستهدف.

تم بذر خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII التي تعبر عن نسائل خاصة بـ EGFRvIII مختلفة (h62G7-L6/EQ، 14C11، 20B9، 32A10، 42G9، C6، 20E12، 26B9، 30D8، and 32G8) في أطباق بها 96 عيناً (400000 خلية/ العين) مع 20000 خلية مستهدفة تعبر عن مستويات متنوعة من بروتين EGFRvIII. كانت خلايا المستهدف عبارة عن: U87-KO-EGFRwt؛ NCI-H522-EGFRvIII؛ U87-KO-EGFRvIII التي تم وصفها أعلاه. تم وضع خلايا المستهدف (EGFRvIII موجب: NCI-H522-EGFRvIII و U87-KO-EGFRvIII) وعينة المقارنة (EGFRvIII السالبة:U87-KO-EGFRwt) وتم الترقيم باستخدام صبغة فلوروسنت داخل الخلية CFSE قبل الزراعة المشتركة مع خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII. تمت حضانة المزارع المشتركة لمدة 4 ساعات عند 37 م باستخدام 5% من CO2. وبعد فترة الحضانة المذكورة، تم ترقيم الخلايا باستخدام صبغة قابلة للنمو والتثبيت وتم التحليل بواسطة قياس التدفق الخلوي. تم تحديد قابلة النمو لكل مجموعة خلوية (خلايا مستهدفة موجبة لـ EGFRvIII أو خلايا تحكم سلبية لـ EGFRvIII) وتم حساب النسبة المئوية لتحلل الخلية المعين. تم إجراء اختبارات السمية الخلوية عند 14 يوماً بعد نقل العدوى لخلايا T. على الرغم من أن كل خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII، باستثناء 32G8، كانت قابلة للتحلل بواسطة كل من خلايا التعبير المستهدفة عند المستوي المنخفض (NCI-H522-EGFRvIII) وخلايا التعبير المستهدفة عند المستوي العالي (U87-KO-EGFRvIII) للعديد من الدرجات المتنوعة. بالإضافة إلى ذلك، فإن مستنسخ الخلية EGFRvIII من الخلايا C6 CAR T يقوم بتحلل كل من خلايا معبرة عن EGFR من النوع غير المعالج وخلايا التعبير عن EGFRvIII (الشكل رقم 5).

أوضحت تلك النتائج أن خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII تقوم بشكل فعال بقتل الخلايا التي تعبر عن EGFRvIII.

المثال رقم 10: الدراسة في الكائن الحي لخلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII في نموذج U87-KO-EGFRvIII

يوضح هذا المثال النشاط المضاد للورم من خلايا CAR T الخاصة بـ EGFRvIII في نموذج غيروي من U87-KO-EGFRvIII GBM.

تمت زراعة ثلاثة ملايين خلية ورم من U87-KO-EGFRvIII GBM (تم وصفها أعلاه) تحت الجلد في فئران NSG بعمر 5-6 أسابيع (Jackson Laboratory, Sacramento, CA). تم قياس حجم الورم مرة واحدة في الأسبوع بواسطة فرجار قياس وتم الحساب بإتباع الصيغة التالية: حجم الورم = (الطول × العرض 2) /2. في اليوم 8 بعد زراعة الورم تم التقسيم العشوائي للحيوانات من خلال أحجام الأورام إلى خمسة حيوانات في كل مجموعة وتم إعطاء جرعة منفردة من 6 مليون خلية CAR T خاصة بـ EGFRvIII موجبة من CAR (التي تعبر عن مستنسخ خاص بـ EGFRvIII من 14C11 أو32A10 أو 26B9؛ وقد تم وصف تلك النسائل في مكان آخر هنا) أو عدد إجمالي مكافئ من خلايا T التي تم نقل العدوى لها والتي تم إعطاؤها من خلال الحقن في وريد الذيل بجرعة كبيرة. يوضح الشكل رقم 6 أن خلايا CAR T الخاصة بـ 14C11 و32A10 و26B9 EGFRvIII، ولكن ليس خلايا T التي لم يتم نقل العدوى لها، تقوم بتثبيط نمو الورم في الجزء الغيروي من U87-KO-EGFRvIII في الكائن الحي.

أوضحت تلك النتائج أن خلايا CAR T الخاصة بـEGFRvIII تثبط بشكل فعال نمو الورم من خلايا معبرة عن -EGFRvIII في الكائن الحي.

المثال رقم 11: التعبير السطحي لـ CARs الخاص بـ EGFRvIII المشتمل على متوالية الانتحار R2

أوضح هذا المثال أن التعبير عن CARs الخاص بـ EGFRvIII يشتمل على متوالية انتحار لـ R2 في الخلايا T

تكون متوالية انتحار R2 عبارة عن متوالية انتحار تعتمد على القمة اللاصقة لـ CD20 وتشتمل على اثنين من نسخ ترادفية من قمة لاصقة خاصة بالتعرف على ريتوكسيماب. تم إدراج متوالية R2 بين scFv ومتواليات مفصلية من CD8 من CARs خاص بـ EGFRvIII كما تم وصفه هنا في مكان آخر (14C11، 32A10، 30D8 ، و26B9) لإنشاء العديد من EGFRvIII-R2 CARs (والتي يطلق عليها هنا بأنها "14C11-R2"، "32A10-R2"، "30D8-R2" و "26B9-R2" على الترتيب). تم نقل العدوى لخلايا T باستخدام ناقل فيروس بطيء يشتمل على العديد من كاسيتات التعبير عن EGFRvIII-R2 CAR تحت تحكم المعزز EF1α عند تكرار خاص بالعدوى (MOI) من 5 أو 25 (على سبيل المثال، النسائل 26B9-R2 و30D8-R2). تم الحفاظ على خلايا CAR T في المزرعة لمدة تصل إلى 14 أو 15 يوما بعد نقل العدوى.

تمت مراقبة تعبير CAR على مدى فترة زمنية (في اليوم 4 واليوم 9/ 10 واليوم 14 /15 بعد نقل العدوى للخلية T) بواسطة قياس التدفق الخلوي باستخدام البروتينات ناتجو عودة الارتباط المعالجة بالبيوتينيل: EGFRvIII-mFc أو ريتوكسيماب للخلايا (المترافق مع EZ-Link™ Sulfo-NHS-SS-Biotin; ThermoFisher, Waltham, MA) يلي ذلك PE مترافق مع ستربتافيدين (BD Biosciences, San Diego, CA). تم توضيح النسب المئوية للخلايا الموجبة لـ CAR كما تم اكتشافها باستخدام EGFRvIII-mFc تمت معالجتها بالبيوتنيل وريتوكسيماب تمت معالجته بالبيوتنيل وتم توضيحه في الشكل رقم 7 و8 على الترتيب. تم توفير الارتباط مع خلايا T لم يتم نقل العدوى لها non-transduced T cells (NTD) في شكل عينة مقارنة.

أوضحت تلك النتائج أن التعبير في الخلايا T من CARs الخاص بـ EGFRvIII يشتمل على متوالية انتحار R2 suicide sequence.

المثال رقم 12: السمية الخلوية لخلايا R2 CAR T الخاصة بـ EGFRvIII

أوضح هذا المثال أن السمية الخلوية لخلايا R2 CAR T الخاصة بـ EGFRvIII عند الزراعة المشتركة تكون مع وجود سلالات خلية معبرة عن المستهدف.

تم إجراء اختبارات السمية الخلوية كما تم وصفه في المثال رقم 9 باستخدام EGFRvIII-R2 CARs 14C11-R2 و32A10-R2 و30D8-R2و26B9-R2 والتي تم وصفها في المثال رقم 11. تكون كل خلايا R2 CAR T الخاصة بـ EGFRvIII قد تم اختبارها وهي قادرة على تحلل كل من خلايا معبرة عن المستهدف عند مستوي منخفض (NCI-H522-EGFRvIII) وعند خلايا معبرة عن مستهدف مستوي عالي (U87-KO-EGFRvIII) للعديد من الدرجات (الشكل رقم 9).

أوضحت تلك النتائج أن خلايا R2 CAR T الخاصة بـ EGFRvIII تقوم بالقتل الفعال للخلايا التي تعبر عن EGFRvIII.

على الرغم من أنه قد تم وصفه التعليمات التي تم الكشف عنها هنا مع الإشارة إلى التطبيقات المختلفة والطرق والأطقم والتركيبات، فسوف يكون من المدرك أن العديد من التغييرات والتعديلات يمكن إجراؤها بدون الخروج عن المبادئ التي توضيحها هنا والاختراع الذي تمت حمايته هنا فيما يلي. تم توفير الأمثلة السابقة بحيث يتم عرض فهماً أفضل للتعليمات التي تم الكشف عنها ولا يقصد منها أن تحدد مجال التعليمات التي تم عرضها هنا. على الرغم من أنه قد تم عرض المبادئ الحالية وتم وصفها هنا في سياق النماذج التوضيحية فإن الماهر في المجال سوف يفهم أن العديد من التغييرات والتعديلات من النماذج التوضيحية تكون ممكنة وبدون التجريب غير المبرر. تكون كل تلك التغييرات والتعديلات في مجال المبادئ الحالي.

تم تضمين كل المراجع المذكورة هنا- والتي تشتمل على براءات الاختراع وطلبات البراءات والأوراق والكتب النصية وما شابه ذلك والإشارات إليها المذكورة هنا إلى المدى الذي يوضح وجودها- بكاملها كمراجع. في حالة وجود مرجع واحد أو أكثر من المراجع التي تم تضمينها هنا والمواد المشابهة مختلف عن أو متناقض مع الطلب هنا- بما في ذلك، على سبيل المثال وليس الحصر، المصطلحات التي تم تعريفها واستخدام المصطلحات والتقنيات الموصوفة هنا أو ما شابه ذلك- فتكون السيادة للطلب الحالي.

إن الوصف السابق والأمثلة توضح بشكل تفصيلي نماذج محددة من الاختراع وتصف أفضل طريقة تم اختراعها بواسطة المخترعين. وعلى الرغم من ذلك، سوف يتم إدراك أن الاختراع الحالي يمكن

تنفيذه بالعديد من الطرق، بغض النظر عن كيفية توضيح ذلك بشكل مفصل في النص السابق، ويجب الأخذ في الاعتبار بأن الاختراع يجب تنفيذه طبقاً لعناصر الحماية السابقة ومكافئاتها.

قائمة المتواليات

<110> PFIZER INC.

Wong, Oi Kwan

Chou, Joyce C

Dusseaux, Mathilde Brunnhilde C

Smith, Julianne C

<120>مسقبلات مولد ضد خيمرية تستهدف صورة متغيرة III لمستقبل عامل النمو البشروي

<130> PC72270Prov2

<160> 256

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 115

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 1

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Thr Leu His Trp Val Lys Gln Ser His Val Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Gly Ile Asp Pro Ile Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Glu Ala Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 2

<211> 112

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 2

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly 5

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45 10

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Phe Tyr Tyr Cys Val Gln Asp 15

85 90 95

Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 3

<211> 115

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 3

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Thr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Ile Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Glu Ala Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 4

<211> 112 5

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 4 10

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser 15

35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Asp

85 90 95

Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 5

<211> 115

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 5

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Thr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Trp Pro Ile Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Glu Ala Gln Gly Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 6

<211> 112

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 6

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Asp

85 90 95

Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 7

<211> 115

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 7

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Thr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Trp Pro Ile Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Glu Ala Glu Gly Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 8

<211> 112

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 8

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Asn Asp Lys Thr Tyr Thr Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Glu Val Ser Lys Leu Asp Val Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Asp

85 90 95

Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 9

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 9 5

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Leu Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Pro

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu 10

35 40 45

Trp Phe Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Leu Lys Leu Ser

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80 15

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Ala Pro Val Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 10

Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Ser Thr Ile Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 11

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 11

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Ile Arg Arg Ser

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 12

Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn

20 25 30

Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Leu

35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Thr Arg Ala Thr Gly Leu Pro Gly Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Asn Ile Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Ser Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 13

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 13

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser

50 55 60

Leu Arg Gly Arg Ile Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Gly Leu Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Leu Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Phe Trp Gly

100 105 110

Pro Gly Phe Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 14

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Val Ser Gln Ser Ile Gly Ala Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Phe Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Val Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Ser Cys Gln Gln Tyr Ile Tyr Trp Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 15

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 15

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu 5

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45 10

Trp Phe Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Phe Arg Thr Ser

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr 15

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 16

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 16

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Asp Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 17

<211> 122

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 17

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Val

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Phe Ala His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Ile Arg Arg Ser

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asn

115 120

<210> 18

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 18

Asp Met Val Val Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Pro Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Glu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 19

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 19

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Val

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Phe Ala His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Ile Arg Arg Ser

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 20

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 20

Glu Met Glu Val Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Ser Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Gln Ser Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Ser Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Val Pro Thr Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 21

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 21

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Ile Arg Arg Ser

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Ile Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 22

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 5

<223>بنية تخليقية

<400> 22

Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Pro Asn Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Asn 10

20 25 30

Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Leu

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly

50 55 60 15

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Asn Ile Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Ser Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 23

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 23

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Ile Arg Arg Ser

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 24

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 24

Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Asn

20 25 30

Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Leu

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Asn Ile Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Ser Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 25

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 25

Gln Val Thr Leu Glu Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Pro Glu

35 40 45

Trp Phe Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Leu Arg Leu Ser

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 26

Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Arg Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Phe Gly Thr Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu His Ser Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 27

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 27

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

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

Lys Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Ile Arg Arg Ser
50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Met Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Val Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 28

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 28

Glu Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Asn

20 25 30

Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Leu

35 40 45

Phe Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Gly Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Asn Ile Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Ser Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 29

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 29

Asp Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Phe Gly Ser Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Ser Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu His Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 30

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 30

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Pro

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Tyr Arg Leu Ser

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Val Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Gly Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 31

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 31

Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ile Asn Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Thr Ser Thr Arg Ala Thr Asp Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asp Tyr Asn Asn Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 32

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 32

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Ile Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Cys Gly Phe Ser Leu Ser Asn Pro

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Tyr Arg Leu Phe

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asp Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 33

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 33

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Thr Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Ser Cys Gln Glu Tyr Asn Asn Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 34

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<220>

<221> misc_feature

<222> (83)..(83)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 34

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Phe Gly Phe Ser Leu Ser Asn Pro

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Pro Glu

35 40 45

Trp Leu Gly His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Tyr Arg Leu Ser

50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Phe Xaa Met Thr Asn Met Asp Pro Gly Asp Pro Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Val Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Glu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 35

<211> 121

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 35

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Pro

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Leu Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Phe Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Ser

50 55 60

Leu Arg Gly Arg Leu Thr Val Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Leu Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 36

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 36

Lys Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Asn Gln Ile Val Ser Ser Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Val

35 40 45

Phe Gly Thr Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ile Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Val Cys Gln Gln Tyr Asn Asp Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 37

<211> 118

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 37

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Val Val

50 55 60

Pro Leu Asn Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser Arg Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Leu Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Val Pro Gly Ser Tyr Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 38

<211> 112

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 38

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Asn

20 25 30

Lys Arg Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Gln Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 39

<211> 120

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 39

Glu Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ala

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Ile Ala Asp Gly Gly Ala Thr Asp Tyr Ala Ala

50 55 60

Pro Val Arg Asn Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Arg Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Glu Met His Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Ile Pro Gly Asn Asp Ala Phe Asp Met Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 40

<211> 112

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 40

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Lys Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu His Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ile Asp Phe Ile Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Gln Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 41

<211> 119

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 41

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Trp Gly Val Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asn Asn Ala

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Ser Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala

50 55 60

Pro Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asp Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Gly Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Phe Cys Thr Thr Ala Pro Gly Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 42

<211> 112

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 42

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Arg

20 25 30

Asp Gly Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Ser Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Asp Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 43

<211> 120

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 43

Glu Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ala

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Ile Thr Asp Gly Gly Val Ile Asp Tyr Ala Ala

50 55 60

Pro Val Arg Asn Arg Cys Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Arg Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Glu Met His Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Ile Pro Gly Asn Asp Asp Phe Asp Met Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Arg Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 44

<211> 120

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 44

Glu Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ala

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Ile Asn Asp Gly Gly Ala Thr Asp Tyr Ala Ser

50 55 60

Pro Val Arg Asn Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Arg Asn Met

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Glu Met His Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Ile Pro Gly Asn Asp Ala Phe Asp Met Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 45

<211> 112

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 45 5

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Thr Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Lys Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu His Lys Pro Gly Gln Ser 10

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Phe Leu Gly Ser Ile Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ile Asp Phe Ile Leu Lys Ile

65 70 75 80 15

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Gln Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 46

<211> 119

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 5

<223>بنية تخليقية

<400> 46

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asn Ala 10

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Ile Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala

50 55 60 15

Pro Val Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Ser Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Ala Pro Gly Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 47

<211> 112

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 47

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Asp Arg Arg Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro His Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Leu Gln Ile Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 48

<211> 126

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 48

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Asn

20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Val Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Thr Tyr His Glu Tyr Ala Gly Gly Tyr Tyr Gly Gly Ala

100 105 110

Met Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 49

<211> 112

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 49

Glu Leu Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro

1 5 10 15

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly

20 25 30

Ser Asn Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys

35 40 45

Ile Leu Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg

50 55 60

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp

85 90 95

Asn Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 50

<211> 123

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 50

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Asp Ile Ser Gly Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ala Gly Leu Leu Tyr Gly Gly Gly Val Tyr Pro Met Asp Ile

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 51

<211> 107

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 51

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 52

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 52

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu

20 25 30

Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln

35 40 45

Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln

50 55 60

Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu

65 70 75 80

Asp Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

85 90 95

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr

100 105 110

Tyr Cys Gly Gln Asp Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr

115 120 125

Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser

145 150 155 160

Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys

165 170 175

Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Thr Leu His Trp Val Arg Gln

180 185 190

Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Trp Pro Ile Thr

195 200 205

Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Met Thr

210 215 220

Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg

225 230 235 240

Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Ala Gln

245 250 255

<210> 53

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 5

<223>بنية تخليقية

<400> 53

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu 10

20 25 30

Leu Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45

Ser Leu Ser Asn Pro Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60 15

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Phe Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Ala Pro Val Asp

100 105 110

Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr

115 120 125

Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Ser Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser

