

Szklerózis multiplex kezelésére szolgáló készítmények és kezelések

IMMUNOLOGIC PHARMACEUTICAL CORPORATION, WALTHAM, MA, US

A bejelentés napja: 1995. 10. 25.

Elsőbbségei: 1994. 10. 25. (08/328,224), US
1995. 03. 15. (08/404,228). US

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US95/13682

A nemzetközi közzététel száma: WO 96/12737

A találmány tárgyát mielin autoantigénekből, azaz például MBP-ből, MOG-ből, PLP-ből és MAG-ből származó izolált peptidek és a peptidek kombinációi képezik, amelyek alkalmasak a szklerózis multiplex kezelésére, beleértve a profilaktikus és terápiás készítményeket, valamint a szklerózis multiplex megelőzésére vagy kezelésére szolgáló eljárásokat. A találmány szerint előnyben részesített készítmények legalább egy izolált, tisztított peptidet tartalmaznak, amely mentes minden egyéb polipeptidtől vagy szennyeződéstől, a peptid a T-sejt aktivitással rendelkező mielin autoantigén aminosav szekvenciájával rendelkezik. A találmány szerinti terápiás készítmény képes korlátozni a mielin autoantigénre adott autoantigén-specifikus

immunválaszt emberek olyan populációjában, akik szklerózis multiplexben szenvednek vagy arra érzékenyek, oly módon, hogy a betegség tüneteit csökkenti, eliminálja vagy visszafordítja és/vagy megakadályozza vagy lelassítja a betegség tüneteinek fellépését vagy előrehaladását. Emellett a jelen találmány szerinti készítmények és módszerek, ha a betegség előrehaladott állapotban alkalmazzuk őket, akkor visszafordítják az éppen folyó bénulást vagy a betegség egyéb tüneteit, ha a betegség akut fázisában adják be, vagy megakadályozzák a betegség visszatérését, ha remisszió során adják be.

Jellemezés a 1. táblázatban

Bevezetés

P97 01843

27 133

S.B.G. & K.
Nemzetközi
Szabadalmi Iroda
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-923

KÖZZÉTÉTELI
NYILVÁNY

63.828/SZE

A

Szklerózis multiplex kezelésére szolgáló készítmények és kezelések

IMMUNOLOGIC PHARMACEUTICAL CORPORATION, WALTHAM, MA, US

Feltalálók:

SMILEK Dawn, SARATOGA, California, US

SAMSON Michael, BALTIMORE, Maryland, US

GEFTER Malcolm, LINCOLN, Massachusetts, US

HSU Di-Hwei, PALO-ALTO, California, US

SHI Jia-Dong, MOUNTAIN VIEW, California, US

PALIARD Xavier, SAN FRANCISCO, California, US

DEVAUX Brigitte, REDWOOD CITY, California, US

ROTHBARD Jonathan, ATHERTON, California, US

FRANZÉN Henry, WATERTOWN, Massachusetts, US

A bejelentés napja: 1995. 10. 25.

Elsőbbségei: 1994. 10. 25. (08/328,224), US

1995. 03. 15. (08/404,228). US

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US95/13682

A nemzetközi közzététel száma: WO 96/12737

Az autoimmun betegségek súlyos humán egészségügyi problémát jelentenek, és viszonylag kevéssé értjük őket. Mivel jelenleg nem ismerünk közvetlenül felelős mikrobiális vagy virális okozót, ezért ezeknek a betegségeknek a megelőzésére, kezelésére és diagnosztizálására a betegség etiológiáján alapuló megközelítést kell használni. Ez mindig magában foglalja az endogén metabolikus intermedierek, szerkezeti komponensek, sejtek, etc. reakcióinak komplex sorozatát. Az autoimmun állapot természetében benne van azonban az is, hogy legalább egy autoantigénnek szerepet kell játszania azoknak az eseményeknek a létrehozásában, amelyek a tüneteket eredményezik. Az autoimmun demielinizáló betegségek, azaz például a szklerózis multiplex sem képez kivételt.

A szklerózis multiplex ismétlődő támadások formájában jelentkezik, ami a központi idegrendszerben levő léziókra utal. A támadások az évek során lejátszódnak, elmúlnak, majd újra lejátszódnak, látszólag véletlenszerűen. A fellángolások gyakorisága az első 3-4 évben a legnagyobb, de az első támadást, ami olyan enyhe lehet, hogy elkerüli az orvos figyelmét, alig lehet később felidézni, és 10-20 évig nem követheti újabb támadás. Az egy epizód utáni regenerálódási periódus nagysága erősen eltérhet két beteg között. A remisszió lehet teljes, főleg a korai támadások után. A remisszió azonban gyakran nem teljes, és ahogy a támadások követik egymást, foko-

zatos romlás áll be, fokozódó mértékű állandó károsodással. A szklerózis multiplex klinikai képét a demielinizációs pontoknak a központi idegrendszeren belüli lokalizációja határozza meg. A klasszikus jellemzők közé tartozik a romló látás, a nystagmus, a dysarthria, a csökkenő rezgés- és pozíció-érzékelés, az ataxia és a szándék-reszketés, egy vagy több végtag gyengesége vagy bénulása, spaszticitás és hólyagproblémák. A klinikailag meghatározott szklerózis multiplex diagnosztizálásának kritériuma legalább két neurológiai deficit előfordulásának megbízható ismerete, valamint lézió objektív klinikai megfigyelése a központi idegrendszernek egynél több pontján. A szklerózis multiplexnek jelenleg nem ismert hatékony kezelése. A jelenleg ismert terápiás erőfeszítések az akut epizód enyhítésére, valamint a betegség visszatérésének vagy továbbfejlődésének megelőzésére irányulnak [Harrison's Principles of Internal Medicine, 12. kiadás, 2. kötet, 308-2043, McGraw Hill (1991)].

A szklerózis multiplex általánosan használt állatmodellje a kísérleti allergiás enkefalomyelitisz (EAE), a központi idegrendszer demielinizációs betegsége, amit erre érzékeny egértörzsekben mielin bázikus fehérjével (MBP), proteolipid fehérjével (PLP), mielin oligodendrocita fehérjével (MOG), vagy ezeknek a mielinhez kapcsolódó fehérjéknek a szekvenciáján alapuló szintetikus fehérjékkel lehet indukálni. Az MBP egyike azoknak az autoantigéneknek, amelyekről feltételezik, hogy a szklerózis multiplexben szerepet játszanak, és mind emberi [Ota és mtsai: Nature 346, 183-187 (1990)], mind rágcsáló [Zamvil és mtsai: Nature 324, 258-260 (1986)] rendszerekben

meghatározták az epitop-térképen való elhelyezkedésüket. Azokat a peptideket, amelyekről azt gondolják, hogy az MBP (mielin bázikus fehérje) legalább egy T-sejt epitopját tartalmazzák, a szakirodalomban közzétették [WO 93/21222; EP 0 304 279, WO 91/15225; Ota és mtsai: Letters to Nature 346, 183-187 (1990); Wücherpfennig és mtsai: J. Exp. Med. 170, 279-290 (1994)]. Egyéb MBP T-sejt epitopot tartalmazó polimer peptideket is leírnak azokban a szabadalmi bejelentésekben, amely publikációkat a továbbiakban referenciaként kezelünk: az 1994. október 25-én benyújtott 08/328,224 számú Amerikai Egyesült Államok-beli bejelentés, és az 1994. május 10-én benyújtott 08/241,246 számú Amerikai Egyesült Államok-beli bejelentés. T-sejt aktivitással rendelkező MOG peptideket azonosítottak a 08/300,811 számú Amerikai Egyesült Államok-beli bejelentésben, amely publikációt a továbbiakban referenciaként kezelünk.

A proteolipid fehérjéről (PLP) és a mielinhez kapcsolódó glikoproteineiről (MAG) is azt gondolják, hogy a szklerózis multiplexben autoantigén szerepet játszhatnak. Szklerózis multiplexben a PLP-re adott autoimmun válasz patogenezisét leíró vizsgálatokat írtak le Trotter és munkatársai [Trotter és mtsai: J. Neuroimmunol. 33, 55-62 (1991)]; a PLP T-sejt epitopjait Pelfrey és munkatársai írták le [Pelfrey és mtsai: J. Neuroimmunol. 46, 33-42 (1993)]. A MAG-ot mint potenciális autoantigént leíró vizsgálatokat Johnson és munkatársai közzétették [Johnson és mtsai: J. Neuroimmunol. 13, 99-108 (1986)].

A kísérleti autoimmun enkefalítisz (EAE) egy CD4+ T-sejtek

által közvetített autoimmun betegség, amely néhány klinikai és hisztológiai tulajdonságában hasonlít a szklerózis multiplexre, és kísérleti modellként szolgál ehhez, valamint egyéb autoimmun betegségekhez. Az EAE a központi idegrendszernek egy gyulladásos megbetegedése, ami bénulást és egyéb neurológiai rendellenességeket okoz. Tipikusan tisztított mielin fehérjével és peptidekkel lehet indukálni. Mindazonáltal az EAE-t kiterjedten használják az autoimmunitás mechanizmusának vizsgálatára, valamint az autoimmun betegségek potenciális gyógyszereinek vizsgálatára.

Már 1965-ben megfigyelték, hogy az EAE nem-enkefalitogén formáját MBP beadásával lehet kezelni, feltehetőleg az immunológiai válaszképtelenség vagy tolerancia indukálásával [Alvord, C.E. és mtsai: NY Acad. Sci. 122, 333 (1965); Levine, S.E. és mtsai: Science 161, 1155 (1968); Bernard, C.C.A.: 1977 Clin. Exp. Immunol. 29, 100 (1977)]. Ezt a korai megfigyelést az elmúlt években kiterjesztették, és számos kutató kimutatta, hogy az MBP és az MBP peptidek születés előtti vagy felnőtt korban való beadása megakadályozza az EAE-t [Bernard, C.C.A.: 1977 Clin. Exp. Immunol. 29, 100 (1977); Clayton, J.P. és mtsai: J. Exp. Med. 169, 1681 (1989); Smilek, D.E. és mtsai: Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 88, 9633 (1991); Guar, A. és mtsai: Science 258, 1491 (1992); Metzler, B. és mtsai: Int. Immunol. 5, 1159 (1993); Miller, A. és mtsai: J. Neuroimmunol. 46, 73 (1993); Critchfield, J.M. és mtsai: Science 263, 1139 (1994); Miller, A. és mtsai: Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 82, 421 (1992)]. Ezekben

a vizsgálatokban számos különböző beadási módot javasolnak, azaz például szubkután, intraperitoneális, intranazális, intravénás és orális módot. Az immunológiai válaszképtelenség indukcióját intravénás peptidekkel felnőtt állatokban számos különböző antigén rendszerekkel igazolták. Számos, az alábbiakban ismertetett ok miatt vannak korlátai az autoantigének orális, enterális, vagy aeroszol úton való beadása klinikai alkalmazásának, ilyen például az, hogy a gyomorba való bejutás után nem lehet jellemezni egy terápiás készítmény aktív komponensét, mivel a gyomorban enzimes lebomlás játszódik le. Tehát ezekkel a módszerekkel nehezen lehet elérni megjósolható és reprodukálható hatásokat, nem is említve azt, hogy a gyógyszernek a testben való további változása miatt valószínűleg nem lehet megbecsülni a potenciális káros mellékhatásokat.

A legtöbb ilyen példában a betegség megelőzését vagy a tolerancia indukcióját a klonális anergia, [Guar, A. és mtsai: Science 258, 1491 (1992)], a periferiális deléció [Critchfield, J.M. és mtsai: Science 263, 1139 (1994)] vagy az antigén-specifikus tolerancia egyéb formái számlájára lehet írni. Azonban úgy tűnik, hogy a TGF- β által közvetített inaktív szuppresszió egy további mechanizmus, amivel az orálisan beadott MBP és az MBP peptidek gátolhatják az EAE-t [Miller, A. és mtsai: Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 82, 421 (1992)]. Az MBP peptideket valamint a helyettesített MBP peptid analógokat megvizsgálták, hogy alternatív gyógymódot jelentenek-e az EAE ellen PLJ, B10.PL és (PLJxSJL)F1 egerekben. Az MBP Ac-11 az immundomináns enkefalitogén peptid ezeknél a

törzseknél, és a megkötött $A\alpha^uA\beta^u$ ismeri fel [Wraith, D.C. és munkatársai]. Az MBP Ac-11-et alaposan tanulmányozták helyettesítési elemzéssel, és meghatározták a T-sejt felismerési és fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) kötődési igényeket. A 3-as és 6-os csoport oldalláncai főleg a T-sejt felismeréshez járulnak hozzá, míg a 4-es és 5-ös csoport főleg az MHC kötődéshez járul hozzá. Az MBP Ac-11 $A\alpha^uA\beta^u$ -hoz való kötődését jelentősen javítani lehet a 4-es csoportban végzett számos különböző aminosav helyettesítéssel, beleértve az alanin (Ac-11[4A]) és tirozin (Ac-11[4Y]) helyettesítést [Wraith, D.C. és munkatársai; Fairchild, P.J. és mtsai: Int. Immunol. 5, 1151 (1993)]. Ezek a 4-es csoportban, főleg tirozinnal végzett helyettesítések láthatóan fokozzák az ezekkel a peptidekkel képezett peptid-MHC komplexek stabilitását. Az Ac1-11[4A] és Ac1-11[4Y] megtartja az antigenicitáshoz szükséges T-sejt receptor (TCR) kontakt csoportokat, és hatékonyabb mint az MBP Ac1-11 az MBP-specifikus T-sejtek *in vitro* serkentésében. Az Ac1-11[4Y] *in vivo* is enkefalitogén (az Ac1-11[4A] gyengén enkefalitogén, ismeretlen okból). Mind az Ac1-11[4A]-ról mind az Ac1-11[4Y]-ről kimutatták, hogy megakadályozzák az EAE-t, és azt gondolják róluk, hogy antigén-specifikus mechanizmus révén működnek [Smilek, D.E. és mtsai: Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 88, 9633 (1991); Wraith, D.C. és munkatársai].

Az előző vizsgálatokban kiderült, hogy ha az MBP peptideket vagy peptid analógokat nem-komplett adjuvánsban adják be közvetlenül a betegség megjelenése előtt, akkor ez azután

megakadályozta az EAE kifejlődését [Smilek, D.E. és mtsai: Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 88, 9633 (1991); Guar, A. és mtsai: Science 258, 1491 (1992)]. Egy másik vizsgálatban, amelyben egy MBP-specifikus TCR transzgenikus egérből származó limfocitákat használtak, az adoptíven átvitt EAE-t megakadályozta az MBP-nek a klinikai tünetek megjelenése előtt végzett korai és agresszív beadása [Critchfield, J.M. és mtsai: Science 263, 1139 (1994)]. Ezek a vizsgálatok azt mutatják, hogy lehetséges lehet az EAE megakadályozása, ha az MBP peptideket azután injekciózzuk be, miután az enkefalitogén T-sejteket aktiváltuk, de nem adnak választ arra a kérdésre, hogy vajon az éppen lejátszódó bénulás (és feltehetőleg az aktív központi idegrendszeri gyulladás) visszafordítható-e, vagy a remissziót követő visszaesés megakadályozható-e ezzel a megközelítési móddal. Emellett néhány mások által végzett kísérletben rendkívül nagy MBP vagy MBP peptid dózis gyakori beadására volt szükség a hatékony kezeléshez. A jelen találmány szerzői írták le elsőként egy előző bejelentésükben [az 1994. október 25-én benyújtott USSN 08/328,224 számú szabadalmi bejelentésben] a bénulás visszafordítását, valamint a remissziót követő visszaesés megakadályozását. A jelen találmány szerzőinek korábbi bejelentése óta mások, a szakterületen dolgozó szakemberek is meglepődve tapasztalták, hogy bizonyos MBP eredetű peptid analógok vissza tudják fordítani az EAE-ben éppen lejátszódó bénulást [Karin és mtsai: J. Exp. Med. 180, 2227-2237 (1994 december)].

A jelen találmány leküzdi az előzőekben ismerttetett

akadályokat, és új peptideket, készítményeket valamint módszereket szolgáltat a szklerózis multiplex kezeléséhez, olyan készítmények alkalmazásával, amelyek legalább egy olyan peptidet tartalmaznak, amelynek aminosav szekvenciája az MBP T-sejt aktivitásával rendelkezik. Emellett a jelen találmány megcélozza azt az eddig még megoldatlan problémát is, hogy ahhoz, hogy általánosan alkalmazható legyen a szklerózis multiplex peptidekkel vagy peptid analógokkal való kezelése, ahhoz az kell, hogy ezek a peptidek vagy peptid analógok akkor is hatékonyak kell hogy legyenek, ha a betegség egy késői vagy kifejezett állapotában alkalmazzuk, vagy a remissziók során vagy a visszaesések során, miközben a nem-kívánt immunválasz még folyik.

Ennek megfelelően a jelen találmány tárgya olyan peptidek és peptid-kombinációk előállítása, amelyek alkalmasak a szklerózis multiplex kezelésére, beleértve a betegség fellépésének pillanatát is. A találmány tárgya továbbá az MS hatékony kezelése céljából azonosított fehérjék, peptidek és peptid analógok profilaktikusan és terápiásan hatékony dózistartományainak és beadási módjainak meghatározása. A találmány tárgya továbbá olyan kezelés azonosítása, amely sikeresen kezeli az MS késői fázisát, megakadályozza a visszaeséseket, leállítja a betegséget és/vagy visszafordítja az MS progresszióját.

A jelen találmány tárgya mielin autoantigénekből, azaz például MBP-ből, MOG-ből, PLP-ből és MAG-ból származó izolált peptidek és peptid-kombinációk képezik, amelyek alkalmasak a szklerózis multiplex kezelésére, beleértve a megelőző és

gyógyító készítményeket, valamint a szklerózis multiplex kezelésére szolgáló módszereket. A találmány szerinti előnyben részesített készítmények legalább egy izolált, tisztított peptidet tartalmaznak, amely mentes minden egyéb peptidtől vagy szennyezőtől, és a peptid a T-sejt aktivitással rendelkező mielin autoantigén aminosav szekvenciáját tartalmazza. A találmány szerinti gyógyászati készítmény képes visszaszorítani a mielin autoantigénre adott autoantigén-specifikus immunválaszt egy olyan humán populációban, amely szklerózis multiplexben szenved vagy arra érzékeny, azaz a betegség tünetei csökkennek, eliminálódnak vagy visszafordulnak, és/vagy a betegség tüneteinek fellépését vagy előrehaladását le lehet lassítani vagy meg lehet akadályozni. Emellett a jelen találmány szerinti készítményeknek és módszereknek a betegség előrehaladott állapotban való adagolása visszafordítja az éppen lejátszódó bénulást vagy a betegség egyéb tüneteit, ha a betegség akut fázisában adjuk be, illetve megakadályozza a visszaesést, ha a remisszió során adjuk be.

Az alábbiakban röviden ismertetjük a mellékelt ábrákat.

Az 1. ábrán a humán MBP teljes aminosav szekvenciája látható, az aminosavak számozásával együtt.

A 2. ábrán a MBP-ből származó, előnyben részesített peptidek láthatók.

A 3. ábrán az 1. példában használt átlapoló peptidek valamint hosszabb peptidek láthatók.

A 4a. ábrán az össz-MBP válasznak a 3. ábrán látható peptidekre vonatkozó százaléka látható. Az MBP reaktivitását az

egyik MBP peptidekre pozitívnak bizonyult betegek egyes csoportjában MBP-pozitív mikrotiter tenyészetek százaléka alapján számítjuk. Az össz-MBP pozitív mikrotiter tenyészetek száma 89-184 között volt az egyes peptidre vizsgált 19-43 beteg egyes csoportjában.

A 4b. ábra az MBP-re reagálók százalékanak grafikus bemutatása, amelyek felismerik a 3. ábrán bemutatott összes peptidet. A betegeket MBP-re reagálóknak tekintettük, ha a mikrotiter tenyészeteik közül legalább egy pozitívnak bizonyult MBP reaktivitás alapján. Az összes peptidre levizsgált 19-43 beteg mindegyik csoportjában 12-31 MBP-re reagáló beteg volt. A peptid reaktivitását az egyes csoportokban levő MBP-re reagáló betegek százaléka alapján számítottuk, amely betegeknek legalább egyik mikrotiter tenyészete pozitívnak bizonyult az egyik MBP peptidre.

Az 5a. ábra az átlagos klinikai értékek grafikonja 0-40 nappal azután, hogy az egerekben csak MBP Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) intravénásan injekciózva indukáltuk a betegséget, egy kontrollal összehasonlítva.

Az 5b. ábra az átlagos klinikai értékek grafikonja 0-40 nappal azután, hogy az egerekben MBP 31-47-tel kombinálva MBP Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) intravénásan injekciózva indukáltuk a betegséget, egy kontrollal összehasonlítva.

Az 5c. az átlagos klinikai értékek grafikonja 0-40 nappal azután, hogy az egerekben OVA 323-339-cel (69. számú szekvencia) intravénásan injekciózva indukáltuk a betegséget, egy kontrollal összehasonlítva.

A 6a. ábra az átlagos klinikai értékek grafikonja 0 és legalább 30 nappal azután, hogy az alanyokban vagy 250 nmol Ac1-11[4Y] (67. számú szekvencia) vagy Ac1-11 (65. számú szekvencia) injekcióval indukáltuk a betegséget, kontrollal összehasonlítva.

A 6b. ábra az átlagos klinikai értékek grafikonja 0 és legalább 30 nappal azután, hogy az alanyokban 250 nmol Ac1-11[4Y] (67. számú szekvencia) injekcióval indukáltuk a betegséget, kontrollal összehasonlítva.

A 6c. ábra az átlagos klinikai értékek grafikonja 0 és legalább 30 nappal azután, hogy az alanyokban 2,5 nmol Ac1-11 (65. számú szekvencia) injekcióval indukáltuk a betegséget, kontrollal összehasonlítva.

A 7. ábra egy oszlopdiagramm, a peptiddel kezelt egerek átlagos hisztológiai értékeit mutatja a kontrollal kezelt egerekkel összehasonlítva, ahol az alacsonyabb érték a gyulladásos CNS beszűrődések kisebb számát és súlyosságát jelenti.

A 8. ábra egy oszlopdiagramm, amely a lépsejtek kapacitását mutatja, amik *in vivo* impulzust kaptak a jelzett időtartamig (1-10 óra) 250 nmol Ac1-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia), hogy *in vitro* aktiváljunk egy hibridóma sejt vonalat (1934-es hibridóma), amely egy MPB-specifikus T-sejt klónból származik.

A 9. ábra egy diagramm, amely az egerek 250 nmol Ac1-11[4Y]-nal (65. számú szekvencia) való kezelését hasonlítja össze a kontrollal, PBS-sel és OVA 323-337-tel (70. számú szekvencia) való kezeléssel.

A 10. ábra egy grafikon, ami azoknak a kezeléseknek az összehasonlítását mutatja, amiket a remisszió során 25 nmol Ac1-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) végeztünk, a kontrollal összehasonlítva.

A 11a. ábra egy grafikon, ami a 250 nmol MBP Ac1-11-gyel (65. számú szekvencia) intravénásan előkezelt egerek nyirokmirigy szaporodásának összehasonlítását mutatja, kontrollokkal összehasonlítva.

A 11b. ábra egy oszlopdiagramm, ami a relatív nyirokmirigy interleukin-2 termelést mutatja MBP Ac1-11-re (67. számú szekvencia) adott válaszként, olyan egerekben, amelyeket Ac1-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) előkezelték, kontrollal összehasonlítva.

A 12a. ábra egy olyan kísérletnek a grafikus ismertetése, amely az interferon- β hatásait mutatja az EAE-re két csoportba osztott 10 (SJL x TLP) F₁ nőstény egerekben, amelyekben az EAE-t komplett adjuváns plusz számárcöhögés toxin keverékben beadott tengerimalac MBP-vel indukáltuk a 0. napon és vagy csak nem-komplett Freund féle adjuvánst (kontroll) kaptak, vagy 2000 egység interferon- β -val kezeltük intraperitoneálisan a 9., 12., 16. és 20. napon (nyilak jelzik az x tengelyen), az Y tengely az átlagos klinikai értéket (MCS) mutatja az egyes csoportoknál. 0=nincs klinikai jele az EAE-nek, 1=béna, nem reagáló farok, 2=részleges hátsó végtag bénulás, 3=komplett hátsó végtag bénulás, 4=részleges vagy teljes első végtag bénulás, 5=haldoklás.

A 12b. ábra egy olyan kísérletnek a grafikus ismertetése,

amely az Acl-11 MBP peptid (65. számú szekvencia) hatásait mutatja két csoportba osztott 10 (SJL x TLP) F_1 nőstény egerekben, amelyekben az EAE-t komplett adjuváns plusz szamárköhögés toxin keverékben beadott tengerimalac MBP-vel indukáltuk a 0. napon, és vagy csak PBS-t kaptak (kontroll), vagy 250 nmol Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) kezeltük intravénásan a 10., 13., 17. és 21. napon (nyilakkal jelezzük az X tengelyen), az Y tengelyen az átlagos klinikai érték látható az egyes csoportokra, az 1a. ábránál ismertetett módon.

A 12c. ábra egy olyan kísérletnek a grafikus ismertetése, amelyben interferon- β -val kombináltan beadott Acl-11 MBP peptid (65. számú szekvencia) hatásait mutatja két csoportba osztott 10 (SJL x TLP) F_1 nőstény egerekben, amelyekben az EAE-t komplett adjuváns plusz szamárköhögés toxin keverékben beadott tengerimalac MBP-vel indukáltuk a 0. napon, és vagy csak PBS-t kaptak (kontroll), vagy 250 nmol Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) kezeltük intravénásan a 10., 13., 17. és 21. napon (üres nyilakkal jelezzük az X tengelyen), és 2000 egység IFN- β -val kezeljük interperitoneálisan a 9., 12., 16. és 20. napon (fekete nyilak jelzik az X-tengelyen), az Y tengelyen az átlagos klinikai érték látható az egyes csoportokra, az 1a. ábránál ismertetett módon.

A 13. ábra egy olyan kísérletnek a grafikus ismertetése, amelyben különböző dózisú interferon- β (10000 és 2000 egység) hatásait mutatja indukált EAE-re, két csoportba osztott 10 (SJL x TLP) F_1 nőstény egerekben, amelyekben az EAE-t komplett adjuváns plusz szamárköhögés toxin keverékben beadott tengerimalac

MBP-vel indukáltuk a 0. napon, és vagy csak PBS-t kaptak (kontroll), vagy 10000 egység illetve 2000 egység interferon- β -val kezeltük őket interperitoneálisan a 9., 13. és 16. napon (fekete nyilak jelzik az X-tengelyen), az Y tengelyen az átlagos klinikai érték látható az egyes csoportokra, az 1a. ábránál ismertetett módon.

A 14. ábrán MBP-ből származó különböző peptidek láthatók, amelyek jól használhatók lehetnek a találmány szerinti készítményekben és módszerekben.

A 15. ábrán a pozitivitási index grafikus bemutatása látható (Y-tengely) (az átlagos S.I./MBP reagáló beteg), szorozva az egyes peptidekre reagáló egyedek százalékaival (X-tengely), amely ugyanazokból a kísérleti adatokból származik, mint amiket a 4a. és 4b. ábrákon mutattunk be és az 1. példában ismertetünk.

A 16. ábra az átlagos klinikai értéknek az Ac1-11[4Y] (67. számú szekvencia) felhasználásával iniciált terápiához viszonyított grafikus bemutatása az egyes betegekben (1. nap = a klinikai tünetek megjelenése az egyes egereknél). Az egereket a betegség 1., 3., 6. és 9. napján kezeljük PBS-sel (fekete négyzetek), 250 nmol Ac1-11[4Y] -nal (67. számú szekvencia) intravénán (üres háromszögek), vagy 250 nmol Ac1-11[4Y] -nal szubkután (67. számú szekvencia) (üres körök). Ezek az adatok azt mutatják, hogy az Ac1-11[4Y] (67. számú szekvencia) visszafordítja az EAE-t, ha a bénulás fellépése után adjuk be.

A 17. ábra az átlagos klinikai értékszámot mutatja be, ha Ac1-11[4Y] -t adunk be, mielőtt megjelennek a tünetek. Az

adatokat a gpSpinal Cord Homogenate (gpSCH) által indukált betegséghez viszonyítva ábrázoljuk, a 0. napon, valamint a kezelés napjain. A túlélő egerek csoportjait a 8., 10., 13. és 17. napon intravénásan kezeljük 25 nmol Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) (üres háromszögek), szubkután kezeljük 25 nmol Acl-11[4Y]-nak (67. számú szekvencia) (fekete körök), illetve vannak egerek, amelyek nem kapnak kezelést (üres négyzetek). Ezek az adatok azt mutatják, hogy az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) megelőzi az EAE fellépését.

A 18. ábra az átlagos klinikai értékszámnak a kezelés iniciációjához viszonyított grafikus ábrázolása, Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) alkalmazása esetén intravénásan üres háromszögek), vagy szubkután beadva (fekete háromszögek). Az üres négyzetek kontrollt jelentenek.

A 19. ábra az átlagos klinikai értékszámnak az indukált betegség napjához viszonyított grafikus ábrázolása, 75 µg gpMBP (fekete körök), 100 µg huMOG (üres háromszögek), valamint 75 µg gp MBP és 100 µg huMOG kombinációja (fekete négyzetek) alkalmazásával. Amint az látható, a MOG-gal és MBP-vel indukált betegség sokkal súlyosabb mint az a betegség, amit csak az egyikkel indukáltunk.