165 170 175

Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg

180 185 190

Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln Ala Pro Arg Leu

195 200 205

Leu Ile Tyr Gly Ser Thr Ile Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe

210 215 220

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

225 230 235 240

Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp

245 250 255

<210> 54

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 54

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45

Ser Leu Ser Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys

65 70 75 80

Ser Ile Arg Arg Ser Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100 105 110

Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr

115 120 125

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Ser Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser

165 170 175

Pro Gly Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser

180 185 190

Ser Asn Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu

195 200 205

Leu Leu Tyr Gly Ala Thr Thr Arg Ala Thr Gly Leu Pro Gly Arg Phe

210 215 220

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Asn Ile Leu Thr Ile Ser Ser Leu

225 230 235 240

Gln Ser Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Asp

245 250 255

<210> 55

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 55

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45

Ser Leu Ser Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Gly His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys

65 70 75 80

Ser Tyr Ser Thr Ser Leu Arg Gly Arg Ile Thr Ile Ser Lys Asp Thr

85 90 95

Ser Arg Gly Leu Val Val Leu Thr Leu Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100 105 110

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr

115 120 125

Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Phe Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Ser Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser

165 170 175

Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Val Ser Gln Ser Ile Gly

180 185 190

Ala Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Phe Gly Gln Ala Pro Arg Leu

195 200 205

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Val Arg Phe

210 215 220

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

225 230 235 240

Gln Ser Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Ser Cys Gln Gln Tyr Ile Tyr

245 250 255

<210> 56

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 56

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45

Ser Leu Asn Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Phe Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys

65 70 75 80

Ser Phe Arg Thr Ser Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100 105 110

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr

115 120 125

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Ser Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser

165 170 175

Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser

180 185 190

Asn Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu

195 200 205

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe

210 215 220

Ser Gly Ser Asp Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu

225 230 235 240

Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Asp

245 250 255

<210> 57

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 57

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe

35 40 45

Thr Phe Ser Tyr Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Ile Ala Asp Gly Gly Ala

65 70 75 80

Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Arg Asn Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp

85 90 95

Asp Ser Arg Asn Thr Leu Tyr Leu Glu Met His Ser Leu Lys Thr Glu

100 105 110

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Ile Pro Gly Asn Asp Ala Phe

115 120 125

Asp Met Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro

165 170 175

Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr

180 185 190

Ser Asn Gly Lys Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu His Lys Pro Gly Gln

195 200 205

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val

210 215 220

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ile Asp Phe Ile Leu Lys

225 230 235 240

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met

245 250 255

<210> 58

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 58

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe

35 40 45

Thr Phe Ser Tyr Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Ile Thr Asp Gly Gly Val

65 70 75 80

Ile Asp Tyr Ala Ala Pro Val Arg Asn Arg Cys Thr Ile Ser Arg Asp

85 90 95

Asp Ser Arg Asn Thr Leu Tyr Leu Glu Met His Ser Leu Lys Thr Glu

100 105 110

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Ile Pro Gly Asn Asp Asp Phe

115 120 125

Asp Met Trp Gly Gln Gly Arg Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro

165 170 175

Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr

180 185 190

Ser Asn Gly Lys Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu His Lys Pro Gly Gln

195 200 205

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val

210 215 220

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ile Asp Phe Ile Leu Lys

225 230 235 240

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met

245 250 255

<210> 59

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 59

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Trp Gly Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

35 40 45

Ile Phe Asn Asn Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Lys Ser Lys Ser Asp Gly Gly Thr

65 70 75 80

Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp

85 90 95

Asp Ser Lys Asp Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Gly Leu Lys Thr Glu

100 105 110

Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Thr Thr Ala Pro Gly Gly Pro Phe Asp

115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

145 150 155 160

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

165 170 175

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Arg

180 185 190

Asp Gly Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

195 200 205

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Ser Arg Ala Ser Gly Val Pro

210 215 220

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Asp Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

225 230 235 240

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln

245 250 255

<210> 60

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 60

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe

35 40 45

Thr Phe Ser Asp Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr

65 70 75 80

Thr Asp Tyr Val Val Pro Leu Asn Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp

85 90 95

Asp Ser Arg Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Leu Asn Asn Leu Lys Thr Glu

100 105 110

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Val Pro Gly Ser Tyr Gly Tyr

115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp

145 150 155 160

Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu

165 170 175

Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Asn Lys

180 185 190

Arg Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro

195 200 205

Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp

210 215 220

Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser

225 230 235 240

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

245 250 255

<210> 61

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 61

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp

35 40 45

Thr Phe Ser Ser Asn Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Val Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asp

65 70 75 80

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser

85 90 95

Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Thr Tyr His Glu Tyr Ala Gly Gly

115 120 125

Tyr Tyr Gly Gly Ala Met Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

130 135 140

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Leu Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro

165 170 175

Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser

180 185 190

Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln

195 200 205

Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Ile Leu Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg

210 215 220

Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser

225 230 235 240

Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp

245 250 255

<210> 62

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 62

Thr Asp Tyr Thr Leu His

1 5

<210> 63

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 63

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp

1 5

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 64

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Thr Leu His

1 5 10

<210> 65

<211> 17

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 65

Gly Ile Asp Pro Ile Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 66

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 66

Gly Ile Asp Pro Ile Asn Gly Gly Thr Thr Tyr

1 5 10

<210> 67

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 67

Gly Glu Ala Met Asp Ser

1 5

<210> 68

<211> 17

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 68

Gly Ile Asn Pro Ile Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 69

Gly Ile Asn Pro Ile Asn Gly Gly Thr Thr Tyr

1 5 10

<210> 70

<211> 17

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 70

Gly Ile Trp Pro Ile Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 71

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 71

Gly Ile Trp Pro Ile Thr Gly Gly Thr Thr Tyr

1 5 10

<210> 72

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 72

Gly Glu Ala Glu Gly Ser

1 5

<210> 73

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 73

Gly Glu Ala Gln Gly Ser

1 5

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 74

Ser Asn Pro Arg Met Gly Val Ser

1 5

<210> 75

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية 5

<400> 75

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Pro Arg

1 5

<210> 76

<211> 12 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 76 15

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Pro Arg Met Gly Val Ser

1 5 10

<210> 77

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 77

His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Leu Lys Leu Ser Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 78

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 78

His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Leu

1 5 10

<210> 79

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 79

Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Phe 5

1 5 10

<210> 80

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية 10

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 80

Ser Asn Ala Arg Met Gly Val Ser

1 5 15

<210> 81

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 81

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala Arg

1 5 5

<210> 82

<211> 12

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 10

<223>بنية تخليقية

<400> 82

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala Arg Met Gly Val Ser

1 5 10

<210> 83 15

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 83

His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Ile Arg Arg Ser Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 84

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 84

His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Ile

1 5 10

<210> 85

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 85

Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 86

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 86

His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser Leu Arg Gly

1 5 10 15

<210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 87

His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Tyr

1 5 10

<210> 88

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 88

Asn Asn Ala Arg Met Gly Val Ser

1 5

<210> 89

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 89

Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala Arg

1 5

<210> 90

<211> 12

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية 5

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 90

Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala Arg Met Gly Val Ser

1 5 10 10

<210> 91

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 15

<223>بنية تخليقية

<400> 91

His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Phe Arg Thr Ser Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 92

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 92

His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Phe

1 5 10

<210> 93

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 93

Ser Asn Val Arg Met Gly Val Ser

1 5

<210> 94

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 94

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Val Arg

1 5

<210> 95

<211> 12

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 95

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Val Arg Met Gly Val Ser

1 5 10

<210> 96

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 96

His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Ile Arg Arg Ser Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 97

His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Ile

1 5 10

<210> 98

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 98

His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Leu Arg Leu Ser Leu Arg Ser 5

1 5 10 15

<210> 99

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية 10

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 99

Ser Asn Ala Lys Met Gly Val Ser

1 5 15

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 100

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala Lys

1 5 5

<210> 101

<211> 12

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 10

<223>بنية تخليقية

<400> 101

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala Lys Met Gly Val Ser

1 5 10

<210> 102 15

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 102

His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Tyr Arg Leu Ser Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 103

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 103

His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Tyr

1 5 10

<210> 104

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 104

Asp Ser Ser Asn Tyr Gly Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 105

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 105

His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Tyr Arg Leu Phe Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 106

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 106

His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Ser Leu Arg Gly

1 5 10 15

<210> 107

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 107

Asp Ser Ser Asp Tyr Glu Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 108

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 108

Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Glu Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 109

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 109

Ser Asp Ala Trp Met Ser

1 5 10

<210> 110

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 110

Gly Phe Thr Phe Ser Asp

1 5

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 111

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala Trp Met Ser

1 5 10

<210> 112

<211> 19

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 112

Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Val Val Pro

1 5 10 15

Leu Asn Gly

<210> 113

<211> 13

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 113

Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr

1 5 10

<210> 114

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 114

Val Pro Gly Ser Tyr Gly Tyr

1 5

<210> 115

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 5

<223>بنية تخليقية

<400> 115

Ser Tyr Ala Trp Met Ser

1 5

<210> 116 10

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية 15

<400> 116

Gly Phe Thr Phe Ser Tyr

1 5

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 117

Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ala Trp Met

1 5

<210> 118

<211> 19

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 118

Arg Ile Lys Ser Ile Ala Asp Gly Gly Ala Thr Asp Tyr Ala Ala Pro

1 5 10 15

Val Arg Asn

<210> 119

<211> 13

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 119

Arg Ile Lys Ser Ile Ala Asp Gly Gly Ala Thr Asp Tyr

1 5 10

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 120

Ile Pro Gly Asn Asp Ala Phe Asp Met

1 5

<210> 121

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 121

Asn Asn Ala Trp Met Ser

1 5

<210> 122

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 122

Gly Phe Ile Phe Asn Asn

1 5

<210> 123

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 123

Gly Phe Ile Phe Asn Asn Ala Trp Met Ser

1 5 10

<210> 124

<211> 19

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 124

Arg Ile Lys Ser Lys Ser Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro

1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 125

<211> 13

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 125

Arg Ile Lys Ser Lys Ser Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr

1 5 10

<210> 126

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 126

Ala Pro Gly Gly Pro Phe Asp Tyr

1 5

<210> 127

<211> 19

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 127

Arg Ile Lys Ser Ile Thr Asp Gly Gly Val Ile Asp Tyr Ala Ala Pro

1 5 10 15

Val Arg Asn

<210> 128

<211> 13

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 128

Arg Ile Lys Ser Ile Thr Asp Gly Gly Val Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 129

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 129

Ile Pro Gly Asn Asp Asp Phe Asp Met

1 5

<210> 130

<211> 19

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 130

Arg Ile Lys Ser Ile Asn Asp Gly Gly Ala Thr Asp Tyr Ala Ser Pro

1 5 10 15

Val Arg Asn

<210> 131

<211> 13

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 131

Arg Ile Lys Ser Ile Asn Asp Gly Gly Ala Thr Asp Tyr

1 5 10

<210> 132

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 132

Thr Asn Ala Trp Met Ser

1 5

<210> 133

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 133

Gly Phe Thr Phe Thr Asn

1 5

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 134

Gly Phe Thr Phe Thr Asn Ala Trp Met Ser

1 5 10

<210> 135

<211> 19

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 135

Arg Ile Lys Ser Lys Ile Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 136

<211> 13

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 136

Arg Ile Lys Ser Lys Ile Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr

1 5 10

<210> 137

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 137

Ser Ser Asn Ala Ile Ser

1 5

<210> 138

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 138

Gly Asp Thr Phe Ser Ser

1 5

<210> 139

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 139

Gly Asp Thr Phe Ser Ser Asn Ala Ile Ser

1 5 10

<210> 140

<211> 17

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 140

Val Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 141

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 141

Val Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asp Tyr

1 5 10

<210> 142

<211> 17

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 142

His Thr Tyr His Glu Tyr Ala Gly Gly Tyr Tyr Gly Gly Ala Met Asp

1 5 10 15

Pro

<210> 143

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 5

<223>بنية تخليقية

<400> 143

Ser Asn Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 144 10

<211> 6

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية 15

<400> 144

Gly Phe Thr Phe Ser Asn

1 5

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 145

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser

1 5 10

<210> 146

<211> 17

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 146

Asp Ile Ser Gly Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 147

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 147

Asp Ile Ser Gly Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 148

<211> 14

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 148

Ala Gly Leu Leu Tyr Gly Gly Gly Val Tyr Pro Met Asp Ile

1 5 10

<210> 149

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 149

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 150

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 150

Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser

1 5

<210> 151

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 151

Val Gln Asp Thr His Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 152

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 152

Gln Val Ser Lys Leu Asp Ser

1 5

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 153

Gly Gln Asp Thr His Phe Pro Leu Thr 5

1 5

<210> 154

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 154

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Asp Lys Thr Tyr Thr Asn

1 5 10 15 15

<210> 155

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 155

Glu Val Ser Lys Leu Asp Val

1 5 5

<210> 156

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 10

<223>بنية تخليقية

<400> 156

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 157 15

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 157

Gly Ser Thr Ile Arg Ala Thr

1 5

<210> 158

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 158

Gln Gln Tyr Ser Asp Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 159

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 159

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Phe Ala

1 5 10

<210> 160

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 160

Gly Ala Thr Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 161

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 161

Gln Gln Tyr Lys Asp Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 162

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 162

Arg Val Ser Gln Ser Ile Gly Ala Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 163

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 163

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 164

Gln Gln Tyr Ile Tyr Trp Pro Phe Thr

1 5 10

<210> 165

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 165

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 166

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 5

<223>بنية تخليقية

<400> 166

Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Asp Leu Ala

1 5 10

<210> 167 10

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية 15

<400> 167

Gln Gln Tyr Asn Asp Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 168

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 168

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Ser Asp Leu Ala

1 5 10

<210> 169

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 169

Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Asn Phe Ala

1 5 10

<210> 170

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 170

Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Asn Phe Ala

1 5 10

<210> 171

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 171

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Arg Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 172

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 172

Gly Thr Ser Thr Arg Ala Thr 5

1 5

<210> 173

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية 10

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 173

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Asn Phe Ala

1 5 10 15

<210> 174

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 174

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Asn Leu Ala

1 5 10 5

<210> 175

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 10

<223>بنية تخليقية

<400> 175

Gly Ser Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 176 15

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 176

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ile Asn Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 177

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 177

Gln Asp Tyr Asn Asn Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 178

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 178

Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 179

<211> 8

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 179

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly

1 5

<210> 180

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 180

Gln Glu Tyr Asn Asn Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 181

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 181

Arg Ala Asn Gln Ile Val Ser Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 182

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 182

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Asn Lys Arg Asn Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 183

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 183

Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser

1 5

<210> 184

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 184

Met Gln Ala Gln Gln Thr Pro Ile Thr

1 5

<210> 185

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 5

<223>بنية تخليقية

<400> 185

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 186 10

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية 15

<400> 186

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser

1 5

<210> 187

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 187

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Arg Asp Gly Phe Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 188

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 188

Leu Ala Ser Ser Arg Ala Ser

1 5

<210> 189

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 189

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Ile Thr

1 5

<210> 190

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 190

Arg Ser Thr Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 191

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 191

Leu Gly Ser Ile Arg Ala Ser 5

1 5

<210> 192

<211> 16

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 192

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asp Arg Arg Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 193

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 193

Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser

1 5 5

<210> 194

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 10

<223>بنية تخليقية

<400> 194

Met Gln Ala Leu Gln Ile Pro Ile Thr

1 5

<210> 195 15

<211> 13

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 195

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Tyr

1 5 10

<210> 196

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 196

Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 197

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 197

Ala Ala Trp Asp Asp Asn Leu Ser Gly Trp Val

1 5 10

<210> 198

<211> 11

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 198

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 199

<211> 7

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 199

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 200

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 201

<211> 943

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 201

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala

1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Gly Asn Tyr

20 25 30

Val Val Thr Asp His Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser

35 40 45

Tyr Glu Met Glu Glu Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly

50 55 60

Pro Cys Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp

65 70 75 80

Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr

85 90 95

Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp

100 105 110

Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu

115 120 125

Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro

130 135 140

Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg

145 150 155 160

Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu

165 170 175

Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly

180 185 190

Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile

195 200 205

Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile

210 215 220

Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His

225 230 235 240

Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys

245 250 255

Val Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys

260 265 270

Asn Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys

275 280 285

Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys

290 295 300

Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp

305 310 315 320

Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn

325 330 335

Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu

340 345 350

Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly

355 360 365

Cys Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val

370 375 380

Gly Ala Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe

385 390 395 400

Met Arg Arg Arg His Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu

405 410 415

Gln Glu Arg Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro

420 425 430

Asn Gln Ala Leu Leu Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile

435 440 445

Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp

450 455 460

Ile Pro Glu Gly Glu Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu

465 470 475 480

Arg Glu Ala Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala

485 490 495

Tyr Val Met Ala Ser Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly

500 505 510

Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe

515 520 525

Gly Cys Leu Leu Asp Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser

530 535 540

Gln Tyr Leu Leu Asn Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr

545 550 555 560

Leu Glu Asp Arg Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val

565 570 575

Leu Val Lys Thr Pro Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala

580 585 590

Lys Leu Leu Gly Ala Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys

595 600 605

Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr

610 615 620

Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu

625 630 635 640

Met Thr Phe Gly Ser Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile

645 650 655

Ser Ser Ile Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys

660 665 670

Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala

675 680 685

Asp Ser Arg Pro Lys Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met

690 695 700

Ala Arg Asp Pro Gln Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met

705 710 715 720

His Leu Pro Ser Pro Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp

725 730 735

Glu Glu Asp Met Asp Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro

740 745 750

Gln Gln Gly Phe Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu

755 760 765

Ser Ser Leu Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp

770 775 780

Arg Asn Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln

785 790 795 800

Arg Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp

805 810 815

Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro Lys

820 825 830

Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln Pro Leu

835 840 845

Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro His Ser Thr

850 855 860

Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln Pro Thr Cys Val

865 870 875 880

Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala Gln Lys Gly Ser His

885 890 895

Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln Gln Asp Phe Phe Pro Lys

900 905 910

Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala

915 920 925

Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala

930 935 940

<210> 202

<211> 20

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 202

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 203

<211> 42

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 203

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe

20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35 40

<210> 204

<211> 42

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 204

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe

20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35 40

<210> 205

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 205

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 206

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 206

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro

20 5

<210> 207

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 207 10

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln

1 5 10 15

<210> 208

<211> 45

<212> PRT 15

<213> Homo sapien

<400> 208

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly

20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp

35 40 45

<210> 209

<211> 231

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 209

Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

35 40 45

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

100 105 110

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

115 120 125

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys

130 135 140

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 210

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapien 5

<400> 210

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu

1 5 10 15

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys

20 10

<210> 211

<211> 52

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 211 15

Phe Phe Ile Pro Leu Leu Val Val Ile Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly

1 5 10 15

Leu Phe Ile Ser Thr Gln Gln Gln Val Thr Phe Leu Leu Lys Ile Lys

20 25 30

Arg Thr Arg Lys Gly Phe Arg Leu Leu Asn Pro His Pro Lys Pro Asn

35 40 45

Pro Lys Asn Asn

50

<210> 212

<211> 215

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 212

Met Asp Thr Glu Ser Asn Arg Arg Ala Asn Leu Ala Leu Pro Gln Glu

1 5 10 15

Pro Ser Ser Val Pro Ala Phe Glu Val Leu Glu Ile Ser Pro Gln Glu

20 25 30

Val Ser Ser Gly Arg Leu Leu Lys Ser Ala Ser Ser Pro Pro Leu His

35 40 45

Thr Trp Leu Thr Val Leu Lys Lys Glu Gln Glu Phe Leu Gly Val Thr

50 55 60

Gln Ile Leu Thr Ala Met Ile Cys Leu Cys Phe Gly Thr Val Val Cys

65 70 75 80

Ser Val Leu Asp Ile Ser His Ile Glu Gly Asp Ile Phe Ser Ser Phe

85 90 95

Lys Ala Gly Tyr Pro Phe Trp Gly Ala Ile Phe Phe Ser Ile Ser Gly

100 105 110

Met Leu Ser Ile Ile Ser Glu Arg Arg Asn Ala Thr Tyr Leu Val Arg

115 120 125

Gly Ser Leu Gly Ala Asn Thr Ala Ser Ser Ile Ala Gly Gly Thr Gly

130 135 140

Ile Thr Ile Leu Ile Ile Asn Leu Lys Lys Ser Leu Ala Tyr Ile His

145 150 155 160

Ile His Ser Cys Gln Lys Phe Phe Glu Thr Lys Cys Phe Met Ala Ser

165 170 175

Phe Ser Thr Glu Ile Val Val Met Met Leu Phe Leu Thr Ile Leu Gly

180 185 190

Leu Gly Ser Ala Val Ser Leu Thr Ile Cys Gly Ala Gly Glu Glu Leu

195 200 205

Lys Gly Asn Lys Val Pro Glu

210 215

<210> 213

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 213

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40

<210> 214

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 214

Met Ile Pro Ala Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Val Glu Gln Ala
1 5 10 15

Ala Ala

<210> 215

<211> 43

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220> 5

<223>بنية تخليقية

<400> 215

Leu Gly Glu Pro Gln Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu Phe Leu

1 5 10 15

Tyr Gly Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile Gln Val 10

20 25 30

Arg Lys Ala Ala Ile Thr Ser Tyr Glu Lys Ser

35 40

<210> 216

<211> 22 15

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 216

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val

1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 217

<211> 21 5

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 217

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu

1 5 10 15 10

Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 218

<211> 255

<212> PRT 15

<213> Homo sapien

<400> 218

Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys

1 5 10 15

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala

20 25 30

His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly

35 40 45

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys

50 55 60

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn

65 70 75 80

Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val

85 90 95

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala

100 105 110

Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu

115 120 125

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala

130 135 140

Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg

145 150 155 160

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val

165 170 175

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val

180 185 190

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu

195 200 205

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu

210 215 220

Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr

225 230 235 240

Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln

245 250 255

<210> 219

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 219

Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys

1 5 10 15

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala

20 25 30

His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly

35 40 45

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys

50 55 60

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His

65 70 75 80

Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val

85 90 95

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala

100 105 110

Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu

115 120 125

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala

130 135 140

Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg

145 150 155 160

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val

165 170 175

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val

180 185 190

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln

195 200 205

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu

210 215 220

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr

225 230 235 240

Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln

245 250 255

<210> 220

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 220

Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys

1 5 10 15

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala

20 25 30

His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly

35 40 45

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys

50 55 60

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn

65 70 75 80

Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val

85 90 95

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala

100 105 110

Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu

115 120 125

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala

130 135 140

Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg

145 150 155 160

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val

165 170 175

Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val

180 185 190

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln

195 200 205

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu

210 215 220

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr

225 230 235 240

Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln

245 250 255

<210> 221

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 221

Asn Pro Gln Arg Ser Thr Val Trp Tyr Leu Thr Pro Gln Gln Val Val

1 5 10 15

Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln

20 25 30

Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln

35 40 45

Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr

50 55 60

Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro

65 70 75 80

Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu

85 90 95

Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu

100 105 110

Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln

115 120 125

Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His

130 135 140

Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly

145 150 155 160

Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln

165 170 175

Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp

180 185 190

Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu

195 200 205

Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser

210 215 220

Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro

225 230 235 240

Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala

245 250 255

<210> 222

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 222

Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys

1 5 10 15

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala

20 25 30

His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly

35 40 45

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys

50 55 60

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His

65 70 75 80

Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val

85 90 95

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala

100 105 110

Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu

115 120 125

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala

130 135 140

Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg

145 150 155 160

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val

165 170 175

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val

180 185 190

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu

195 200 205

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu

210 215 220

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr

225 230 235 240

Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln

245 250 255

<210> 223

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 223

Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys

1 5 10 15

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala

20 25 30

His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly

35 40 45

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys

50 55 60

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn

65 70 75 80

Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val

85 90 95

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala

100 105 110

Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu

115 120 125

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala

130 135 140

Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg

145 150 155 160

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val

165 170 175

Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val

180 185 190

Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln

195 200 205

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu

210 215 220

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr

225 230 235 240

Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln

245 250 255

<210> 224

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 224

Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
1 5 10 15

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
20 25 30

His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
35 40 45

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
50 55 60

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
65 70 75 80

Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
85 90 95

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
100 105 110

Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu

115 120 125

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala

130 135 140

Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg

145 150 155 160

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val

165 170 175

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val

180 185 190

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln

195 200 205

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu

210 215 220

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr

225 230 235 240

Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln

245 250 255

<210> 225

<211> 255

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 225

Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
1 5 10 15

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
20 25 30

His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
35 40 45

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
50 55 60

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
65 70 75 80

Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
85 90 95

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
100 105 110

Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu

115 120 125

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala

130 135 140

Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg

145 150 155 160

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val

165 170 175

Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val

180 185 190

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln

195 200 205

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu

210 215 220

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr

225 230 235 240

Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln

245 250 255

<210> 226

<211> 136

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 226

Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
1 5 10 15

Leu Pro Thr Gln Gly Thr Phe Ser Asn Val Ser Thr Asn Val Ser Pro
20 25 30

Ala Lys Pro Thr Thr Thr Ala Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys
35 40 45

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro
50 55 60

Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro
65 70 75 80

Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
85 90 95

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
100 105 110

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg Arg Arg Val

115 120 125

Cys Lys Cys Pro Arg Pro Val Val

130 135

<210> 227

<211> 19

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 227

Cys Gly Ser Gly Ser Gly Leu Glu Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Val Val