A 20. ábra az átlagos klinikai értékszámnak az indukált betegség napjához viszonyított grafikus ábrázolása, Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) alkalmazásával (üres négyzetek), PBS kontrollhoz (fekete négyzetek) viszonyítva. Ezt a betegséget a 10. példában leírtak alapján indukáljuk, huMOG+gpMBP alkalmazásával. Ezek az adatok azt mutatják, hogy az Acl-11[4Y] (67.

számú szekvencia) a kontrollhoz viszonyítva jelentősen csökkenti az átlagos klinikai értékszámot.

Azok a szabadalmak és tudományos publikációk, amelyekre a leírásban hivatkozunk, a szakterületen jártas szakember számára elérhető tudást képviselnek. A idézett megadott Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentéseket, PCT publikációkat és egyéb publikációkat a továbbiakban referenciaként kezeljük.

A jelen találmány tárgyát mielin autoantigénekből származó izolált peptidek és azok kombinációi képezik, amelyek jól használhatók szklerózis multiplex kezelésében, valamint a találmány tárgyát képezik a szklerózis multiplex kezelésére használható készítmények és kezelési eljárások. A továbbiakban a "szklerózis multiplex kezelése" szakkifejezés jelentése a következő: szklerózis multiplexre érzékeny emlősök megelőző kezelése; a szklerózis multiplex kezdetekor végzett kezelés; és minden "előrehaladott állapotú" szklerózis multiplex kezelése, beleértve a csökkenő-visszatérő szklerózis multiplexet, krónikus progresszív szklerózis multiplexet, primer progresszív szklerózis multiplexet és a rosszindulatú szklerózis multiplexet. A találmány szerinti gyógyászati készítmények tartalmaznak legalább egy tisztított peptidet, amely lényegében mentes minden egyéb fehérjétől és szennyezőktől, és egy T-sejtet serkentő aktivitással rendelkező mielin antigén meghatározott aminosav sorrendjét tartalmazza, amely peptid szintén lehet egy izolált peptid. A továbbiakban az "izolált" szakkifejezés jelentése egy olyan peptid, amely mentes minden egyéb polipeptidtől, szennyezőtől, kiindulási reagenstől vagy egyéb

anyagoktól, és amely semmi más molekulához nincs konjugálva.

A jelen találmány szerint a "peptid" szakkifejezés aminosavak meghatározott szekvenciáját jelenti, amely kisebb, mint a természetes fehérje-antigén aminosav szekvenciája. A találmány szerinti peptid előnyösen legalább körülbelül hét aminosavat tartalmaz, illetve előnyösen legalább körülbelül 12-40 aminosavat, de még előnyösebb, ha 13-30 aminosavat tartalmaz, és amely, ha egy fehérje antigénből származik, akkor kevesebb aminosavat tartalmaz mint a fehérje antigén, előnyösen nem többet mint a teljes fehérje antigén aminosav csoportjainak körülbelül 75%-át. A jelen találmány szerinti peptidek T-sejt aktivitással rendelkeznek. Egy "T-sejt aktivitással" rendelkező peptid egy vagy több alábbi jellemzőkkel rendelkezhet: a) képes T-sejt választ kiváltani, azaz serkenteni (azaz például a szaporodást vagy limfokin szekréciót); b) képes a megfelelő T-sel szubpopulációkban T-sejt válaszképtelenséget vagy csökkentett T-sejt válaszképességet okozni, úgy, hogy nem vesznek részt immunválasz serkentésében a támadó autoantigénnel szemben (azaz például anergia, tolerancia vagy apoaptózis révén); c) képes módosítani a limfokin szekréciós profilt, a természetes autoantigénnel való érintkezéssel összehasonlítva; d) képes T-szuppresszor sejteket indukálni; és e) képes az autoimmun betegség tüneteinek a korlátozására, bármilyen mechanizmussal; vagy f) egy tétlen antigénből származik, és azzal a képességgel rendelkezik, hogy szuppresszor T-sejteket vált ki a mielin autoimmun támadás helyén, aminek viszont az a következménye, hogy az immunválaszt a mielin autoimmun támadás helyére korlátozza.

A legalább egy T-sejt epitopot tartalmazó peptidek T-sejt aktivitással rendelkeznek, és képesek T-sejt válasz kiváltására, azaz a T-sejt serkentésére (azaz például T-sejt szaporodásra vagy limfokin szekrécióra) és/vagy képesek korlátozni az autoantigén-specifikus T-sejt választ, ami autoantigén-specifikus T-sejt válaszképtelenséget eredményez, vagy az autoantigén-specifikus T-sejt válaszképesség csökkent szintjét eredményezi. Egy T-sejt epitop az alapeleme vagy a legkisebb egysége a T-sejt receptor alapú felismerésnek, aholis az epitop a receptor-felismeréshez nélkülözhetetlen aminosavakat tartalmaz. A T-sejt receptorokról az a vélemény alakult ki, hogy szerepet játszanak egy antigénre vagy autoantigénre adott immunválasz iniciálásában és fenntartásában. Ezekről a T-sejt epitopokról azt gondolják, hogy korai immunválasz eseményeket váltanak ki a T-helper sejtek szintjén, egy megfelelő HLA molekulához kötődve az antigént bemutató sejt felszínén, és a megfelelő T-sejt szubpopulációt serkentve. Ezek az események a T-sejtek szaporodásához, a limfokinek szekréciójához, helyi gyulladásos reakciókhoz, további immunsejteknek az adott helyre való gyülekezéséhez, valamint az ellenanyagok termelését okozó B-sejt kaszkádhoz vezetnek. Az autoimmun betegség esetében a keletkező ellenanyagok autoantigének, azaz például MBP elleni auto-ellenanyagok, amik egy autoimmun betegség klinikai tüneteit eredményezik.

A meghatározott aminosav-összetétellel rendelkező peptidekben, amelyek T-sejt epitopokat tartalmaznak, kimutathatunk bármilyen mielin autoantigént, beleértve a MBP-t is. Az egyik

eljárás szerint a fehérje antigént kívánt hosszúságú, nem-átfedő vagy átfedő peptidekre osztjuk, majd megszintetizáljuk, tisztítjuk és vizsgáljuk ezeket a peptideket, hogy meghatározzuk, vajon a peptidek tartalmaznak-e legalább egy MBP epitopot, tetszés szerinti számú vizsgálat alapján (azaz például T-sejt szaporodási vizsgálatok, limfokin szekréción vizsgálatok és T-sejt válaszképtelenség vizsgálatok). Egy másik módszer szerint egy algoritmust használunk azoknak a peptideknek a megjóslására, amelyekről valószínű hogy T-sejt epitopokat tartalmaznak, majd megszintetizáljuk, tisztítjuk és vizsgáljuk az algoritmus által megjósolt peptideket T-sejt vizsgálatokban vagy in vivo vizsgálatokban, hogy meghatározzuk, hogy ezek a megjósolt peptidek okozzák-e a T-sejtek szaporodását, vagy a limfokin szekréción, vagy a T-sejtek válaszképtelenségét, és ennek következtében valószínű, hogy T-sejt epitopokat tartalmaznak. Amint azt számos, az előzőkben idézett dokumentumban tárgyalják, a humán T-sejt aktivitás vizsgálható olyan T-sejteknek, amelyeket egy autoantigénre, azaz például MBP-re érzékeny egyedből izoláltunk, az antigénből származó peptiddel együtt való tenyésztésével, azt meghatározva, hogy a T-sejtek szaporodnak-e a peptidre adott válaszként, amit például a sejtek triciált timidin felvételével lehet mérni. A T-sejteknek a peptidekre adott serkentését úgy számíthatjuk, hogy a peptidre adott maximális beütésszám per perc (CPM) értéket elosztjuk a kontroll CPM értékkel. Egy, a háttérszinthez viszonyítva kétszer vagy előnyösen háromszor nagyobb T-sejt serkentési indexet (S.I.) tekintünk "pozi-

tívnak". A pozitív eredményeket használjuk a peptidek potenciális terápiás hatékonyságának elemzésére, amit a későbbiekben az 1. példában tárgyalunk. A jelen találmány szerinti előnyös peptidek legalább egy T-sejt epitopot, előnyösen legalább kettő vagy több T-sejt epitopot tartalmaznak.

A T-sejtet serkentő aktivitással rendelkező peptidek megjósolására használt egyik algoritmust Rothbard közölte [Rothbard: 1st Forum in Virology, Annals of the Pasteur Institute, 518-526 (1986. december); Rothbard és Taylor: EMBO 7, 93-100 (1988); EP 0 304 279]. Ezekben a publikációkban leírják egy általános módszer (algoritmus) meghatározását, egy peptidnek az MHC II osztályhoz való kötődésének meghatározására, statisztikai szignifikanciáját és a mintázatnak az ismert T-sejt epitopokkal való korrelációját, valamint sikeres alkalmazását különböző fehérje antigének és autoantigének korábban nem ismert T-sejt epitopjainak megjósolására. Egy olyan peptidnek az általános mintázata, amelynél ismert, hogy jól kötődik az MHC II osztályhoz, amint azt az előzőekben említett publikációkban közlik, tartalmaz egy lineáris mintázatot, ami egy töltött aminosavból vagy glicinből áll, amit két hidrofób csoport követ. Annak meghatározása után, hogy egy peptid megfelel-e az általános mintázatnak, vizsgálható a peptid T-sejtekkel való reakcióképessége. Korábban nem meghatározott fehérjék T-sejt epitopjainak megjósolására használt egyéb algoritmusok közé tartozik egy Margalit és munkatársai által ismertetett algoritmus [Margalit és mtsai: J. of Immunol. 138, 2213-2229 (1987)], ami az amfipatikus hélix modellen

alapul.

Emellett a "kriptikus T-sejt epitopokat" tartalmazó peptidek meghatározhatók, és szintén jól használhatók a találmány szerinti készítményekben és eljárásokban. A kriptikus T-sejt epitopok azok a determinánsok egy fehérje antigénben, amelyek a processzálas és a természetes fehérje antigénnek a megfelelő MHC molekulának való bemutatása következtében normális körülmények között nem láthatók az immunrendszer számára. Azonban egy kriptikus T-sejt epitopot tartalmazó peptid képes a T-sejteket nem-válaszolókká tenni, és ha egy élőlényt egy ilyen peptiddel kezelünk, akkor az élőlényből kapott T-sejtek *in vitro* fognak szaporodni, annak a peptidnek vagy fehérje antigénnek a hatására, amelyből a peptid származik. Azokat a peptideket nevezzük "kriptikus peptideknek", amelyek legalább egy, egy fehérje antigénből származó T-sejt epitopot tartalmaznak. Ahhoz, hogy igazoljuk a kriptikus T-sejt epitopok jelenlétét, egy, a szakterületen jártas szakember számára ismert T-sejt szaporodási vizsgálat használható, amelyben antigénnel kezelt T-sejteket tenyésztünk *in vitro* külön-külön az egyes peptidek jelenlétében, hogy meghatározzuk a peptiddel reagálni képes T-sejt vonalakat. Akkor gondoljuk, hogy egy peptid legalább egy T-sejt epitopot tartalmaz, ha létrehozható egy T-sejt vonal az adott peptiddel, és a T-sejtek képesek szaporodni a peptiddel, és azzal a fehérje antigénnel való ingerlés hatására, amelyből a peptid származik.

Emellett nem szükséges, hogy egy, a találmány szerint használt peptid mielin autoantigén, azaz például az MBP amino-

sav szekvenciájából származzon. Bármelyik olyan peptid használható a találmány szerinti eljárásokkal, amely meghatározott aminosav szekvenciával rendelkezik, és amely képes korlátozni egy antigén-specifikus immunválaszt a mielin autoantigén ellen. Például meghatározott aminosav szekvenciájú peptidek szintetizálhatók, amiknek az aminosav szekvenciája nem a mielin antigén aminosav szekvenciáján alapul, és mégis képes egy antigén-specifikus immunválasz korlátozására, azaz a peptid a mielin autoantigénnek egy T-sejt epitopját utánozza, és ezzel a mielin autoantigénnel szembeni immunválasz korlátozását okozza, illetve az immunválaszt más ok miatt korlátozza, mivel egy tétlen antigénből származik. Anélkül, hogy bármilyen elmülethez ragaszkodnánk, az a véleményünk, hogy a tétlen antigének, amelyek szintén szövet-specifikusak (de nem célpontjai az immun- vagy autoimmun támadásnak), rendelkezhetnek azzal a tulajdonsággal, hogy szuppresszor T-sejtek képződését váltják ki az immuntámadás helyén, ami viszont azt eredményezi, hogy az immunválaszokat az immunválasz körzetében korlátozza (azaz az érintett "saját" szövetekre az autoimmun betegségek esetében, vagy allergia esetében az orrnyálkahártyára, bőrre és tüdőre). A tétlen antigének közé tartoznak, anélkül, hogy ezekre korlátoznánk magunkat, az antigénnek vagy az autoantigénnek azok a részei, amik önmaguk nem célpontjai az immuntámadásnak, és amelyek szuppresszív aktivitással rendelkeznek az immuntámadás helyén. A továbbiakban a "mielin antigén" vagy "mielin autoantigén" szakkifejezés olyan tétlen antigéneket jelent, amelyek

nem rendelkeznek szuppresszív aktivitással a mielin autoimmun támadás helyén.

Emellett bármely olyan vegyület, amely képes egy mielin autoantigén elleni antigén-specifikus immunválasz korlátozására képes peptidet utánozni (azaz peptidomimetikum), használható a jelen találmányban. Egy ilyen vegyület nem áll teljes egészében peptidkötésekkel összekapcsolt alegységekből, hanem egyéb kötések kapcsolják össze (azaz tiolészter kötések, redukált kötésanalógok, amidkötés izoszterázok), azzal a feltétellel, hogy a nem-peptid vegyület utánoz egy olyan peptidet, amely képes egy számunkra lényeges antigén elleni antigén-specifikus immunválasz korlátozására, amit a tünetek hatékony terápiás/profilaktikus kezelése mutat. A peptidomimetikumok alapulhatnak bármelyik, a jelen találmány szerinti peptiden, de tartalmazhatnak például kötésanalógokat (azaz N-metilamid kötések: $\text{NH-C}_{\alpha 2}[-\text{CO-NCH}_3-]\text{C}_{\alpha 1}$) és redukált kötésanalógokat ($\text{NH-C}_{\alpha 2}[-\text{CO-NH-}]\text{C}_{\alpha 1}$) egy vagy több normál peptidkötés helyett.

Ha a T-sejt epitopot tartalmazó peptideket azonosítottuk, akkor az is lehetséges, hogy a jelen találmány szerint módosítsuk ezeknek a peptideknek a struktúráját, azzal a céllal például hogy növeljük az oldhatóságukat (különösen kívánatos, ha a készítményt injekciózni kell), fokozzuk a terápiás vagy megelőző hatékonyságukat (lásd például az alábbiakban a fokozott MHC kötődéssel rendelkező peptidek tárgyalását), vagy a stabilitásukat (azaz például az *ex vivo* tárolási időt és az *in vivo* proteolitikus lebomlás elleni rezisztenciát), vagy egyszerűsítsük a peptidszintézist. Előállítható egy módosított

peptid vagy peptidanalóg, amelyben az aminosav szekvenciát a természetes fehérjeszekvenciához (amelyből származik) képest változtatjuk meg, vagy a módosítatlan peptidhez képest változtatjuk meg, amelyből a módosított peptid származik, azaz például aminosav helyettesítéssel, delécióval vagy addícióval, azzal a céllal, hogy módosítsuk az immunogenitást, fokozzuk a peptid oldhatóságát, vagy fokozzuk a peptidszintézis egyszerűségét (azaz az automatizált peptidszintézist).

Egy peptid például úgy módosítható, hogy legalább megtartja, ha nem fokozza szklerózis multiplexben az autoimmun válasz csökkentésének képességét (azaz azáltal, hogy T-sejt válaszképtelenséget, vagy csökkent T-sejt válaszképességet indukál). Ebben az esetben a T-sejt receptorhoz kritikus T-sejt receptor ismert technikákkal határozható meg (azaz az egyes csoportok helyettesítésével és a T-sejt reaktivitás meglétének vagy hiányának meghatározásával). Azokat a csoportokat lehet módosítani, amelyekről ismert, hogy kölcsönhatásba lépnek a T-sejt receptorral, oly módon, hogy a lényeges aminosavat egy másik, előnyösen hasonló aminosavval helyettesítjük (konzervatív helyettesítés), amelyeknek a jelenlétéről kimutatták, hogy fokozza, gyengíti, de nem eliminálja vagy nem érinti a T-sejt aktivitást. Emellett azok az aminosav csoportok, amelyek nem lényegesek a T-sejt receptor kölcsönhatáshoz, módosíthatók, ha egy másik aminosavval helyettesítjük, amelyeknek a jelenlétéről kimutatták, hogy fokozza, gyengíti, de nem eliminálja vagy nem érinti a T-sejt aktivitást, de nem eliminálja a megfelelő MHC-hez való kötődést. Emellett a találmány szerinti pep-

tidek úgy módosíthatók, hogy egy olyan aminosavat, amelyről igazolták, hogy lényeges az MHC fehérjekomplexszel való kölcsönhatáshoz, egy másik, előnyösen hasonló aminosavval helyettesítjük (konzervatív helyettesítés), amelynek a jelenlétéről kimutatták, hogy fokozza, gyengíti, de nem eliminálja vagy nem érinti a T-sejt aktivitást. Emellett azokat az aminosav csoportokat, amelyek nem lényegesek az MHC fehérjekomplexszel való kölcsönhatáshoz, de még kötik az MHC fehérjekomplexet, úgy módosíthatjuk, hogy egy másik aminosavval helyettesítjük őket, amelyeknek a beépülése fokozza, nem érinti vagy csökkenti, de nem eliminálja a T-sejt reaktivitást. A nem-lényeges aminosav esetében az előnyben részesített aminosav helyettesítések közé tartoznak, anélkül, hogy ezekre korlátoznánk magunkat, az alaninnal, glutaminsavval vagy egy metilaminosavval végzett helyettesítések. A WO 94/06828 bejelentés egyik példájában helyettesített peptideket írnak le, amelyekben lényegében mindegyik aminosav csoportot egy konzervatív aminosavval, egy a természetben nem található aminosavval vagy alaninnal lehet helyettesíteni, és a helyettesített peptid mégis képes egy antigén-specifikus immunválasz korlátozására. Egy másik példában Karin és munkatársai olyan vizsgálatokat írnak le, amelyekben az MBP-nek egy immundomináns patkány epitop analógjait használják, amik a 43. számú szekvencia 87-99-es aminosavait tartalmazzák, a 14. ábrán látható módon [Karin és mtsai: J. Exp. Med. 180, 2227-237 (1994)]. Az analógok 13 helyettesített peptid sorozatát képezik, a 43. számú szekvencia 87-99-es aminosavai alapján, amik az eredeti, a 43. számú szekvencia

87-99-es aminosavaitól egyetlen alanin helyettesítésben térnek el minden egyes pozícióban, a 43. számú szekvencia 87-99-es aminosavai mentén. Ezeket a vizsgálatokat úgy tervezték meg, hogy megmutassák azokat a feltételezett helyeket, ahol az immundomináns peptid kölcsönhatásba lép az MHC-vel és a TCR-rel a Lewis patkányban, valamint kideríti azokat a módosított peptideket, amelyek a potenciális terápiás alkalmazás szempontjából erősebben mutatják a kívánt tulajdonságokat. Ezek a vizsgálatok azt mutatják, hogy ha a 43. számú szekvencia 87-99-es aminosavai között a 91-es pozícióban levő lizint (K) alaninnal (A) helyettesítjük (lásd 87-99[K>A] a 36. számú szekvenciában a 14. ábrán), akkor ez Lewis patkányokban megelőzi és visszafordítja az EAE-t. Ennek az információnak az alapján az lenne várható, hogy ha alaninnal helyettesítjük az egyetlen lizint (K) azokban a peptidekben, amelyek tartalmazzák a 43. számú szekvencia 87-99-es aminosav szekvenciáját az aminosav szekvenciájukban, azaz az MBP-2-ben (5. számú szekvencia), az MBP-2.1-ben (6. számú szekvencia), az MBP-2.2-ben (7. számú szekvencia), az MBP2.3-ban (8. számú szekvencia), az MBP-2.4-ben (9. számú szekvencia), az MBP-2.5-ben (10. számú szekvencia) és az MBP-2.6-ban (11. számú szekvencia), amint az a 2. ábrán látható, akkor ez a helyettesített peptidek fokozott T-sejt aktivitását eredményezi. Például, ha az MBP-2.1-ben (6. számú szekvencia) az MBP-2.1 (6. számú szekvencia) 10-es pozíciójában levő lizint alaninnal helyettesítjük (azaz DENPVVHFFANIVTPRTPPSQ GK) (71. számú szekvencia), akkor ez fokozott T-sejt aktivitásban mutatkozik meg, ami erősebb

tarápiás tulajdonságokat eredményez a "kiindulási" MBP-2.1 (6. számú szekvencia) peptiddel összehasonlítva.

Ahhoz, hogy fokozzuk a stabilitást és/vagy a reaktivitást, a peptidek úgy is módosíthatók, hogy egy vagy több polimorfizmust építünk be a természetes allélvariációkból származó fehérje antigén aminosav szekvenciájába. Emellett D-aminosavak, nem-természetes aminosavak vagy nem-aminosav analógok használhatók helyettesítőként vagy beszúrt egységként, hogy a jelen találmány oltalmi körébe tartozó módosított fehérjét vagy peptidet állítsunk elő. Emellett a jelen találmány szerinti peptidek módosíthatók A. Sehon és munkatársai polietilén-glikol (PEG) módszerének alkalmazásával [Wie és munkatársai], PEG-gel konjugált fehérje vagy peptid előállítására. Emellett PEG adható a molekulához egy találmány szerinti fehérje vagy peptid kémiai úton való szintézise során. A peptidek vagy részeik módosítása lehet redukció/alkilezés [Tarr in: "Methods of Protein Microcharacterization", szerk.: J. Silver, Humana Press, Clifton, NJ, 15-194)(1986)]; acilezés [Tarr in: "Methods of Protein Microcharacterization", szerk.: J. Silver, Humana Press, Clifton, NJ, 15-194)(1986)]; kémiai kapcsolás egy megfelelő hordozóhoz [szerk.: Mishell és Shiigi: "Selected Methods in Cellular Immunology", W.H. Freeman, San Francisco, CA (1980); 4,939,239 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentés]; vagy enyhe formalinos kezelés [Marsh International Archives of Allergy and Applied Immunology 41, 199-215 (1971)] .

Ahhoz, hogy megkönnyítsük a tisztítást és potenciálisan fokozzuk a találmány szerinti fehérjék vagy peptidek oldhatóságát, hozzáadhatunk riporter csoporto(ka)t a peptidgerinchez. Például poli-hisztidin adható egy peptidhez, hogy a peptidet immobilizált fémion-affinitás kromatográfiával tisztítsuk [Hochuli, E. és mtsai: Biotechnology 6, 1321-1326 (1988)]. Emellett specifikus endoproteáz hasítási helyeket vihetünk be ha szükséges, egy riporter csoport és egy peptid aminosav szekvenciája közé, hogy ezzel megkönnyítsük az irreleváns szekvenciákat nem tartalmazó peptidek tisztítását. Hogy egy peptidben potenciálisan elősegítsük a T-sejt epitopok megfelelő antigén processzálását, kanonikus proteáz-érzékeny helyeket vihetünk be rekombináns DNS módszerekkel vagy szintetikus kémiai módszerekkel a régiók közé, amelyek legalább egy T-sejt epitopot tartalmaznak. Például töltött aminosav párok, azaz például a KK vagy RR vihető be a régiók közé egy peptidbe a peptid rekombináns módszerekkel történő előállítása során. A kapott peptidet azután katepszinre és/vagy egyéb tripszin-szerű enzimek hasítására érzékennyé tehetjük, hogy ezzel olyan részeket állítsunk elő a peptidekből, amelyek egy vagy több T-sejt epitopot tartalmaznak.

Egy másik példa e peptidek módosítására, ha cisztein csoportokat előnyösen szerinnel, treoninnal, leucinnal vagy glutaminsavval helyettesítünk, hogy ezzel minimalizáljuk a diszulfid hidakon keresztül történő dimerizációt. A peptidek emellett még úgy is módosíthatók, hogy fokozzuk a peptid oldhatóságát pufferelt vizes oldatokban azaz gyógyászatilag elfogadható

hordozókban vagy higítószerekben való felhasználás céljára, oly módon, hogy funkciós csoportokat adunk a peptidhez, a peptid terminális részeihez, vagy azáltal, hogy a peptidekből kihagyjuk a hidrofób régiókat. Ahhoz például, hogy fokozzuk az oldhatóságot, töltött aminosavakat vagy töltött aminosav párokat vagy tripleteket adhatunk a peptid C-terminálisához vagy N-terminálisához, vagy mindkettőhöz. A töltött aminosavak közé tartozik az arginin (R), a lizin (K), a hisztidin (H), a glutaminsav (E), és az aszparaginsav (D). A peptidszintézis, azaz az automatizált peptidszintézis megkönnyítésére szükséges lehet az olyan aminosavak kivágása vagy helyettesítése, amelyek a peptidszintézist nehezebbé vagy drágábbá teszik. Ha például a peptid N-terminálisa vagy C-terminálisa ciklizálásra hajlamos, vagy lebomlásra hajlamos a peptidszintézis során vagy után, akkor az ilyen aminosavakat kivághatjuk vagy helyettesíthetjük, vagy egy másik módszer szerint egy vagy több aminosavat adhatunk hozzá, hogy "blokkoljuk" a kevésbé kívánatos N-terminális vagy C-terminális aminosavat. Az ilyen hozzáadott aminosavak vagy a természetes fehérjeszekvenciából származnak, vagy lehetnek nem-természetes aminosav csoportok. A hozzáadott aminosavakat hozzáadhatjuk egy peptid N-terminálisához, a C-terminálisához vagy mindkettőhöz, azzal a céllal, hogy az előzőekben meghatározott módon fokozzuk a peptid T-sejt aktivitását. Az ilyen hozzáadott aminosav származhat a természetes fehérjeszekvenciából, vagy lehet nem-természetes aminosav csoport.

A jelen találmány szerint beadott peptid-készítmények előnyösen tartalmazzák a mielin autoantigén T-sejt epitopjainak

elegendő százalékát (azaz legalább körülbelül 20%-ot, még előnyösebben körülbelül 30%-ot, még előnyösebben körülbelül 40%-ot, és még annál is előnyösebben körülbelül 60%-ot vagy még többet) a mielin autoantigén elleni össz-T-sejt reaktivitásnak olyan egyedek populációjában, akik reagálnak az autoantigénre, és akik szklerózis multiplexben szenvednek (például legalább 10 egyed, még előnyösebb ha 20 egyed), és annyi van belőlük a készítményben, hogy a készítmény beadásának terápiás tartománya egy szklerózis multiplexben szenvedő betegnél, a találmány szerint a szklerózis multiplex autoimmun válasz korlátozását jelenti. Annak meghatározására, hogy egy peptid (előnyben részesített terápiás jelölt peptid), vagy a jelölt peptidek kombinációja feltehetően elegendő mennyiségben tartalmazza a mielin autoantigén össz-T-sejt reaktivitását ahhoz, hogy elegendő százalékban korlátozza a szklerózis multiplex autoimmun választ szklerózis multiplexben szenvedő betegekben, számos különböző analitikai módszer használható.

Az egyik analitikai módszer szerint (MBP-t használva példaként), a T-sejt epitopot tartalmazó peptideket az epitop-tartalmú peptidekre reagáló MBP mikrotiter vonalak száma és a rájuk reagáló szklerózis multiplex betegek száma alapján soroljuk be. Mivel a szklerózis multiplex betegek PBL-jében az MBP-specifikus T-sejt gyakorisága nagyon alacsony lehet, ezért gyakran nem lehet az összes peptidet levizsgálni minden egyes szklerózis multiplex betegen. Emiatt a hasznos terápiás peptidek meghatározására az alábbi eszközök alkalmasak, és ezeket az 1. példában ismertetjük. Vérből izoláljuk a PBL-eket, majd

tenyészeteket indítunk 96 lukas mikrotiter lemezeken. A PBL-eket friss periferiális vérmintákból izoláljuk (körülbelül 75 cm³), határozottan szklerózis multiplexben szenvedő betegekből, Ficoll sűrűség-gradienst alkalmazva. A mikrotiter tenyészeteket lukanként 2×10^5 PBL-lel és 10 µg/ml humán gerincvelő MBP-vel indítjuk RPMI 1640 tenyésztő közegben, ami 5% humán AB szérummal, penicillinnel és sztreptomocinnal, valamint L-glutammal van kiegészítve. A tenyészeteket interleukin-2-vel (20 egység/ml) és interleukin-4-gyel (5 egység/ml) egészítjük ki a 6-7. naptól kezdődően. 11-13 nap elteltével a mikrotiter tenyészeteket mossuk, friss közegben szuszpendáljuk, majd 12 friss mikrotiter lukra osztjuk szét. Autológ fagyasztott PBL-eket adunk hozzájuk antigén-bemutató sejtekként, 5×10^4 PBL/luk mennyiségben. A szűrővizsgálati antigéneket két párhuzamosban adjuk az egyes mikrotiter lukakból származó 12 párhuzamos lukba. Mindig a közeget használjuk negatív kontrollként, és tisztított humán MBP-t használunk 10 µg/ml koncentrációban pozitív kontrollként. Mindegyik betegnek vizsgáljuk a reaktivitását is, maximum 4 MBP peptiddel, mindegyiket 10 µmol/l koncentrációban. 48 óra elteltével a reakcióelegyeket impulzus-jelezzük 0,75 µCi ³H-timidinnel, majd 6-16 órás impulzus után kinyerjük a sejteket. Az egyes tenyészeteket a peptidekre a következő kritériumok alapján tartjuk pozitívnak: a serkentési index nagyobb mint 3,0, a változás a cpm értékben nagyobb vagy egyenlő 500-zal, és az átlag standard hibája kisebb mint a változás a cpm-ben. Emellett, az elemzés céljaira s tenyészeteket csak akkor minősítjük "peptid-pozitívnak", ha

mind az MBP-re, mind a peptidre reagálnak, és ha nem reagálnak egynél több nem-átfedő peptidre. Előnyösen körülbelül 10-50 betegből álló csoportokat vizsgálunk meg az egyes MBP peptidekkel, és mindegyik betegcsoportot maximum négy peptiddel vizsgálunk meg. A peptideket azután sorbaállítjuk az alábbi kritériumok szerint: 1) az MBP pozitív mikrotiter tenyészetek százaléka az egyes betegcsoportokban (összes MBP reaktivitás), amelyek az MBP peptidek közül legalább még egyre pozitívnak bizonyultak; 2) az MBP-re reagáló egyedek százaléka az egyes olyan csoportokban, amelyek legalább egy, az MBP peptidek közül egyre pozitívnak bizonyult mikrotiter tenyészettel, ahol az MBP-reagáló egyedet úgy határozzuk meg, mint egy olyan beteget, aki legalább egy MBP-re pozitívnak bizonyult mikrotiter tenyészettel rendelkezik. Az egyedi peptid-jelölteket azután kiválasztjuk, ha 1) legalább 5%-ot, előnyösen legalább 10%-ot, de legelőnyösebb, ha 20%-ot tartalmaz az össz-MBP aktivitásból; és 2) a rájuk való reagálóképesség az MBP-re reagáló egyedeknek legalább 20%-ában, előnyösen legalább 30%-ában, előnyösebben legalább 50%-ában, és legelőnyösebben legalább 60%-ában megtalálható. Adott esetben a peptidek sorbaállítására egyéb kritériumok is megfontolhatók, azaz például egy adott peptidre a pozitivitási index. A pozitivitási index mind a T-sejt válasznak egy adott peptidre adott erősségét mutatja (S.I.), mind egy T-sejt egy adott peptidra adott válaszána gyakorisága olyan egyedek populációjában, akik reagálnak a mielin autoantigénekre. Amint az például a 15. ábrán látható, a 141-165 (MBP-4) (14. számú szekvencia) pozitivitási indexe körülbelül 2500,

amit az alábbiakban ismertetett 1. példában megadott adatok alapján számoltunk ki. Az MBP-4 (14. számú szekvencia) peptid átlagos S.I. értékét osztva az MBP-re válaszoló betegek számával, szorozzuk az MBP-4-re (14. szekvencia) reagáló betegek százalékaival, akik az MBP-re reagáló betegek populációjába tartoznak.

Az erősen tisztított, lényegében minden egyéb polipeptidtől és szennyezőtől mentes, legalább egy T-sejt epitop aminosav szekvenciáját tartalmazó, a jelen találmány szerinti terápiás készítményekben használt peptideket előállíthatjuk szintetikus kémiai módszerekkel, standard technikák alkalmazásával. Peptidek kémiai szintézisére különböző módszerek ismertek a szakirodalomban, azaz például a szilárd fázisú szintézis, amit teljesen, vagy részben automatizáltak egy kereskedelmi forgalomban levő peptid-szintetizátoron. A szintetikus úton előállított peptideket azután előnyösen homogenitásig tisztíthatjuk, pontosabban 90%, előnyösen legalább 95%, még előnyösebben legalább 97% tisztaság eléréséig, lényegében megtisztítva minden egyén polipeptidtől és szennyezőktől, bármilyen számú, a szakterületen a fehérje tisztítására ismert módszert alkalmazva.

A találmány szerinti, szintetikus úton előállított peptidek, amelyek körülbelül negyvenöt aminosavból, előnyösen maximum körülbelül harminc aminosavból állnak, különösen előnyösek, mivel az aminosavak számának növekedése a peptid-szintézis nehézségeit fokozza. A több aminosavat tartalmazó

peptideket az alábbiakban ismertetett rekombináns DNS technikával állítjuk elő.

A jelen találmány szerinti eljárásokban jól használható peptideket előállíthatjuk rekombináns DNS technikákkal is, egy ilyen peptidet kódoló nukleinsav szekvenciával transzformált gazdasejtben. Ha rekombináns technikákkal állítjuk elő, akkor a kívánt peptidet kódoló nukleinsavval transzformált gazdasejteket a sejtek számára megfelelő közegben tenyésztjük, majd az izolált peptideket tisztíthatjuk a sejttenyészet közegéből, a gazdasejtekből, vagy mindkettőből, a szakterületen a peptidek és fehérjék tisztítására ismert technikák alkalmazásával, beleértve az ioncserélő kromatográfiát, ultraszűrést, elektroforézist vagy immuntisztítást, az adott peptidre specifikus ellenanyagokkal. A rekombináns módszerekkel előállított peptideket izolálhatjuk és tisztíthatjuk, előnyösen homogenitásig, lényegében a sejt egyéb anyagaitól, egyéb polipeptidektől vagy tenyészközeg anyagtól mentessé, az előzőekben a szintetikus úton előállított peptidre leírt módszerek alapján való felhasználás céljára.

Bizonyos korlátozott körülmények között a peptidek előállíthatók egy erősen megtisztított, teljes hosszúságú vagy természetes fehérje kémiai vagy enzimatis hasításával, aholis a kémiai emésztés vagy enzimatis hasítás helyét előre meghatározták, és az emésztésből kapott eredmények reprodukálhatók. A meghatározott aminosav szekvenciával rendelkező peptidek erősen tisztíthatók, és izolálhatók, lényegében minden egyéb polipeptidről vagy szennyezőről mentesen, amik jelen vannak

bármelyik, az előzőekben ismertetett enzimatis vagy kémiai eljárás során keletkező elegyben. Az eljárással erősen tisztított és izolált, szintetikus vagy rekombináns módszerrel készített peptidek állíthatók elő.

Emellett a jelen találmány szerinti peptidek használhatók konjugátumokban, amint azt például az 5,130,297 számú, Sharma és munkatársainak megadott Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentésben ismertetik, ahol a terápiás ágenseket az X-MHC-peptid vagy MHC-peptid-X képlettel lehet leírni, aholis X jelentése egy funkciós csoport, ami egy toxin vagy jelölő csoport lehet; MHC jelentése az MHC glikoproteinek egy hatékony része, és az említett glikoprotein disszociálódik a sejtfelszínről, ahol normális körülmények között megtalálható; a "peptid" jelentése bármelyik, ebben a leírásban listázott peptid, pontosabban MBP vagy MOG, még pontosabban a 2. és 14. ábrán bemutatott peptidek.

A találmány szerinti előnyös peptidek tartalmaznak még legalább egy, a teljes hosszúságú fehérjéből, pontosabban MBP-ből vagy MOG-ból származó T-sejt epitopot. A peptidek tartalmazhatják egyetlen epitop, és/vagy egynél több epitop tandem ismétlődéseit.

Az alábbiakban az MBP T-sejt aktivitásával rendelkező peptidek azonosítására ismertetett eljárások (a részleteket lásd az előzőekben, valamint az alább következő 1. példában) szerint az MBP-ből származó, előnyben részesített peptidek, amik a terápiás alkalmazásra is alkalmasak lehetnek, az alábbi peptideket tartalmazzák: MBP-1 (2. számú szekvencia); MBP-2 (5.

számú szekvencia); MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia), amiket mind bemutatunk a 2. ábrán, vagy ezeknek bármelyik részét vagy módosítását. Ezeknek a peptideknek T-sejt reaktivitását vizsgáljuk az 1. példában leírtak alapján, és kimutatjuk róluk, hogy legalább egy T-sejt epitopot tartalmaznak, amit mutat azoknak az MBP-pozitív mikrotiter lemezeknek az aránya, amelyek az egyik MBP peptidre is pozitívnak bizonyultak (4a. ábra), valamint az egyes előnyben részesített peptidekre adott kimutatható válasz a vizsgált MBP betegek jelentős számában (4b. ábra). Az MBP-4 (141-165) (14. számú szekvencia) a legreakcióképesebb a négy peptid közül, az össz-MBP válasz 21%-a ennek tulajdonítható, és a vizsgált MBP-re reagáló betegek 64%-ában kimutatható. Az MBP-4 (14. számú szekvencia) meglepő módon sokkal nagyobb aktivitást mutatott, mint amekkora az MBP 141-160 (28. számú szekvencia) és az MBP 151-170 (29. számú szekvencia) kombinált reaktivitása, amint az a 3. ábrán látható. A jelen találmány szerzői azonosították először ezt az immundomináns peptidet, amiről úgy tűnik, hogy több T-sejt epitopot tartalmaz. Ez az új peptid különösen előnyösen használható lehet a terápiában.

Emellett az MBP-1.1-ről (3. számú szekvencia), az MBP-1.2-ről (4. számú szekvencia), az MBP-2.1-ről (6. számú szekvencia), az MBP-2.2-ről (7. számú szekvencia), az MBP-2.3-ról (8. számú szekvencia), az MBP-2.4-ről (9. számú szekvencia), az MBP-2.5-ről (10. számú szekvencia), az MBP-2.6-ról (11. számú szekvencia) és az MBP-3.1-ről (13. számú szekvencia) (amint az

a 2. ábrán látható) az a vélemény alakult ki, hogy a terápiás felhasználásra alkalmas jelöltek. Ezek a peptidek az MBP-1 (2. számú szekvencia), az MBP-2 (5. számú szekvencia) és az MBP-3 (12. számú szekvencia) módosított verziói, és az várható tőlük, hogy hasonló T-sejt aktivitással rendelkeznek mint a nekik megfelelő "kiindulási peptidek". Ezeket a peptideket aminosav delécióval, addícióval vagy mindkettővel módosítottuk, az előzőekben ismertetett peptid-módosítási technikák szerint, legfőképpen a peptid-szintézis egyszerűsítése céljából.

Azonosítottunk, illetve egyéb, ezen a területen dolgozó kutatók is azonosítottak egyéb peptideket is, amelyekről kimutattuk, hogy immundominánsak (azaz az MBP T-sejt aktivitásával rendelkeznek), vagy az MBP T-sejt aktivitásával rendelkező peptidekből származnak [az 1994. október 25-én benyújtott, 08/328,224 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentés; az 1994. május 10-én benyújtott 08/241,246 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentés; WO 93/21222; EP 0 304 279; WO 91/15225; Ota és mtsai: Letters to Nature 346, 183-187 (1990); Woherpfennig és mtsai: J. Exp. Med. 170, 279-290 (1994); Martin és mtsai: J. of Immunol. 145, 540-548 (1990); Karin és mtsai: J. Exp. Med. 180, 2227-2237 (1994)]. Ezek a peptidek használhatók még bármelyik, a jelen találmány szerinti készítményben és módszerben, különösen akkor, ha kombináljuk az előzőekben ismertetett, előnyben részesített peptid-jelöltekkel. Ezek közé a peptidek közé tartoznak, anélkül, hogy ezekre korlátoznánk magunkat, az alábbi peptidek vagy azok egy része, amelyeknek az aminosav-

számozása megfelel az 1. ábrán bemutatott humán MBP aminosav-számozásának, és aminosav szekvenciájukat a 14. ábrán mutatjuk be: 13-25 (31. számú szekvencia), 31-50 (18. számú szekvencia), 61-80 (21. számú szekvencia), 82-96 (32. számú szekvencia); 82-97 (34. számú szekvencia), 82-98 (35. számú szekvencia), 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 83-100 (37. számú szekvencia), 83-101 (38. számú szekvencia), 84-97 (39. számú szekvencia), 84-100 (40. számú szekvencia), 85-100 (41. számú szekvencia), 86-105 (42. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), 88-100 (44. számú szekvencia), 88-99 (45. számú szekvencia), 111-135 (47. számú szekvencia), 122-140 (48. számú szekvencia), 139-170 (49. számú szekvencia), 141-160 (28. számú szekvencia), 142-166 (50. számú szekvencia), 142-168 (51. számú szekvencia), 146-160 (52. számú szekvencia), és 153-170 (53. számú szekvencia), előnyösebben az alábbi peptidek tartoznak ide: 13-25 (31. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), mindegyik úgy, ahogy a 14. ábrán látható. Ezeknek a peptideknek az előnyben részesített részei, vagy előnyben részesített módosításai előnyösen hasonló, vagy nagyobb T-sejt aktivitással rendelkeznek azonos vagy nagyobb százalékban a vizsgált betegek között, és/vagy hasonló vagy nagyobb terápiás hatékonysággal rendelkeznek a találmány szerinti módszerekben mint az a "kiindulási" peptid, amelyből a módosított peptid származik.

A jelen találmány tárgyát képezik az olyan terápiás készítmények, amelyek legalább egy, T-sejt aktivitással rendelkező mielin antigénből származó peptidet tartalmaznak, vagy egy mielin antigénből származó peptidek kombinációját, amely peptidek mind rendelkeznek T-sejt aktivitással, valamint tartalmaznak egy gyógyászatilag elfogadható hordozót vagy higítószert. Az előnyben részesített terápiás készítmények a mielin antigén T-sejt aktivitásának elegendő százalékát tartalmazzák, úgy, hogy ha egy szklerózis multiplexben szenvedő betegnek adják be a terápiás tartományban, előnyösen egy nem-immunogén formában, akkor képesek korlátozni a mielin-specifikus autoantigén immunválaszt ilyen antigén-specifikus immunválasz alanyaiból álló humán populációban. A továbbiakban a "korlátozás" szakkifejezés jelentése, anélkül, hogy erre korlátoznánk magunkat, a betegség tünetei kezdeti fellépésének megakadályozása, MBP-re vagy más mielin autoantigénre adott antigén-specifikus immunválasz által okozott szklerózis multiplex kórtüneteinek csökkentése, azaz a tünetek csökkentése, visszafordítása, fejlődésük leállítása vagy enyhítése. A fejlődés leállítását a következőkkel jellemezhetjük (a) az aktív betegség vagy a súlyosbodás rövidebb időszaka, (b) kevésbé súlyos tünetek vagy korlátozottság, (c) a betegség előrehaladásának késleltetése, amikor az alap egészségi állapot nem csökken rohamosan, (d) az aktív betegség vagy súlyosbodás közötti periódusok hosszának kiterjesztése vagy meghosszabbodása (azaz hosszabb remissziós periódusok), (e) kevesebb visszaesés vagy súlyosbodás és/vagy az MRI-vel

kimutatott lézió terhelés lassulása vagy előrehaladásának leállítása. A Kiterjesztett Korlátozottsági Állapot Skála (EDSS) értékelési rendszer és a Neurológiai Értékelési Skála más eszközök, amiket a megfelelő szakterületen dolgozó szakemberek használnak. A továbbiakban az "előrehaladott állapot" szakkifejezés jelentése bármilyen, a megnyilvánult betegség tiszta klinikai tünetei feletti pont, attól függően, hogy a betegség visszaeső-remittáló szklerózis multiplex, krónikus progresszív szklerózis multiplex, rosszindulatú szklerózis multiplex vagy primer progresszív szklerózis multiplex. Emellett a meghatározás mellett az "előrehaladott állapot" szakkifejezés jelenthet akut fázis(oka)t, remisszió(ka)t és súlyosbodás(oka)t. A továbbiakban az "akut fázis" szakkifejezés jelentése éppen lezajló támadás, akut betegség és súlyosbodás, amiket egymás helyett is lehet használni. Ahogy azt a továbbiakban alkalmazzuk, ezek a szakkifejezések általában arra az állapotra vonatkoznak, amelyben a betegségben szenvedő alany (diagnosztizálva vagy sem) aktív tüneteket vagy jeleket mutat, amiket a szakterületen jártas szakember általában úgy ismer fel, mint amely a szklerózis multiplexre jellemző specifikus immunválaszhoz kapcsolódik. A "visszaesés" szakkifejezés jelentés egy remissziót követő akut fázis. A súlyosbodás szakkifejezés, ha megfelelően alkalmazzuk a szövegkörnyezetben, szintén értelmezhető úgy, mint új és romló tünetek vagy jelek. A "tünetek" szakkifejezés jelentése a betegség azoknak a jelzései, amelyben a beteg szenved. A "jelek" szakkifejezés jelentése a diagnosztizáló által megfigyelt vagy mért jelzések. A

tünetek és jelek szakkifejezések azonban egymás helyett is használható, ha külön nem jelezzük az eltérést.

A találmány szerinti terápiás készítmények előnyösen legalább egy T-sejt epitopot tartalmazó peptidet vagy módosított peptidet vagy peptid-analógot tartalmaznak, valamint tartalmaznak egy gyógyászatilag elfogadható hígítószer vagy hordozót. Ezek a készítmények előnyösen tartalmazhatnak egy MBP peptidet, amit a következő peptidek csoportjából választhatunk: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), de előnyösebb, ha az MBP peptidet az alábbi csoportból választjuk: MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia), és még előnyösebb, ha az MBP peptid az MBP-4 (14. számú szekvencia).

A találmány szerinti készítmények legalább két peptidet tartalmazhatnak (azaz legalább két peptid fizikai keverékét), és mindegyik peptid rendelkezik T-sejt aktivitással, valamint előnyösen legalább egy T-sejt epitopot tartalmaz egy mielin autoantigénből, azaz például MBP-ből. Ezeket a készítményeket egy terápiás készítmény formájában adhatjuk be, egy gyógyászatilag elfogadható elfogadható hordozóval vagy hígítószerrel. Egy vagy

több ilyen készítmény terápiásan hatásos mennyisége beadható egyidőben, illetve egymás után, egy szklerózis multiplexben szenvedő betegnek. Az előnyben részesített készítmények legalább egyet, előnyösen legalább kettőt tartalmaznak a peptidek alábbi csoportjából: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), amint az a 2. ábrán látható, előnyösebben az alábbi peptid-csoportból választhatjuk őket: MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), de még előnyösebb, ha az alábbi peptidcsoportból választjuk őket: MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia). Emellett a találmány szerinti készítmények tartalmazhatnak még MBP-ből származó peptideket, amelyeknek az aminosav-számozása megfelel az 1. ábrán bemutatott humán MBP fehérje számozásának, és az aminosav szekvenciájuk megfelel a 14. ábrán bemutatottnak: 13-25 (31. számú szekvencia), 31-50 (18. számú szekvencia), 61-80 (21.

számú szekvencia), 82-96 (32. számú szekvencia); 82-97 (34. számú szekvencia), 82-98 (35. számú szekvencia), 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 83-100 (37. számú szekvencia), 83-101 (38. számú szekvencia), 84-97 (39. számú szekvencia), 84-100 (40. számú szekvencia), 85-100 (41. számú szekvencia), 86-105 (42. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), 88-100 (44. számú szekvencia), 88-99 (45. számú szekvencia), 111-135 (47. számú szekvencia), 122-140 (48. számú szekvencia), 139-170 (49. számú szekvencia)), 141-160 (28. számú szekvencia), 142-166 (50. számú szekvencia), 142-168 (51. számú szekvencia), 146-160 (52. számú szekvencia), és 153-170 (53. számú szekvencia), előnyösebben az alábbi peptidek tartoznak ide: 13-25 (31. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia). A találmány szerinti készítmények előnyösen legalább két peptidet tartalmaznak, amelyek közül legalább az egyik peptid az MBP-4 (14. számú szekvencia), és legalább egyet az alábbi peptidcsoportból választunk: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia), mindegyiket az 5. ábrán mutatjuk be, és emellett még legalább egyet tartalmaznak

az alábbi, az MBP-ből származó peptidekből, amint azt a 14. ábrán mutatjuk be: 13-25 (31. számú szekvencia), 31-50 (18. számú szekvencia), 61-80 (21. számú szekvencia), 82-92 (32. számú szekvencia), 82-96 (33. számú szekvencia), 82-97 (34. számú szekvencia), 82-98 (35. számú szekvencia), 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 83-100 (37. számú szekvencia), 83-101 (38. számú szekvencia), 84-97 (39. számú szekvencia), 84-100 (40. számú szekvencia), 85-100 (41. számú szekvencia), 86-105 (42. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), 88-100 (44. számú szekvencia), 88-99 (45. számú szekvencia), 111-135 (47. számú szekvencia), 122-140 (48. számú szekvencia), 139-170 (49. számú szekvencia)), 141-160 (28. számú szekvencia), 142-166 (50. számú szekvencia), 142-168 (51. számú szekvencia), 146-160 (52. számú szekvencia), és 153-170 (53. számú szekvencia), előnyösebben az alábbi peptidek tartoznak ide: 13-25 (31. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia).

A találmány szerinti előnyös készítmények az alábbi peptideket tartalmazzák: MBP-1 (2. számú szekvencia); MBP-2 (5. számú szekvencia); MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia); MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (12. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia); MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-4 (12. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia),
 MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-4
 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia),
 MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia),
 MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia),
 MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia),
 MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia),
 MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia),
 MBP-3 (12. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból
 választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6.
 számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8.
 számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10.
 számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi cso-
 portból választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1
 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3
 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5
 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-1 (2. számú szekvencia); vagy MBP-2.1 (3. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), mindegyiket a 2. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-

100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), mindegyiket a 2. ábrán mutatjuk be.

A jelen találmány tárgyát képezi továbbá egy kezelési eljárás, amely során terápiásan hatásos peptidek kombinációját adjuk be egyetlen kezelési eseményként. A peptidek ezen kombinációját beadhatjuk egyidőben vagy egymás után, olyan terápiás készítmények formájában, amelyek vagy csak egy peptidet tartalmaznak, vagy több peptidet tartalmaznak. Egy ilyen kezelési mód nem szükségszerűen fizikai keveréke egynél több peptidnek, de tartalmazza peptidek kombinációját, amiket egyidőben vagy egymás után adunk be, egyetlen kezelési esemény formájában. A peptidek előnyben részesített kombinációi (egy vagy több készítmény formájában, amely készítmények tartalmazhatnak egy vagy több peptidet), amiket egyidőben vagy egymás után lehet beadni egyetlen kezelési esemény formájában, peptidek következő kombinációit tartalmazzák:

MBP-1 (2. számú szekvencia); MBP-2 (5. számú szekvencia); MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-4 (12. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-4 (12. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-1 (2. számú szekvencia); vagy MBP-2.1 (3. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), mindegyiket a 2. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekven-

cia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), mindegyiket a 2. ábrán mutatjuk be.

Emellett az MBP peptidek előnyben részesített készítményei és előnyben részesített kombinációi, amiket egyidőben, és/vagy egymás után adhatunk be, tartalmazhatják az előzőekben ismertetett készítményeket és kombinációkat, valamint tartalmazhatnak legalább egy, a mielin oligodendrocita fehérjéből (MOG) származó T-sejt epitopot tartalmazó peptidet, amely fehérjéről az a vélemény alakult ki, hogy egyike a szklerózis multiplexben szerepet játszó autoantigéneknek [Lebar és mtsai: J. of Immunol. 116, 1439-1446 (1976); Lebar és mtsai: J. Exp. Immunol. 66, 423-443 (1986); Linington és Lassman: J. Neuroimmunol. 17, 61-69 (1987); Lassman és mtsai: Acta Neuropathol. (Berl) 75, 566-576 (1988); Sun és mtsai: J. of Immunol. 146, 1490-1495 (1991)]. A MOG-ból származó T-sejt

epitopokat tartalmazó peptideket az 1993. szeptember 3-án benyújtott USSN 08/116,824 szabadalmi bejelentésben, valamint az 1994. szeptember 1-jén benyújtott USSN 08/300,811 szabadalmi bejelentésben ismertetik (amely publikációkat a továbbiakban referenciaként kezelünk), és amelyektől az várható, hogy hatékonyan kezelik a szklerózis multiplexet, ha az előzőekben említett készítményekkel és az alábbi, a jelen találmány szerinti MBP T-sejt epitop-tartalmú peptid kombinációkkal együtt adjuk be:

Humán MOG 1-13 (54. számú szekvencia)

GQFRVIGPRHPIR

Humán MOG 103-115 (55. számú szekvencia)

HSYQEEAAMELKV

Humán MOG 1-121 (56. számú szekvencia)

GQFRVIGPRHPIRALVGDEV

ELPCRTSPGKNATGMEVGWY

RPPFSRVVHLYRNGKDQDGD

QAPEYRGRTELLKDAIGEGK

VTLRIRNVRFSDGGFTCFF

RDHSYQEEAAMELKVEDPFYW

A jelen találmány szerzői a MOG további epitop-tartalmú peptidjeit azonosították, az előzőekben ismertetetthez és az 1. példában ismertetetthez hasonló kísérletet elemzés alapján (nem közölt adatok). Ezek a peptidek a következők:

Humán MOG 1-20 (57. szekvencia)

GQFRVIGPRHPIRALVGDEV;

Humán MOG 11-30 (58. számú szekvencia)

PIRALVGDEVELPCRISPGK;

Humán MOG 21-40 (59. számú szekvencia)

ELPCRISPGKNATGMEVGWY;

Humán MOG 31-50 (60. számú szekvencia)

NATGMEVGWYRPPFSRVVHL;

Humán MOG 141-160 (61. számú szekvencia)

TVGLVFLCLQYRLRGKLRAE;

Humán MOG 151-170 (62. számú szekvencia)

YRLRGKLRAEIIENLHRTFDP;

Humán MOG 161-180 (63. számú szekvencia)

IIENLHRTFDPHFLRVPCWKI; és

Humán MOG 199-218 (64. számú szekvencia)

YNWLHRRLAGQFLEELRNPF.

A jelen találmány tárgyát képezik továbbá azok az előzőekben említett T-sejt epitopot tartalmazó MOG peptidek módosításai vagy analógjai (az előzőekben tárgyaltuk), amelyek hasonló vagy nagyobb T-sejt aktivitással rendelkeznek mint a kiindulási peptid, amiből a módosított vagy analóg fehérje származik.

Az a vélemény alakult ki, hogy a mind MOG mind MBP T-sejt epitopot tartalmazó peptideket, azok módosításait, analógjait, valamint az ezeken alapuló peptidomimetikumokat tartalmazó készítmények, valamint az ilyen peptidek kombinációi, amik egyidőben vagy egymás után adhatók be, azzal az előnnyel rendelkeznek, hogy maximalizálják a korlátozó hatást a szklerózis multiplexben résztvevő MBP- és MOG-specifikus T-sejtekre. Ílymódon az MBP-re vagy a MOG-ra adott, a szklerózis multiplex

(demielinizáció) klinikai megjelenését eredményező autoimmun válaszban esetleg résztvevő T-sejtek tartománya célozható meg a korlátozás céljából, ezzel fokozva a találmány szerinti vegyületek és készítmények terápiás hatását. Hasonlóképpen, a szklerózis multiplexben a vélemények szerint autoantigénekként működő egyéb mielin antigénekből származó T-sejt epitopot tartalmazó peptidek (azaz például a proteolipid fehérje (PLP) és a mielinhez kapcsolódó glikoprotein (MAG)) is megfelelőek lehetnek a találmány szerinti készítményekben és módszerekben.

A jelen találmány szerinti terápiás/profilaktikus kezelési mód (ami a támadó autoantigén által okozott betegségtünetek visszafordítását, megelőzését vagy késleltetését eredményezi, vagy egy támadó autoantigén által okozott tünetek csökkenését, előrehaladásának leállítását vagy a tünetek enyhülését eredményezi, azaz egy autoantigén-specifikus immunválasz korlátozását) a találmány szerinti terápiás készítmények beadását jelenti, egy, a találmány szerinti készítmény nem immunogén formájában, amely legalább egy, a kezelendő kóros állapotért felelős autoantigénből (azaz MBP, MOG, PLP, MAG) származó izolált peptidet tartalmaz. Jóllehet nem ragaszkodunk elméletekhez, az a véleményünk, hogy egy, a találmány szerinti terápiás készítményre igazak a következők: a) okozhatja a megfelelő T-sejt alpopulációk T-sejtjeinek válaszképtelenségét, és így ezek reagálásképtelenek lesznek a támadó antigénre és nem vesznek részt egy, a támadó fehérje antigénnel való érintkezés hatására fellépő immunválasz serkentésében (anergia vagy apoptózis révén); b) módosíthatja a limfokin szekréción

profilt, a támadó autoantigénnel való érintkezéssel összehasonlítva; c) okozhatja azt, hogy azok a T-sejt alpopulációk, amelyek normális körülmények között részt vesznek a támadó antigénre adott válaszban, elvonódnak a normális érintkezés helyéről a készítmény beadási helyére (a T-sejt alpopulációknak ez az újraeloszlása enyhítheti, vagy csökkentheti egy egyed immunrendszerének azt a képességét, hogy serkenti a szokásos immunválaszt a támadó antigénnel való érintkezés helyén, ami a tünetek eltűnését vagy megfordulását eredményezheti; d) T-sejt szuppresszor sejtek indukcióját okozhatja, vagy e) a szuppresszor sejtek indukcióját okozhatja egy tétlen antigén révén.

Az előzőek szerint előállított, erősen tisztított és izolált peptidek a humán terápiában alkalmazható, a találmány szerinti ki terápiás készítmények formájában szerelhetők ki. Ha egy, a találmány szerinti terápiás készítményt injekció formában kell beadni (azaz szubkután injekció, intravénás injekció formájában), akkor az az előnyös, ha az erősen tisztított peptid vizes oldatban oldódik gyógyászatilag elfogadható pH érték mellett (azaz 4-9-es pH tartományban), és így a készítmény folyékony, valamint könnyen fecskendezhető. A készítmény előnyösen tartalmaz még egy gyógyászatilag elfogadható hordozót is. A továbbiakban a "gyógyászatilag elfogadható hordozó" jelentése bármilyen, és az összes töltőanyag, oldószer, diszpergáló közeg, borítás, antibakteriális és gombaellenes ágens, toxicitási ágens, abszorpciót késleltető vagy fokozó ágens, felületaktív anyag, micellaképző ágens,

lipid, liposzóma, és folyékony komplexképző ágens, stabilizáló ágens és hasonló. Az ilyen közegek és ágensek alkalmazása gyógyászatiilag elfogadható anyagokként ismert a szakterületen jártas szakember számára. Annak kivételével, ha bármelyik szokványos közeg vagy ágens inkompatibilis az aktív adalékanyaggal, ezeknek terápiás készítményekben való alkalmazása megfontolandó. Kiegészítő aktív vegyületeket is tehetünk a készítményekbe.