1 5 10 15

Thr Asp His

<210> 228

<211> 804

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 228

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60

cctgatgtgg tcatgactca gtctcccctg tctctgcccg tcaccctggg acagcccgcc 120

agcatctcct gcaagagctc ccagagcctg ctgtactcca acggcaagac ctatctgaat 180

tggttccagc agagacccgg ccagagccct cggagactga tctaccaggt gtctaagctg 240

gacagcggcg tgcctgatcg cttctctgga agcggatccg gaaccgactt tacactgaag 300

atcagccggg tggaggcaga ggacgtgggc gtgtactatt gcggccagga tacccacttc 360

ccactgacat ttggcggcgg caccaaggtg gagatcaagg gaggaggagg aagcggagga 420

ggaggaagcg gcggcggcgg ctctggcggc ggcggcagcc aggtgcagct ggtgcagagc 480

ggagcagagg tgaagaagcc tggcgcctcc gtgaaggtgt cttgtaaggc agcggctac 540

acattcaccg attatacact gcactgggtg cggcaggccc ctggccaggg actggagtgg 600

atgggaggaa tctggcctat caccggagga accacataca accagaagtt taagggcaga
660

gtgacaatga ccagggacac atctaccagc acagtgtata tggagctgtc tagcctgcgc
720

tccgaggata cagccgtgta ctattgcgcc agaggcgagg cacagggatc ttggggacag
780

ggcaccctgg tgacagtgtc ctct
804

<210> 229

<211> 807

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 229

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg
60

cctcaggtga ccctgaagga gagcggccct gtgctgctga agccaacaga gaccctgaca
120

ctgacctgca cagtgtctgg cttcagcctg tccaaccccc ggatgggcgt gagctggatc
180

agacagcccc ctggcaaggc cctggagtgg ttcgcccaca tcttttctac cgatgagaag
240

agcctgaagc tgtccctgag atctaggctg accctgagca aggacacatc taagagccag
300

gtggtgctga ccatgacaaa catggcccct gtggactccg ccacatacta ttgcgccaga
360

gacagctcca attacgaggg ctatttcgac ttttggggcc agggcaccct ggtgacagtg
420

tctagcggcg gaggaggatc cggaggagga ggatctggcg gcggcggctc cggcggcggc
480

ggctccgagg tggtgctgac ccagagccct gccacactgt ccgtgtctcc aggcgagaga
540

gccaccctgt cttgtagggc agccagtcc gtgcgcagca atctggcctg gtaccagcag
600

aagtccggcc aggccccaag actgctgatc tatggctcca ccatcagggc cacaggagtg
660

ccagcacgct tctctggaag cggatccggc acagagttta ccctgacaat ctcctctctg
720

cagtccgagg atttcgccgt gtactattgc cagcagtact ctgactggcc cttcaccttt
780

ggccctggca caaaggtgga tatcaag
807

<210> 230

<211> 807

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 230

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg 60

ccacaggtga ccctgaagga gtccggcccc gtgctggtga agcctacaga gaccctgaca 120

ctgacctgca cagtgtccgg cttctctctg agcaacgccc gcatgggcgt gtcttggatc 180

aggcagcccc ctggcaaggc cctggagtgg ctggcccaca tcttttccac cgacgagaag 240

tctatccgga gaagcctgcg ctccaggctg accctgagca aggatacatc caagtctcag 300

gtggtgctga ccatgacaaa catggacccc gtggataccg ccacatactt ctgcgccaga 360

gacagctcca attacgaggg ctattttgat tactggggcc agggcaccct ggtgacagtg 420

tctagcggag gaggaggaag cggaggagga ggatctggcg gcggcggctc tggcggcggc 480

ggcagcgagg tggtcatgac ccagagccca gccacactga gcgtgtcccc tggcgagagg 540

gtgaccctgt cctgtagggc atctcagagc gtgtcctcta acttcgcctg gtatcagcag 600

agaccaggcc aggcaccaag gctgctgctg tacggagcaa ccacaagagc cacaggactg 660

cccggcaggt tttccggatc tggaagcggc accgagaata tcctgacaat cagctccctg 720

cagtctgagg acttcgccat ctatttttgc cagcagtaca aggattggcc attcaccttt 780

ggccccggca gcaaggtgga catcaag 807

<210> 231

<211> 807

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 231

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaaga 60

cctcaggtga ccctgaagga gtccggccct gtgctggtga agccaacaga gaccctgaca 120

ctgacctgca cagtgtctgg cttcagcctg tccaacgcaa ggatgggcgt gagctggatc 180

aggcagcccc ctggcaaggc cctggagtgg ctgggccaca tctttagcac cgacgagaag 240

tcttacagca catccctgag aggcaggatc accatctcta aggatacaag cagaggcctg 300

gtggtgctga ccctgacaaa catggacccc gtggataccg ccacatacta ttgcgccagg 360

gacagctcca attacgaggg ctatttcgat ttttggggcc ctggcttcct ggtgaccgtg 420

tctagcggcg gcggcggctc tggaggagga ggaagcggag gaggaggatc cggcggcggc 480

ggctctgaga tcgtgatgac ccagtcccct gccacactgt ctgtgagccc aggcgagaga 540

gccaccctgt cttgtagggt gtcccagtct atcggcgcca atctggcctg gtaccagcag 600

aagttcggcc aggccccaag gctgctgatc tatggagcat ccaccagagc cacaggaatc 660

cccgtgaggt tctccggagg aggatctgga accgagttta ccctgacaat ctcctctctg 720

cagagcgagg actttgccat ctactcctgc cagcagtaca tctattggcc cttcacattt 780

ggccctggca ccacagtgga tatcaag 807

<210> 232

<211> 807

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 232

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaaga 60

ccacaggtga ccctgaagga gagcggaccc gtgctggtga agcctacaga gaccctgaca 120

ctgacctgca cagtgagcgg cttctccctg aacaatgcaa ggatgggcgt gtcctggatc 180

aggcagcccc ctggcaaggc cctggagtgg ttcgcccaca tctttagcac cgacgagaag 240

tcctttcgca catctctgag aagcaggctg accctgagca aggatacaag caagtcccag 300

gtggtgctga ccatgacaaa catggacccc gtggataccg ccacatacta ttgcgccaga 360

gacagctcca attacgaggg ctatttcgat tactggggcc agggcatcct ggtgaccgtg 420

tctagcggcg gcggcggctc tggaggagga ggaagcggag gaggaggatc cggcggcggc
480

ggctctgaga tcgtgatgac ccagtctccc gccacactgt ctgtgagccc tggcgagaga
540

gccacactga gctgtagggc ctcccagtct gtgagcaaca atctggcctg gtatcagcag
600

aagccaggcc aggcaccaag gctgctgatc tacggagcat ccaccagagc cacaggagtg
660

ccagcaaggt tctccggatc tgacagcggc accgagttta gcctgacaat ctcctctctg
720

cagtccgagg acttcgccgt gtatttttgc cagcagtaca aggattggcc attcaccttt
780

ggccccggca caaaggtgga gatcaag
807

<210> 233

<211> 819

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 233

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg
60

ccagaggtga acctggtgga gtccggcggc ggcctggtga agcctggcgg atccctgagg
120

ctgtcttgcg aggcaagcgg cttcaccttc agctacgcct ggatgtcctg ggtgcgccag
180

gcccccggca agggactgga gtgggtggga cggatcaagt ccatcgcaga cggaggagca
240

accgattacg cagcccctgt gagaaacagg ttcacaatct ccagagacga ttctaggaat
300

accctgtatc tggagatgca ctctctgaag acagaggaca ccgccgtgta ctattgcacc
360

acaatccctg gcaacgacgc ctttgatatg tggggccagg gcacaatggt gaccgtgagc
420

tccggcggcg gcggctctgg aggaggagga agcggaggag gaggaagcgg gggcggcggc
480

tctgacatcg tgctgacaca gtccccactg tccctgtctg tgaccccccgg cgagcctgca
540

agcatctcct gtagatctag ccagagcctg ctgtactcca acggcaagaa ttatctggat
600

tggttcctgc acaagccagg ccagtctccc cagctgctga tctacctggg atctaatagg
660

gcaagcggag tgccagaccg gttctctgga agcggatccg gcatcgactt catcctgaag
720

atcagcaggg tggaggccga ggatgtgggc gtgtactatt gcatgcaggc ccagcagaca
780

cccatcacct tcggccaggg cacaagactg gagatcaag 819

<210> 234

<211> 819

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 234

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg
60

ccagaggtga acctggtgga gtccggcggc ggcctggtga agcctggcgg atccctgagg
120

ctgtcttgcg aggcaagcgg cttcaccttc agctacgcct ggatgtcctg ggtgcgccag
180

gcccccggca agggactgga gtgggtgggc cggatcaagt ccatcaccga cggaggcgtg
240

atcgattacg cagcacctgt gagaaacagg tgcacaatct ccagagacga ttctaggaat
300

accctgtatc tggagatgca ctctctgaag acagaggaca ccgccgtgta ctattgtacc
360

acaatccctg gcaacgacga tttcgatatg tggggccagg gcagaatggt gaccgtgagc
420

tccggcggcg gcggctctgg aggaggagga agcggaggag gaggaagcgg gggcggcggc
480

tctgacatcg tgctgacaca gtccccactg tccctgtctg tgacccccgg cgagcctgca
540

agcatctcct gtaggtctag ccagagcctg ctgtactcca acggcaagaa ttatctggat
600

tggtttctgc acaagccagg ccagtctccc cagctgctga tctacctggg atctaatagg
660

gcaagcggag tgccagaccg gttctctgga agcggatccg gcatcgactt catcctgaag
720

atcagccgcg tggaggcaga ggacgtgggc gtgtactatt gcatgcaggc ccagcagaca
780

cccatcacct tcggccaggg cacaagactg gagatcaag 819

<210> 235

<211> 816

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 235

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg 60

ccagaggtgc agctggtgga gtcttggggc gtgctggtga agcctggcgg atctctgagg 120

ctgagctgcg cagcatccgg cttcatcttt aacaatgcct ggatgtcctg ggtgcgccag 180

gcccccggca agggactgga gtggatcggc cggatcaaga gcaagtccga cggaggaacc 240

acagattacg cagcacctgt gaaggaccgc ttcacaatct ctcgggacga tagcaaggat 300

accctgtatc tgcagatgaa cggcctgaag acagaggaca ccgccgtgta cttctgcacc 360

acagcccctg gcggcccttt tgattattgg ggccagggca cactggtgac cgtgagctcc 420

ggaggaggag gaagcggcgg aggaggcagc ggcggcggcg gctctggcgg cggcggcagc 480

gacatcgtgc tgacacagag ccctctgtcc ctgccagtga cccccggcga gcctgcctct 540

atcagctgtc gctctagcca gagcctgctg caccgggacg gcttcaatta cctggattgg
600

tttctgcaga agccaggcca gtccccccag ctgctgatct atctggcctc ctctagagcc
660

tctggcgtgc cagacaggtt ctccggctct gacagcggca cagacttcac cctgaagatc
720

agcagagtgg aggccgagga tgtgggcgtg tactattgca tgcaggccct gcagacaccc
780

atcaccttcg gccagggcac aagactggag atcaag
816

<210> 236

<211> 813

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 236

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg
60

cctgaggtgc agctggtgga gagcggcggc ggcctggtga agcctggcgg atccctgagg
120

ctgtcttgcg aggcaagcgg cttcaccttt agcgacgcat ggatgtcctg ggtgcgccag
180

gcccctggca agggactgga gtgggtggga cggatcaaga gcaagacaga cggcggcacc
240

acagattacg tggtgccact gaacggccgc ttcatcatct cccgcgacga ttctcggaat
300

accctgtatc tgcagctgaa caatctgaag acagaggata ccgccgtgta ctattgcacc
360

acagtgccag gctcctacgg ctattggggc cagggcacac tggtgaccgt gagctccggc
420

ggcggcggct ctggaggagg aggaagcgga ggaggaggaa gcgggggcgg cggctctgac
480

atcgtgatga cacagtctcc actgagcctg ccagtgaccc ctggcgagcc agcctccatc
540

tcttgtcgct ctagccagag cctgctgcac aacaagcgga acaattacct ggattggttt
600

ctgcagaagc ctggccagtc ccctcagctg ctgatctatc tggccagcaa tagagcctcc
660

ggagtgccag acaggttctc tggaggagga agcggaacag acttcaccct gaagatcagc
720

agagtggagg ccgaggacgt gggcgtgtac tattgcatgc aggcccagca gacacctatc
780

accttcggcc agggcacaag actggagatc aag
813

<210> 237

<211> 837

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 237

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagcaagg 60

ccacaggtgc agctggtgca gtccggagca gaggtgaaga agcctggcag ctccgtgaag 120

gtgagctgca aggcctccgg cgacacattc tctagcaacg caatcagctg ggtgcgccag 180

gcccctggcc agggactgga gtggatgggc gtgatcatcc ctatcttcgg caccgccgac 240

tatgcccaga agtttcaggg ccgggtgaca atcaccgccg atgagtctac aagcaccgcc 300

tacatggagc tgtcctctct gagatccgag gacacagccg tgtactattg tgccaggcac 360

acctatcacg agtacgcagg aggatactat ggaggagcaa tggatccttg gggacagggc 420

acactggtga ccgtgagctc cggcggcggc ggctctggag gaggaggaag cggaggagga
480

ggaagcgggg gcggcggctc tgagctgcag agcgtgctga cccagccacc ttccgcctct
540

ggaacaccag gccagagggt gaccatcagc tgctccggat ctagctccaa catcggctcc
600

aattacgtgt attggtacca gcagctgcca ggcacagccc ccaagatcct gatctaccgc
660

aacaatcagc ggccttctgg cgtgccagat agattctctg gcagcaagtc cggcacctct
720

gccagcctgg caatctccgg cctgaggtct gaggacgagg ccgattacta ttgcgccgcc
780

tgggacgata acctgagcgg ctgggtgttt ggcacaggca ccaagctgac agtgctg
837

<210> 238

<211> 1476

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 238

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60

cctgatgtgg tcatgactca gtctcccctg tctctgcccg tcaccctggg acagcccgcc 120

agcatctcct gcaagagctc ccagagcctg ctgtactcca acggcaagac ctatctgaat 180

tggttccagc agagacccgg ccagagccct cggagactga tctaccaggt gtctaagctg 240

gacagcggcg tgcctgatcg cttctctgga agcggatccg gaaccgactt tacactgaag 300

atcagccggg tggaggcaga ggacgtgggc gtgtactatt gcggccagga tacccacttc 360

ccactgacat ttggcggcgg caccaaggtg gagatcaagg gaggaggagg aagcggagga 420

ggaggaagcg gcggcggcgg ctctggcggc ggcggcagcc aggtgcagct ggtgcagagc 480

ggagcagagg tgaagaagcc tggcgcctcc gtgaaggtgt cttgtaaggc cagcggctac 540

acattcaccg attatacact gcactgggtg cggcaggccc ctggccaggg actggagtgg 600

atgggaggaa tctggcctat caccggagga accacataca accagaagtt taagggcaga 660

gtgacaatga ccagggacac atctaccagc acagtgtata tggagctgtc tagcctgcgc 720

tccgaggata cagccgtgta ctattgcgcc agaggcgagg cacagggatc ttggggacag
780

ggcaccctgg tgacagtgtc ctctaccaca accccagcac caagaccacc tacccctgca
840

ccaacaatcg cctcccagcc tctgtctctg cgcccagagg catgtaggcc agcagcagga
900

ggagcagtgc acaccagggg cctggacttt gcctgcgata tctacatctg ggcaccactg
960

gcaggaacat gtggcgtgct gctgctgagc ctggtcatca ccctgtactg caagcgcggc
1020

cggaagaagc tgctgtatat cttcaagcag cccttcatga gacccgtgca gacaacccag
1080

gaggaggacg gctgctcctg taggttccca gaagaagagg agggcggctg tgagctgaga
1140

gtgaagtttt ccaggtctgc cgatgcacca gcataccagc agggacagaa tcagctgtat
1200

aacgagctga atctgggcag gcgcgaggag tatgacgtgc tggataagag gagaggaagg
1260

gaccctgaga tgggaggcaa gcctaggcgc aagaacccac aggagggcct gtacaatgag
1320

ctgcagaagg ataagatggc cgaggcctat tccgagatcg gcatgaaggg cgagcggaga
1380

aggggcaagg gccacgacgg gctgtaccag ggactgtcaa ccgctaccaa ggatacttac 1440

gacgccctgc atatgcaggc actgcctcca aggtga 1476

<210> 239

<211> 1479

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 239

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg 60

cctcaggtga ccctgaagga gagcggccct gtgctgctga agccaacaga gaccctgaca 120

ctgacctgca cagtgtctgg cttcagcctg tccaaccccc ggatgggcgt gagctggatc 180

agacagcccc ctggcaaggc cctggagtgg ttcgcccaca tcttttctac cgatgagaag 240

agcctgaagc tgtccctgag atctaggctg accctgagca aggacacatc taagagccag 300

gtggtgctga ccatgacaaa catggcccct gtggactccg ccacatacta ttgcgccaga
360

gacagctcca attacgaggg ctatttcgac ttttggggcc agggcaccct ggtgacagtg
420

tctagcggcg gaggaggatc cggaggagga ggatctggcg gcggcggctc cggcggcggc
480

ggctccgagg tggtgctgac ccagagccct gccacactgt ccgtgtctcc aggcgagaga
540

gccaccctgt cttgtagggc cagccagtcc gtgcgcagca atctggcctg gtaccagcag
600

aagtccggcc aggccccaag actgctgatc tatggctcca ccatcagggc cacaggagtg
660

ccagcacgct tctctggaag cggatccggc acagagttta ccctgacaat ctcctctctg
720

cagtccgagg atttcgccgt gtactattgc cagcagtact ctgactggcc cttcaccttt
780

ggccctggca caaaggtgga tatcaagacc acaacccctg caccaaggcc accaacccca
840

gcacctacaa tcgcaagcca gccactgtcc ctgagacccg aggcctgtag gcctgcagca
900

ggaggagcag tgcacacccg cggcctggac tttgcctgcg atatctatat ctgggcacca
960

ctggcaggaa cctgtggcgt gctgctgctg agcctggtca tcaccctgta ctgcaagcgc

1020

ggccggaaga agctgctgta tatcttcaag cagcccttca tgcggcccgt gcagacaacc

1080

caggaggagg atggctgctc ctgtagattc cctgaggagg aggagggagg atgtgagctg

1140

agggtgaagt tttctcggag cgccgacgca ccagcatacc agcagggaca gaaccagctg

1200

tataacgagc tgaatctggg ccggagagag gagtacgacg tgctggataa gaggagggga

1260

agagacccag agatgggagg caagccacgg agaaagaacc cccaggaggg cctgtacaat

1320

gagctgcaga aggataagat ggccgaggcc tattctgaga tcggcatgaa gggagagagg

1380

cgccggggca agggacacga cggactgtac cagggactgt ccaccgcaac aaaggacacc

1440

tatgatgccc tgcatatgca ggcactgcct ccaaggtga 1479

<210> 240

<211> 1479

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 240

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg 60

ccacaggtga ccctgaagga gtccggcccc gtgctggtga agcctacaga gaccctgaca 120

ctgacctgca cagtgtccgg cttctctctg agcaacgccc gcatgggcgt gtcttggatc 180

aggcagcccc ctggcaaggc cctggagtgg ctggcccaca tcttttccac cgacgagaag 240

tctatccgga gaagcctgcg ctccaggctg accctgagca aggatacatc caagtctcag 300

gtggtgctga ccatgacaaa catggacccc gtggataccg ccacatactt ctgcgccaga 360

gacagctcca ttacgaggg ctattttgat tactggggcc agggcaccct ggtgacagtg 420

tctagcggag gaggaggaag cggaggagga ggatctggcg gcggcggctc tggcggcggc 480

ggcagcgagg tggtcatgac ccagagccca gccacactga gcgtgtcccc tggcgagagg 540

gtgaccctgt cctgtagggc atctcagagc gtgtcctcta acttcgcctg gtatcagcag 600

agaccaggcc aggcaccaag gctgctgctg tacggagcaa ccacaagagc cacaggactg
660

cccggcaggt tttccggatc tggaagcggc accgagaata tcctgacaat cagctccctg
720

cagtctgagg acttcgccat ctatttttgc cagcagtaca aggattggcc attcaccttt 780

ggccccggca gcaaggtgga catcaagacc acaacccctg caccaagacc accaacccca
840

gcacctacaa tcgcctctca gcctctgagc ctgcgcccag aggcatgtag gccagcagca
900

ggaggagcag tgcacacaag gggcctggac ttcgcctgcg atatctatat ctgggcacct
960

ctggcaggaa cctgtggcgt gctgctgctg agcctggtca tcaccctgta ttgcaagaga
1020

ggcaggaaga agctgctgta catcttcaag cagcctttta tgcgcccagt gcagacaacc
1080

caggaggagg acggctgcag ctgtcggttc cctgaagagg aggagggcgg ctgtgagctg
1140

agagtgaagt tttccaggtc tgccgatgcc ccagcctatc agcagggcca gaatcagctg
1200

tacaacgagc tgaatctggg caggcgcgag gagtacgacg tgctggataa gaggagagga
1260

agggatccag agatgggagg caagcctagg cgcaagaacc cacaggaggg cctgtataat 1320

gagctgcaga aggacaagat ggccgaggcc tactccgaga tcggcatgaa gggagagcgg 1380

agaaggggca agggacacga tggcctgtat cagggcctgt ctaccgccac aaaggacacc 1440

tacgatgccc tgcatatgca ggcactgcct ccaaggtga 1479

<210> 241

<211> 1479

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 241

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaaga 60

cctcaggtga ccctgaagga gtccggccct gtgctggtga agccaacaga gaccctgaca 120

ctgacctgca cagtgtctgg cttcagcctg tccaacgcaa ggatgggcgt gagctggatc 180

aggcagcccc ctggcaaggc cctggagtgg ctgggccaca tctttagcac cgacgagaag
240

tcttacagca catccctgag aggcaggatc accatctcta aggatacaag cagaggcctg
300

gtggtgctga ccctgacaaa catggacccc gtggataccg ccacatacta ttgcgccagg
360

gacagctcca attacgaggg ctatttcgat ttttggggcc ctggcttcct ggtgaccgtg
420

tctagcggcg gcggcggctc tggaggagga ggaagcggag gaggaggatc cggcggcggc
480

ggctctgaga tcgtgatgac ccagtcccct gccacactgt ctgtgagccc aggcgagaga
540

gccaccctgt cttgtagggt gtcccagtct atcggcgcca atctggcctg gtaccagcag
600

aagttcggcc aggccccaag gctgctgatc tatggagcat ccaccagagc cacaggaatc
660

cccgtgaggt tctccggagg aggatctgga accgagttta ccctgacaat ctcctctctg
720

cagagcgagg actttgccat ctactcctgc cagcagtaca tctattggcc cttcacattt
780

ggccctggca ccacagtgga tatcaagacc acaacccctg caccaaggcc accaacccca
840

gcacctacaa tcgcaagcca gccactgtcc ctgagaccag aggcatgtag gcctgcagca
900

ggaggagccg tgcacaccag aggcctggac tttgcctgcg atatctatat ctgggcacca
960

ctggcaggaa cctgtggcgt gctgctgctg agcctggtca tcaccctgta ctgcaagcgc
1020

ggccggaaga agctgctgta tatcttcaag cagcccttca tgcgccccgt gcagacaacc
1080

caggaggagg acggctgcag ctgtcggttc cctgaagagg aggagggagg atgtgagctg
1140

agggtgaagt ttagccggtc cgccgatgca ccagcatacc agcagggcca gaaccagctg
1200

tataacgagc tgaatctggg ccggagagag gagtacgacg tgctggataa gaggagggga
1260

agagacccag agatgggagg caagccacgg agaaagaacc cccaggaggg cctgtacaat
1320

gagctgcaga aggacaagat ggccgaggcc tatagcgaga tcggcatgaa gggagagagg
1380

cgccggggca agggacacga tggcctgtac cagggcctgt ccaccgccac aaaggacacc
1440

tatgatgccc tgcatatgca ggcactgcct ccaaggtga 1479

<210> 242

<211> 1479

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 242

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaaga 60

ccacaggtga ccctgaagga gagcggaccc gtgctggtga agcctacaga gaccctgaca 120

ctgacctgca cagtgagcgg cttctccctg aacaatgcaa ggatgggcgt gtcctggatc 180

aggcagcccc ctggcaaggc cctggagtgg ttcgcccaca tctttagcac cgacgagaag 240