Amint azt az előzőekben tárgyaltuk, az injekciós beadáshoz használható, a találmány szerinti terápiás készítmények előnyösen steril vizes oldatok, amiket úgy állítunk elő, hogy az aktív adalékanyagot (azaz egy vagy több erősen tisztított és izolált peptidet, az előzőek szerint) a megkívánt mennyiségben beviszünk egy megfelelő hordozóba, egy adalékanyaggal, vagy az alábbiakban (vagy előzőekben) felsorolt adalékanyagok kombinációjával, és ezt követi a szűréssel való sterilezés. Az előnyben részesített, gyógyászatiilag elfogadható hordozók közé tartozik legalább egy töltőanyag, azaz például a steril víz, nátriumfoszfát, mannit, szorbit vagy nátrium-klorid, vagy ezek bármilyen kombinációja. Egyéb alkalmazható, gyógyászatiilag elfogadható hordozó lehet olyan oldószer vagy diszpergáló közeg, ami például vizet, etanolt, poliolt (azaz például glicerint, propilénglikolt és folyékony polietilénglikol valamint hasonlókat tartalmaz), ezek alkalmas keveréke, valamint a növényi olajok. A megfelelő folyékonyság fenntartható például borítóanyagok felhasználásával, ami lehet lecitin, a kívánt részecskeméret fenntartásával a diszperziók esetében, valamint

felületaktív anyagok alkalmazásával. A mikroorganizmusok működését megakadályozhatjuk például különböző baktériumellenes és gombaellenes ágensek alkalmazásával, amilyen például a parabén, klórbutanol, fenol, aszkorbinsav, tirmerosol és a hasonlóak. Az injekciózható készítmények megnyújtott abszorpciója azzal érhető el, ha a készítménybe egy olyan ágenst teszünk, ami késlelteti az abszorpciót, ilyen például az alumínium-monosztearát és a zselatin.

A találmány szerinti terápiás készítmények előnyösen sterilek, a gyártás, tárolás, szállítás körülményei között stabilak, és meg kell védeni a mikroorganizmusok, azaz például a baktériumok és gombák támadásától. Egy előnyös módszer olyan készítmény előállítására, amely megtartja a készítmény integritását (azaz megakadályozza a fertőzést, meghosszabbítja a tárolás idejét, stb.), ha a peptidnek és a gyógyászatilag elfogadható hordozó(k)nak egy liofilezett por kisserelési formáját állítjuk elő, amit azután egy gyógyászatilag elfogadható hordozóban, azaz például steril vízben lehet rekonstruálni, közvetlenül a felhasználás előtt. A steril injekciózható oldatok előállítására használt steril porok esetében az előállítás előnyös módszere a vákuumszáritás, fagyasztva-száritás vagy centrifugálva száritás, ami az aktív adalékanyagot plusz bármilyen további kívánt adalékanyagot egy korábban sterilre szűrt por formájában eredményezi.

Amint azt az előzőekben tárgyaltuk, egy, a találmány szerinti terápiás készítmény egynél több izolált peptidet tartalmazhat. Számos aktív peptid beadásához egy olyan terápiás

készítményre lehet szükség, amely embereknek való beadásra alkalmas formában tartalmaz egy multipeptid kizserelést. A multipeptid formájú kizserelés legalább két vagy több izolált peptidet tartalmaz, amelyeknek meghatározott aminosav szekvenciájuk van, és képesek korlátozni egy antigén-specifikus immunválaszt. Bármelyik korábban ismertetett készítmény, amely legalább két peptidet tartalmaz, alkalmas lehet egy multipeptid kizserelési forma előállításához. Amint azt az előzőkben tárgyaltuk, egy multipeptid kizserelési formában való felhasználásra nagyon előnyösen használható peptidek közé legalább kettő tartozik az alábbi peptidek közül: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia). Egy multipeptid készítmény előállítása során figyelembe vett specifikus tényező az oldhatóság, és az összes peptid stabilitása a vizes oldat formájú kizserelésben fiziológiásan elfogadható pH érték mellett. Ehhez arra van szükség, hogy egy vagy több olyan, gyógyászatilag elfogadható oldószert és töltőanyagot válasszunk, amelyek kompatibilisek a multipeptid készítményben levő összes peptiddel. Például a megfelelő töltőanyagok közé tartozik a steril víz, a nátriumfoszfát, mannit, illetve a foszfát és a mannit együtt. Egy multipeptid készítmény előállí-

tása során további megfontolandó faktor szükség esetén a peptid dimerizációjának megakadályozása.

Az előzőekben ismertetett terápiás készítmények beadását egy egyednek, nem-immunogén formában, ismert eljárások alkalmazásával, végezhetjük olyan dózisokban és beadási időzítésekkel, amelyek hatékonyan korlátozzák az MBP antigén-specifikus immunválaszt egy szklerózis multiplex ellen kezelt egyedben. Egy emberben kóros folyamatokhoz kapcsolódó antigén elleni antigén-specifikus immunválasz klinikailag meghatározható, amikor lehetséges, illetve szubjektíven is meghatározható (azaz a beteg úgy érzi, mintha néhány, a kezelendő kóros állapothoz kapcsolódó tünetek, illetve azok közül néhány enyhülne).

A találmány szerinti terápiás készítmények hatásos mennyisége különböző faktoroktól függően változhat, olyan faktoroktól függően, mint például az adott beteg érzékenysége az antigénre, kora, neme és súlya, valamint a peptidnek az a képessége, hogy mennyire képes korlátozni az antigén-specifikus immunválaszt egy betegben. Egy, a találmány szerinti terápiás készítményt nem-immunogén formában adhatunk be, kényelmes módon, azaz például injekciózással (szubkután, intravénás, stb.), orális úton, nyelv alá, belégzéssel, transzdermális módszerekkel, rektális úton, vagy a beadási utak bármilyen kombinációjával, amiket arra terveztek, hogy fokozzák a terápiás hatékonyságot, vagy bármely egyéb beadási úton, ami a terápiás ágensek beadására ismert. Kíváncos lehet, hogy egyidejűleg vagy egymás után adjunk be terápiásan hatásos mennyiséget egy vagy több találmány szerinti terápiás készítményből egy

betegnek. Mindegyik ilyen, egyidejű vagy egymás után beadott készítmény tartalmazhat csak egy peptidet, illetve tartalmazhat egy multipeptid készítményt, az előzőekben ismertetett módon.

Ahhoz, hogy egy peptidet vagy peptidkészítményt parenterálístól eltérő módon adjunk be, ahhoz arra lehet szükség, hogy a peptidet beborítsuk, vagy együtt adjuk be egy olyan anyaggal, amely megakadályozza az inaktiválódását. A peptidkészítményt például be lehet adni enzim-inhibitorokkal vagy liposzómákban. Az enzim-inhibitorok közé tartozik a pankreász tripszin inhibitor, a diizopropil-fluorofoszfát (DEP) és a trasyolol. A liposzómák közé tartoznak a víz-olajban-vízben CGF emulziók, valamint a szokványos liposzómák [Strejan és mtsai: J. Neuroimmunol. 7, 27 (1984)]. Ha egy peptidet megfelelően megvédünk, az előzőek szerint, akkor a peptidet beadhatjuk orálisan, például egy inert hígítószerrel vagy egy asszimilálható, fogyasztható hordozóval együtt. A peptid-készítményt és a többi adalékanyagot is bezárhatjuk egy kemény vagy lágy zselatin kapszulába, tablettákká préselhetjük, vagy közvetlenül a beteg étrendjébe építhetjük be. Az orális terápiás alkalmazások céljára az aktív adalékanyagot töltőanyagokkal együtt alkalmazhatjuk, és használhatjuk emészthető tabletták, szájüregből felszívódó tabletták, pasztillák, kapszulák, elixírek, szuszpenziók, szirupok, ostyák és hasonló formájában. Az ilyen készítményeknek az aktív adalékanyagból legalább 1%-ot kell tartalmazniuk. A készítmények százalékos összetétele természetesen változhat, de kényelmesen az egység súlyának 5 és 80%-a között lehet. Az ilyen terápiásan használható készítményekben

az aktív adalékanyag mennyisége annyi, hogy megfelelő dózist kapjunk. A jelen találmány szerinti előnyben részesített készítményeket úgy állítjuk elő, hogy egy orális dózisegység körülbelül 10 µg és 200 mg közötti mennyiséget tartalmaz az aktív adalékanyagból. A tabletták, pasztillák, pirulák, kapszulák és hasonlókat emellett az alábbi anyagokat tartalmazhatják: egy kötőanyagot, azaz például tragantmézgát, gumiarábikumot, kukoricakeményítőt vagy zselatint; töltőanyagokat, azaz például dikalcium-foszfátot; egy dezintegrálódást okozó ágenst, azaz például kukoricakeményítőt, burgonyakeményítőt, alginsavat és hasonlókat; egy csúsztatóanyagot, azaz például magnézium-sztearátot; valamint egy édesítő ágenst, azaz például szacharózt, laktózt vagy szaccharint vagy egy ízesítő anyagot, azaz például borsmentát, gaulteriaolajat vagy cseresznyearomát. Ha a dózisegység kapszula formájában van, akkor az előzőekben említett típusú anyagok mellett tartalmazhat egy folyékony hordozót is. Különböző egyéb anyagok lehetnek jelen borítóanyagként, vagy másképpen módosíthatják az egységdózis fizikai megjelenési formáját. Például a tabletták, pasztillák, vagy kapszulák beboríthatók sellakkal, cukorral vagy mindkettővel. Egy szirup vagy elixír tartalmazhat aktív adalékanyagot, szacharózt édesítőszerként, metil- és propilbarabéneket konzerválószerként, festéket és ízesítőszert, azaz például cseresznye- vagy narancs aromát. Természetesen minden, bármelyik egységdózis készítésében használt anyagnak gyógyszerkönyvi minőségűnek kell lennie, valamint az alkalmazott

menyiségben atoxikusnak. Emellett az aktív adalékanyagot beépíthetjük késleltetett felszabadulású készítményekbe és kisserelési formákba.

Egy vagy több, a jelen találmány szerinti terápiás készítmény injekciózásához (szubkután, intravénás, intramuszkuláris, intraperitoneális) előnyösen 1-3 μg , előnyösebben körülbelül 20 μg -1,5 mg, még előnyösebben körülbelül 50 μg - 750 μg , illetve ennél is előnyösebben körülbelül 75-750 μg aktív komponenst (peptidet) adhatunk be egy egységdózisban. Az alábbiakban ismertetett kezelési módtól függően akár 1500 μg -os, vagy még magasabb dózisok is használhatók. Az különösen előnyös, ha a parenterális készítményeket egységdózisok formájában adjuk meg, a beadás egyszerűsítése és a dózis egységessége céljából. Az "egységdózis" szakkifejezés jelentése a továbbiakban fizikailag megkülönböztethető egységeket jelent, amik a kezelendő beteg számára egységdózisként használhatók; mindegyik egység, ami egy előre meghatározott mennyiségű aktív adalékanyagot tartalmaz, úgy számítva, hogy a kívánt terápiás hatást eredményezze a kívánt gyógyászatilag elfogadható hordozóval. A találmány szerinti új egységdózis formák specifikációját a következők határozzák meg: a) az aktív adalékanyag egyedi jellemzői és az elérendő terápiás hatás, valamint b) az elegyítés, összekeverés tudományának az ilyen aktív adalékanyagoknak emberek kezelésében való alkalmazása korlátozásai.

A dózis kezelési módot úgy állíthatjuk be, hogy az optimális profilaktikus vagy terápiás választ kapjuk. Például számos megosztott dózis beadható napokig, hetekig, hónapokig

vagy évekig, illetve a dózist arányosan növelhetjük vagy csökkenthetjük minden egyes injekciózás után, amit a terápiás helyzet szükséglete határoz meg. Egy előnyben részesített terápiás kezelési mód szerint a terápiás készítmények szubkután injekcióit naponta egyszer adjuk be egy akut fázisban, majd minden második napon a remisszió során a betegségben szenvedő teljes élettartama idején. Alternatívák lehetnek a heti, havi vagy más periódusban beadott injekciók. A dózis állandó maradhat az egyes injekciózásoknál, illetve az egyes injekciók után csökkenhetnek vagy növekedhetnek. A legkívánatosabb egy folyamatos, egész életen át tartó kezelés lehet. Egy másik lehetőség az, ha egy kezdő kezelési periódus után erősítő injekciót adunk be három havonta vagy évente, és ez jelenthet egyetlen injekciót, vagy jelenthet egy olyan injekciósorozatot, ami hasonlít a kezdeti kezeléshez.

Mivel a relapszáló, intermittáló szklerózis multiplexben, primer progresszív szklerózis multiplexben, rosszindulatú szklerózis multiplexben és krónikus progresszív szklerózis multiplexben szenvedő betegek nagyon egyéni immunrendszer választ adnak, ezért óvatos és változó dózisú kezelési módot kell kifejleszteni. Először a jelentkező beteg felvételi kiértékelését kell elvégezni. Egy komplex vizsgálat kiterjed többek között a látási problémák, szemrezgés, dysarthria, a rezgés és pozíció-érzékelés csökkent érzékelése, ataxia és szándék-remegés, egy vagy több végtag gyengesége vagy bénulása, görcsökre való hajlam és hólyagproblémák vizsgálatára. A szakterületen jártas szakemberek elfogadott módszereket, azaz

például EDSS-t, Neurológiai Ranglista Skálát vagy a szakterületen ismert hasonló eszközöket használnak, valamint a betegség korábban jelzett indikátorait, azzal a céllal, hogy meghatározzanak egy alapértéket, amitől bármilyen eltérés, beleértve a korlátozottság előrehaladását, de előnyösen korlátozás, mérhető. Jóllehet nincs tipikus szklerózis multiplex akut vagy remittáló fázis, bizonyos tünetegyüttesek kifejlődhetnek, amik a tapasztalt gyakorló orvost vezérelhetik. Amint azt az előzőekben említettük, a fellobbanások vagy akut fázisok gyakorisága nagyobb a betegség első 3-4 évében, de az első támadást esetleg nem követi újabb megfigyelhető támadás 10-20 évig (jóllehet a csak MRI-vel kimutatható lézió-kifejlődés eltérő klinikai képet ad). A tipikus epizódok során a tünetek súlyosbodhatnak néhány naptól 2-3 hétre terjedő periódusban, majd gyengülhetnek. A javulás általában gyors néhány hét alatt, jóllehet időben több hónapra is kiterjedhet.

A szklerózis multiplex egy krónikus betegség, és a folyamatos kezelés megfontolandó. A hosszútávú kezelés lehet a leghatékonyabb kezelés a betegség és tehetetlenség előrehaladásának meggátolására. A minden másnap, vagy legalább hetente egyszer, vagy havonta egyszer alkalmazott dózisalapú kezelési mód lehet alkalmas. Az ésszerű módosítások a szakterületen jártas szakember tudásához tartoznak. A támadás fellépésekor alkalmazott beavatkozás fontos tényezője a hatékony kezelésnek.

Az akut állapotban levő betegnél a támadás súlyosságát ki kell értékelni. Egy induló injekció beadható az akut fázis

fellépésekor. A nyilvánvaló haszna az lehet, hogy a kezelést az akut fázis lehető legkorábbi szakaszában indítjuk. Ha szükséges, akkor ezt a kezelést kombinálhatjuk egyidejű interferon, szteroid és/vagy egyéb kezelésekkel, főleg olyanokkal, amiket a gyulladáscsökkentésre dolgoztak ki. A beteget az első, előnyösen injekciós kezelés után naponta megfigyeljük. Azt javasoljuk, hogy további kezeléseket kell adni minden második nap, vagy legalább minden harmadik nap, az akut fázisban. Csakúgy, mint minden más gyógyszerkezéskor, a kezelőorvos módosíthatja a dózis nagyságát, a klinikai változások alapján, amik a változás szükségességét mutatják. Minden ilyen megfontolás a szakterületen jártas szakember ismereteihez tartozik, a javasolt dózis-időzítést és dózis-mennyiségeket iránymutatásként használva. A 75-750 µg per dózis tartományba eső dózis nagy mozgásteret biztosít (és nem ésszerűtlen mennyiséggel) a kezelőorvos számára. Az opciók közé tartozik, anélkül, hogy erre korlátoznánk magunkat, a napi kezelés az akut fázisban, ami után a remisszió kezelésére az előzőekben ismertetett eljárást követjük. Ez semmiképpen nem zárja annak lehetőségét, hogy több vagy gyakoribb dózisokat alkalmazzunk, ha a kezelőorvos megállapítja, hogy a beavatkozásra szükség van.

A jelen találmányban leírjuk, hogy az "előrehaladott állapotban" levő szklerózis multiplex kezelhető a találmány szerinti készítményekkel és módszerekkel. A legalább egy, T-sejt aktivitással rendelkező, és egy mielin autoantigénből származó peptidet tartalmazó készítmények alkalmasak az előrehaladott állapotú szklerózis multiplex kezelésére. Az MBP

peptidek, MOG peptidek és ezek előzőkben ismertetett kombinációja alkalmas az előrehaladott állapotú szklerózis multiplex kezelésére. Amint azt az előzőkben ismertettük, ezek a peptidek az alábbiak lehetnek, anélkül, hogy ezekre korlátoznánk magunkat: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia), 13-25 (31. számú szekvencia), 31-50 (18. számú szekvencia), 61-80 (21. számú szekvencia), 82-92 (32. számú szekvencia); 82-96 (33. számú szekvencia); 82-97 (34. számú szekvencia), 82-98 (35. számú szekvencia), 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 83-100 (37. számú szekvencia), 83-101 (38. számú szekvencia), 84-97 (39. számú szekvencia), 84-100 (40. számú szekvencia), 85-100 (41. számú szekvencia), 86-105 (42. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), 88-100 (44. számú szekvencia), 88-99 (45. számú szekvencia), 111-135 (47. számú szekvencia), 122-140 (48. számú szekvencia), 139-170 (49. számú szekvencia), 141-160 (28. számú szekvencia), 142-166 (50. számú szekvencia), 142-168 (51. számú szekvencia), 146-160 (52. számú szekvencia), és 153-170 (53. számú szekvencia), előnyösen az MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és

MBP-5 (15. számú szekvencia), 13-25 (31. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia, 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), valamint a humán MOG-ból származó peptidek:

Humán MOG 1-13 (54. számú szekvencia)

GQFRVIGPRHPIR

Humán MOG 103-115 (55. számú szekvencia)

HSYQEEAAMELKV

Humán MOG 1-121 (56. számú szekvencia)

GQFRVIGPRHPIRALVGDEV

ELPCRTSPGKNATGMEVGWY

RPPFSRVVHLYRNGKDQDGD

QAPEYRGRTELLKDAIGEGK

VTLRIRNVRFSDGGFTCFF

RDHSYQEEAAMELKVEDPFIYW

Humán MOG 1-20 (57. szekvencia)

GQFRVIGPRHPIRALVGDEV;

Humán MOG 11-30 (58. számú szekvencia)

PIRALVGDEVELPCRISPGK;

Humán MOG 21-40 (59. számú szekvencia)

ELPCRISPGKNATGMEVGWY;

Humán MOG 31-50 (60. számú szekvencia)

NATGMEVGWYRPPFSRVVHL;

Humán MOG 141-160 (61. számú szekvencia)

TVGLVFLCLQYRLRGKLRAE;

Humán MOG 151-170 (62. számú szekvencia)

YRLRGKLRAEIEENLHRTFDP;

Humán MOG 161-180 (63. számú szekvencia)

IENLHRTFDPHFRLRVPCWKI; és

Humán MOG 199-218 (64. számú szekvencia)

YNWLHRRLAGQFLEELRNPF.

A jelen találmány szerzői először tették azt a meglepő felfedezést, hogy egy éppen lejátszódó támadás közepén való beavatkozás adott esetben javítja egy, a jelen találmány szerint kezelt beteg állapotát. Az a minimum, hogy az ilyen kezelés nem rontja a beteg állapotát. A találmány szerzői emellett igazolják, hogy a remisszió idején végzett beavatkozás korlátozza az immunválaszt és az állapot nem aktiválódik semmilyen ilyen beavatkozás következtében. Tehát a beavatkozás nemcsak javulást okozhat, hanem teljesen biztonságosnak is bizonyulhat, ha a jelen találmány szerinti eljárást alkalmazzuk. Az előzőekben ismertetett EAE modell alkalmazásával a jelen találmány szerzői igazolják, hogy az Acl-11 (65. számú szekvencia) immundomináns MBP peptid ismételt intravénás beavadásával sikeresen lehet kezelni a teljes MBP fehérjével indukált EAE-t. Ha egyszer sikeres kezelést (amit a T-sejt reaktivitást mutat) végzünk egy "természetes peptiddel" (helyettesíthetetlen peptid, ami a természetes szekvenciából származik, az egy fehérje autoantigénből származó T-sejt epitop-tartalmú peptidek azonosítására ismertetett eljárások alkalmazásával), akkor megfelelően módosított peptideket lehet azonosítani, ha a módosított peptid kötési aktivitását összehasonlítjuk a természetes peptidével. A természetes peptidénél alacsonyabb kötési aktivitással rendelkező módosított peptid

megfelelő jelölt lehet a jelen találmány szerinti terápiás készítményben való alkalmazásra. A kötési affinitás meghatározására használható vizsgálatokat az 1994. szeptember 1-jén benyújtott 08/300,811 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi bejelentésben leírtak alapján azonosíthatjuk, amely publikációt a továbbiakban referenciaként kezelünk. Például az Acl-11 (65. számú szekvencia) kezelést sikeresnek találtuk. Az Acl-11 (65. számú szekvencia) terápiát azután az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) peptiddel [ami egy Acl-11 (65. számú szekvencia) analóg] végzett kezeléssel hasonlítjuk össze, ami nagyobb affinitással és stabilitással kötődik az A^uA^u-hoz [Wraith, D.C. és munkatársai; Fairchild, P.J. és mtsai: Int. Immunol. 5, 1151 (1993)]. A bejelentők meglepő módon azt találták, hogy az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) száz-szor kisebb dózisban hatékony mint az Acl-11 (65. számú szekvencia), és terápiás hatása hosszabb, ami azt mutatja, hogy a kiválasztott módosított peptidek is alkalmazhatók a terápiás készítményben. A jelen találmány szerzői emellett igazolták, hogy a vizsgált Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) peptid *in vivo* stabil peptid-MHC komplexeket képez a kezelt egerekben. Ez azt mutatja, hogy a módosított peptidek, amelyek *in vivo* stabil peptid-MHC komplexeket képeznek, nagyon valószínű, hogy megfelelő peptidek lehetnek emberek kezelésére is, mivel erősségük erősen megnövelhető konzervatív aminosav cserékkel [Karin és mtsai: J. Exp. Med. 180, 2227-2237 (1994)]. A jelen találmány szerzői azt is felfedezték, hogy az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) MBP peptid-analóg visszafordítja az éppen lezajló

bénulást, ha az EAE akut fázisában adjuk be, és megelőzi a visszaeséseket, ha a remisszió idején adjuk be. Ez azt mutatja, hogy a kiválasztott módosított peptidek és a kiválasztott peptid-analógok visszafordítják az aktív tüneteket és megelőzik a visszaeséseket a szklerózis multiplexben szenvedő betegeknél.

A humán betegségnek egy másik modelljében a jelen találmány szerzői intravénás peptid-kezelést kezdtek az EAE fellépése után és egy akut fázisban. Elég meglepő módon ez a terápia visszafordítja az éppen zajló betegséget, ha az akut fázis idején adjuk be. Ez a megfigyelés első a maga nemében. A korábban mások által végzett kísérletek során a peptid terápiát akkor kezdték, amikor a kezelési csoportban levő egerek még nem mutatták az EAE jeleit, az immunizálás előtt, vagy legkésőbb a betegség megkezdődése előtt. Például Gaur és munkatársai kísérletében 13 egérből álló csoportot kezeltek MBP-nek betegséget provokáló mennyiségével. Ha a 13 egérből csak egy mutatta a betegség minimális jeleit, azaz egy egérnek volt 1-es klinikai értékszáma (lásd a 2. példát, amiben az egerek klinikai értékelését tárgyaljuk), akkor a csoportból hét egeret injekcióztak intraperitoneálisan MBP peptid-keverékkel. A többi hat egér, amelyek közül az egyik az az állat, amelyik a betegség jeleit mutatja, nem kapott további kezelést. Ebben az esetben azoknál az egereknél, amelyek nem mutatják a betegség klinikai tüneteit, Gaur és munkatársai nem képesek használható következtetéseket levonni adataikból. Egy alacsony, 1-es klinikai értékszám jelenléte egy egérben nem értelmezhető úgy, hogy aktív kóros folyamat zajlik le bármelyik másik egérben. Ennek

megfelelően Gaur és munkatársai a betegség fellépése előtti, illetve még pontosabban a betegség klinikai tünetei előtti kezelést írnak le. Ezzel szemben, ahhoz hogy jól használható legyen emberek szklerózis multiplex megbetegedésének kezelésére használt klinikai felállásban, egy terápiának akkor is hatékonynak kell lennie, ha a jóval kóros folyamat megkezdődése után kezdjük el. A megfelelő humán terápia modelljeként a jelen találmány szerzői egereket 250 nmol Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) peptiddel kezeltek, és a kezelést az EAE akut fázisának megkezdése után indították. Az 5. ábrán láthatjuk ennek a terápiának a hatását. A terápiát egyenként indítottuk minden egyes egérben, mielőtt az egér az EAE kezdeti jeleit mutatta. Az egereket az EAE kifejlődése után osztottuk be az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) peptid-terápiás csoportba, illetve a három kontroll csoport egyikébe (nincs kezelés, PBS, vagy az OVA 323-337 A^uA^u-kötő peptid (70. számú szekvencia)). A 9. ábrán látható, hogy az éppen folyó EAE Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) való kezelése drasztikus változásokat eredményez a betegség értékszámaiban, a peptid injekciózása utáni 48 órán belül. Az EAE majdnem teljesen eltűnt ezekből a kezelt egerekből a betegség megindulása utáni negyedik napon, és egy 18 napos peptid-terápia hatásai prolongálódtak.

Egy másik meglepő fejlemény, hogy a jelen találmány szerzői felfedezték, hogy az EAE remissziós fázisában indított peptid-terápia megelőzi a visszaeséseket. A humán betegség modelljeként az EAE-t használva, amint azt az előzőekben jeleztük, a (PLJ x SJL)F1 egerekben visszaeső EAE fejlődik ki MBP-vel

végzett immunizáció után [Fritz, R.B. és mtsai: J. of Immunol. 130, 1024 (1983)]. Az EAE általában az immunizáció után 9-16 nappal fejlődik ki, és ebben a modellben a betegség akut fázisa körülbelül 3-20 napig tart. Az egerek húsz vagy több százaléka elpusztulhat vagy haldokolhat az akut fázis során, a betegségnek a kísérletben létrejött súlyosságától függően. Az akut fázis túlélőinek legnagyobb része azután egy rövid remissziós fázisba kerül, néhány napig nem mutatva klinikai tüneteket, vagy csak nagyon enyhe klinikai tüneteket mutatva. Néhány kísérletben mindegyik egér körülbelül egyidőben kerül remissziós fázisba (lásd 5. ábra), de a legtöbb esetben a betegség akut fázisának hossza ennél sokkal változóbb. A remissziós fázist egy első visszaesési fázis követi, aminek súlyossága általában megfelel a betegség akut fázisa súlyosságának. Ezt követően a túlélő egerekben reziduális krónikus bénulás alakul ki, ami a kísérlet lezárásáig megmarad.

Az egér modellben az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) peptid egy nagyon jelentős terápia, ha az EAE remissziós fázisában kezdjük el. Ahhoz hogy vizsgáljuk az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) kapacitását az EAE visszaesések megelőzésében, megfigyeltük az egereket a bénulásuk kezdeti időszakában, ami 3-19 napig tart. Ahogy a túlélő egerek egyenként belépnek a remissziós periódusba (amit úgy definiálunk, hogy a klinikai értékszámuk legalább két napig 1 vagy 0), váltakozva két csoportba osztjuk őket és intravénás terápiát indítunk 25 nmol Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) peptiddel, vagy kontrollként PBS-sel. Az egereket egyenként

kezeljük a remissziós fázisuk második napjától kezdődően. A 10. ábrán látható, hogy az EAE remissziós fázisának kezdetétől végzett Ac1-11[4Y] (67. számú szekvencia) intravénás kezelés drasztikusan csökkenti a visszaesés gyakoriságát és súlyosságát, ami azt mutatja, hogy az intravénás peptid-terápia hatékony lehet akkor is, ha a betegség késői fázisában kezdjük meg.