tcctttcgca catctctgag aagcaggctg accctgagca aggatacaag caagtcccag 300

gtggtgctga ccatgacaaa catggacccc gtggataccg ccacatacta ttgcgccaga 360

gacagctcca attacgaggg ctatttcgat tactggggcc agggcatcct ggtgaccgtg 420

tctagcggcg gcggcggctc tggaggagga ggaagcggag gaggaggatc cggcggcggc 480

ggctctgaga tcgtgatgac ccagtctccc gccacactgt ctgtgagccc tggcgagaga
540

gccacactga gctgtagggc ctcccagtct gtgagcaaca atctggcctg gtatcagcag
600

aagccaggcc aggcaccaag gctgctgatc tacggagcat ccaccagagc cacaggagtg
660

ccagcaaggt tctccggatc tgacagcggc accgagttta gcctgacaat ctcctctctg
720

cagtccgagg acttcgccgt gtatttttgc cagcagtaca aggattggcc attcaccttt 780

ggccccggca caaaggtgga gatcaagacc acaacccctg caccaagacc accaacccca
840

gcacctacaa tcgcatccca gcctctgtct ctgagaccag aggcatgtag gccagcagca
900

ggaggagcag tgcacaccag gggcctggac tttgcctgcg atatctatat ctgggcacct
960

ctggcaggaa cctgtggcgt gctgctgctg agcctggtca tcaccctgta ttgcaagcgc
1020

ggccggaaga agctgctgta catcttcaag cagcctttta tgcgcccagt gcagacaacc
1080

caggaggagg acggctgctc ctgtcggttc cctgaagagg aggagggagg atgtgagctg
1140

agggtgaagt tttcccggtc tgccgatgcc ccagcctatc agcagggcca gaaccagctg

1200

tacaacgagc tgaatctggg ccggagagag gagtacgacg tgctggataa gaggagggga

1260

agagatccag agatgggagg caagcctcgg agaaagaacc cacaggaggg cctgtataat

1320

gagctgcaga aggacaagat ggccgaggcc tactccgaga tcggcatgaa gggagagagg

1380

cgccggggca agggacacga tggcctgtat cagggcctgt ctaccgccac aaaggacacc

1440

tacgatgccc tgcatatgca ggcactgcct ccaaggtga 1479

<210> 243

<211> 1491

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 243

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg

60

ccagaggtga acctggtgga gtccggcggc ggcctggtga agcctggcgg atccctgagg
120

ctgtcttgcg aggcaagcgg cttcaccttc agctacgcct ggatgtcctg ggtgcgccag
180

gcccccggca agggactgga gtgggtggga cggatcaagt ccatcgcaga cggaggagca
240

accgattacg cagcccctgt gagaaacagg ttcacaatct ccagagacga ttctaggaat
300

accctgtatc tggagatgca ctctctgaag acagaggaca ccgccgtgta ctattgcacc
360

acaatccctg gcaacgacgc ctttgatatg tggggccagg gcacaatggt gaccgtgagc
420

tccggcggcg gcggctctgg aggaggagga agcggaggag gaggaagcgg gggcggcggc
480

tctgacatcg tgctgacaca gtccccactg tccctgtctg tgaccccccgg cgagcctgca
540

agcatctcct gtagatctag ccagagcctg ctgtactcca acggcaagaa ttatctggat
600

tggttcctgc acaagccagg ccagtctccc cagctgctga tctacctggg atctaatagg
660

gcaagcggag tgccagaccg gttctctgga agcggatccg gcatcgactt catcctgaag
720

atcagcaggg tggaggccga ggatgtgggc gtgtactatt gcatgcaggc ccagcagaca
780

cccatcacct tcggccaggg cacaagactg gagatcaaga ccacaacccc agcaccaagg
840

ccacctacac ctgcaccaac catcgcatcc cagccactgt ctctgaggcc tgaggcatgt
900

cggccagcag caggaggagc agtgcacacc cgcggcctgg actttgcctg cgatatctac
960

atctgggcac cactggcagg aacatgtggc gtgctgctgc tgagcctggt catcaccctg
1020

tactgcaagc gcggccggaa gaagctgctg tatatcttca agcagccttt tatgagacca
1080

gtgcagacaa cccaggagga ggacggctgc tcctgtaggt tccctgaaga ggaggagggc
1140

ggctgtgagc tgagagtgaa gttttctagg agcgccgatg caccagcata ccagcaggga
1200

cagaatcagc tgtataacga gctgaatctg ggccggagag aggagtatga cgtgctggat
1260

aagaggaggg gaagggaccc tgagatggga ggcaagcccc ggagaaagaa ccctcaggag
1320

ggcctgtaca atgagctgca gaaggacaag atggccgagg cctatagcga gatcggcatg
1380

aagggagaga ggcgccgggg caagggacac gatggcctgt accagggcct gtccacagcc
1440

accaaggaca cctatgatgc cctgcatatg caggcactgc ctccaaggtg a
1491

<210> 244

<211> 1491

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 244

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg
60

ccagaggtga acctggtgga gtccggcggc ggcctggtga agcctggcgg atccctgagg
120

ctgtcttgcg aggcaagcgg cttcaccttc agctacgcct ggatgtcctg ggtgcgccag
180

gcccccggca agggactgga gtgggtgggc cggatcaagt ccatcaccga cggaggcgtg
240

atcgattacg cagcacctgt gagaaacagg tgcacaatct ccagagacga ttctaggaat
300

accctgtatc tggagatgca ctctctgaag acagaggaca ccgccgtgta ctattgtacc
360

acaatccctg gcaacgacga tttcgatatg tggggccagg gcagaatggt gaccgtgagc
420

tccggcggcg gcggctctgg aggaggagga agcggaggag gaggaagcgg gggcggcggc
480

tctgacatcg tgctgacaca gtccccactg tccctgtctg tgacccccgg cgagcctgca
540

agcatctcct gtaggtctag ccagagcctg ctgtactcca acggcaagaa ttatctggat
600

tggtttctgc acaagccagg ccagtctccc cagctgctga tctacctggg atctaatagg
660

gcaagcggag tgccagaccg gttctctgga agcggatccg gcatcgactt catcctgaag
720

atcagccgcg tggaggcaga ggacgtgggc gtgtactatt gcatgcaggc ccagcagaca
780

cccatcacct tcggccaggg cacaagactg gagatcaaga ccacaacccc agcaccaagg
840

ccacctacac ctgcaccaac catcgcatcc cagccactgt ctctgaggcc tgaggcatgt
900

aggccagcag caggaggagc agtgcacacc agaggcctgg actttgcctg cgatatctac
960

atctgggcac cactggcagg aacatgtggc gtgctgctgc tgagcctggt catcaccctg

1020

tactgcaagc gcggccggaa gaagctgctg tatatcttca agcagccttt tatgagacca

1080

gtgcagacaa cccaggagga ggacggctgc tcctgtaggt tccctgaaga ggaggagggc

1140

ggctgtgagc tgagagtgaa gttttctagg agcgccgatg caccagcata ccagcaggga

1200

cagaatcagc tgtataacga gctgaatctg ggccggagag aggagtatga cgtgctggat

1260

aagaggaggg gaagggatcc tgagatggga ggcaagcccc ggagaaagaa ccctcaggag

1320

ggcctgtaca atgagctgca gaaggacaag atggccgagg cctatagcga gatcggcatg

1380

aagggagaga ggcgccgggg caagggacac gatggcctgt accagggcct gtccacagcc

1440

accaaggaca cctatgatgc cctgcatatg caggcactgc ctccaaggtg a

1491

<210> 245

<211> 1488

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 245

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg 60

ccagaggtgc agctggtgga gtcttggggc gtgctggtga agcctggcgg atctctgagg 120

ctgagctgcg cagcatccgg cttcatcttt aacaatgcct ggatgtcctg ggtgcgccag 180

gcccccggca agggactgga gtggatcggc cggatcaaga gcaagtccga cggaggaacc 240

acagattacg cagcacctgt gaaggaccgc ttcacaatct ctcgggacga tagcaaggat 300

accctgtatc tgcagatgaa cggcctgaag acagaggaca ccgccgtgta cttctgcacc 360

acagcccctg gcggcccttt tgattattgg ggccagggca cactggtgac cgtgagctcc 420

ggaggaggag gaagcggcgg aggaggcagc ggcggcggcg gctctggcgg cggcggcagc 480

gacatcgtgc tgacacagag ccctctgtcc ctgccagtga cccccggcga gcctgcctct
540

atcagctgtc gctctagcca gagcctgctg caccgggacg gcttcaatta cctggattgg
600

tttctgcaga agccaggcca gtccccccag ctgctgatct atctggcctc ctctagagcc
660

tctggcgtgc cagacaggtt ctccggctct gacagcggca cagacttcac cctgaagatc
720

agcagagtgg aggccgagga tgtgggcgtg tactattgca tgcaggccct gcagacaccc
780

atcaccttcg gccagggcac aagactggag atcaagacca caaccccagc accaaggcca
840

cctacacctg caccaaccat cgcatcccag ccactgtctc tgagacctga ggcctgtagg
900

ccagcagcag gaggagcagt gcacaccagg ggcctggact ttgcctgcga tatctacatc
960

tgggcacctc tggcaggaac atgtggcgtg ctgctgctga gcctggtcat caccctgtac
1020

tgcaagagag gcaggaagaa gctgctgtat atcttcaagc agcctttat gagaccagtg
1080

cagacaaccc aggaggagga cggctgctcc tgtaggttcc ctgaagagga ggagggagga
1140

tgtgagctga gggtgaagtt ttcccggtct gccgatgcac cagcatacca gcagggacag
1200

aaccagctgt ataacgagct gaatctgggc cggagagagg agtacgacgt gctggataag
1260

aggcgcggca gagatccaga gatgggcggc aagccccgga gaaagaaccc tcaggagggc
1320

ctgtacaatg agctgcagaa ggacaagatg gccgaggcct atagcgagat cggcatgaag
1380

ggagagaggc gccggggcaa gggacacgat ggcctgtacc agggcctgtc cacagccacc
1440

aaggacacct atgatgccct gcatatgcag gcactgcctc caaggtga 1488

<210> 246

<211> 1485

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 246

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagcaagg
60

cctgaggtgc agctggtgga gagcggcggc ggcctggtga agcctggcgg atccctgagg
120

ctgtcttgcg aggcaagcgg cttcaccttt agcgacgcat ggatgtcctg ggtgcgccag
180

gcccctggca agggactgga gtgggtggga cggatcaaga gcaagacaga cggcggcacc
240

acagattacg tggtgccact gaacggccgc ttcatcatct cccgcgacga ttctcggaat
300

accctgtatc tgcagctgaa caatctgaag acagaggata ccgccgtgta ctattgcacc
360

acagtgccag gctcctacgg ctattggggc cagggcacac tggtgaccgt gagctccggc
420

ggcggcggct ctggaggagg aggaagcgga ggaggaggaa gcgggggcgg cggctctgac
480

atcgtgatga cacagtctcc actgagcctg ccagtgaccc ctggcgagcc agcctccatc
540

tcttgtcgct ctagccagag cctgctgcac aacaagcgga acaattacct ggattggttt
600

ctgcagaagc ctggccagtc ccctcagctg ctgatctatc tggccagcaa tagagcctcc
660

ggagtgccag acaggttctc tggaggagga agcggaacag acttcaccct gaagatcagc
720

agagtggagg ccgaggacgt gggcgtgtac tattgcatgc aggcccagca gacacctatc
780

accttcggcc agggcacaag actggagatc aagaccacaa ccccagcacc aaggccacct
840

acacctgcac caaccatcgc ctcccagcct ctgtctctga gaccagaggc atgtaggcca
900

gcagcaggag gagcagtgca caccaggggc ctggactttg cctgcgatat ctacatctgg
960

gcacctctgg caggaacatg tggcgtgctg ctgctgagcc tggtcatcac cctgtactgc
1020

aagagaggca ggaagaagct gctgtatatc ttcaagcagc ccttcatgag acccgtgcag
1080

acaacccagg aggaggacgg ctgctcttgt aggttcccag aagaggagga gggaggatgt
1140

gagctgaggg tgaagtttag ccggtccgcc gatgcaccag cataccagca gggacagaac
1200

cagctgtata acgagctgaa tctgggccgg agagaggagt acgacgtgct ggataagagg
1260

aggggaaggg atccagagat gggaggcaag cctcggagaa agaacccaca ggagggcctg
1320

tacaatgagc tgcagaagga caagatggcc gaggcctatt ctgagatcgg catgaaggga
1380

gagaggcgcc ggggcaaggg acacgatggc ctgtaccagg gcctgagcac agccaccaag 1440

gacacctatg atgccctgca tatgcaggca ctgcctccaa ggtga 1485

<210> 247

<211> 1509

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 247

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagcaagg 60

ccacaggtgc agctggtgca gtccggagca gaggtgaaga agcctggcag ctccgtgaag 120

gtgagctgca aggcctccgg cgacacattc tctagcaacg caatcagctg ggtgcgccag 180

gcccctggcc agggactgga gtggatgggc gtgatcatcc ctatcttcgg caccgccgac 240

tatgcccaga agtttcaggg ccgggtgaca atcaccgccg atgagtctac aagcaccgcc 300

tacatggagc tgtcctctct gagatccgag gacacagccg tgtactattg tgccaggcac
360

acctatcacg agtacgcagg aggatactat ggaggagcaa tggatccttg gggacagggc
420

acactggtga ccgtgagctc cggcggcggc ggctctggag gaggaggaag cggaggagga
480

ggaagcgggg gcggcggctc tgagctgcag agcgtgctga cccagccacc ttccgcctct
540

ggaacaccag gccagagggt gaccatcagc tgctccggat ctagctccaa catcggctcc
600

aattacgtgt attggtacca gcagctgcca ggcacagccc ccaagatcct gatctaccgc
660

aacaatcagc ggccttctgg cgtgccagat agattctctg gcagcaagtc cggcacctct
720

gccagcctgg caatctccgg cctgaggtct gaggacgagg ccgattacta ttgcgccgcc
780

tgggacgata acctgagcgg ctgggtgttt ggcacaggca ccaagctgac agtgctgacc
840

acaacccctg caccaagacc accaacacca gcacctacca tcgcaagcca gccactgtcc
900

ctgagacccg aggcctgtag gcctgcagca ggaggagcag tgcacaccag gggcctggac
960

tttgcctgcg atatctatat ctgggcacca ctggcaggaa catgtggcgt gctgctgctg 1020

agcctggtca tcaccctgta ttgcaagaga ggcaggaaga agctgctgta catcttcaag 1080

cagcccttta tgcgccctgt gcagacaacc caggaggagg acggctgcag ctgtcggttc 1140

ccagaagagg aggagggagg atgtgagctg agggtgaagt tttcccggtc tgccgatgca 1200

ccagcatatc agcagggaca gaatcagctg tacaacgagc tgaatctggg ccggagagag 1260

gagtacgacg tgctggataa gaggagggga agggaccctg agatgggagg caagccacgg 1320

agaaagaacc cccaggaggg cctgtataat gagctgcaga aggacaagat ggccgaggcc 1380

tactctgaga tcggcatgaa gggagagagg cgccggggca agggacacga tggcctgtat 1440

cagggcctga gcacagccac caaggacacc tacgatgccc tgcatatgca ggcactgcct 1500

ccaaggtga 1509

<210> 248

<211> 529

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 248

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu 5

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45 10

Ser Leu Asn Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Phe Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys

65 70 75 80

Ser Phe Arg Thr Ser Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr 15

85 90 95

Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100 105 110

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr

115 120 125

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Ser Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser

165 170 175

Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser

180 185 190

Asn Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu

195 200 205

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe

210 215 220

Ser Gly Ser Asp Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu

225 230 235 240

Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Asp Trp

245 250 255

Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser Gly

260 265 270

Gly Gly Gly Ser Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys Ser Gly Gly

275 280 285

Gly Gly Ser Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys Ser Gly Gly Gly

290 295 300

Gly Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr

305 310 315 320

Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala

325 330 335

Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile

340 345 350

Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser

355 360 365

Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr

370 375 380

Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu

385 390 395 400

Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu

405 410 415

Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln

420 425 430

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu

435 440 445

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly

450 455 460

Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln

465 470 475 480

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu

485 490 495

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr

500 505 510

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro

515 520 525

Arg

<210> 249

<211> 529

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 249

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45

Ser Leu Ser Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Thr Asp Glu Lys

65 70 75 80

Ser Ile Arg Arg Ser Leu Arg Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100 105 110

Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gly Tyr

115 120 125

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Ser Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser

165 170 175

Pro Gly Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser

180 185 190

Ser Asn Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu

195 200 205

Leu Leu Tyr Gly Ala Thr Thr Arg Ala Thr Gly Leu Pro Gly Arg Phe

210 215 220

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Asn Ile Leu Thr Ile Ser Ser Leu

225 230 235 240

Gln Ser Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Asp Trp

245 250 255

Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Ser Lys Val Asp Ile Lys Gly Ser Gly

260 265 270

Gly Gly Gly Ser Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys Ser Gly Gly

275 280 285

Gly Gly Ser Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys Ser Gly Gly Gly

290 295 300

Gly Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr

305 310 315 320

Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala

325 330 335

Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile

340 345 350

Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser

355 360 365

Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr

370 375 380

Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu

385 390 395 400

Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu

405 410 415

Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln

420 425 430

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu

435 440 445

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly

450 455 460

Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln

465 470 475 480

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu

485 490 495

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr

500 505 510

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro

515 520 525

Arg

<210> 250

<211> 532

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 250

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Trp Gly Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

35 40 45

Ile Phe Asn Asn Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Lys Ser Lys Ser Asp Gly Gly Thr

65 70 75 80

Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp

85 90 95

Asp Ser Lys Asp Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Gly Leu Lys Thr Glu

100 105 110

Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Thr Thr Ala Pro Gly Gly Pro Phe Asp

115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

145 150 155 160

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

165 170 175

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Arg

180 185 190

Asp Gly Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

195 200 205

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Ser Arg Ala Ser Gly Val Pro

210 215 220

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Asp Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

225 230 235 240

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

245 250 255

Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

260 265 270

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys

275 280 285

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys Ser

290 295 300

Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

305 310 315 320

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys

325 330 335

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala

340 345 350

Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu

355 360 365

Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys

370 375 380

Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr

385 390 395 400

Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly

405 410 415

Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala

420 425 430

Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg

435 440 445

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu

450 455 460

Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn

465 470 475 480

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met

485 490 495

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly

500 505 510

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

515 520 525

Leu Pro Pro Arg

530

<210> 251

<211> 531

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 251

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe

35 40 45

Thr Phe Ser Asp Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr

65 70 75 80

Thr Asp Tyr Val Val Pro Leu Asn Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp

85 90 95

Asp Ser Arg Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Leu Asn Asn Leu Lys Thr Glu