Az intravénás peptid-terápia mechanizmusát nem tisztáztuk még teljesen, jóllehet korábban számos más antigén-rendszerben azt jósolták, hogy egy antigén peptid intravénás beadása az immunizáció előtt antigén-specifikus válaszképtelenséget indukál az immunrendszerben. A szklerózis multiplex betegeken végzett terápiás beavatkozás életképességének további indikációjaként a jelen találmány szerzői intravénásan adtak be enkefalitogén peptidet vagy peptid-analógot, és azt találták, hogy csökkenti az *in vitro* nyirokmirigy szaporodást és interleukin-2 termelődést. Az egereket intravénásan kezeljük 250 nmol MBP Ac1-11-gyel (65. számú szekvencia) az MBP fehérjével végzett immunizálás előtt. A 11a. ábrán az ezekből az egerekből származó nyirokmirigy választ mutatja, az immunizálást követő 10. napon. Ha az immunizálás előtt adjuváns nélkül intravénásan előkezelünk az immundomináns Ac1-11 (65. számú szekvencia) MBP peptiddel, akkor ez csökkenti az Ac1-11 (65. számú szekvencia) MBP-re adott *in vitro* szaporodási T-sejt választ. Hasonló eredményeket kapunk, ha az egereket az Ac1-11[4Y] (67. számú szekvencia) MBP peptid-analóggal intravénásan előkezeljük (nem közölt adatok). Emellett az Ac1-11 MBP-re (65. számú szekven-

cia) válaszként adott nyirokmirigy interleukin-2 termelést meg lehet előzni Acl-11[4Y]-gyel (67. számú szekvencia) végzett intravénás előkezeléssel (11b. ábra). Az eredmények megerősítik, hogy az Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) vagy az Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) végzett intravénás előkezelés T-sejt válaszképtelenséget indukál az Acl-11 MBP ellen (65. számú szekvencia).

Tehát a jelen találmány szerzői vizsgálták az intravénás MBP peptidekkel és peptid-analógokkal végzett kezelés hatékonyságát visszaeső EAE kezelésében, és számos lényeges megfigyelést tettek. Először, és valószínűleg ez a legfontosabb, egy autoimmun betegség egyetlen autoantigén peptiddel végzett kezelése hatékony lehet, még akkor is, ha a betegség tüneteinek megjelenése után végezzük. Az egerek értékelésére használt specifikus betegség-tüneteket az alábbi példákban ismertetjük. Az EAE előrehaladott állapotának azt tekintjük, ha az átlagos klinikai értékszám 2 vagy magasabb. Az eredmények azt mutatják, hogy az intravénás MBP peptidek zavarják az autoaggresszíven beindított sejtek enkefalitogén aktivitását, még azután is, hogy az agy-vér gátat leromboltuk és a központi idegrendszerbe limfociták szűrődnek be. Egyszer sem fordult elő, hogy a megfigyelt peptidek aktiválták, súlyosbították vagy növelték az éppen lezajló betegséget, még ideiglenesen sem. Az akut fázis fellépése után kezelt EAE a terápia megkezdése után néhány nappal visszafordult, jóllehet először a kezelt egerek súlyosan érintődtek. A hisztológiai vizsgálatok megerősítették, hogy egy peptidre adott klinikai

válasz korrelál az agyba és gerincvelőbe való limfocita beszűrődés erős csökkenésével. Emellett, amint azt az alábbiakban tárgyaljuk, az Acl-11[4Y] MBP (67. számú szekven-
cia) intravénás beadása hatékony, még az MBP-vel való immunizálás utáni harmincadik napon kezdve is, az EAE remissziós fázisában. Tehát még egyszer megfigyeltük, hogy a kezelés megkezdése a betegség egy láthatóan nyugodt fázisában nem vezetett súlyosbodáshoz, hanem inkább teljesen megelőzte a legenyhébb visszaesések kivételével az összes visszaesést. Ez az eredmény különösen érdekes, mivel bizonyíték van arra, hogy számos különböző MBP epitop felismerése az MBP-re adott immunválasz késői fázisában játszódik le, és úgy gondoljuk, hogy ezek az epitopok hozzájárulhatnak a betegséghez [Lehmann, P.V. és mtsai: Nature 358, 155 (1992)]. A jelen találmányban azt állítjuk, hogy ha a peptidet a betegség nagyon korai időszakában adjuk be, akkor ez megelőzheti az ezekre az epitopokra adott késői immunválaszt. Azt azonban meg kell jegyeznünk, hogy egyetlen MBP analóg is hatékonyan megelőzi a visszaeséseket, ha az EAE súlyos akut fázisának elmúlása után adjuk, ha az MBP-re és valószínűleg más mielin antigénre adott immunválasz már előrehaladt.

A jelen találmány gyakorlati megvalósítása során egy hatékony terápiás ágens kiválasztását részesítjük előnyben, és ezt az előzőkben le is írtuk. Emellett a jelen találmány szerzői azt az elméletet dolgozták ki, hogy a legjobb peptidjelöltek kiválasztásához a természetes peptideknél az egyik kritérium, hogy *in vivo* stabil komplexeket képez a II-es

osztályba tartozó MHC-vel, magasabb T-sejt reaktivitás és MHC-kötő aktivitás. Pontosabban, a bejelentők megvizsgálták azt az MBP peptid analógot, amely *in vivo* stabil komplexeket képez a II-es osztályba tartozó MHC-vel és az EAE kezelésében hatékonyabb mint az Acl-11 (65. számú szekvencia). Korábban kimutattuk, hogy az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) nagyobb affinitással kötődik az A^uA^u-hoz, és az *in vitro* körülmények között az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) és az A^uA^u között képződő komplexek stabilabbak mint az Acl-11 (65. számú szekvencia) és az A^uA^u között képződött komplexek. Az Acl-11[4Y]-ről (67. számú szekvencia) is kimutattuk hogy megakadályozza az EAE-t, ha nagy dózisban belélegeztetjük az immunizálás előtt [Metzler, B. és mtsai: Int. Immunol. 5, 1159 (1993)]. A jelen találmányban leírjuk, hogy egy módosított MBP peptid analóg, az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) legalább 100-szor hatékonyabb terápiás ágens mint az MBP Acl-11 (65. számú szekvencia), és ritkábban kell beadni. Ez a fokozott hatékonyság egy olyan terápiás szert eredményez, amely egyszerre hatékonyabb és a gyakorlatban jól használható. A jelen találmány szerzői megfigyelték, hogy a Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) intravénás beadása (de az Acl-11-é nem (65. számú szekvencia)) *in vivo* stabil peptid-MHC komplexek képződését eredményezi. Az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) javított hatékonyságáról az a véleményünk, hogy a stabil peptid-MHC komplexek képződésével áll kapcsolatban. Ezek a komplexek kimutathatók a lépsejteken, egy MBP Acl-11 (65. számú szekvencia)-specifikus hibridómát alkalmazva az injekciózás után maximum tíz órán belül. Ennek

megfelelően az a véleményünk, hogy a stabil peptid-MHC komplexek kialakulása lehet egy ilyen hatékony peptid előfeltétele. Meglepő módon az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) *in vivo* terápiás hatása még sokkal azután is jelen van, hogy a peptid-MHC komplexek már nem mutathatók ki a lépsejteken (lásd a 6a. és 9. ábrát). Az valószínű, hogy a peptid-MHC komplexek antigén-specifikus funkcionális terápiás egységeket képeznek, amik hosszantartó hatást fejtenek ki az enkefalitogén T-sejtekre, és ezek azután is megmaradnak, hogy a komplexek már nem mutathatók ki *in vivo*. Az nem ismert, hogy vajon az ilyen komplexek a hatásukat periferiálisan fejtik ki vagy a központi idegrendszerben. Ha a központi idegrendszerben működnek, akkor a komplexek ott jöhetnek létre, vagy a komplexeket hordozó sejtek vándorolnak az agy-vér gáton keresztül.

A jelen találmány tárgyát képezik a szklerózis multiplex kezelésére szolgáló módszerek, amik abból állnak, hogy legalább egy T-sejt aktivitással rendelkező MBP peptidet adunk be egy kezelési eljárás során, ami még magában foglalja az interferon- β hatékony mennyiségét is.

Az alábbiakban ismertetett munka eredményeképpen felfedeztük, hogy legalább egy, egy mielin antigénből (azaz például MBP-ből) származó peptid és az IFN- β kombinációja, ha egy kezelési eljárás során beadjuk, akkor szinergisztikus hatással rendelkezik (12c. ábra), ami meglepő módon eltünteti az EAE klinikai tüneteit egerekben, és ez a hatás sokkal nagyobb mint az a hatás amit külön-külön beadva fejtenek ki az EAE tünetek csillapítására (12a-b. ábrák), és ami nagyobb

annál, mint ami várható lenne a peptid és az interferon- β hatásának egyszerű összegzése alapján.

Mivel az EAE szolgál egér-modelleként a humán szklerózis multiplexhez, és különböző mielin antigénekkal indukálható (azaz például PLP-vel, MBP-vel, MOG-vel), ezért az várható, hogy hasonló hatás figyelhető meg emberekben is. Emiatt a jelen találmány tárgya eljárás szklerózis multiplexben szenvedő betegek, vagy olyan emberek kezelésére, akik érzékenyek lehetnek a szklerózis multiplex kifejlődésére, azzal jellemezve, hogy a jelen találmány szerinti készítményből hatékony mennyiséget adunk be, amely készítmény legalább egy, egy mielin antigénből származó, T-sejt aktivitással rendelkező peptidet tartalmaz nem-immunogén formában, egy olyan kezelési eljárás keretében, ami tartalmazza az interferon- β beadását is. Az előnyben részesített kombinációk közé tartoznak azok a találmány szerinti készítmények, amelyek a korábbi ismertetések alapján MBP peptideket tartalmaznak, valamint MBP peptideket MOG peptidekkel kombinálva tartalmaznak, egyidőben vagy időben egymás után beadott interferon- β -val.

Egy, a találmány szerinti készítmény beadása, amely készítmény legalább egy, egy mielin antigén T-sejt aktivitásával rendelkező peptidet tartalmaz, egy olyan kezelési eljárás keretében, aminek során interferon- β -t is beadunk, a beadás és a dózis méretének kialakítása során ismert eljárásokat alkalmazva, azzal a céllal, hogy hatékonyan csökkentsük, elimináljuk vagy megelőzzük a szklerózis multiplexhez kapcsolódó tüneteket. Akármelyik peptidnek vagy az interferon- β -

nak a hatásos mennyisége, ha együtt adjuk be őket egy terápiás kezelési eljárás során, az előzőekben ismertetett faktoroktól függően változik. Az aktív vegyületek (azaz például az MBP peptid vagy készítményei és az interferon- β) szokásos módon adhatók be, azaz például injekciózással (szubkután, intravénás, stb.), orálisan, belégzés útján, transzdermális módszerrel vagy rektális úton, amint azt az előzőekben tárgyaltuk.

Injekcióval például előnyösen körülbelül 1 μ g-3 mg, még előnyösebben körülbelül 20-500 μ g, egy mielin antigénből származó peptid adható be egy egységdózisban. Előnyösen 100-10000 egység interferon- β -t tartalmazó egységdózis adható be injekciózással. Ennek a két vegyületnek a dózistartománya változtatható, hogy az optimális terápiás választ kapjuk. Például az interferon- β -t és egy, a jelen találmány szerinti készítményt beadhatjuk egyidőben, vagy előnyösen legalább hatórás eltéréssel, előnyösen 12 órás eltéréssel, még előnyösebben 24 órás eltéréssel. Mind az egészség peptidnek mind az interferon- β -nak a beadási eljárása több napig vagy hétig folytatódhat, és csökkenthető illetve növelhető, amint azt a terápiás helyzet igényei megszabják.

A jelen találmány tárgyát képezi egy új készítmény, ami egy mielin antigénből, azaz például MBP-ből vagy MOG-ből származó, T-sejt aktivitással rendelkező peptid és interferon- β fizikai keverékét tartalmazza egy gyógyászatilag elfogadható hordozóban vagy hígítóanyagban. Ezt a készítményt egy terápiás

kezelés során alkalmazhatjuk egy egyedben a szklerózis multiplex kezelésére vagy megelőzésére.

Egyéb autoimmun betegségeket, azaz például az I-es típusú diabeteszt és a reumás arthritist úgy tekintik, mint egy autoantigén elleni, antigén-specifikus T-sejt által közvetített válasz eredményét. A T-sejt által közvetített autoimmun betegségek kezelésének különböző megközelítései közé tartozik a teljes autoantigének vagy az azokból származó, T-sejt epitopot tartalmazó autoantigének beadása egy betegnek, azzal a céllal, hogy korlátozzuk az autoimmun betegség káros tüneteinek felelős, a T-sejtek által közvetített választ.

A mielin autoantigének mellett, amik szerepet játszanak a szklerózis multiplexben, számos antigénről (azaz autoantigénről) derült ki, hogy betegség-tüneteket okoznak egyéb autoimmun betegségekben, azaz például cukorbetegségben, Graves-kórban, izomsorvadásban, Jópásztor szindrómában, pszoriázisban, tiroiditiszben és reumás arthritiszben (autoantigének például: inzulin, Rh-faktor, acetilkolin receptorok, tirod sejt receptorok, bazális membránfehérjék, tirod fehérjék, ICA-69 (PM-1), glutaminsav-dekarboxiláz (64K vagy 65K), proteolipid, II-es típusú kollagén, hősokkfehérje és karboxipeptidáz H). Az a véleményünk alakult ki, hogy az imént ismerttetethez hasonló készítmények és eljárások használhatók autoimmun betegségek, azaz például a reumás arthritisz, cukorbetegség, izomsorvadás, Grave féle betegség, Jópásztor szindróma, pszoriázis és tiroiditisz kezelésére, aholis a betegségért felelős antigén egy fehérje antigén.

Számos, az előzőkben említett autoantigén esetében azonosítottunk és izoláltunk T-sejt aktivitással és meghatározott aminosav szekvenciával rendelkező, és előnyösen legalább egy T-sejt epitopot tartalmazó és/vagy T-sejt válaszképtelenséget vagy csökkent T-sejt válaszképességet indukáló peptideket. A WO 94/07520 bejelentésben leírtak olyan peptideket, amelyekről azt gondolják, hogy képesek korlátozni az oldható II-es típusú kollagént, egy olyan fehérjére, amelyről azt gondolják, hogy a reumás arthritisben autoantigén szerepet játszik, adott antigén-specifikus választ. A WO 92/06704 bejelentésben leírják az inzulin azon peptidjeinek azonosítására szolgáló módszereket, amelyekről azt gondolják, hogy T-sejt epitopokat tartalmaznak, és amelyek jól használhatók lehetnek a jelen találmány szerintivel analóg készítményekben és eljárásokban, amiket az I-es típusú diabetesz kezelésében lehet használni. Emellett egy olyan antigénre vagy autoantigénre, amelyről feltételezhető, hogy felelős az előzőkben említett betegségek valamelyikéért, azonosíthatók a megfelelő T-sejt epitopot tartalmazó peptidek, az előzőkben említett bármelyik eljárás alkalmazásával, valamint azokban a példákban, amelyekben egy fehérje autoantigén peptidjeit tartalmazó T-sejt epitopot azonosítottunk. Ha egyszer egy ilyen T-sejt epitopot tartalmazó peptidet azonosítottunk a megcélzott autoantigénhez, akkor ezek a peptidek használhatók a szklerózis multiplex kezelésére ismertetett készítményekkel és módszerekkel analóg módszerekben és készítményekben.

A találmányt az alábbi, nem korlátozó jellegű példákon keresztül ismertetjük.

1. Példa

A mielin bázikus fehérjére és peptidekre adott szklerózis multiplex immunválasz tanulmányozása humán populációban, valamint terápiás alkalmazásra megfelelő MBP peptidek kiválasztása

Peptidszintézis

A peptideket standard Fmoc/tBoc kémiával szintetizáljuk, majd fordított fázisú HPLC-vel tisztítjuk. A 3. ábrán az ezekben a vizsgálatokban használt MBP peptidek láthatók. A peptidek neve vagy az aminosav csoportok végig konzisztensek.

Protokoll: Humán PBL elemzése abból a szempontból, hogy milyen a reaktivitása az MBP-vel és az MBP peptidekkel

A PBL-eket friss periferiális vérmintákból tisztítjuk (körülbelül 75 cm^3), amiket 222, szklerózis multiplexben szenvedő betegből vettünk, Ficoll gradiens felhasználásával. A mikrotiter tenyészeteket 2×10^5 PBL per luk és 5% humán AB szérummal, penicillin-sztreptomocinnal és L-glutaminnal kiegészített RPMI 1640-ben levő $10 \mu\text{g/ml}$ tisztított humán MBP-vel indítjuk. A tenyészeteket interleukin-2-vel (20 egység/ml) és interleukin-4-gyel (5 egység/ml) egészítjük ki a 6-7. napon. 11-13 nap elteltével a mikrotiter lemezeket mossuk, újra szuszpendáljuk friss közegben, majd 12 új mikrotiter lukba osztjuk szét. Autológ fagyasztott PBL-eket adunk hozzájuk antigén-bemutató sejtekként 5×10^5 PBL per luk mennyiségben.

Az átvizsgáló antigéneket két párhuzamosban adjuk az egyes mikrotiter tenyészetekből származó 12 párhuzamos lukhoz. Negatív kontrollként mindig a közeget használjuk, pozitív kontrollként tisztított humán rekombináns MBP-t használunk 10 µg/ml koncentrációban. Mindegyik betegnek vizsgáljuk a reaktivitását is maximum 4 MBP peptiddel, mindegyiket 10 µg/l koncentrációban. 48 óra elteltével a reakcióelegyet 0,75 µCi ³H-timidinnel impulzus-jelezzük, majd 6-16 órás jelzés után kinyerjük.

A tenyészeteket az alábbi kritériumok alapján tartjuk pozitívnak az egyes peptidekre: 3.0-nál nagyobb serkentési index, 500 vagy annál nagyobb változás a cpm-ben, és az átlagos standard hiba kisebb mint a változás a cpm-ben. Emellett az elemzés céljára a tenyészeteket csak akkor tartjuk "peptid-pozitívnak", ha mind az MBP-re mind a peptidre reagálnak, és ha nem reagálnak egynél több átfedő peptiddel. Az egyes peptidekkel való reaktivitást minimum 19 és maximum 43 betegnél vizsgáljuk.

Eredmények:

A mikrotiter tenyészeteknek átlagosan 6%-a bizonyult pozitívnak MBP reaktivitásra az egyes betegeknel (a tartomány 0-37 pozitív tenyészet per beteg). Legalább egy mikrotiter tenyészet bizonyult pozitívnak MBP reaktivitásra a betegek 77%-ánál, ezeket a betegeket tekintettük "MBP-re reagálóknak". A MBP-re való reagálás nem mutatott összefüggést a nemmel, a szklerózis multiplex kategóriájával (RR vs. CP), a HLA-DR típussal, a korral, vagy azzal, hogy a beteg szedett-e vagy sem Betaseront.

16 húsztagú MBP peptidet vizsgáltunk (3. ábra), amelyek 10 aminosavban fedik át egymást, és a teljes humán MBP szekvenciát lefedik (18,5 kDa izoforma). Két további hosszabb peptidet is megvizsgáltunk (MBP 83-105 (5. számú szekvencia) és MBP 141-165 (14. számú szekvencia), 3. ábra). Az MBP peptid reaktivitását azután azoknak az MBP pozitív mikrotiter tenyészetek aránya alapján számítjuk, amelyek az egyik MBP peptidre is pozitívnak bizonyultak. Négy peptid egyenként 10%-ban okozta az össz-MBP reaktivitást (MBP 11-30 (2. számú szekvencia), MBP 81-100 (23. számú szekvencia), MBP 83-105 (5. számú szekvencia) és MBP 141-165 (14. számú szekvencia)). Emellett ezekkel a peptidekkel szemben tanúsított reaktivitást a vizsgált MBP-re reagáló szklerózis multiplex betegeknek legalább egyharmadában ki lehetett mutatni. Emellett az MBP-re reagáló betegeknek 77%-a mutat reaktivitást az MBP 83-105-re (5. számú szekvencia) vagy az MBP 141-165-re (14. számú szekvencia), vagy mindkét peptidre.

A négy peptid közül az MBP 141-165 (14. számú szekvencia) bizonyult a legreakcióképesebbnek, ez a teljes MBP válasz 21%-áért felelős, és a vizsgált MBP-re reagáló betegek 64%-ában lehet kimutatni. Az MBP 141-165 (14. számú szekvencia) láthatóan magában foglalja a mind az MBP 141-160-ból (28. számú szekvencia) mind az MBP 151-170-ből (29. számú szekvencia) származó T-sejt epitopokat, és meglepő módon lényegesen több reaktivitást mutat mint a két húsztagú peptid. Az MBP 81-100 (23. számú szekvencia) és az MBP 83-105 (5. számú szekvencia) szekvenciája nagyon hasonlít egymásra, és valószínűleg hasonló,

ha nem azonos T-sejt epitopokat tartalmaznak. Ezek azoknak a régióknak felelnek meg, amelyekről korábban azt gondolták, hogy a HLA-DR2 haplotípussal vannak kapcsolatban. A mi eredményeink azt mutatják, hogy mind a DR2 mind a nem-DR-2 szklerózis multiplex betegek jó reaktivitást mutatnak ezekkel a peptidekkel. Az MBP 11-30 (2. számú szekvencia) a peptid-reaktivitásnak egy olyan területe, amiről korábban nem gondolták, hogy a szklerózis multiplex betegekben gyakran felismerésre kerül.

Mindegyik másik MBP peptid az össz-MBP reaktivitásnak kevesebb mint 5%-áért volt felelős, és a vizsgált MBP-re reagáló betegeknek kevesebb mint 20%-ában volt kimutatható (lásd a 4a. és 4b. ábrákat). Ebben a peptidcsoportban a legnagyobb reaktivitást az MBP 111-130-cal (12. számú szekvencia) tapasztaltuk, ami az MBP reaktivitás 4,5%-áért felelős, és a vizsgált MBP reagálóknak 19%-ában található meg.

Az előnyben részesített MBP peptidek kiválasztása

Az előnyben részesített MBP peptideket két kritérium alapján választottuk ki:

1. A jelölt peptidekre reagáló szklerózis multiplex betegek száma (a vizsgált betegeknek legalább 75%-a, akik reagálnak a legalább egy peptidnél felismert fehérje antigénre).
2. A T-sejt válasz nagysága a jelölt peptidekre a szklerózis multiplex betegekben (a jelölt peptidekre adott válasz az antigénre adott válasz 40%-ának felel meg).

Az MBP 83-105 (MBP-2 (5. számú szekvencia)) és az MBP 141-165 (MBP-4 (14. számú szekvencia)) megfelel az első kritériumnak (az MBP-re reagálók 77%-a egyet vagy kettőt felismer közülük) (lásd az alábbi 1. táblázatot). Ez a két peptid együttesen az MBP reaktivitásnak a 32%-áért felelős (lásd az alábbi 2. táblázatot).

1. Táblázat

Az MBP-2-re (5. számú szekvencia) és az MBP-4-re (14. számú szekvencia) való reagálóképesség: Elemzés egyedenként

A reagáló egyedek szá- zaléka	MBP-2-re	MBP-4-re	MBP-2-re és/vagy MBP- 4-re
Az MBP-re reagálók között	11/31 [35,5%]	20/31 [64,5%]	24/31 [77,4%]

2. táblázat

Az MBP-2-re (5. számú szekvencia) és az MBP-4-re (14. számú szekvencia) való reagálóképesség: Elemzés T-sejt vonalanként

Az MBP-pozi- tív vonalak százaléka	MBP pozitív és MBP-2	MBP pozitív és 141-165	MBP pozitív és MBP-2 vagy MBP-4
Az MBP pozi- tív vonalak között	20/184 [10,95%]	39/184 [21,1%]	59/184 [32,1%]

Tehát az MBP 11-30 (2. számú szekvencia) hozzáadása megfelel a kritériumoknak, mivel a három peptid együttesen az MBP reaktivitás 42%-ának felel meg. Az MBP 111-130 (MBP-3 (12. számú szekvencia)) is megfelelő lehet előnyös peptidként, terápiás felhasználás céljára, főleg az MBP-1-gyel (2. számú szekvencia), MBP-2-vel (5. számú szekvencia) és az MBP-4-gyel (14. számú szekvencia) való kombinációban. Az MBP 81-100 (23. számú szekvencia) ekvivalensnek tűnik az MBP 83-105-tel (5. számú szekvencia) és ez is használható egyéb kiválasztott peptidekkel együtt.

2. Példa

A peptidek beadása emlősöknek, a szklerózis multiplex modelljeként szolgáló EAE kezelésére

A peptidek szintézise

A peptideket automata peptid-szintetizátorral szintetizáljuk (ABI 430A Applied Biosciences, Foster City, CA), standard 9-fluorenilmetoxikarbonil kémia alkalmazásával. A peptideket nagynyomású folyadékkromatográfiával tisztítjuk, és az aminosav-összetételt igazoltuk. A kiválasztott peptid-szekvenciák az alábbiak: MBP Ac-1-11 (65. számú szekvencia) ASQKRPSQRHG; MBP Ac1-11[4A] (66. számú szekvencia) ASQARPSQRHG; MBP Ac1-11[4Y] (67. számú szekvencia) ASQYRPSQRHG; MBP 31-47 (68. számú szekvencia) RHRDTGILDSIGRFFSG; Ova 323-339 (69. számú szekvencia) ISQAVHAAHAEINEAGR; és Ova 323-337 (70. számú szekvencia) ISQAVHAAHAEINEA.

MBP tisztítás

Az MBP-t tengerimalacok gerincveleijéből tisztítjuk [Keystone Biologicals, Cleveland, OH), Smith, M.E. módszerének módosításával [Smith, M.E.: J. Neurochem. 16, 83 (1969)]. Röviden, az MBP-t extraháljuk az izolált membránból, kloroform és metanol alkalmazásával, kálium-citráttal kicsapjuk, savval extraháljuk majd liofilezzük. Ennek az anyagnak az SDS-PAGE elemzése kiderítette, hogy egy fő csík található a várt 18,5 kDa-nak megfelelő molekulasúlynál.

EAE indukció, értékelés és peptid-terápia

Az EAE-t a Jackson Laboratory-tól (Bar Harbor, ME) beszerzett (PLJ x SJL)F1 egerekben indukáljuk. Amikor az egerek elérik a 8-14 hetes kort, akkor az EAE-t 50-100 µg, komplett Freund féle adjuvánsban (Gibco Laboratories, Grand Island, NY), amit még 400 µg per egér *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra-val egészítettünk ki (Difco Laboratories, Detroit, MI) emulgeált MBP-vel indukáljuk. 200 ng számarköhögés toxint (JRH Biosciences, Lenexa, KS) adunk be intravénásan az immunizálással egyidőben, valamint 48 órával később. Az egereket a klinikai tünetek alapján értékeljük, az alábbi skála alkalmazásával: 1: farokbénulás; 2: a hátsó végtag részleges bénulása; 3: a hátsó végtag teljes bénulása; 4: az első végtag bénulása; 5: haldoklik vagy halott. Az 5-ös értékű egereket eutanizáljuk. A halál után az egereket kizárjuk az átlagos kli-

nikai érték további számításából. A peptideket intravénásan adjuk be, amint azt az egyes alábbi példákban ismertetjük.

A nyirokmirigy szaporodási és interleukin-2 termelődési vizsgálatokban lágyéktáji és para-aorta nyirokmirigy limfocita szuszpenziókat készítünk az előzőek szerint EAE indukcióra immunizált egerekből (a számarköhögés toxint nem tesszük bele a szaporodási kísérletekbe). A limfocitákat kerekaljú mikrotiter lemezekben tenyésztjük 5×10^5 per luk koncentrációban MBP peptidekkel és 0,5% friss normál egérszérummal, penicillin-sztrep-tomicinnal, L-glutaminnal és 5×10^{-5} mol/l β -merkaptoetanol kiegészített RPMI 1640 közegben. A szaporodási vizsgálat tenyészetét 16 óra hosszat impulzus-jelezzük ^3H -timidinnel, egy 72-órás inkubálást követően. Az interleukin-2 vizsgálatoknál a tenyészet felülúszókat 24 óra után nyerjük ki, majd vizsgáljuk azt a képességüket, hogy segítik-e az interleukin-2 dependens HT2 sejtvonal növekedését. Ahhoz, hogy az interleukin-2 termelődést meg tudjuk különböztetni az interleukin-4 termelődéstől, HT2 biológiai vizsgálatokat végeztünk a 11.B.11 monoklonális ellenanyagot tartalmazó 10%-os tenyészet felülúszó jelenlétében [O'Hara, J. és mtsai: Nature 315, 333 (1985)], ami gátolja a HT2 sejtek interleukin-4 alapú szaporodását.

A 9. ábrán látható eredmények azt mutatják, hogy az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) a bénulás fellépése után visszafordítja az EAE-t. Az EAE-t MBP-vel indukáljuk 14 egérből álló csoportban. A terápiát minden egyes egérben külön kezdjük, az EAE klinikai tüneteinek kifejlődése után. Az adatokat minden

egyes egér esetében a terápia megkezdéséhez viszonyítva ábrázoljuk (1. nap = a klinikai tünetek fellépése minden egyes egéرنél). Az egereket a betegség 1., 4., 11. és 18. napján intravénásan kezeljük PBS-sel (üres kör), 250 nmol/l Ac1-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) (fekete négyzetek), vagy 250 nmol/l Ova 323-337-tel (70. számú szekvencia) (fekete körök). Egy további kontrollcsoport nem kapott kezelést (üres négyzetek). A kis keresztek azokat az egereket jelzik, amelyek elpusztultak, vagy az 5-ös fokozatú EAE miatt leöltük őket. A kezeletlen csoportnál az MMS értéke 4,6 volt, a mortalitás pedig 64%. A PBS-sel kezelt csoportban az MMS 4,4 volt, a mortalitás pedig 35%. Az Ova 323-337-tel (70. számú szekvencia) kezelt csoportnál az MMS 4,2 volt, a mortalitás pedig 21% volt. Az Ac1-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) kezelt csoportban az MMS 3,2 volt, a mortalitás pedig 7% volt.

A 10. ábrán az látható, hogy az Ac1-11[4Y] (67. számú szekvencia) megelőzi az EAE visszaeséseket, ha a betegség remissziós fázisában adjuk be. Az EAE-t MBP-vel indukáljuk. A terápiát minden egyes egérben egyenként kezdjük meg, a remisszió második napján, az EAE kezdő epizódja után. Az adatokat minden egyes egérben a megkezdéshez viszonyítva ábrázoljuk (1. nap = a remisszió második napja). A 6-7 túlélő egérből álló csoportokat intravénásan kezeljük a remisszió kezdete után az 1., 4., 7. és 18. napon, PBS-sel (üres körök) vagy 25 nmol/l Ac1-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) (fekete körök). A kis keresztek az egyes elpusztult, vagy az 5-ös fokozatú EAE miatt elpusztított egereket jelzi. A betegségnek a

remisszió előtti kezdő epizódjai 3-18 napig tartottak (az átlag 9 nap mindkét csoportnál). A kezdő epizódban az MMS hasonló volt mindkét egércsoportnál (3,0 az PBS-sel kezelt csoportnál és 3,9 az Ac1-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) kezelt csoportban). A PBS-sel kezelt csoportban az MMS 4,1 volt, a mortalitás pedig 33%. A peptiddel kezelt csoportban a kezelés után az MMS 0,3 volt, a mortalitás pedig 0% volt.

A 11. ábráról látható, hogy az Ac1-11 (65. számú szekvencia) vagy az Ac1-11[4Y] (67. számú szekvencia) T-sejt válaszképtelenséget indukál.

- a. 3-4 egérből álló csoportokat intravénásan kezelünk vagy PBS-sel (fekete körök) vagy 250 nmol Ac1-11-gyel (65. számú szekvencia) (fekete háromszögek), a 150 µg MBP-vel végzett immunizálás előtt 10-5 nappal. Az MBP Ac1-11-gyel (65. számú szekvencia) végzett nyirokmirigy szaporodási vizsgálatot a 9. napon végezzük. A kontrollok a következők voltak: PBS előkezelés PPD 108277/közeg 1855, és Ac1-11 (65. számú szekvencia) előkezelés PPD 88499/ közeg 1335.
- b. 4 egérből álló csoportokat kezelünk vagy PBS-sel vagy 250 nmol/l Ac1-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia), tíz vagy öt nappal a 150 µg MBP-vel végzett immunizálás előtt. A nyirokmirigyek interleukin-2 termelési vizsgálatait 150 µmol/l Ac1-11-gyel (65. számú szekvencia) vagy 17 µmol/l Ac1-11[4Y]-vel (67. számú szekvencia) végezzük a 10. napon.

3. Példa

A peptid beadása előrehaladott állapotban

Visszaeső EAE fejlődik ki (PLJ x SJL)F1 egerekben MBP-vel végzett immunizálás után [Fritz, R.B. és mtsai: J. of Immunol. 130, 1024 (1983)], ami ezt az EAE modellt ideálissá teszi a terápiás beavatkozás vizsgálatára. Jóllehet az MBP Acl-11 (65. számú szekvencia) az immundomináns enkefalitogén a (PLJ x SJL)F1 egerekben, az MBP 31-47 (68. számú szekvencia) szubdomináns epitop is enkefalitogén ebben a törzsben. Annak meghatározásához, hogy ezek közül az enkefalitogén peptidek közül egyre vagy mindkettőre szükség van-e az MBP-vel indukált EAE kezeléséhez, a 2. példában ismertetett lépéseket követjük, azzal az eltéréssel, hogy az egércsoportokat a betegség előrehaladott állapotában vagy MBP Acl-11 (65. számú szekvencia) és MBP 31-47 (68. számú szekvencia) elegyével kezeljük, vagy csak Acl-11-gyel (65. számú szekvencia), intravénás injekció formájában. A kontroll egércsoportokat intravénás PBS injekcióval, vagy az Ova 323-339 (69. számú szekvencia) kontroll peptiddel kezeljük, ami egy A^uA^u-kötő peptid, ami nem rokona az MBP-nek és nem immunogén a (PLJ x SJL)F1 egerekben.

Az 5. ábráról látható, hogy az MBP Acl-11 (65. számú szekvencia) ismételt intravénás injekciózása vagy önmagában (5a. ábra), vagy MBP 31-47-tel (68. számú szekvencia) kombinálva (5b. ábra) csökkenti az EAE előfordulásának gyakoriságát, súlyosságát és mortalitását. A két peptiddel való kezelés valamivel hatékonyabbnak tűnt mint a csak az MBP Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) való kezelés, ami összhangban mások

előzőekben említett megfigyeléseivel. Az egereket hat intravénás peptid injekcióval kezeltük az akut fázisban és az első visszaesési fázisban. Az egerek sorsát azután a 125. napig követtük, a krónikus, remittáló fázisban, és nem láttunk arra bizonyítékot, hogy a betegség később előfordul az MBP-vel kezelt csoportban (nem közölt adatok). Az Ova 323-339 (69. számú szekvencia) kontroll peptidnek nincs hatása a betegségre, ha intravénásan adjuk be (5c. ábra). Egy külön kísérletben az MBP 31-47 (68. számú szekvencia) önmagában való intravénás beadása nem volt hatásos az EAE kezelésében (nem közölt adatok). Az 5a., 5b. és 5c. ábrák mutatják az egerek MBP-vel indukált EAE-je intravénás kezelésének hatékonyságát. Az EAE-t MBP-vel indukáljuk az előzőekben említettek szerint, 11-16 egérből álló csoportokban. Az egereket az egyes peptidekből 250 mmol/l koncentrációval kezeljük, a 9., 12., 15., 21., 29. és 37. napon. A kis keresztek, az összes ábránál alkalmazott módon itt is az elpusztult, vagy az 5-ös fokozatú EAE miatt elpusztított egereket jelentik. A PBS-sel kezelt kontroll-csoportot fekete körök jelzik. Az eredmények azt mutatják, hogy az MBP immundomináns enkefalitogén peptidje mind szükséges mind elégséges az MBP-vel indukált EAE kezelésére (PLJ x SLJ)F1 egerekben, amit a kezelt egerekben az EAE súlyosságának és mortalitásának csökkenése jelez.

4. Példa

Az Acl-11 (65. számú szekvencia) többszörös intravénás injekciózása

A 2. példában ismertetett preparálási lépések után az Acl-11-ből (65. számú szekvencia) több injekciót készítettünk. A peptidből a 9. napon beadott egy injekció két nappal késlelteti a betegséget és a mortalitást 100%-ról 63%-ra csökkenti, de végül mindegyik kezelt egérben súlyos EAE fejlődik ki (nem közölt adatok). Az EAE akut fázisában a peptid három injekciója eleinte hatékonyan kezeli a betegséget, azonban a visszaesési fázisban a kezelt egerek csoportjában későn fellépő betegség fejlődik ki (nem közölt adatok). Az eredmények összességükben azt mutatják, hogy az MBP peptidek többszörös intravénás injekciójára szükség van az EAE akut és első visszaesési fázisában az MBP-vel indukált betegség (PLJ x SLJ)F1 egerekben való kezeléséhez. Tehát az Acl-11 (65. számú szekvencia) többszörös injekciójára van szükség ahhoz, hogy a betegség súlyosságát hosszú ideig csökkentsük. A 6. ábráról látható, hogy a Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) az EAE-t alacsonyabb dózisban kezeli mint az Acl-11 (65. számú szekvencia), és hosszabb hatással van a betegségre. Az EAE-t MBP-vel indukáljuk 8-10 egérből álló csoportokban. A 6a. ábrán a 12. és 15. napon intravénásan PBS-sel (foszfáttal pufferelt sóoldat) (üres körök), 250 nmol/l Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) (fekete körök) vagy 250 nmol/l Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) (üres háromszögek) kezeljük. A PBS-sel kezelt egereknél az MMS 4,4, a mortalitás 60% volt. Az Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) kezelt egereknél az MMS 3,9, a mortalitás 37,5% volt. Az Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) kezelt egereknél az MMS 2,1, a mortalitás 0% volt. A 6b. ábrán a 12., 15., 18., 21., 24. és

27. napon intravénásan vagy PBS-sel (üres körök) vagy 2,5 nmol/l Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) (fekete körök) kezelt egerek láthatók. A PBS-sel kezelt egereknél az MMS 2,9, a mortalitás pedig 20% volt. A peptiddel kezelt egereknél az MMS 4,3, a mortalitás 50% volt.

5. Példa

Egy MBP peptid analóggal való kezelés, amely in vivo stabil komplexeket képez a II-es osztályú MHC-vel

Mivel a peptid-MHC komplexek azok a funkcionális terápiás egységek, amik az EAE-t kezelik, ezért a jelen találmány szerzői azt gondolják, hogy az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) sokkal hatékonyabb lesz az aktív MBP-vel indukált EAE kezelésében mint az Acl-11 (65. számú szekvencia). Ennek a hipotézisnek az ellenőrzéséhez a 2. példában alkalmazott lépéseket alkalmazzuk, azzal az eltéréssel, hogy az injekciózások időbeosztását és dózisát megváltoztattuk. A 6a. ábráról látható, hogy az Acl-11[4Y]-nek (67. számú szekvencia) csak két injekciója a betegség korai fázisában beadva hosszabb hatást eredményez mint az Acl-11 (65. számú szekvencia) két injekciója. Emellett a 6b. ábráról látható, hogy az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) ismételt intravénás beadása nagyon hatékonyan kezeli az EAE-t 2,5 nmol/l dózisban (6c. ábra). Ezekután hisztológiai tesztek végeztünk. Hisztológiai metszeteket készítünk az EAE agyakból és gerincvelőkből, majd hematoxilinnal és eozinnal festjük (CVD, Inc., West Sacramento, CA). A metszeteket a gyulladásos beszűrődések alapján

értékeljük, az értékelő nem ismeri a metszet eredetét. Az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) hatékonyságát peptiddel és PBS-sel kezelt egerekből származó agyak és gerincvelők hisztológiai vizsgálata alapján határozzuk meg, ami azt mutatja, hogy a peptiddel kezelt egerekben jelentősen csökkent a gyulladásos központi idegrendszeri beszűrődések száma és súlyossága (7. ábra). A 7. ábráról látható, hogy az Acl-11[4Y]-gyel (67. számú szekvencia) kezelt egerekben csökkent a gyulladásos beszűrődés. Az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) javult hatékonysága nyilvánvaló volt.

Az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) javult hatékonysága nyilvánvaló volt az előzőekben említett példában. A jelen találmány szerzői szerint *in vivo* stabil peptid-MHC komplexek jönnek létre az A^uA^u és az intravénásan injekciózott Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) között, ezáltal alakul ki a jobb hatékonyság. Ezek az *in vivo* kialakult komplexek az 1934-es hibridómával mutathatók ki, ami egy enkefalitogén MBP-specifikus T-sejt klónból származik. Az előző, 2. példában ismertetett lépéseket hajtjuk végre, azzal az eltéréssel, hogy az injekciós időket és a mennyiségeket változtatjuk meg, az alábbiak szerint. A 1934-es T-sejt hibridóma specifikus az MBP-Acl-11-re (65. számú szekvencia), Wraith, D.C. és munkatársai leírása szerint [Wraith, D.C. és mtsai: Cell 59, 247 (1989)]. Röviden, a hibridóma sejteket 5×10^4 per luk mennyiségben laposfenekű mikrotiter lemezekre inkubáljuk MBP peptidokkal vagy analógokkal. Antigén-bemutató sejtként 5×10^5 , 3000 raddal besugárzott (PLJxSJL)F1 lépsejtet adunk a lukakhoz. A közeg ugyanaz, mint

amit a nyirokmirigy szaporodási vizsgálatokban alkalmaztunk, azzal az eltéréssel, hogy a normál egérszérum helyett 10% borjúmagzat szérummal egészítettük ki. A felülúszókat 24 óra elteltével gyűjtjük össze, és vizsgáljuk, hogy képesek-e támogatni a HT2 sejtek növekedését. Ezekután 250 nmol/l Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) végzett injekciózás után különböző időpontokban eltávolítjuk a lépeket az egerekből, majd a szplenocitákat használjuk antigén-bemutató sejtekként az Acl-11 specifikus 1934 hibridómához. Nem adunk további peptidet a tenyészetekhez. A 8. ábráról látható, hogy azok a lépsejtek, amiket *in vivo* Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) "impulzus-jeleztünk", nagyon hatékonyan aktiválják az 1934 hibridómát. A hibridóma aktiválásának kapacitása az injekciózás után két órával maximális, majd azután az injekciózás után 4-6 órával elkezd csökkenni. Az aktiválás az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) injekció után tíz órával a legkisebb, majd 20 óra elteltével már nincs jelen (nem közölt adatok). Amint az a 8. ábráról látható, az Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) végzett kísérletek nem mutatják a hibridóma aktiválását az injekciózott egerekből származó lépsejtekkel, még az injekciózás után egy órával sem (nem közölt adatok). Amint azt részletesebben bemutatjuk a 8. ábrán, az *in vivo* létrejött peptid-MHC komplexek kimutathatók Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) egerekben. 2 egérből álló csoportokat injekciózunk intravénásan 250 nmol/l Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia), a lépек eltávolítása előtt különböző időpontokban (1-10 óra). Az injekciózott egerekből származó szplenocitáknak vizsgáljuk azt a

kapacitását, hogy képesek-e úgy aktiválni az 1934 hibridóma sejteket, hogy azok interleukin-2-t termeljenek. Az eredményeket HT2 szaporodás alapján mutatjuk be. Az eredmények alátámasztják azt a feltételezést, hogy a stabil peptid-MHC komplexek *in vivo* hozzájárulnak egy terápiás MBP peptid-analóg hatékonyságához.

6. Példa

Egér MBP Acl-11 (65. számú szekvencia) szintézise

Az egér MBP Acl-11 (65. számú szekvencia) peptidet standard Fmoc/tBoc szintézissel állítjuk elő, majd HPLC-vel tisztítjuk. Az Acl-11 (65. számú szekvencia) peptid aminosav szekvenciája az alábbi:

Ala Ser Gln Lys Arg Pro Ser Gln Arg His Gly

1

5

10

EAE indukciója

Az EAE-t 6-8 hetes (SJLxPL)F1 nőstény egerekben indukáljuk (Jackson Labs, Bar Harbos, ME), az egereket a faroktőbe adott 100 µg tisztított tengerimalac MBP-vel (CFA-ban) immunizáljuk (GIBCO Lab., Grand Island, NY), ami 400 µg *Mycobacterium tuberculosis* H37R törzset (DIFCO Lab., Detroit, MI) tartalmaz. Az immunizálás napján kétszer, majd 48 órával később 200 ng szamárköhögés toxint (JHL BIOSCIENCE, Lenexa, Kansas) adunk be. Az egereket naponta megfigyeljük a betegség tünetei miatt, és a betegség súlyosságát Az alábbi skála alapján határozzuk meg: 0=nincs klinikai jele az EAE-nek, 1=béna, nem reagáló farok, 2=részleges hátsó végtag bénulás, 3=komplett hátsó végtag

bénulás, 4=részleges vagy teljes első végtag bénulás, 5=haldoklás. Az adatokat a naponta meghatározott betegség-súlyossági értékszám átlagában fejezzük ki. Az egereket 26 napig figyeljük meg. Amikor egy egér elpusztul EAE-ben, akkor minden utána következő napon 5-ös értékkel számolunk vele.

Az interferon- β hatása az EAE-re

A különböző dózisú interferon- β hatásainak meghatározására végzett titrálási kísérletben (13. ábra) egy egércsoportot PBS-sel kezelünk intraperitoneálisan az EAE indukció utáni 9., 13. és 16. napon (kontroll), egy másik egércsoportot 10000 egység interferon- β -val kezelünk a 9., 13. és 16. napon (üres körök), majd egy egércsoportot 210000 egység interferon- β -val kezelünk a 9., 13. és 16. napon (fekete körök). Amint az a 13. ábrán látható, az EAE tünetei minden egyes időpontban hasonlóak mindkét interferon- β dózis esetében, és ez azt mutatja, hogy az alacsonyabb dózis alkalmas az interferon- β -val végzett kísérletekhez, és ez az előnyben részesített dózis, mivel a nagyobb dózisú interferon- β -nál kisebb valószínűséggel okoz toxicitást. Ezután 2000 egység interferon- β -t használunk a 12a.-12c. ábrákon bemutatott kísérletekben, mivel ez a dózis javulást eredményez a klinikai értékszámban.

Amint az a 12a. ábráról látható, egy kontroll egércsoportot kezelünk PBS-sel, majd egy másik egércsoportot kezelünk 2000 egység interferon- β -val a 9., 12., 16. és 20. napon. Amint az a 12a. ábráról látható, az interferon- β -val

kezelt csoportban a megfigyelés során csak valamivel voltak enyhébbek a tünetek mint a kontroll-csoportban.

Az egér MBP Acl-11 (65. számú szekvencia) hatása az EAE-re

Meghatároztuk az egér MBP Acl-11 (65. számú szekvencia) peptid hatásait, és az eredményeket a 12b. ábrán mutatjuk be. Egy egércsoportot intraperitoneálisan kezelünk PBS-sel az EAE indukálása utáni 10., 13., 17. és 21. napon (kontroll), és egy egércsoportot 250 nmol/l Acl-11 (65. számú szekvencia) peptiddel kezelünk a 10., 13., 17. és 21. napon. Az egereket az előzőekben ismertetett módon figyeljük meg. Amint az a 12b. ábráról látható, az Acl-11-gyel (65. számú szekvencia) kezelt egereknek enyhébbek a tüneteik mint a kontroll-csoportnak.

Az Acl-11 (65. számú szekvencia) és az interferon- β kombinációjának hatása az EAE-re

Az Acl-11 (65. számú szekvencia) és az interferon- β kombinációjával végzett kezelések hatásait a 12c. ábrán mutatjuk be. Egy egércsoportot az EAE indukció után intraperitoneálisan kezelünk PBS-sel, majd egy egércsoportot intravénásan kezelünk 250 nmol/l Acl-11 (65. számú szekvencia) peptiddel a 10., 13., 17. és 21. napon (üres nyilak), majd intraperitoneálisan 2000 egység interferon- β -val kezeljük a 9., 12., 16. és 20. napon. Amint az a 12c. ábráról látható, a peptid és az interferon- β kombinációjával kezelt egércsoportban sokkal enyhébbek a tünetek mint a kontroll-csoportban, valamint ahhoz hasonlítva is, amit a csak az interferon- β -val vagy a csak a peptiddel kezelt

csoportnál figyelhetünk meg, amint az a 12a. és 12b. ábrákon látható, ezzel a kombináció szinergisztikus hatását mutatva. Ennek következtében egy olyan kezelési eljárás, aminek során a peptid és az interferon- β kombinációját használjuk, az EAE tüneteinek súlyosságát fokozottabban enyhíti.

7. Példa

Peptidek beadása, emlősöknek szklerózis multiplex modelljeként vizsgált, gerincvelő homogenizátummal (SCH) indukált EAE kezelésére

Peptidek szintézise

A peptidet automatozált peptidszintézissel állítjuk elő (ABI 430A, Applied Biosciences, Foster City, CA), standard 9-fluorenilmetilmetoxikarbonil kémia alkalmazásával. A peptideket nagynyomású folyadékkromatográfiával tisztítjuk, majd az aminosav-összetételüket igazoljuk. A kiválasztott peptidek a következők: MBP Ac1-11 (65. számú szekvencia) ASQKRPSQRHG; MBP Ac1-11[4A] (66. számú szekvencia) ASQARPSQRHG; MBP Ac1-11[4Y] (67. számú szekvencia) ASQYRPSQRHG; MBP 31-47 (68. számú szekvencia) RHRDTGILDSIGRFFSG; Ova 323-339 (69. számú szekvencia) ISQAVHAAHAEINEAGR; és Ova 323-337 (70. számú szekvencia) ISQAVHAAHAEINEA.

MBP tisztítás

Az SCH-t tengerimalacok gerincveleijéből tisztítjuk [Keystone Biologicals, Cleveland, OH], Smith, M.E. módszerének módosításával [Smith, M.E.: J. Neurochem. 16, 83 (1969)]. Az

SCH fehérjekeveréket liofilezzük, majd a szárazsúlyuk alapján használjuk.

EAE indukció, értékelés és peptid-terápia

Az EAE-t a Jackson Laboratory-tól (Bar Harbor, ME) beszerzett (PLJ x SJL)F1 egerekben indukáljuk. Amikor az egerek elérik a 8-14 hetes kort, akkor az EAE-t 50-100 µg, komplett Freund féle adjuvánsban (Gibco Laboratories, Grand Island, NY), amit még 400 µg per egér *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra-val egészítettünk ki (Difco Laboratories, Detroit, MI) emulgeált SCH-val indukáljuk. 200 ng szamárköhögés toxint (JRH Biosciences, Lenexa, KS) adunk be intravénásan az immunizálással egyidőben, valamint 48 órával később. Az egereket a klinikai tünetek alapján értékeljük, az alábbi skála alkalmazásával: 1: farokbénulás; 2: a hátsó végtag részleges bénulása; 3: a hátsó végtag teljes bénulása; 4: az első végtag bénulása; 5: haldoklik vagy halott. Az 5-ös értékű egereket eutanizáljuk. A halál után az egereket kizárjuk az átlagos klinikai érték további számításából. A peptideket intravénásan adjuk be, amint azt az egyes alábbi példákban ismertetjük.

A 16. ábrán látható eredmények azt mutatják, hogy az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) a bénulás fellépése után visszafordítja az EAE-t. Az EAE-t SCH-val indukáljuk 14 egérből álló csoportban. A terápiát minden egyes egérben külön kezdjük, az EAE klinikai tüneteinek kifejlődése után. Az adatokat minden egyes egér esetében a terápia megkezdéséhez viszonyítva ábrázoljuk (1. nap = a klinikai tünetek fellépése minden egyes

egérnél). Az egereket a betegség 1., 3., 6. és 9. napján intravénásan kezeljük PBS-sel (fekete négyzet), 250 nmol/l Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) (üres háromszög), vagy 250 nmol/l Ova 323-337-tel (70. számú szekvencia) (üres körök). A kis csillag azokat az egereket jelzi, amelyek elpusztultak, vagy az 5-ös fokozatú EAE miatt leöltük őket.

A 17. ábráról látható, hogy az Acl-11[4Y] (67. számú szekvencia) megakadályozza az EAE fellépését, ha azelőtt adjuk be, mielőtt a betegség tünetei fellépnek. Az EAE-t SCH-val indukáljuk. A terápiát minden egyes egérben külön indítjuk a betegség gpSCH-val való indukálása utáni nyolcadik napon. Az adatokat az egyes egyedek terápiájának megkezdéséhez viszonyítva ábrázoljuk. A túlélő egereket a 8., 10., 13. és 17. napon kezeljük 25 nmol/l Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) intravénásan (üres háromszögek) vagy szubkután (fekete körök). Egy csoport nem kapott kezelést (üres négyzetek).

A 16. és 17. ábrán bemutatott eredmények azt mutatják, hogy a beadásnak mindegyik módja hatékonyan megakadályozza a tünetek fellépését.

8. Példa

Ugyanazt az eljárást alkalmazzuk mint a 2. példában, azonban nem végzünk nyirokmirigy szaporodási és interleukin-2 termelődési vizsgálatokat. Az EAE-t a 0. napon indukáljuk gpMBP-vel, ezután Acl-11[4Y]-t (67. számú szekvencia) adunk három egércsoportnak a 8., 10., 13. és 17. napon. Az eredményeket grafikusán ábrázoljuk a 18. ábrán az intravénás beadás

esetében (üres háromszögek), szubkután injekciós beadás esetében (fekete körök) és egy kontrollcsoport esetében (üres körök). Az Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) való előkezelés (azaz a tünetek fellépése előtti kezelés) képes megelőzni a gpMBP-vel való EAE betegséget.

9. Példa

Humán MOG fehérjét kódoló cDNS

A MOG fehérjét kódoló humán cDNS előállítására végzett egyik első kísérletben egy humán cDNS könyvtárat polimeráz láncreakciónak (PCR) vetjük alá, a Gardinier és munkatársai által publikált, patkány MOG-ot kódoló szekvencia alapján tervezett 3' és 5' primereket használva. A humán MOG szekvencia nem állítható elő ily módon, feltehetően azért, mert a humán és patkány szekvenciák 5' és/vagy 3' végeinek nem elégséges a homológiája.

Ezért négy patkány belső oligonukleotidot terveztünk. Ezek közül kettő homológ a gén felső szálával (94-111-es és a 166-183-as (74. számú szekvencia), az egyes számú bázis az ATG-nél kezdődik), kettő pedig a gén alsó szálával homológ (538-555-ös (74. számú szekvencia) és a 685-702-es primerek). A 166-183-as (74. számú szekvencia) és az 538-555-ös (75. számú szekvencia) primerek kombinációja hatékonyan sokszorozza a humán agy cDNS könyvtár alapján várhatóan körülbelül 400 bázispár méretű fragmenst. Ezeknek a primereknek a szekvenciája az alábbi:

a) 166-183 : CAGAATCCGGAAGAATGCCACGGGC

(74. számú szekvencia) és

b) 538-555: CAGCGGCCGCACGGAGTTTCTCTCAG

(75. számú szekvencia).

Egy EcoRI hasítási hely található a 166-183-as primerben (74. számú szekvencia), és egy NotI hasítási hely található az 538-555 primerben (75. számú szekvencia).

A 400 bázispár méretű PCR terméket a pVL1393 expressziós vektorba klónozzuk, a pVL1393-at (Pharmlngen CA) EcoRI és NotI restrikciós endonukleázokkal emésztve, az amplifikált terméket is ezekkel a restrikciós endonukleázokkal emésztve, majd a kapott fragmenseket ligálva. Az inszerteket úgy ellenőrizzük, hogy a ligált plazmidokból származó klónokat EcoRI és NotI restrikciós endonukleázokkal emésztjük, majd a kapott 400 bázispár méretű humán MOG fragmenst szekvenáljuk. A kapott inszertről feltehetően hiányzik az 5' szekvenciából 184 bázispár, és a 3' szekvenciából 201 bázispár, a patkány nyitott leolvasási keret 738 bázispáros mérete alapján.

Két primert terveztünk a 400 bázispáros onszert alapján az alsó és felső szál 346-363-as pozíciója alapján, az alábbiak szerint:

5' -CAGAATTCTCAGGTTCTCAGATGAAGGA-3'

(76. számú szekvencia) és

5' -AAGCGGCCGCTATCCTTCATCTGAGAACCT-3'

(77. számú szekvencia),

amelyekben az első szálban egy EcoRI hasítási hely található, a második szálban pedig egy NotI hasítási hely található. A aláhúzott szekvenciák a MOG szekvenciának felelnek meg.

A humán MOG 346-363 felső és alsó primereit (76. és 77. számú szekvencia) használjuk az előzőekben említett 5' és 3' patkány primerekkel kombinálva, hogy amplifikáljuk az ugyanabból a humán agy cDNS-ből származó gén hiányzó 5' és 3' végeit, az előzőekben ismertetett módon. A gén 3' végének megfelelő PCR terméket kaptunk, de nem kaptunk megfelelő 5' véget.

A kapott 3' fragmens mérete a várt 400 bázispár, és ezt a fragmenst pVL1393-ba klónozzuk majd szekvenáljuk.

A gén 5' végének előállításához egy, a Clontech-től beszerzett humán csontvelő gt10 könyvtárat, amit korábban amplifikáltak, és titere 8×10^{10} pfu/ml, a gyártó által megadott leírás alapján vizsgálunk át. A könyvtárat 12 nagy lemezre szélesztjük, 30000 tarfolt/lemez koncentrációban, majd a tarfoltokat nitrocellulóz szűrőlapokra visszük át (2 replikalap/lemez). A 12 különböző lemezről készített 12 szűrőlapot egy ^{32}P -vel jelzett próbával hibridizáljuk, ami az elsőnek klónozott humán MOG belső 400 bázispáros fragmensének felel meg (184-534-es pozíció). Huszonkét erős pozitív klónt kaptunk. Minden egyes pozitív klónnak megfelelő telepet egy agardugó formájában eltávolítjuk az eredeti lemezekről, majd éjszakán át higító pufferrel inkubáljuk, hogy a fágot eluáljuk az agarból. A csövet centrifugáljuk, majd a felülúszót egy másik edénybe visszük át.

A DNS-t az egyes egyesített fágtenyészetekből amplifikáljuk, vagy egy SstII hasítási helyet tartalmazó gt10 előrevivő primert: 5'-CTTTTGAGCAAGTTCAGCCTGGTTAAG-3' (78. számú

szekvencia), vagy egy XhoI hasítási helyet tartalmazó gt10 reverz primert:

5' -ACCTCGAGGAGGTGGCTTATGAGTATTTCTTCCAGGGTA (79. számú szekvencia) használva, valamint egy humán MOG belső primer felső vagy alsó szálát használva:

5' -GGTGC GGGAAGGTGACTCTCAGGATCCGGAAT-3' (80. számú szekvencia)

vagy

5' -ATTCCGGATCCTGAGAGTCACCTTTCCCGCACC-3' (81. számú szekvencia).

A két utolsó primer (80. és 81. számú szekvencia) tartalmaz egy BamHI hasítási helyet (a szekvenciákban aláhúztuk), ami természetes körülmények között megtalálható a humán MOG szekvenciában.

A primereket négy különböző kombinációban alkalmazzuk: 1) forward felső/belső MOG alsó; 2) reverz alsó/belső MOG alsó; 3) belső MOG felső/reverz alsó; és 4) belső MOG felső/forward felső.