100 105 110

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Val Pro Gly Ser Tyr Gly Tyr

115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp

145 150 155 160

Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu

165 170 175

Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Asn Lys

180 185 190

Arg Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro

195 200 205

Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp

210 215 220

Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser

225 230 235 240

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Gln

245 250 255

Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Gly

260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys Ser

275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys Ser Gly

290 295 300

Gly Gly Gly Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala

305 310 315 320

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg

325 330 335

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys

340 345 350

Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu

355 360 365

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu

370 375 380

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln

385 390 395 400

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly

405 410 415

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr

420 425 430

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg

435 440 445

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met

450 455 460

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu

465 470 475 480

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys

485 490 495

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu

500 505 510

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu

515 520 525

Pro Pro Arg

530

<210> 252

<211> 1590

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 252

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga
60

ccccaggtga cactgaagga gagcggcccc gtgctggtga agcctacaga gacactgacc
120

ctgacctgca cagtgagcgg cttctccctg aacaatgcaa ggatgggcgt gtcctggatc
180

aggcagccac ctggcaaggc cctggagtgg ttcgcccaca tctttagcac cgacgagaag
240

tcctttcgca catctctgag aagcaggctg accctgagca aggatacaag caagtcccag
300

gtggtgctga ccatgacaaa catggaccct gtggataccg ccacatacta ttgtgcccgg
360

gacagctcca attacgaggg ctatttcgat tactggggcc agggcatcct ggtgaccgtg
420

tctagcggcg gcggcggctc tggaggagga ggaagcggag gaggaggatc cggcggcggc
480

ggctctgaga tcgtgatgac ccagtcccca gccacactgt ctgtgagccc aggagagaga
540

gccaccctgt cttgcagggc ctcccagtct gtgagcaaca atctggcctg gtatcagcag
600

aagcctggcc aggccccaag gctgctgatc tacggagcaa gcaccagagc aacaggagtg
660

cctgcaaggt tctccggatc tgacagcggc accgagtttt ctctgacaat ctcctctctg 720

cagagcgagg acttcgccgt gtatttttgt cagcagtaca aggattggcc attcaccttt 780

ggccccggca caaaggtgga gatcaagggc tccggaggag gaggatcctg cccctattcc 840

aacccttctc tgtgcagcgg aggaggagga agctgtccat actccaatcc ctccctgtgc 900

tccggcggcg gaggatccac cacaacccca gcacctagac caccaacccc agcaccaaca 960

atcgcatccc agcctctgtc tctgcggccc gaggcatgca ggccagcagc aggcggcgcc 1020

gtgcacacca ggggcctgga ctttgcctgc gatatctata tctgggcacc actggcagga 1080

acctgtggcg tgctgctgct gagcctggtc atcaccctgt attgcaagcg cggccggaag 1140

aagctgctgt acatcttcaa gcagcctttt atgcgcccag tgcagacaac ccaggaggag 1200

gacggctgct cctgtcggtt ccctgaagag gaggagggag gatgtgagct gcgcgtgaag 1260

ttttcccggt ctgccgatgc cccagcctat cagcagggcc agaaccagct gtacaacgag 1320

ctgaatctgg gccggagaga ggagtacgac gtgctggata agaggagggg aagagatccc 1380

gagatgggag gcaagcctcg gagaaagaac ccacaggagg gcctgtataa tgagctgcag 1440

aaggacaaga tggccgaggc ctactctgag atcggcatga agggagagag gcgccggggc 1500

aagggacacg atggcctgta tcagggcctg tccaccgcca caaaggacac ctacgatgcc 1560

ctgcacatgc aggccctgcc tccaaggtga 1590

<210> 253

<211> 1590

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 253

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60

ccccaggtga cactgaagga gtccggcccc gtgctggtga agcctacaga gacactgacc 120

ctgacctgca cagtgagcgg cttctctctg agcaacgcaa ggatgggcgt gtcctggatc 180

aggcagccac ctggcaaggc cctggagtgg ctggcccaca tcttttccac cgacgagaag
240

tctatccgga gaagcctgcg ctcccggctg accctgagca aggatacatc caagtctcag
300

gtggtgctga ccatgacaaa catggaccct gtggataccg ccacatactt ctgtgcccgg
360

gacagctcca attacgaggg ctattttgat tactggggcc agggcaccct ggtgacagtg
420

tctagcggag gaggaggaag cggaggagga ggatcaggcg gcggcggctc tggcggcggc
480

ggcagcgagg tggtcatgac ccagtctcca gccacactga gcgtgtcccc aggagagcgc
540

gtgaccctga gctgccgggc ctctcagagc gtgtcctcta acttcgcctg gtatcagcag
600

cggcccggac aggcaccaag gctgctgctg tacggagcaa ccacaagagc aacaggcctg
660

cctggcaggt tttccggctc tggcagcggc accgagaata tcctgacaat cagctccctg
720

cagagcgagg acttcgccat ctatttttgt cagcagtaca aggattggcc attcaccttt
780

ggccccggct ccaaggtgga catcaaggga tccggaggag gaggatcttg cccctattct
840

aaccctagcc tgtgctccgg aggaggagga tcctgtccat actctaatcc atccctgtgc
900

agcggaggag gaggatctac cacaacccca gcacctagac caccaacccc agcacccaca
960

atcgcctctc agcctctgag cctgcgccca gaggcatgca ggccagcagc aggaggagca
1020

gtgcacacca ggggcctgga cttcgcctgc gatatctata tctgggcacc actggcagga
1080

acctgtggcg tgctgctgct gtccctggtc atcaccctgt attgcaagag aggcaggaag
1140

aagctgctgt acatcttcaa gcagcctttt atgcgcccag tgcagacaac ccaggaggag
1200

gacggctgca gctgtcggtt ccctgaagag gaggagggcg gctgtgagct gagagtgaag
1260

ttttccaggt ctgccgatgc cccagcctat cagcagggcc agaatcagct gtacaacgag
1320

ctgaatctgg gcaggcgcga ggagtacgac gtgctggata agaggagagg acgcgatccc
1380

gagatgggag gcaagcctag gcgcaagaac ccacaggagg gcctgtataa tgagctgcag
1440

aaggacaaga tggccgaggc ctactctgag atcggcatga agggagagcg gagaaggggc
1500

aagggacacg atggcctgta tcagggcctg agcaccgcca caaaggacac ctacgatgcc
1560

ctgcacatgc aggccctgcc tccaaggtga 1590

<210> 254

<211> 1599

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 254

atggccctgc cagtgaccgc cctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgccgccaga
60

cctgaggtgc agctggtgga gagctggggc gtgctggtga agccaggagg ctctctgagg
120

ctgagctgcg cagcatccgg cttcatcttt aacaatgcct ggatgtcctg ggtgagacag
180

gcaccaggca agggcctgga gtggatcggc aggatcaaga gcaagtccga cggaggaacc
240

acagattacg cagcacccgt gaaggaccgc ttcacaatct ctcgggacga tagcaaggat
300

accctgtatc tgcagatgaa cggcctgaag acagaggaca ccgccgtgta cttctgcacc
360

acagccccag gcggcccctt tgattattgg ggccagggca cactggtgac cgtgagctcc
420

ggaggaggag gaagcggcgg aggaggcagc ggcggcggcg gctctggcgg cggcggcagc
480

gacatcgtgc tgacacagag cccactgtcc ctgcctgtga ccccaggaga gcccgcctct
540

atcagctgtc gctctagcca gagcctgctg caccgggacg gcttcaatta cctggattgg
600

tttctgcaga agcctggcca gagcccacag ctgctgatct atctggcctc ctctagagca
660

tccggagtgc ctgacaggtt ctccggatct gacagcggca cagacttcac cctgaagatc
720

tcccgcgtgg aggcagagga tgtgggcgtg tactattgca tgcaggccct gcagacacca
780

atcaccttcg gccagggcac acggctggag atcaagggat ccggaggagg aggatcttgc
840

ccctactcta accctagcct gtgcagcggc ggaggaggat cttgtccata ttctaatcca
900

agcctgtgca gcgggggagg aggaagcacc acaacccctg caccaagacc ccctacacca
960

gcacctacca tcgcatccca gccactgtct ctgcggcccg aggcatgtag gccagcagca

1020

ggaggagcag tgcacaccag gggcctggac tttgcctgcg atatctacat ctgggcacca

1080

ctggcaggaa catgtggcgt gctgctgctg agcctggtca tcaccctgta ctgcaagaga

1140

ggcaggaaga agctgctgta tatcttcaag cagcctttta tgcgcccagt gcagacaacc

1200

caggaggagg acggctgctc ctgtaggttc ccagaagagg aggagggagg atgtgagctg

1260

cgcgtgaagt tttcccggtc tgccgatgca cctgcatacc agcagggaca gaaccagctg

1320

tataacgagc tgaatctggg ccggagagag gagtacgacg tgctggataa gaggagggga

1380

cgcgatcctg agatgggagg caagccccgg agaaagaacc ctcaggaggg cctgtacaat

1440

gagctgcaga aggacaagat ggccgaggcc tattccgaga tcggcatgaa gggagagagg

1500

cgccggggca agggacacga tggcctgtac cagggcctgt ctacagccac caaggacacc

1560

tatgatgccc tgcacatgca ggccctgcca ccaaggtga 1599

<210> 255

<211> 1596

<212> DNA

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 255

atggcactgc cagtgacagc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60

ccagaggtgc agctggtgga gtccggagga ggcctggtga agccaggagg ctccctgagg 120

ctgtcttgcg aggccagcgg cttcaccttt agcgacgcct ggatgtcctg ggtgagacag 180

gcaccaggca agggcctgga gtgggtgggc aggatcaaga gcaagacaga cggcggcacc 240

acagattacg tggtgcctct gaacggccgg ttcatcatct cccgcgacga ttctcggaat 300

accctgtatc tgcagctgaa caatctgaag acagaggata ccgccgtgta ctattgcacc 360

acagtgcctg gctcctacgg ctattggggc cagggcacac tggtgaccgt gagctccggc 420

ggcggcggct ctggaggagg aggaagcgga ggaggaggaa gcgggggcgg cggctctgac
480

atcgtgatga cacagtctcc actgagcctg ccagtgaccc caggagagcc tgcctccatc
540

tcttgtcgct ctagccagtc cctgctgcac aacaagcgga acaattacct ggattggttc 600

ctgcagaagc caggccagtc tccccagctg ctgatctatc tggccagcaa tagagcctcc
660

ggagtgccag acaggttctc tggaggagga agcggaacag acttcaccct gaagatcagc
720

cgcgtggagg cagaggacgt gggcgtgtac tattgcatgc aggcccagca gacacccatc
780

acctttggcc agggaacccg gctggagatc aagggctccg gaggaggagg atcctgccct
840

tactccaacc catctctgtg cagcggagga ggaggatctt gtccatattc caatccttcc 900

ctgtgctccg gaggaggagg aagcaccaca acccctgcac caagaccccc tacaccagca
960

cctaccatcg catcccagcc tctgtctctg cggcccgagg catgtaggcc agcagcaggc
1020

ggcgccgtgc acaccagggg cctggacttt gcctgcgata tctacatctg ggcaccactg
1080

gcaggaacat gtggcgtgct gctgctgtct ctggtcatca ccctgtactg caagagaggc
1140

aggaagaagc tgctgtatat cttcaagcag cccttcatgc ggcccgtgca gacaacccag 1200

gaggaggacg gctgcagctg tcggttccct gaagaggagg agggaggatg tgagctgcgc 1260

gtgaagttta gccggtccgc cgatgcacca gcataccagc agggccagaa ccagctgtat 1320

aacgagctga atctgggccg gagagaggag tacgacgtgc tggataagag gaggggacgc 1380

gatcctgaga tgggaggcaa gcctcggaga aagaacccac aggagggcct gtacaatgag 1440

ctgcagaagg acaagatggc cgaggcctat agcgagatcg gcatgaaggg agagaggcgc 1500

cggggcaagg gacacgatgg cctgtaccag ggcctgtcca cagccaccaa ggacacctat 1560

gatgccctgc acatgcaggc cctgccacca aggtga 1596

<210> 256

<211> 9

<212> PRT

<213>متوالية اصطناعية

<220>

<223>بنية تخليقية

<400> 256

Cys Pro Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Cys

1 5

عناصر الحماية

1- متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) خاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) يشتمل على نطاق ارتباط متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) ، نطاق عبر الغشاء، ونطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا، حيث يشتمل نطاق الارتباط متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) على:

(أ) منطقة متغيرة ذات سلسلة ثقيلة heavy chain variable (VH) تشتمل على ثلاث مناطق لتحديد التكامل لمنطقة تحديد التكامل VH 1 (VH CDR1)، منطقة تحديد التكامل VH 2 (VH CDR2)، ومنطقة تحديد التكامل VH 3 (VH CDR3) من 42G9 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VH CDR1، VH CDR2 و VH CDR3، حيث يشتمل VH CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتواليات أرقام: 74-76، يشتمل VH CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتواليات أرقام: 77-78، ويشتمل VH CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 79؛ و

منطقة متغيرة ذات سلسلة خفيفة light chain variable (VL) تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل من منطقة تحديد تكامل VL 1 (VL CDR1)، منطقة تحديد تكامل VL 2 (VL CDR2)، ومنطقة تحديد تكامل VL 3 (VL CDR3) من 42G9 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C من VL CDR1، VL CDR2، و VL CDR3 ، حيث يشتمل VL CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 156، يشتمل VL CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 157، ويشتمل VL CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 158؛ أو

(ب) منطقة VH تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VH CDR1 و VH CDR2 و VH CDR3 لـ 32A10 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VH CDR1 و VH CDR2 و VH CDR3، حيث يشتمل VH CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية

amino acid sequence لواحدة من المتواليات أرقام: 80-82، يشتمل VH CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence لواحدة من المتواليات أرقام: 83-84، ويشتمل VH CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 85؛ و

منطقة VL تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VL CDR1 وVL CDR2 وVL CDR3 لـ 32A10 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VL CDR1 و VL CDR2 وVL CDR3، حيث يشتمل VL CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 159، يشتمل VL CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 160، ويشتمل VL CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 161؛ أو

(ج) منطقة VH تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VH CDR1 وVH CDR2 و VH CDR3 لـ 20B9 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VH CDR1 وVH CDR2 وVH CDR3، حيث يشتمل VH CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence لواحدة من المتواليات أرقام: 80-82، يشتمل VH CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتواليات أرقام: 86-87، ويشتمل VH CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence لمتوالية رقم: 79؛ و

منطقة VL تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VL CDR1 وVL CDR2 وVL CDR3 لـ 20B9 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VL CDR1 و VL CDR2 وVL CDR3، حيث يشتمل VL CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 162، يشتمل VL CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 163، ويشتمل VL CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 164؛ أو

(د) منطقة VH تشتمل ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VH CDR1 وVH CDR2 وVH CDR3 من 14C11 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VH CDR1 وVH CDR2 وVH CDR3، حيث يشتمل VH CDR1 على متوالية الحمض الأميني amino acid sequence لواحدة من المتواليات أرقام: 88-90، يشتمل VH CDR2 على متوالية

الأحماض الأمينية amino acid sequence لواحدة من المتواليات أرقام: 91-92، ويشتمل VH CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 85؛ و منطقة VL تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VL CDR1 وVL CDR2 وVL CDR3 لـ 14C11 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VL CDR1 و VL CDR2 وVL CDR3، حيث يشتمل VL CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 165، يشتمل VL CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 163، ويشتمل VL CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence لمتوالية رقم: 161؛ أو

(هـ) منطقة VH تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VH CDR1 وVH CDR2 و VH CDR3 من 30D8 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VH CDR1 وVH CDR2 وVH CDR3، حيث يشتمل VH CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 109-111، يشتمل VH CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 112-113، ويشتمل VH CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 114؛ و

منطقة VL تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VL CDR1 وVL CDR2 وVL CDR3 لـ 30D8 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VL CDR1 و VL CDR2 وVL CDR3، حيث يشتمل VL CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 182، يشتمل VL CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 183، ويشتمل VL CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 184؛ أو

(و) منطقة VH تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VH CDR1 وVH CDR2 و VH CDR3 من 20E12 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VH CDR1 وVH CDR2 وVH CDR3، حيث يشتمل VH CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 115-117، يشتمل VH CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 118-119، ويشتمل VH CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 120؛ و

تشتمل منطقة VL على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VL CDR1 وVL CDR2 وVL CDR3 من 20E12 موضوعة بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VL CDR1 و VL CDR2 وVL CDR3، حيث يشتمل VL CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 185، يشتمل VL CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 186، ويشتمل VL CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 184؛ أو

(ز) منطقة VH تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VH CDR1 وVH CDR2 و VH CDR3 لـ 26B9 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VH CDR1 وVH CDR2 وVH CDR3، حيث يشتمل VH CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence لواحدة من المتواليات أرقام: 121-123، يشتمل VH CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence لواحدة من المتواليات أرقام: 124-125، ويشتمل VH CDR3 على متوالية الحمض الأميني amino acid sequence للمتوالية رقم: 126؛ و

منطقة VL تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VL CDR1 وVL CDR2 وVL CDR3 لـ 26B9 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VL CDR1 و VL CDR2 وVL CDR3، حيث يشتمل VL CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 187، يشتمل VL CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 188، ويشتمل VL CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 189؛

(ح) منطقة VH تشتمل ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VH CDR1 وVH CDR2 وVH CDR3 من C6 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VH CDR1 و VH CDR2 وVH CDR3، حيث يشتمل VH CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence لأحد المتواليات أرقام: 137-139، يشتمل VH CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence لأحد المتواليات أرقام: 140-141، ويشتمل VH CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 142؛ و

منطقة VL تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VL CDR1 وVL CDR2 وVL CDR3 لـ C6 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VL CDR1 وVL CDR2 وVL CDR3، حيث يشتمل VL CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 195، يشتمل VL CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 196، ويشتمل VL CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 197؛ أو

(ط) منطقة VH تشتمل ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VH CDR1 وVH CDR2 وVH CDR3 من 12B2 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VH CDR1 و VH CDR2 وVH CDR3، حيث يشتمل VH CDR1 على متوالية الحمض الأميني amino acid sequence لواحدة من المتواليات أرقام: 74-76، يشتمل VH CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence لواحدة من المتواليات رقم: 102 أو 103، ويشتمل VH CDR3 على متوالية الحمض الأميني amino acid sequence للمتوالية رقم: 104؛ و منطقة VL تشتمل على ثلاث مناطق تحديد تكامل لـ VL CDR1 وVL CDR2 وVL CDR3 من 12B2 تم وضعها بصورة متتابعة في الطرف N إلى اتجاه الطرف C لـ VL CDR1 و VL CDR2 وVL CDR3، حيث يشتمل VL CDR1 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 176، يشتمل VL CDR2 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 172، ويشتمل VL CDR3 على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 177.

2- متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) خاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) يشتمل على نطاق ارتباط متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII)، نطاق عبر الغشاء، ونطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا، حيث يشتمل نطاق الارتباط متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) على شظية متغيرة ذات سلسلة أحادية (scFv) تشتمل منطقة VH ومنطقة VL تم اختيارها من المجموعة التي تتكون من:

1) منطقة VH تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 9 ومنطقة VL تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 10 (42G9)؛

2) منطقة VH تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 11 ومنطقة VL تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 12 (32A10)؛

3) منطقة VH تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 13 ومنطقة VL تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 14 (20B9)؛

4) منطقة VH تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 15 ومنطقة VL تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 16 (14C11)؛

5) منطقة VH تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 37 ومنطقة VL تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 38 (30D8)؛

6) منطقة VH تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 39 ومنطقة VL تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 40 (20E12)؛

7) منطقة VH تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 41 ومنطقة VL تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 42 (26B9)؛

8) منطقة VH تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 48 ومنطقة VL تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 49 (C6)؛ و

9) منطقة VH تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 30 ومنطقة VL تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم تشتمل على متوالية الأحماض الأمينية amino acid sequence للمتوالية رقم: 31 (12B2).

3- متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) خاص بمستقبل مولد ضد خيميري نوعي chimeric antigen recepto (CAR) يشتمل على نطاق ارتباط متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII)، نطاق عبر الغشاء، ونطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا، حيث يشتمل مستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) الخاص بمتغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) على متوالية حمض أميني تم اختيارها من المجموعة التي تتكون من المتواليات أرقام: 53-57 و59-61.

4- متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) الخاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) وفقًا لأي من عناصر الحماية 1-3، حيث يكون نظام إرسال الإشارة داخل الخلايا عبارة عن نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الأول ويشتمل مستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) بشكل اختياري كذلك على نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الثاني.

5- متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) الخاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) وفقًا لأي من عناصر الحماية 1-3، حيث يكون نظام إرسال الإشارة داخل الخلايا عبارة عن نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الأول ويشتمل مستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) بشكل اختياري كذلك على نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الثاني، حيث يشتمل نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الأول على نطاق إرسال الإشارة CD3zeta ويشتمل نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الثاني الاختياري على نطاق إرسال الإشارة 4-1BB.

6- متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) الخاص بمستقبل مولد ضد خيميري خاص بـ (CAR) وفقًا لعنصر الحماية 1، يشتمل أيضاً على نطاق ساق بين نطاق الارتباط للمركب الترابطي خارج الخلية ونطاق عبر الغشاء الأول.

7- متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) الخاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) وفقًا لعنصر الحماية 6، حيث يتم اختيار نطاق الساق من المجموعة المكونة من: منطقة مفصلية CD8α بشرية، منطقة مفصلية CD28 بشرية، منطقة مفصلية IgG1، ومنطقة مفصلية FcγRIIIα.

8- متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) الخاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) وفقًا لعنصر الحماية 1، حيث يشتمل نطاق عبر الغشاء الأول على نطاق عبر الغشاء للسلسلة CD8α.

9- بولي نيوكليوتيد معزول isolated polynucleotide يشتمل على متوالية حمض نووي nucleic acid sequence تشفر المتغير المستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) الخاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) وفقًا لعنصر الحماية 1.

10- ناقل تعبير معزول isolated expression vector يشتمل على بولي نيوكليوتيد polynucleotide وفقًا لعنصر الحماية 9.

11- خلية مناعية تم تشكيلها هندسيًا معزولة isolated engineered immune cell تعبر على سطح غشائها السطحي عن متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor

receptor variant III (EGFRvIII) الخاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) وفقًا لعنصر الحماية 1.

12- خلية مناعية تم تشكيلها هندسيًا معزولة isolated engineered immune cell تشتمل على بولي ببتيد وفقًا لعنصر الحماية 9.

13- خلية مناعية تم تشكيلها هندسيًا معزولة isolated engineered immune cell تشتمل على ناقل تعبير وراثي وفقًا لعنصر الحماية 10.

14- الخلية المناعية التي تم تشكيلها هندسيًا المعزولة isolated engineered immune cell وفقًا لعنصر الحماية 11، حيث يتم الحصول على الخلية المناعية من متبرع صحيح أو من مريض ما.

15- الخلية المناعية التي تم تشكيلها هندسيًا المعزولة isolated engineered immune cell وفقًا لعنصر الحماية 11، للاستخدام كدواء.

16- تركيبة صيدلانية تشتمل على الخلية المناعية التي تم تشكيلها هندسيًا المعزولة isolated engineered immune cell وفقًا لعنصر الحماية 11.

17- تركيبة صيدلانية تشتمل على الخلية المناعية التي تم تشكيلها هندسياً المعزولة isolated engineered immune cell وفقًا لأي من عناصر الحماية 11-15 لعلاج السرطان .

18- التركيبة الصيدلانية التي تشتمل على الخلية المناعية التي تم تشكيلها هندسياً المعزولة isolated engineered immune cell وفقًا لأي من عناصر الحماية 11-15 لعلاج السرطان، حيث يكون السرطان عبارة عن سرطان يتعلق بمتغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) تم اختياره من المجموعة

المكونة من الورم الأرومي الدبقي متعدد الأشكال glioblastoma multiform ، الورم النجمي الكشمي anaplastic astrocytoma ، ورم أرومي دبقي عملاق الخلايا giant cell glioblastoma ، ساركومة دبقية gliosarcoma ، الورم الدبقي قليل التفرع فاقد التمايز الخلوي anaplastic oligodendroglioma ، ورم بطاني عصبي فاقد للتمايز الخلوي anaplastic ependymoma ، الورم الأرومي الدبقي الفاقد للتمايز الخلوي anaplastic oligoastrocytoma ، الورم السرطاني للضفيرة المشيمية choroid plexus carcinoma ، ورم دبقي عقدي كشمي anaplastic ganglioglioma ، ورم الأرومة الصنوبرية pineoblastoma ، ورم الغدة الصنوبرية pineocytoma ، الورم السحائي meningioma ، ورم ظهاري مياليني medulloepithelioma ، الورم الأرومي البطاني العصبي ependymoblastoma ، ورم أرومي نخاعي medulloblastoma ، ورم الأديم العصبي البدائي فوق الخيمة المخية supraentorial primitive neuroectodermal tumor ، ورم مسخي غير قياسي/ ورم روبيدي atypical teratoid/rhabdoid tumor ، الورم الدبقي المختلط mixed glioma ، سرطان الرأس والرقبة head and neck cancer ، سرطان الرئة للخلية غير الصغيرة non-small cell lung cancer ، سرطان الثدي breast cancer ، سرطان المبيض ovarian cancer ، سرطان البروستاتا prostate cancer ، ورم أرومي نخاعي medullobastoma ، سرطان القولون والمستقيم colorectal cancer ، سرطان الشرج anal cancer ، سرطان عنق الرحم cervical cancer ، سرطان الكلى renal cancer ، سرطان الجلد skin cancer ، سرطان البنكرياس pancreatic cancer ، سرطان الكبد liver cancer ، سرطان المثانة bladder cancer ، سرطان المعدة gastric cancer ، سرطان الغدة الدرقية thyroid cancer ، ورم الظهارة المتوسطة mesothelioma ، سرطان الرحم uterine cancer ، الورم اللمفاوي lymphoma ، وسرطان الدم leukemia.

19- طريقة لهندسة خلية مناعية في المختبر تشتمل على:

أ- توفير خلية مناعية؛

ب- التعبير الوراثي على سطح الخلية عن متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) خاص بمستقبل مولد ضد خيميري

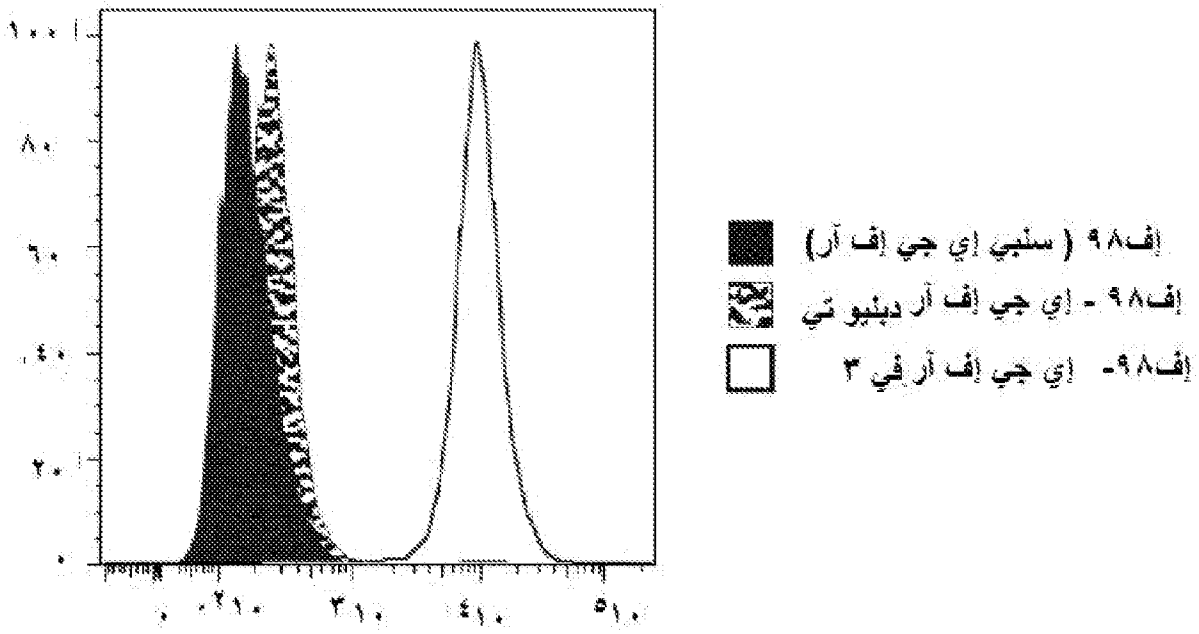
chimeric antigen recepto (CAR) واحد على الأقل وفقًا لأي من عناصر الحماية 1-3 و6-8.

20- متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) الخاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) وفقًا لأي من عناصر الحماية 1-3، حيث يكون نظام إرسال الإشارة داخل الخلايا عبارة عن نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الأول ويشتمل مستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) بشكل اختياري كذلك على نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الثاني، حيث يشتمل نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الأول على نطاق إرسال الإشارة CD3zeta ويشتمل نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الثاني الاختياري على نطاق إرسال الإشارة 4-1BB، ويشتمل أيضاً على نطاق ساق بين نطاق الارتباط للمركب الترابطي خارج الخلية ونطاق عبر الغشاء الأول.

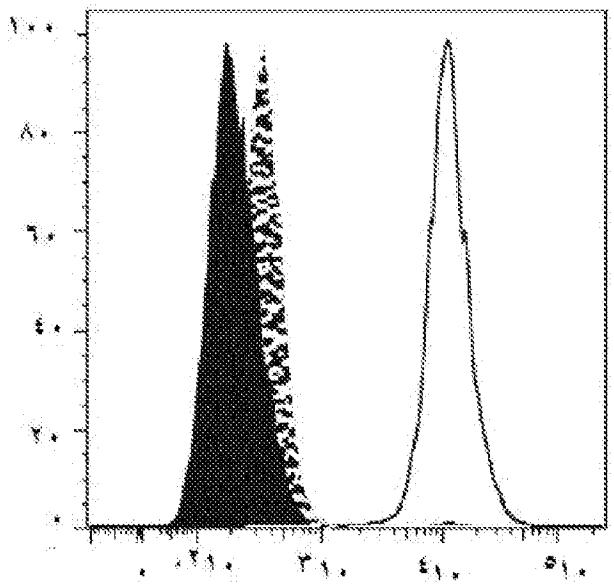
21- متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) الخاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) وفقًا لأي من عناصر الحماية 1-3، حيث يكون نظام إرسال الإشارة داخل الخلايا عبارة عن نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الأول ويشتمل CAR بشكل اختياري كذلك على نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الثاني، حيث يشتمل نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الأول على نطاق إرسال الإشارة CD3zeta ويشتمل نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الثاني الاختياري على نطاق إرسال الإشارة 4-1BB، ويشتمل أيضاً على نطاق ساق بين نطاق الارتباط للمركب الترابطي خارج الخلية ونطاق عبر الغشاء الأول، وحيث يشتمل النطاق عبر الغشاء على نطاق عبر الغشاء للسلسلة CD8α.

22- خلية مناعية تم تشكيلها هندسيًا معزولة isolated engineered immune cell تعبر على غشائها السطحي للخلية عن متغير مستقبل عامل نمو البشرة epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) خاص بمستقبل مولد ضد خيميري chimeric

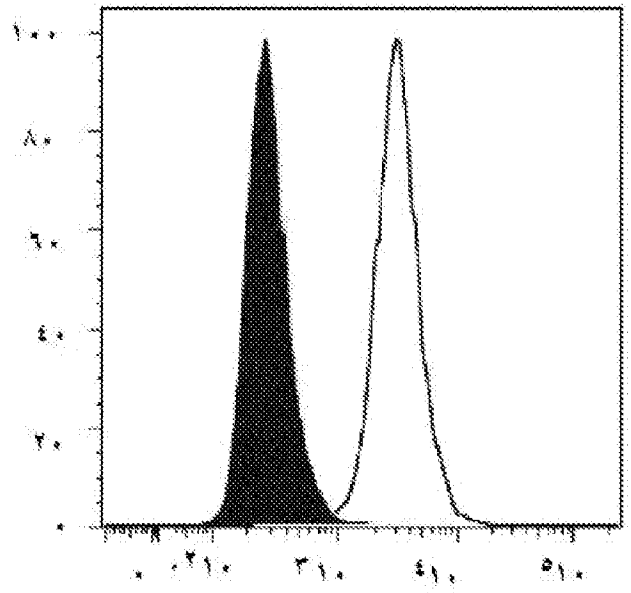
antigen recepto (CAR) وفقًا لأي من عناصر الحماية 1-3، حيث يكون نظام إرسال الإشارة داخل الخلايا عبارة عن نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الأول ويشتمل مستقبل مولد ضد خيميري chimeric antigen recepto (CAR) بشكل اختياري كذلك على نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الثاني، حيث يشتمل نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الأول على نطاق إرسال الإشارة CD3zeta ويشتمل نطاق إرسال الإشارة داخل الخلايا الثاني الاختياري على نطاق إرسال الإشارة 4-1BB، ويشتمل أيضاً على نطاق ساق بين نطاق الارتباط للمركب الترابطي خارج الخلية ونطاق عبر الغشاء الأول، وحيث يشتمل النطاق عبر الغشاء على نطاق عبر الغشاء للسلسلة CD8α.


١٠٠
٨٠
٦٠
٤٠
٢٠
٠
٠
٢١٠
٣١٠
٤١٠
٥١٠
إف٩٨ (سلبي إي جي إف آر)
إف٩٨ - إي جي إف آر دبليو تي
إف٩٨- إي جي إف آر في ٣