Az első két kombinációval kaptuk a gén 5' végét (a BamHI hasítási helyig), az utolsó két kombinációval pedig a gén 3' végét. Mind az 5' mind a 3' vég tartalmaz nem-transzklálódó régiókat. Az, hogy az egyes kombinációknak melyik két tagja eredményezi a kívánt fragmenst, az a gt10-be klónozott cDNS-ek orientációjától függ.

A kapott fragmensek mérete az egyik pool-ról a másikra változott. Az öt legnagyobb 5' fragmenst vagy 3' fragmenst az SK polilinker SstII és BamHI, vagy a BamHI és XhoI hasítási helyére szubklónozzuk. Minden egyes pool-ból három klónt azután szekvenálunk, hogy kizárjuk a PCR hibák jelenlétét. Így kapjuk

a gén kódoló régiójaak teljes szekvenciáját, valamint 174 bázispárt az 5' nem-transzlálódó szekvenciából.

A humán MOG gén 248 aminosavból álló preproteint kódol, aminek 87%-os homológiája van a patkányfehérje 246 aminosavával. Az érett fehérje 218 aminosavat tartalmaz. Az érett fehérje glicinnel kezdődik és a 248 aminosavas preproteinből származik, az 1-es pozícióban levő glicincsoportot megelőző MET startkodontól az alanin csoportig terjedő preszekvencia hasításával.

9A. ábra

A csonkított humán MOG expressziója SF-9 rovarsejtekben és *Escherichia coli*-ban

SF-9 expresszió

A humán MOG 1-121-es aminosavait (a 48. számú szekvencia első 121 aminosavát) kódoló csonkított humán MOG cDNSt tartalmazó PVL1393 transzfer vektort kotranszfektáljuk SF-9 sejtekbe, egy Baculogold linearizált Baculovirus DNS-sel (Pharmingen, San Diego, CA). A rekombináns vírust tartalmazó tenyészet felülúszót 4 nap elteltével nyerjük ki. A rekombináns vírust tarfolt-tisztításnak vetjük alá, majd 3 menetben amplifikáljuk hogy magas vírustiterű törzstenyészetet kapjunk. Azután AF-9 sejteket fertőzünk a vírus törzstenyészetrel 2,0 MOI-val. A fertőzött sejtekből származó felülúszót a fertőzés után 48 órával nyerjük ki, majd NiNTA agaróz oszlopra visszük. A rekombináns MOG fehérjét nem-denaturáló körülmények között eluáljuk,

250 mmol/l imidazolt használva erre a célra, 5%-os propionsavval és vízzel szemben dializáljuk, majd liofilezzük. A fehérje-koncentrációt BCA-val becsüljük meg. A tisztított MOG fehérjét Coomassie Blue-val festett 12,5%-os poliakrilamid gélen tesszük láthatóvá.

10. Példa

Csonkított humán MOG-ot (huMOG) állítunk elő a 9. és 9A. példában leírtak alapján. Az MBP-t (tengerimalac) az előzőkben ismertetett módon állítjuk elő. A 2. példában ismertetett eljárásokat ismertetjük, azzal az eltéréssel, hogy az EAE-t három külön egércsoportban indukáljuk 75 µg gpMBP-vel és 100 µg huMOG-gal (üres háromszögek), valamint 75 µg gp MBP és 100 µg huMOG kombinációjával (fekete négyzetek). A 19. ábrán látható grafikon a betegség lefolyását mutatja ennek a példának az eseteire. A mind MOG-gal mind MBP-vel indukált betegség sokkal súlyosabb mint az akármelyikkel egyedül indukált betegség. Az eredmények azt mutatják, hogy mind a MOG, mind az MBP hozzájárul a betegséghez.

11. Példa

A betegséget a 10. példában leírtak alapján indukáljuk, huMOG+gpMBP-t alkalmazva (0. nap = a betegség indukciója). Az egereket a tünetek fellépése előtt kezeljük 250 nmol/l Ac1-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) és kontrollként PBS-t használunk a 6., 8., 10., 13., 17., 22. és 27. napon (a kezelést nyilak jelzik). Amint az a 20. ábrán levő grafikonról látható,

az Acl-11[4Y]-nal (67. számú szekvencia) való kezelés (üres helyek) jelentősen csökkent az átlagos klinikai értékszámot a kontrollokhoz viszonyítva (fekete négyzetek).

A szakterületen jártas szakember számára nyilvánvaló, hogy rutin kísérletek elvégzésével a jelen találmány számos ekvivalense állítható elő. Ezek az ekvivalensek a jelen találmány oltalmi körébe tartoznak, és az alábbi igénypontokkal védjük.

Az alábbiakban ismertetjük a találmányban említett szekvenciák jegyzékét.

A SZEKVENCIÁK JEGYZÉKE

(1) ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓ:

(i) BENYÚJTÓ:

(A) NÉV:

Smilek, Dawn;

Samson, Michael F.;

Gefter, Malcolm;

Hsu, Di-Hwei;

Shi, Jia-Dong;

Paliard, Xavier;

Devaux, Brigitte;

Rothbard, Jonathan; és

Franzen, Henry M.

(ii) A TALÁLMÁNY CÍME: Szklerózis multiplex kezelésére szolgáló készítmények és kezelések

(iii) A SZEKVENCIÁK SZÁMA: 81

(iv) LEVELEZÉSI CÍM:

- (A) CÍMZETT: LAHIVE & COCKFIELD
- (B) UTCA: 60 State Street, Suite 510
- (C) VÁROS: Boston
- (D) ÁLLAM: Massachusetts
- (E) ORSZÁG: USA

(v) SZÁMÍTÓGÉPES FORMA:

- (A) A HORDOZÓ TÍPUSA: FLOPPY LEMEZ
- (B) SZÁMÍTÓGÉP: IBM PC KOMPATIBILIS
- (C) OPERÁCIÓS RENDSZER: PC-DOS/MS-DOS
- (D) PROGRAM: PATENTIN RELEASE #1.0, VERSION
#1.25

(vi) A JELENLEGI BENYÚJTÁS ADATAI:

- (A) A BENYÚJTÁS SORSZÁMA: PCT/US95/13682
- (B) A BENYÚJTÁS IDŐPONTJA: 1995. október 25.
- (C) OSZTÁLYOZÁS:

(vii) A KORÁBBI BENYÚJTÁS ADATAI:

- (A) A BENYÚJTÁS SORSZÁMA: US 08/404,228
- (B) A BENYÚJTÁS IDŐPONTJA: 1995. március 15.
- (A) A BENYÚJTÁS SORSZÁMA: US 08/328,224
- (B) A BENYÚJTÁS IDŐPONTJA: 1994. október 25.
- (A) A BENYÚJTÁS SORSZÁMA: US 08/300,811
- (B) A BENYÚJTÁS IDŐPONTJA: 1994. szeptember 1.
- (A) A BENYÚJTÁS SORSZÁMA: US 08/241,246
- (B) A BENYÚJTÁS IDŐPONTJA: 1994. május 10.
- (A) A BENYÚJTÁS SORSZÁMA: US 08/116,824
- (B) A BENYÚJTÁS IDŐPONTJA: 1993. szeptember 3.

(VIII) ÜGYVIVŐ/ÜGYNÖK INFORMÁCIÓ:

(C) REFERENCIA/LAJSTROMSZÁM: 094.2 PCT (IMI-052C2PC)

(B) TELEFAX: (617) 227-5941

1. számú szekvenciavázlat

(D) Topológia: lineáris

(xi) A szekvencia leírása: 1. számú szekvencia

Arg Thr Ala His Tyr Gly Ser Leu Pro Gln Lys Ser His Gly Arg Thr

65		70		75		80
Gln Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro						
		85		90		95
Arg Thr Pro Pro Pro Ser Gln Gly Lys Gly Arg Gly Leu Ser Leu Ser						
		100		105		110
Arg Phe Ser Trp Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly Tyr Gly						
		115		120		125
Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys Ser Ala His Lys Gly Phe Lys Gly Val						
		130		135		140
Asp Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe Lys Leu Gly Gly Arg Asp						
145		150		155		160
Ser Arg Ser Gly Ser Pro Met Ala Arg Arg						
		165		170		

2. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 2. számú szekvencia

Gly	Ser	Lys	Tyr	Leu	Ala	Thr	Ala	Ser	Thr	Met	Asp	His	Ala	Arg	His
1					5					10					15

Gly Phe Leu Pro

20

3. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 19 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 3. számú szekvencia:

Gly Ser Lys Tyr Leu Ala Thr Ala Ser Thr Met Asp His Ala Arg His

1 5 10 15

Gly Phe Leu

4. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 21 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 4. számú szekvencia

Gly Ser Lys Tyr Leu Ala Thr Ala Ser Thr Met Asp His Ala Arg His

1 5 10 15

Gly Phe Leu Pro Arg

20

5. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 23 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 5. számú szekvencia

Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr

1 5 10 15

Pro Pro Pro Ser Gln Gly Lys

20

6. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 24 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 6. számú szekvencia

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg
 1 5 10 15

Thr Pro Pro Pro Ser Gln Gly Lys
 20

7. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 23 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 7. számú szekvencia

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg
 1 5 10 15

Thr Pro Pro Pro Ser Gln Gly
 20

8. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:

- (A) Hossz: 19 aminosav
- (B) Típus: aminosav
- (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 8. számú szekvencia

Thr Gln Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr
 1 5 10 15

Pro Arg Thr

9. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 21 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 9. számú szekvencia

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg
 1 5 10 15

Thr Pro Pro Pro Ser

20

10. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 25 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 10. számú szekvencia

Thr Gln Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr
 1 5 10 15

Pro Arg Thr Pro Pro Pro Ser Gln Gly
 20 25

11. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 23 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 11. számú szekvencia

Thr Gln Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr
 1 5 10 15

Pro Arg Thr Pro Pro Pro Ser

20

12. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 12. számú szekvencia

Leu Ser Arg Phe Ser Trp Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly
 1 5 10 15

Tyr Gly Gly Arg
 20

13. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 19 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 13. számú szekvencia

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

(xi) A szekvencia leírása: 15. számú szekvencia

Pro Ser Gln Gly Lys Gly Arg Gly Leu Ser Leu Ser Arg Phe Ser Trp

1 5 10 15

Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe

20 25

16. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 16. számú szekvencia

Ala Ser Gln Lys Arg Pro Ser Gln Arg His Gly Ser Lys Tyr Leu Ala

1 5 10 15

Thr Ala Ser Thr

20

17. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 17. számú szekvencia

Met Asp His Ala Arg His Gly Phe Leu Pro Arg His Arg Asp Thr Gly

1

5

10

15

Ile Leu Asp Ser

20

18. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 18. számú szekvencia

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

1

5

10

15

Gly Asp Arg Gly

20

19. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 19. számú szekvencia

Ile Gly Arg Phe Phe Gly Gly Asp Arg Gly Ala Pro Lys Arg Gly Ser

1 5 10 15

Gly Lys Asp Ser

20

20. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 20. számú szekvencia

Ala Pro Lys Arg Gly Ser Gly Lys Asp Ser His His Pro Ala Arg Thr

1 5 10 15

Ala His Tyr Gly

20

21. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 21. számú szekvencia

His	His	Pro	Ala	Arg	Thr	Ala	His	Tyr	Gly	Ser	Leu	Pro	Gln	Lys	Ser
1				5					10					15	

His	Gly	Arg	Thr
			20

22. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 22. számú szekvencia

Ser	Leu	Pro	Gln	Lys	Ser	His	Gly	Arg	Thr	Gln	Asp	Glu	Asn	Pro	Val
1				5					10					15	

Val	His	Phe	Phe
			20

23. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 23. számú szekvencia

Gln Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro
 1 5 10 15

Arg Thr Pro Pro
 20

24. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 24. számú szekvencia

Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro Pro Ser Gln Gly Lys Gly
 1 5 10 15

Arg Gly Leu Ser

20

25. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 25. számú szekvencia

Pro Ser Gln Gly Lys Gly Arg Gly Leu Ser Leu Ser Arg Phe Ser Trp

1

5

10

15

Gly Ala Glu Gly

20

26. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 26. számú szekvencia

Gln Arg Pro Gly Phe Gly Tyr Gly Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys Ser
 1 5 10 15

Ala His Lys Gly
 20

27. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 27. számú szekvencia

Ala Ser Asp Tyr Lys Ser Ala His Lys Gly Phe Lys Gly Val Asp Ala
 1 5 10 15

Gln Gly Thr Leu
 20

28. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 28. számú szekvencia

Phe Lys Gly Val Asp Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe Lys Leu

1 5 10 15

Gly Gly Arg Asp

20

29. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 29. számú szekvencia

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

1 5 10 15

Met Ala Arg Arg

20

30. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 19 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 30. számú szekvencia

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg

1 5 10 15

Thr Pro Pro

31. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 13 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 31. számú szekvencia

Lys Tyr Leu Ala Thr Ala Ser Thr Met Asp His Ala Arg

1 5 10

32. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 11 aminosav

(B) Típus: aminosav

- (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 32. számú szekvencia

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn
 1 5 10

33. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 15 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 33. számú szekvencia

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro
 1 5 10 15

34. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 16 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris

- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 34. számú szekvencia

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg
1 5 10 15

35. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 17 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 35. számú szekvencia

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg
1 5 10 15

Thr

36. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 13 aminosav
 - (B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 36. számú szekvencia

Val His Phe Phe Ala Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro

1 5 10

37. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 18 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 37. számú szekvencia

Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr

1 5 10 15

Pro Pro

38. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 19 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 38. számú szekvencia

Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr

1 5 10 15

Pro Pro Pro

39. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 14 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 39. számú szekvencia

Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg

1 5 10

40. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

- (A) Hossz: 17 aminosav
- (B) Típus: aminosav
- (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 40. számú szekvencia

Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro
 1 5 10 15

Pro

41. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 16 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 41. számú szekvencia

Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro
 1 5 10 15

42. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 42. számú szekvencia

Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro Pro

1 5 10 15

Ser Gln Gly Lys

20

43. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 13 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 43. számú szekvencia

Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro

1 5 10

44. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 13 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 44. számú szekvencia

His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro

1

5

10

45. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 12 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 45. számú szekvencia

His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro

1

5

10

46. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 19 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 46. számú szekvencia

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg
1 5 10 15

Thr Pro Tyr

47. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 25 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 47. számú szekvencia

Leu Ser Arg Phe Ser Trp Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly
1 5 10 15

Tyr Gly Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys

20

25

48. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 19 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 48. számú szekvencia

Arg Pro Gly Phe Gly Tyr Gly Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys Ser Ala

1

5

10

15

His Lys Gly

49. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 32 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 49. számú szekvencia

Lys Gly Phe Lys Gly Val Asp Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe
 1 5 10 15

Lys Leu Gly Gly Arg Asp Ser Arg Ser Gly Ser Pro Met Ala Arg Arg
 20 25 30

50. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 25 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 50. számú szekvencia

Lys Gly Val Asp Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe Lys Leu Gly
 1 5 10 15

Gly Arg Asp Ser Arg Ser Gly Ser Pro
 20 25

51. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 27 aminosav
 - (B) Típus: aminosav

- (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 51. számú szekvencia

Lys Gly Val Asp Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe Lys Leu Gly
 1 5 10 15

Gly Arg Asp Ser Arg Ser Gly Ser Pro Met Ala
 20 25

52. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 15 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 52. számú szekvencia

Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe Lys Leu Gly Gly Arg Asp
 1 5 10 15

53. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:

- (A) Hossz: 18 aminosav
- (B) Típus: aminosav
- (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 53. számú szekvencia

Ile Phe Lys Leu Gly Gly Arg Asp Ser Arg Ser Gly Ser Pro Met Ala
 1 5 10 15

Arg Arg

54. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 13 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 54. számú szekvencia

Gly Gln Phe Arg Val Ile Gly Pro Arg His Pro Ile Arg
 1 5 10

55. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 13 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 55. számú szekvencia

His Ser Tyr Gln Glu Glu Ala Ala Met Glu Leu Lys Val
 1 5 10

56. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 121 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 56. számú szekvencia

Gly Gln Phe Arg Val Ile Gly Pro Arg His Pro Ile Arg Ala Leu Val
 1 5 10 15

Gly Asp Glu Val Glu Leu Pro Cys Arg Thr Ser Pro Gly Lys Asn Ala
 20 25 30

Thr Gly Met Glu Val Gly Trp Tyr Arg Pro Pro Phe Ser Arg Val Val
 35 40 45

His Leu Tyr Arg Asn Gly Lys Asp Gln Asp Gly Asp Gln Ala Pro Glu
 50 55 60

Tyr Arg Gly Arg Thr Glu Leu Leu Lys Asp Ala Ile Gly Glu Gly Lys
 65 70 75 80

Val Thr Leu Arg Ile Arg Asn Val Arg Phe Ser Asp Glu Gly Gly Phe
 85 90 95

Thr Cys Phe Phe Arg Asp His Ser Tyr Gln Glu Glu Ala Ala Met Glu
 100 105 110

Leu Lys Val Glu Asp Pro Phe Tyr Trp
 115 120

57. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 57. számú szekvencia

Gly Gln Phe Arg Val Ile Gly Pro Arg His Pro Ile Arg Ala Leu Val
 1 5 10 15

Gly Asp Glu Val

20

58. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 58. számú szekvencia

Pro Ile Arg Ala Leu Val Gly Asp Glu Val Glu Leu Pro Cys Arg Ile

1 5 10 15

Ser Pro Gly Lys

20

59. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 59. számú szekvencia

Glu Leu Pro Cys Arg Ile Ser Pro Gly Lys Asn Ala Thr Gly Met Glu

1 5 10 15

Val Gly Trp Tyr

20

60. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 60. számú szekvencia

Asn Ala Thr Gly Met Glu Val Gly Trp Tyr Arg Pro Pro Phe Ser Arg

1 5 10 15

Val Val His Leu

20

61. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 61. számú szekvencia

Thr Val Gly Leu Val Phe Leu Cys Leu Gln Tyr Arg Leu Arg Gly Lys

1

5

10

15

Leu Arg Ala Glu

20

62. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 20 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 62. számú szekvencia

Tyr Arg Leu Arg Gly Lys Leu Arg Ala Glu Ile Glu Asn Leu His Arg

1

5

10

15

Thr Phe Asp Pro

20

63. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 63. számú szekvencia

Ile Glu Asn Leu His Arg Thr Phe Asp Pro His Phe Leu Arg Val Pro
1 5 10 15

Cys Trp Lys Ile
20

64. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 20 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 64. számú szekvencia

Tyr Asn Trp Leu His Arg Arg Leu Ala Gly Gln Phe Leu Glu Glu Leu
1 5 10 15

20

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 11 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 65. számú szekvencia

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 11 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 66. számú szekvencia

Ala Ser Gln Ala Arg Pro Ser Gln Arg His Gly

1 5 10

67. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 11 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 67. számú szekvencia

Ala Ser Gln Tyr Arg Pro Ser Gln Arg His Gly

1 5 10

68. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 17 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 68. számú szekvencia

Arg His Arg Asp Thr Gly Ile Leu Asp Ser Ile Gly Arg Phe Phe Ser
1 5 10 15

Gly

69. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 17 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 69. számú szekvencia

Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu Ile Asn Glu Ala Gly
1 5 10 15

Arg

70. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 15 aminosav
 - (B) Típus: aminosav
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 70. számú szekvencia

Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu Ile Asn Glu Ala

1 5 10 15

71. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 24 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topológia: lineáris

(ii) A molekula típusa: peptid

(v) Fragmenstípus: belső

(xi) A szekvencia leírása: 71. számú szekvencia

Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Ala Asn Ile Val Thr Pro Arg

1 5 10 15

Thr Pro Pro Pro Ser Gln Gly Lys

20

72. számú szekvenciavázlat

(i) A szekvencia jellemzői:

(A) Hossz: 12 aminosav

(B) Típus: aminosav

- (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: peptid
- (v) Fragmenstípus: belső
- (xi) A szekvencia leírása: 72. számú szekvencia

His Phe Phe Ala Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro
1 5 10

73. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 18 bázispár
 - (B) Típus: nukleinsav
 - (C) Száltípus: egyszálú
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: cDNS
- (xi) A szekvencia leírása: 73. számú szekvencia

GAAAGGCTCC ACACACCG 18

74. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 26 bázispár
 - (B) Típus: nukleinsav
 - (C) Száltípus: egyszálú
 - (D) Topológia: lineáris

- (ii) A molekula típusa: cDNS
- (xi) A szekvencia leírása: 74. számú szekvencia

CAGAATCCGG GAAGAATGCC ACGGGC

26

75. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 28 bázispár
 - (B) Típus: nukleinsav
 - (C) Száltípus: egyszálú
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: cDNS
- (xi) A szekvencia leírása: 75. számú szekvencia

CAGCGGCCGC ACGGAGTTTT CCTCTCAG

28

76. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 28 bázispár
 - (B) Típus: nukleinsav
 - (C) Száltípus: egyszálú
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: cDNS
- (xi) A szekvencia leírása: 76. számú szekvencia

CAGAATTCTC AGGTTCTCAG ATGAAGGA

28

77. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 30 bázispár
 - (B) Típus: nukleinsav
 - (C) Száltípus: egyszálú
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: cDNS
- (xi) A szekvencia leírása: 77. számú szekvencia

AAGCGGCCGC TATCCTTCAT CTGAGAACCT

30

78. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 27 bázispár
 - (B) Típus: nukleinsav
 - (C) Száltípus: egyszálú
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: cDNS
- (xi) A szekvencia leírása: 78. számú szekvencia

CTTTTGAGCA AGTTCAGCCT GGTAAAG

27

79. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 39 bázispár
 - (B) Típus: nukleinsav
 - (C) Száltípus: egyszálú
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: cDNS
- (xi) A szekvencia leírása: 79. számú szekvencia

ACCTCGAGGA GGTGGCTTAT GAGTATTCT TCCAGGGTA

39

80. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:
 - (A) Hossz: 33 bázispár
 - (B) Típus: nukleinsav
 - (C) Száltípus: egyszálú
 - (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: cDNS
- (xi) A szekvencia leírása: 80. számú szekvencia

GGTGCGGAA AGGTGACTCT CAGGATCCGG AAT

33

81. számú szekvenciavázlat

- (i) A szekvencia jellemzői:

- (A) Hossz: 33 bázispár
- (B) Típus: nukleinsav
- (C) Száltípus: egyszálú
- (D) Topológia: lineáris
- (ii) A molekula típusa: cDNS
- (xi) A szekvencia leírása: 81. számú szekvencia

ATTCCGGATC CTGAGAGTCA CCTTTCCCGC ACC

33

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Készítmény szklerózis multiplex kezelésére emlősbén, amely legalább egy peptidet tartalmaz, és az említett peptidet az alábbi peptidcsoportból választhatjuk: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), mindegyik peptid a 2. ábrán látható képletnek felel meg, illetve ezeknek a módosításai vagy analógjai vagy peptidomimetikumai.

2. Az 1. igénypont szerinti készítmény, amely legalább egy peptidet tartalmaz az alábbi csoportból: MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia), mindegyik peptid a 2. ábrán látható képletnek felel meg.

3. Az 1. igénypont szerinti készítmény, amelyben a legalább egy peptid az MBP-4 (14. számú szekvencia).

4. Készítmény szklerózis multiplex kezelésére emlősbén, amely legalább egy MBP eredetű peptidet tartalmaz, az alábbi csoportból választhatóan: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9.

számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), mindegyik peptid a 2. ábrán látható képletnek felel meg, és az említett készítmény az MBP T-sejt reaktivitásának legalább 40%-ával rendelkezik, MBP-re reagáló T-sejtekkel rendelkező egyedek populációjában.

5. Készítmény szklerózis multiplex kezelésére emlősben, amely legalább két MBP peptidet tartalmaz az alábbi csoportból: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), mindegyik peptid a 2. ábrán látható képletnek felel meg.

6. Az 5. igénypont szerinti készítmény, amelyben az említett legalább két peptidet az alábbi csoportból választjuk ki: MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia), mindegyik peptid a 2. ábrán látható képletnek felel meg.

7. Az 5. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy az említett legalább két peptid tartalmazza az MBP-4-et.

8. Az 5. igénypont szerinti készítmény, amely tartalmaz még egy peptidet az alábbi aminosav szekvencia csoportból: 13-

25 (31. számú szekvencia), 31-50 (18. számú szekvencia), 61-80 (21. számú szekvencia), 82-92 (32. számú szekvencia); 82-96 (33. számú szekvencia); 82-97 (34. számú szekvencia), 82-98 (35. számú szekvencia), 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 83-100 (37. számú szekvencia), 83-101 (38. számú szekvencia), 84-97 (39. számú szekvencia), 84-100 (40. számú szekvencia), 85-100 (41. számú szekvencia), 86-105 (42. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), 88-100 (44. számú szekvencia), 88-99 (45. számú szekvencia), 111-135 (47. számú szekvencia), 122-140 (48. számú szekvencia), 139-170 (49. számú szekvencia), 141-160 (28. számú szekvencia), 142-166 (50. számú szekvencia), 142-168 (51. számú szekvencia), 146-160 (52. számú szekvencia), és 153-170 (53. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán látható állapotában.

9. Az 5. igénypont szerinti készítmény, amely tartalmaz még legalább egy peptidet az alábbi peptidcsoportból: 13-25 (31. számú szekvencia); 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia); 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), mindegyik a 14. ábrán látható állapotában.

10. Készítmény szklerózis multiplex kezelésére egy emlősben, amely legalább két MBP eredetű peptidet tartalmaz, amelyek közül legalább egy peptid az MBP-4 (14. számú szekvencia) és legalább egy peptidet pedig az alábbi csoportból választhatunk: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú

számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 13. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia), 13-25 (31. számú szekvencia); 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia); 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia).

12. Készítmény szklerózis multiplex kezelésére emlősökben, amely legalább két MBP peptidet tartalmaz az alábbi csoportból: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), mindegyik peptid a 2. ábrán látható képletnek felel meg, és az említett készítmény az MBP T-sejt reaktivitásának legalább 40%-ával rendelkezik, MBP-re reagáló T-sejtekkel rendelkező egyedek populációjában.

13. Az 5. igénypont szerinti készítmény, amely említett készítmény az MBP elleni össz-T-sejt reaktivitásnak elegendő százalékát tartalmazza ahhoz, hogy a készítménynek egy szklerózis multiplexben szenvedő betegnek való beadása a szklerózis multiplex autoimmun válasz korlátozását eredményezze.

14. Készítmény szklerózis multiplex kezelésére emlősben, amely az MBP legalább két T-sejt epitop-tartalmú peptidjét tartalmazza, és az említett készítményt az alábbi összetételű készítmények közül választhatjuk ki:

MBP-1 (2. számú szekvencia); MBP-2 (5. számú szekvencia); MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (12. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-4 (12. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8.

számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-1 (2. számú szekvencia); vagy MBP-2.1 (3. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy. az alábbi csoportból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), mindegyiket a 2. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid:

portból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), mindegyik 2. ábrán bemutatott formában.

15. Az 5. igénypont szerinti készítmény, amely legalább egy, a humán mielin oligodendrocita (MOG) fehérjéből származó, T-sejt aktivitással rendelkező peptidet tartalmaz.

16. A 16. igénypont szerinti készítmény, amelyben az említett, MOG-ból származó peptidet az alábbi csoportból választjuk ki:

Humán MOG 1-13 (54. számú szekvencia)

GQFRVIGPRHPIR

Humán MOG 103-115 (55. számú szekvencia)

HSYQEEAAMELKV

Humán MOG 1-121 (56. számú szekvencia)

GQFRVIGPRHPIRALVGDEV

ELPCRTSPGKNATGMEVGWY

RPPFSRVVHLYRNGKDQDGD

QAPEYRGRTELLKDAIGEGK

VTLRIRNVRFSDGGFTCTFF

RDHSYQEEAAMELKVEDPFYW

Humán MOG 1-20 (57. szekvencia)

GQFRVIGPRHPIRALVGDEV;

Humán MOG 11-30 (58. számú szekvencia)

PIRALVGDEVELPCRISPGK;

Humán MOG 21-40 (59. számú szekvencia)

ELPCRISPGKNATGMEVGWY;

Humán MOG 31-50 (60. számú szekvencia)

NATGMEVGWYRPPFSRVVHL;

Humán MOG 141-160 (61. számú szekvencia)

TVGLVFLCLQYRLRGKLRAE;

Humán MOG 151-170 (62. számú szekvencia)

YRLRGKLRAEIEIENLHRTFDP;

Humán MOG 161-180 (63. számú szekvencia)

IEIENLHRTFDPHFLRVPCWKI; és

Humán MOG 199-218 (64. számú szekvencia)

YNWLHRRLAGQFLEELRNPF.

17. A 14. igénypont szerinti készítmény, amely tartalmaz még legalább egy, MOG-ból származó, T-sejt aktivitással rendelkező peptidet.

18. Egy MBP-ből származó izolált peptid, amely említett peptidet az alábbi csoportból választhatjuk ki: MBP-1.1 (3.

számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), MBP-3.1 13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), mindegyik peptid a 2. ábrán látható képletnek felel meg, illetve ezeknek a módosításai vagy analógjai.

19. A 18. igénypont szerinti izolált peptid, amely peptid az MBP-4 (14. számú szekvencia) vagy annak analógja.

20. A 18. igénypont szerinti peptid egy analógja, amelyben legalább egy aminosavat alaninnal, glutaminsavval vagy egy metil-aminosavval helyettesítünk.

21. Peptid, amit az alábbi csoportból választhatunk: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), mindegyik peptid a 2. ábrán látható képletnek felel meg, és amelyekben a lizint (K) alaninnal (A) helyettesítjük.