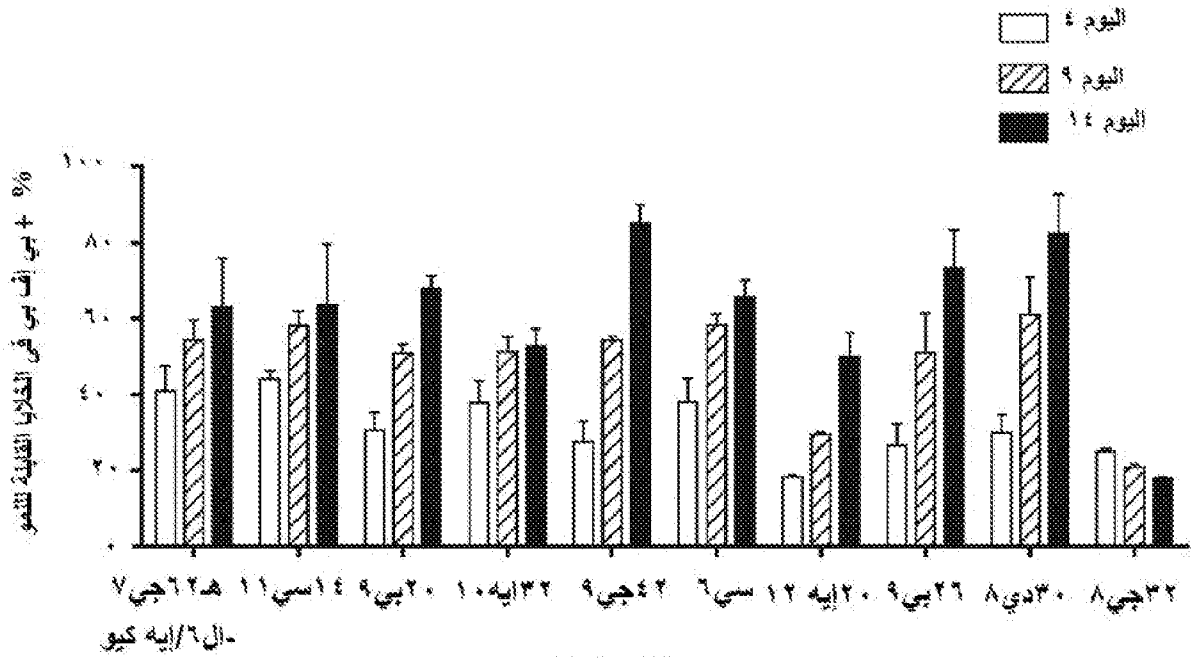
الشكل رقم ١أ



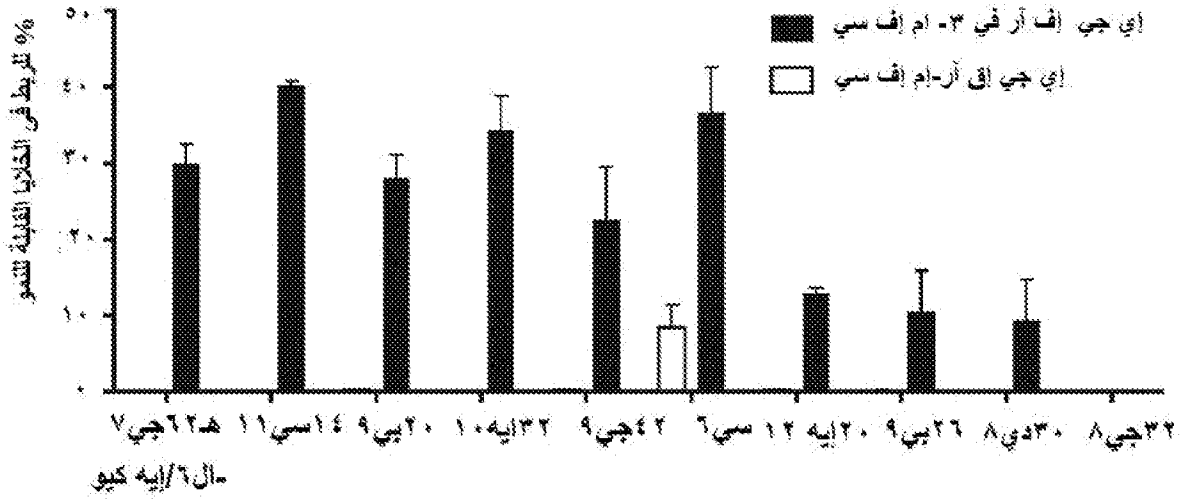
الشكل رقم ١ب



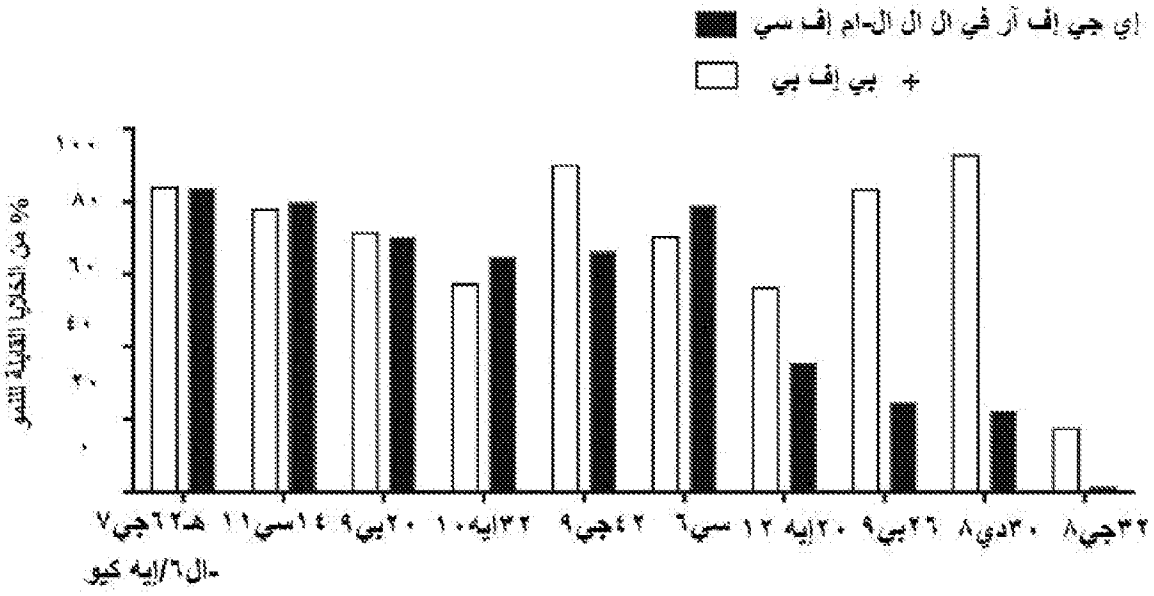
الشكل رقم ١ج



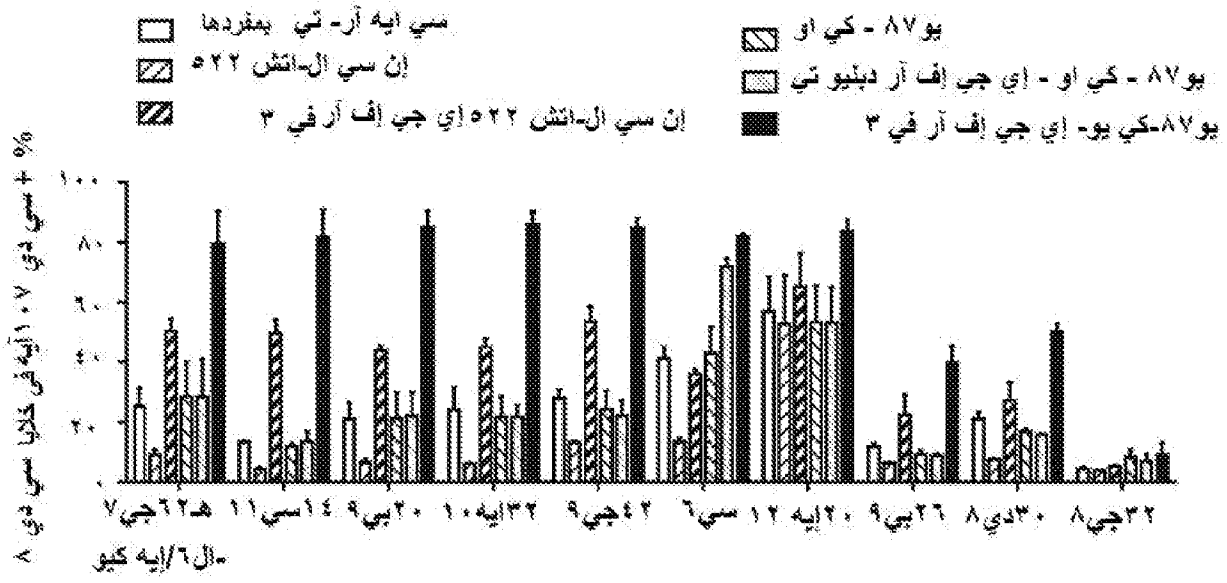
الشكل رقم ٢أ



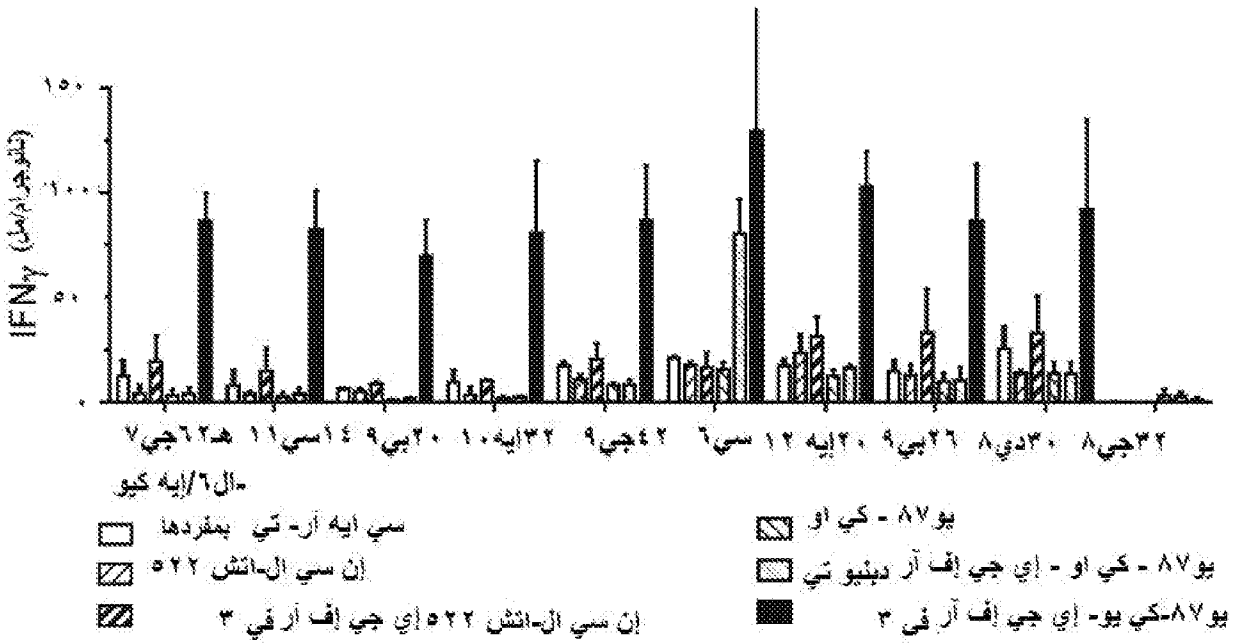
الشكل رقم ٢ب



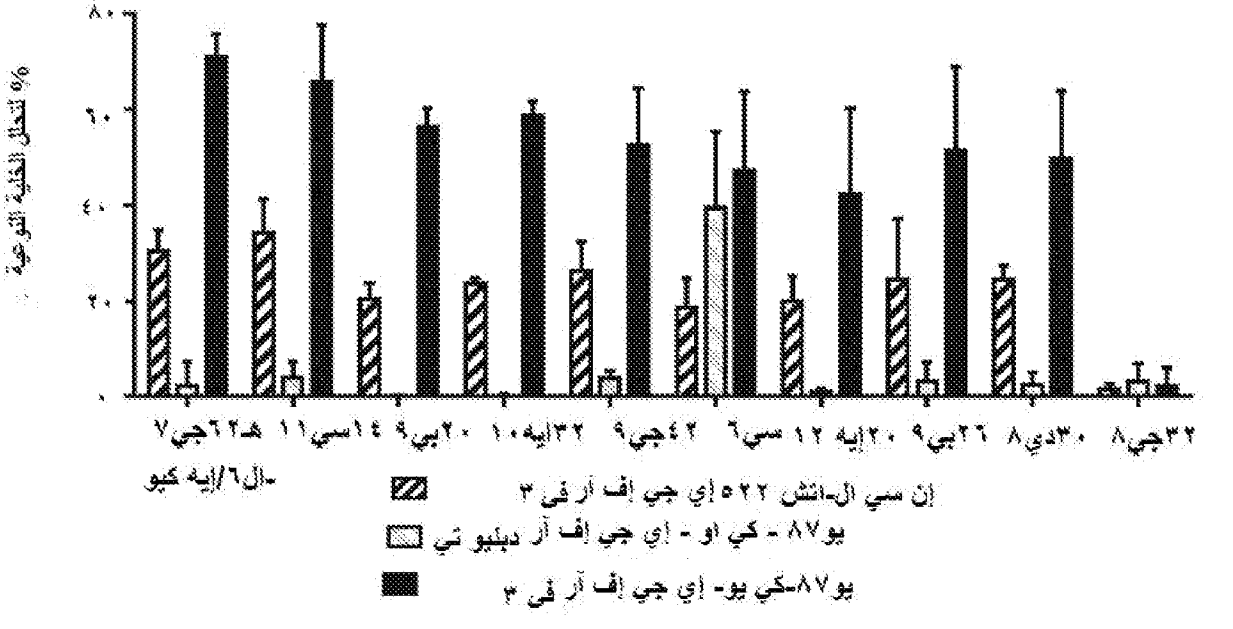
شكل ٢ ج



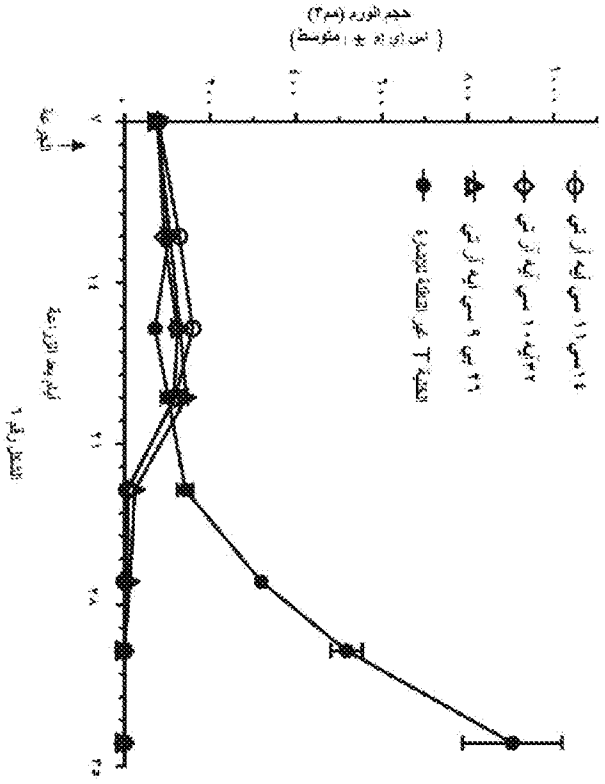
الشكل رقم ٣

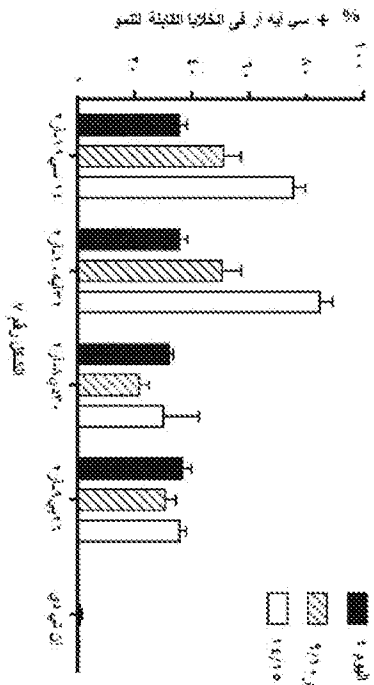


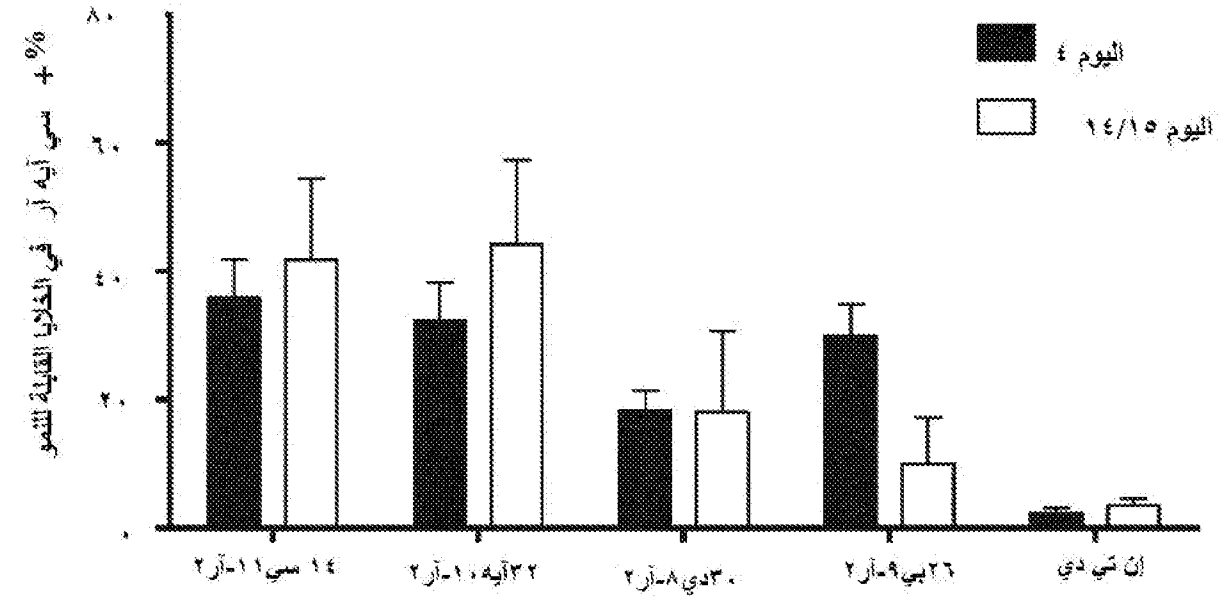
الشكل رقم ٤



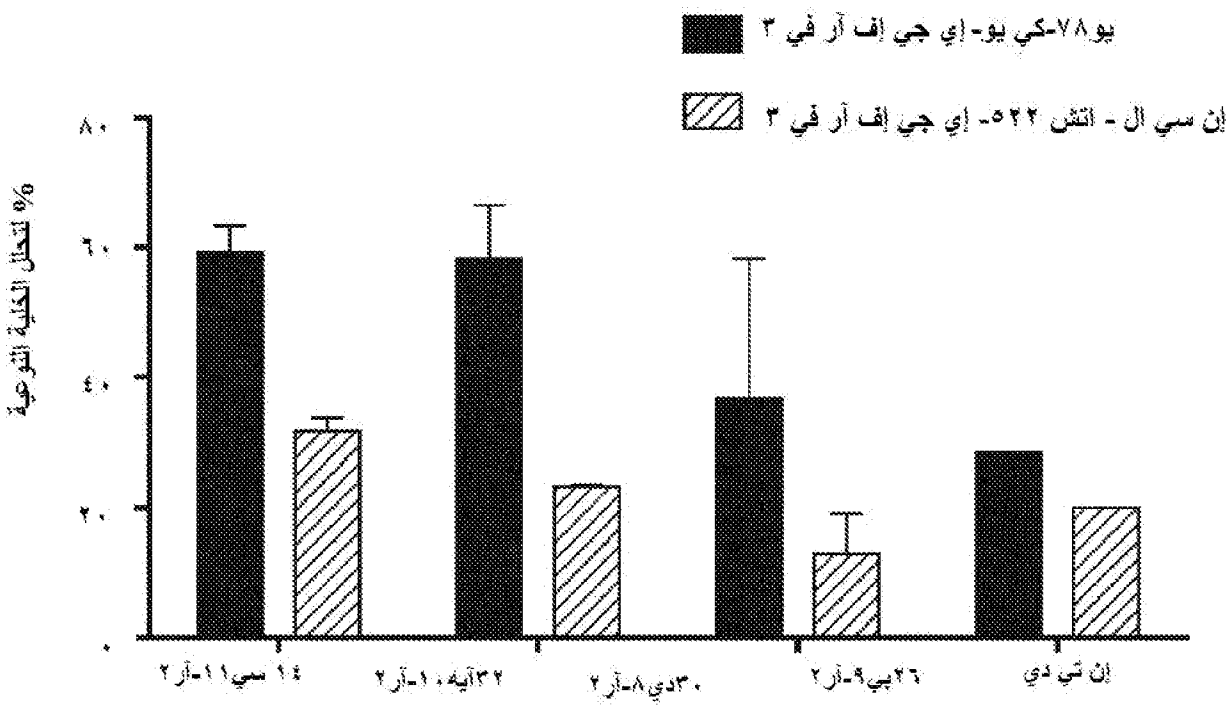
الشكل رقم ٥


حجم الورم (مم٣)
(متوسط ± الخطأ المعياري)
٤ ١ مجم/كجم أيه آر بي
٣٢ ٣ مجم/كجم أيه آر بي
٢٦ ٩ مجم/كجم أيه آر بي
الخلية T غير المعالجة بالمذيبة
التجارب
أيام بعد الزراعة
الشكل رقم ١


% ± متوسط أيه آر في الخلايا المأخوذة للتصو
اليوم ١
اليوم ٨/٩
اليوم ١٥/١٤
الشكل رقم ٢



الشكل رقم ٨



الشكل رقم ٩

مدة سريان هذه البراءة عشرون سنة من تاريخ إيداع الطلب

وذلك بشـرط تسـديد المقابل المالي السـنوي للبراءة وعدم بطلانها أو سـقوطها لمخالفتها لأي من أحكام نظام براءات الاختراع والتصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة والأصناف النباتية والنماذج الصناعية أو لائحته التنفيذية.

صادرة عن

الهيئة السعودية للملكية الفكرية

ص ب ٦٥٣١ ، الرياض ١٣٣٢١ ، المملكة العربية السعودية

SAIP@SAIP.GOV.SA