22. Az MBP-2.1 (6. számú szekvencia) egy peptid-analógja, amelyben a 10-es pozícióban levő lizint (K) alaninnal helyettesítjük, és az említett analóg aminosav szekvenciája az alábbi: DENPVVHFFANIVTPRTPPSQ GK) (71. számú szekvencia).

23. Egy peptid peptidomimetikuma, amely peptidet az alábbi csoportból választhatjuk ki: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia),

cia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), amelyben legalább egy normális peptidkötést egy nem-peptid kötéssel, peptidkötés-analóggal, vagy egy redukált kötés-analóggal helyettesítünk.

24. Peptid, amit az alábbi csoportból választhatunk: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), és amit legalább egy töltött aminosav csoportnak az említett peptid N-terminálisához vagy C-terminálisához, vagy mindkettőhöz való hozzáadásával módosítunk, hogy fokozzuk az említett peptid vizes közegben való oldékonyságát.

25. Peptid, amit az alábbi csoportból választhatunk: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 13. számú szekvencia), MBP-4 (14.

számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), és amit legalább egy aminosav csoportnak az említett peptid N-terminálisához vagy C-terminálisához, vagy mindkettőhöz való hozzáadásával módosítunk, hogy fokozzuk az említett peptid T-sejt aktivitását, és az említett peptid a természetes MBP fehérje szekvenciából származik.

26. Eljárás szklerózis multiplex kezelésére egy emlősben, azzal jellemezve, hogy az említett emlősnek az 1. igénypont szerinti készítményt adjuk be, olyan mennyiségben, amely alkalmas arra, hogy korlátozza az autoimmun választ a szklerózis multiplexben.

27. A 26. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett beadást az alábbi beadási utak közül választhatjuk ki: intravénás injekció nem-immunogén formában, szubkután injekció nem-immunogén formában, orális beadás, belélegzéses beadás, nyelv alá való beadás, transzdermális beadás, rektális beadás, vagy ezek bármilyen kombinációja.

28. A 26. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett beadás szubkután beadás nem-immunogén formában.

29. Eljárás a szklerózis multiplex szklerózis multiplexre érzékeny emlősben való fellépésének megakadályozására, azzal jellemezve, hogy az említett emlősnek az 1. igénypont szerinti készítményt adjuk be, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy megakadályozzuk a szklerózis multiplex tüneteinek fellépését.

30. Eljárás a szklerózis multiplex szklerózis multiplexre érzékeny emlősben való fellépésének megakadályozására, azzal jellemezve, hogy az említett emlősnek az 5. igénypont szerinti készítményt adjuk be, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy megakadályozzuk a szklerózis multiplex tüneteinek fellépését.

31. Eljárás a szklerózis multiplex szklerózis multiplexre érzékeny emlősben való fellépésének megakadályozására, azzal jellemezve, hogy az említett emlősnek a 10. igénypont szerinti készítményt adjuk be, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy megakadályozzuk a szklerózis multiplex tüneteinek fellépését.

32. Eljárás a szklerózis multiplex szklerózis multiplexre érzékeny emlősben való fellépésének megakadályozására, azzal jellemezve, hogy az említett emlősnek a 14. igénypont szerinti készítményt adjuk be, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy megakadályozzuk a szklerózis multiplex tüneteinek fellépését.

33. Eljárás a szklerózis multiplex szklerózis multiplexre érzékeny emlősben való fellépésének megakadályozására, azzal jellemezve, hogy az említett emlősnek a 15. igénypont szerinti készítményt adjuk be, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy megakadályozzuk a szklerózis multiplex tüneteinek fellépését.

34. Eljárás a szklerózis multiplex szklerózis multiplexre érzékeny emlősben való fellépésének megakadályozására, azzal jellemezve, hogy az említett emlősnek az 1. igénypont szerinti

készítmény legalább két különböző kisserelési formáját adjuk be egyszerre vagy egymás után, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy megakadályozzuk a szklerózis multiplex tüneteinek fellépését

35. Kezelési eljárás szklerózis multiplex kezelésére emlősben, azzal jellemezve, hogy egyidőben vagy egymás után, egyetlen kezelési epizód keretében MBP-ből származó peptidek kombinációját adjuk be, amely peptideket az alábbi peptidkombinációkból választhatjuk ki:

MBP-1 (2. számú szekvencia); MBP-2 (5. számú szekvencia); MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (12. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-4 (12. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia) és MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia),
MBP-4 (14. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia),
MBP-5 (15. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia),
MBP-3 (12. számú szekvencia);

MBP-1 (2. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból
választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6.
számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8.
számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10.
számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi cso-
portból választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1
(6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3
(8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5
(10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi cso-
portból választott peptid: MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1
(6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3
(8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5
(10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia);

MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi cso-
portból választott peptid: MBP-1 (2. számú szekvencia); vagy
MBP-2.1 (3. számú szekvencia);

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia),
valamint egy. az alábbi csoportból választott peptid: 82-100
(30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia),

87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), mindegyiket a 2. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia) és MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), mindegyiket a 14. ábrán mutatjuk be;

MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), valamint egy, az alábbi csoportból választott peptid: MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), mindegyik a 2. ábrán bemutatott formában.

36. Multipeptid készítmény szklerózis multiplexben szenvedő betegek számára való gyógyászati célú beadáshoz, amely

legalább két MBP peptidet tartalmaz, mindegyik peptid oldható és stabil fiziológiásan elfogadható pH értéken, és az említett peptideket az alábbi csoportból választhatjuk: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia).

37. Eljárás előrehaladott állapotban levő szklerózis multiplex kezelésére egy emlősben, azzal jellemezve, hogy az említett emlősnek egy gyógyászati készítményt adunk be, amely legalább egy, egy mielin antigénből származó, T-sejt aktivitással rendelkező peptidet, vagy a peptid analógját tartalmazza, olyan mennyiségben, amely hatékonyan korlátozza a szklerózis multiplex tüneteit.

38. A 37. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett mielin antigént az alábbi csoportból választhatjuk ki: mielin bázikus fehérje (MBP), mielin oligodendrocita fehérje (MOG), proteolipid fehérje (PLP) és a mielinhez kapcsolódó glikoprotein (MAG).

39. A 37. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett beadás a szklerózis multiplex akut fázisában történik meg.

40. A 37. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett beadás a szklerózis multiplex betegség tüneteinek remissziója alatt történik meg.

41. A 37. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett peptid egy MHC-kötő affinitással rendelkező peptid-analógot tartalmaz, amely MHC-kötő affinitás magasabb mint annak a peptidnek az MHC-kötő affinitása, amelyből az analóg származik.

42. Eljárás előrehaladott állapotban levő szklerózis multiplex kezelésére egy emlősben, azzal jellemezve, hogy az említett emlősnek egy gyógyászati készítményt adunk be, amely legalább egy MBP peptidet tartalmaz, és az említett peptidet az alábbi csoportból választhatjuk ki: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), és az MBP-5 (15. számú szekvencia), mindegyik a 2. vagy 14. ábrán látható formájában, vagy az említett peptid egy analógja, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy korlátozzuk a szklerózis multiplex tüneteit.

43. A 42. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy legalább egy peptidet az alábbi csoportból választhatunk ki: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia),

MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11.számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 13. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia), 13-25 (31. számú szekvencia); 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia); 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia).

44. A 37. igénypont szerinti készítmény, amelyben az említett legalább egy peptid a humán MOG-ból származik, és a peptidet az alábbi csoportból választjuk ki:

Humán MOG 1-13 (54. számú szekvencia)

GQFRVIGPRHPIR

Humán MOG 103-115 (55. számú szekvencia)

HSYQEEAAMELKV

Humán MOG 1-121 (56. számú szekvencia)

GQFRVIGPRHPIRALVGDEV

ELPCRTSPGKNATGMEVGWY

RPPFSRVVHLYRNGKDQDGD

QAPEYRGRTELLKDAIGEGK

VTLRIRNVRFSDGEGFTCF

RDHSYQEEAAMELKVEDPFYW

Humán MOG 1-20 (57. szekvencia)

GQFRVIGPRHPIRALVGDEV;

Humán MOG 11-30 (58. számú szekvencia)

PIRALVGDEVELPCRISPGK;

Humán MOG 21-40 (59. számú szekvencia)

ELPCRISPGKNATGMEVGWY;

Humán MOG 31-50 (60. számú szekvencia)

NATGMEVGWYRPPFSRVVHL;

Humán MOG 141-160 (61. számú szekvencia)

TVGLVFLCLQYRLRGKLRAE;

Humán MOG 151-170 (62. számú szekvencia)

YRLRGKLRAEIEIENLHRTFDP;

Humán MOG 161-180 (63. számú szekvencia)

IENLHRTFDPHFLRVPCWKI; és

Humán MOG 199-218 (64. számú szekvencia)

YNWLHRRLAGQFLEELRNPF.

45. A 42. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy legalább egy humán MOG peptidet tartalmaz, amelyet az alábbi csoportból választhatunk:

Humán MOG 1-13 (54. számú szekvencia)

GQFRVIGPRHPIR

Humán MOG 103-115 (55. számú szekvencia)

HSYQEEAAMELKV

Humán MOG 1-121 (56. számú szekvencia)

GQFRVIGPRHPIRALVGDEV

ELPCRTSPGKNATGMEVGWY

RPPFSRVVHLYRNGKDQDGD

QAPEYRGRTELLKDAIGEGK

VTLRIRNVRFSDGGFTCFF

RDHSYQEEAAMELKVEDPFYW

Humán MOG 1-20 (57. szekvencia)

GQFRVIGPRHPIRALVGDEV;

Humán MOG 11-30 (58. számú szekvencia)

PIRALVGDEVELPCRISPGK;

Humán MOG 21-40 (59. számú szekvencia)

ELPCRISPGKNATGMEVGWY;

Humán MOG 31-50 (60. számú szekvencia)

NATGMEVGWYRPPFSRVVHL;

Humán MOG 141-160 (61. számú szekvencia)

TVGLVFLCLQYRLRGKLRAE;

Humán MOG 151-170 (62. számú szekvencia)

YRLRGKLRAEIEIENLHRTFDP;

Humán MOG 161-180 (63. számú szekvencia)

IENLHRTFDPHFLRVPCWKI; és

Humán MOG 199-218 (64. számú szekvencia)

YNWLHRRLAGQFLEELRNPF.

46. A 37. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett beadás az említett peptid szubkután vagy intravénás injekciójával történik.

47. A 37. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett beadás a dózis növelését jelenti minden egyes injekciójánál.

48. A 37. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett beadás a dózis csökkentését jelenti minden egyes injekciójánál.

49. Eljárás előrehaladott állapotú szklerózis multiplexben szenvedő emlős kezelésére, azzal jellemezve, hogy legalább egy terápiás készítményt adunk be, amely legalább egy izolált és tisztított peptidet tartalmaz, amely említett peptid

meghatározott hosszal és meghatározott aminosav szekvenciával rendelkezik, T-sejt aktivitása van, és az említett készítmény képes korlátozni a szklerózis multiplex tüneteit emlősök előrehaladott állapotú szklerózis multiplexben szenvedő populációjában, ha nem-immunogén formában adjuk be, és amely készítmény vizes oldatokban oldódik, valamint stabil fiziológiásan elfogadható pH értéken.

50. A 49. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett beadás az említett terápiás készítményből legalább kettőnek egyidejű vagy egymás után való beadását jelenti.

51. Eljárás előrehaladott állapotú szklerózis multiplex emlősben való kezelésére, azzal jellemezve, hogy az 5. igénypont szerinti gyógyászati készítményt adjuk be, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy korlátozzuk a szklerózis multiplex tüneteit.

52. Eljárás előrehaladott állapotú szklerózis multiplex emlősben való kezelésére, azzal jellemezve, hogy a 10. igénypont szerinti gyógyászati készítményt adjuk be, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy korlátozzuk a szklerózis multiplex tüneteit.

53. Eljárás előrehaladott állapotú szklerózis multiplex emlősben való kezelésére, azzal jellemezve, hogy a 14. igénypont szerinti gyógyászati készítményt adjuk be, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy korlátozzuk a szklerózis multiplex tüneteit.

54. Eljárás előrehaladott állapotú szklerózis multiplex emlősben való kezelésére, azzal jellemezve, hogy a 15. igénypont szerinti gyógyászati készítményt adjuk be, olyan mennyiségben, amely elegendő ahhoz, hogy korlátozzuk a szklerózis multiplex tüneteit.

55. A 37. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett előrehaladott állapotú szklerózis multiplex visszaeső-remittáló szklerózis multiplex, krónikus progresszív szklerózis multiplex, primer progresszív szklerózis multiplex vagy rosszindulatú szklerózis multiplex.

56. A 37. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve továbbá, hogy az említett terápiás készítménnyel egyidőben interferon- β -t is adunk be.

57. Eljárás szklerózis multiplex kezelésére egy egyedben, azzal jellemezve, hogy egy kezelési eljárás során legalább egy, T-sejt aktivitással rendelkező rendelkező mielin autoantigént adunk be, amely kezelési eljárás terápiásan hatékony mennyiségű interferon- β beadását is tartalmazza.

58. Az 57. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett peptidet és az említett interferon- β -t egyidőben adjuk be.

59. Az 57. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett peptidet és az említett interferon- β -t legalább 24 órás különbséggel adjuk be.

60. Készítmény, amely legalább egy, a humán MBP T-sejt aktivitásával rendelkező peptid terápiásan hatékony mennyiségét, valamint az interferon- β terápiásan hatékony

menyiségét tartalmazza, gyógyászatiilag elfogadható hordozóban vagy higítószerben.

61. A 60. igénypont szerinti készítmény, amelyben az említett legalább egy peptidet az alábbi csoportból választhatjuk ki: MBP-1 (2. számú szekvencia), MBP-1.1 (3. számú szekvencia), MBP-1.2 (4. számú szekvencia), MBP-2 (5. számú szekvencia), MBP-2.1 (6. számú szekvencia), MBP-2.2 (7. számú szekvencia), MBP-2.3 (8. számú szekvencia), MBP-2.4 (9. számú szekvencia), MBP-2.5 (10. számú szekvencia), MBP-2.6 (11. számú szekvencia), MBP-3 (12. számú szekvencia), MBP-3.1 (13. számú szekvencia), MBP-4 (14. számú szekvencia), MBP-5 (15. számú szekvencia), 13-25 (31. számú szekvencia), 31-50 (18. számú szekvencia), 61-80 (21. számú szekvencia), 82-92 (32. számú szekvencia); 82-96 (33. számú szekvencia); 82-97 (34. számú szekvencia), 82-98 (35. számú szekvencia), 82-100 (30. számú szekvencia), 82-100 [100P>Y] (46. számú szekvencia), 83-100 (37. számú szekvencia), 83-101 (38. számú szekvencia), 84-97 (39. számú szekvencia), 84-100 (40. számú szekvencia), 85-100 (41. számú szekvencia), 86-105 (42. számú szekvencia), 87-99 (43. számú szekvencia), 87-99 [91K>A] (36. számú szekvencia), 88-100 (44. számú szekvencia), 88-99 (45. számú szekvencia), 111-135 (47. számú szekvencia), 122-140 (48. számú szekvencia), 139-170 (49. számú szekvencia)), 141-160 (28. számú szekvencia), 142-166 (50. számú szekvencia), 142-168 (51. számú szekvencia), 146-160 (52. számú szekvencia), és 153-170 (53. számú szekvencia), mindegyik a 2. és 14. ábrán látható formában.

62. Eljárás a szklerózis multiplex fellépésének megakadályozására egy szklerózis multiplexre érzékeny egyedben, azzal jellemezve, hogy legalább egy, egy mielin antigén T-sejt aktivitással rendelkező peptidből terápiásan hatékony mennyiséget adunk be egy olyan kezelési eljárás során, ami magában foglalja az interferon- β terápiásan hatékony mennyiségének beadását is.

63. Eljárás szklerózis multiplex fellépésének megakadályozására egy emlősben, azzal jellemezve, hogy az 1. igénypont szerinti készítmények közül legalább egyből terápiásan hatékony mennyiséget adunk be egy olyan kezelési eljárás során, ami magában foglalja interferon- β terápiásan hatékony mennyiségének beadását is.

64. Eljárás szklerózis multiplex kezelésére egy emlősben, azzal jellemezve, hogy az 5. igénypont szerinti készítmények közül legalább egyből terápiásan hatékony mennyiséget adunk be egy olyan kezelési eljárás során, ami magában foglalja interferon- β terápiásan hatékony mennyiségének beadását is.

65. Eljárás szklerózis multiplex kezelésére egy emlősben, azzal jellemezve, hogy a 10. igénypont szerinti készítmények közül legalább egyből terápiásan hatékony mennyiséget adunk be egy olyan kezelési eljárás során, ami magában foglalja interferon- β terápiásan hatékony mennyiségének beadását is.

66. Eljárás szklerózis multiplex kezelésére egy emlősben, azzal jellemezve, hogy a 14. igénypont szerinti készítmények közül legalább egyből terápiásan hatékony mennyiséget adunk be

egy olyan kezelési eljárás során, ami magában foglalja interfe-
ron- β terápiásan hatékony mennyiségének beadását is.

67. Eljárás szklerózis multiplex kezelésére egy emlősbén,
azzal jellemezve, hogy a 15. igénypont szerinti készítmények
közül legalább egyből terápiásan hatékony mennyiséget adunk be
egy olyan kezelési eljárás során, ami magában foglalja interfe-
ron- β terápiásan hatékony mennyiségének beadását is.

68. Gyógyászati készítmény, amely egy gyógyászatilag
elfogadható töltőanyagot valamint egy MHC II-es osztályú pep-
tid-komplexet tartalmaz, amely képes egy T-sejt receptorhoz
kötődni és anergiát indukál egy, a receptort hordozó T-sejtben,
és a komplex lényegében az alábbi komponenseket tartalmazza:

egy MHC II-es osztályú komponens, amely az MHC II-es
osztályú molekulának az extracelluláris doménjeit tartalmazza,
amik elegendőek egy antigénkötő zseb kialakításához, és az em-
lített komponens egy autoimmun betegséghez kapcsolódó allél
kódolja, amely komponens oldható fiziológiás körülmények
között, detergens vagy lipid távollétében; és

a 8. igénypont szerinti autoantigén peptid, és az auto-
antigén peptid az antigén-kötő zsebhez kötődik.

70. Gyógyászati készítmény, amely egy gyógyászatilag
elfogadható töltőanyagot valamint egy MHC II-es osztályú pep-
tid-komplexet tartalmaz, amely képes egy T-sejt receptorhoz
kötődni és anergiát indukál egy, a receptort hordozó T-sejtben,
és a komplex lényegében az alábbi komponenseket tartalmazza:

egy MHC II-es osztályú komponens, amely az MHC II-es
osztályú molekulának az extracelluláris doménjeit tartalmazza,

amik elegendőek egy antigénkötő zseb kialakításához, és az említett komponenst egy autoimmun betegséghez kapcsolódó allél kódolja, amely komponens oldható fiziológiás körülmények között, detergens vagy lipid távollétében; és

a 16. igénypont szerinti autoantigén peptid, és az autoantigén peptid az antigén-kötő zsebhez kötődik.

71. A 68. igénypont szerinti készítmény, amelynél az autoimmun betegség a szklerózis multiplex.

72. Az 1. igénypont szerinti készítmény, amelynél az említett készítmény az említett peptid tandem másolatait tartalmazza.

73. A 8. igénypont szerinti készítmény, amelynél az említett készítmény az említett peptid tandem másolatait tartalmazza.

74. A 16. igénypont szerinti készítmény, amelynél az említett készítmény az említett peptid tandem másolatait tartalmazza.

ifj. Szentpéteri Ádám
szabadalmi ügyvivő
az S.M.G. & K. Nemzeti
Szabadalmiroda tagja
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

183 oldal
21 ábracsoport
204 oldal

Benn

1. ábra

A S Q K R P S Q R H¹⁰ G S K Y L A T A S T²⁰ M D H A
 R H G F L P³⁰ R H R D T G I L D S⁴⁰ I G R F F G G D
 R G⁵⁰ A P K R G S G K D S⁶⁰ H H P A R T A H Y G⁷⁰ S L
 P Q K S H G R T⁸⁰ Q D E N P V V H F F⁹⁰ K N I V T P
 R T P P¹⁰⁰ P S Q G K G R G L S¹¹⁰ L S R F S W G A E
 G¹²⁰ Q R P G F G Y G G R¹³⁰ A S D Y K S A H K G¹⁴⁰ F K
 G V D A Q G T L¹⁵⁰ S K I F K L G G R D¹⁶⁰ S R S G S
 P M A R R¹⁷⁰

ifj. Szentpéteri Ádám

szabadalmi ügyvivő

az S.B.G. & K. Nemzeti

Szabadalmi Iroda tagja

H-1062 Budapest, Andrásy út 113.
Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

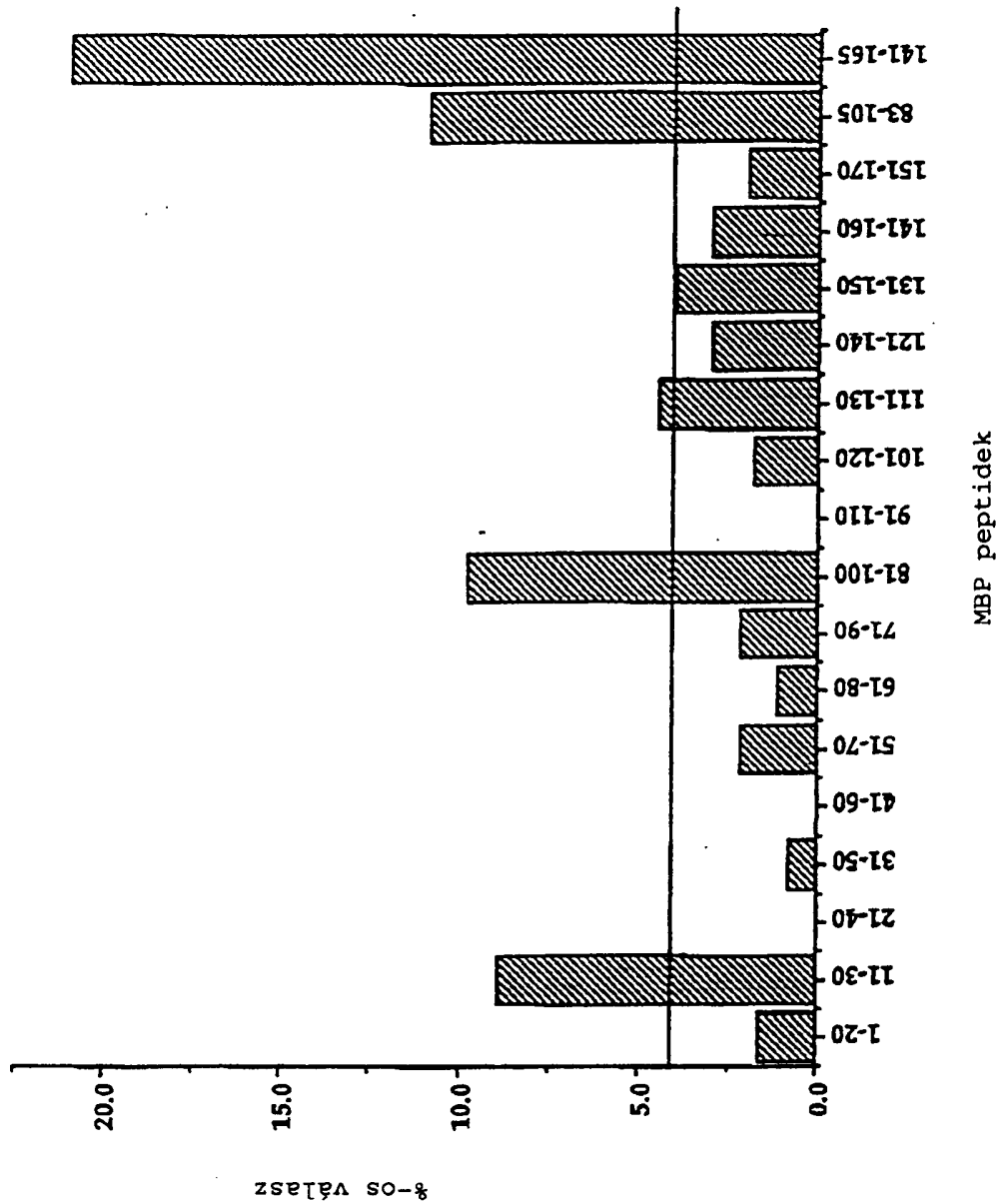
2. ábra

A peptid neve	Aminosav szekvencia
MBP-1 (11-30)	GSKYLATASTMDHARHGFLP
MBP-1.1 (11-29)	GSKYLATASTMDHARHGFL
MBP-1.2 (11-31)	GSKYLATASTMDHARHGFLPR
MBP-2 (83-105)	ENPVVHFFKNIVTPRTPPPSQGK
MBP-2.1 (82-105)	DENPVVHFFKNIVTPRTPPPSQGK
MBP-2.2 (82-104)	DENPVVHFFKNIVTPRTPPPSQG
MBP-2.3 (80-98)	TQDENPVVHFFKNIVTPRT
MBP-2.4 (82-102)	DENPVVHFFKNIVTPRTPPPS
MBP-2.5 (80-104)	TQDENPVVHFFKNIVTPRTPPPSQG
MBP-2.6 (80-102)	TQDENPVVHFFKNIVTPRTPPPS
MBP-3 (111-130)	LSRFSWGAEGQRPFGYGG
MBP-3.1 (111-129)	LSRFSWGAEGQRPFGYGG
MBP-4 (141-165)	FKGVDAQGTLSKIFKLGGDRSRGS
MBP-5 (101-125)	PSQGKGRGLSLSRFSWGAEGQRPFG

3. ábra

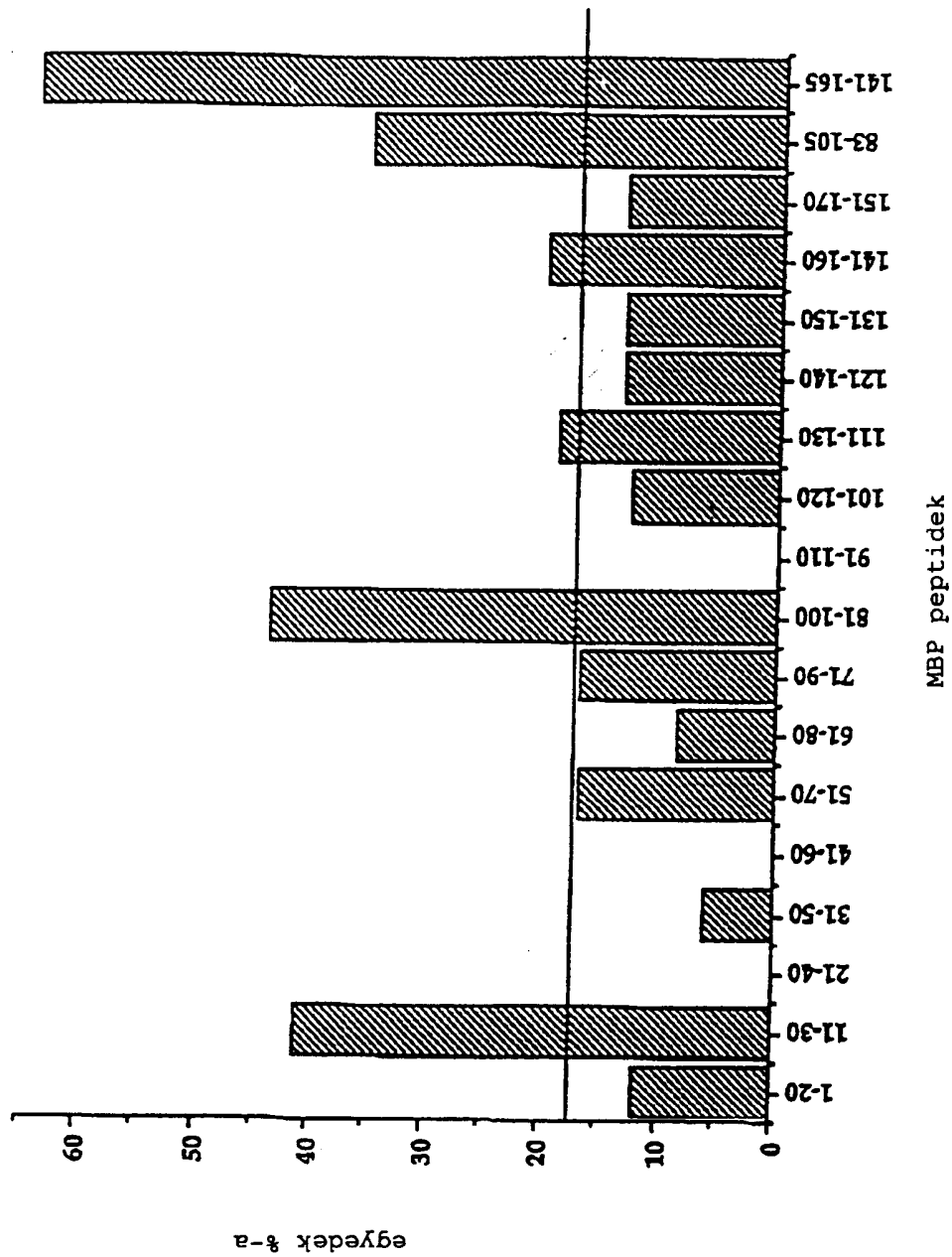
1-20	A S Q K Y L A T A S T
11-30	G S K Y L A T A S T M D H A R H G F L P
21-40	M D H A R H G F L P R H R D T G I L D S
31-50	R H R D T G I L D S I G R F F G G D R G
41-60	I G R F F G G D R G A P K R G S G K D S
51-70	A P K R G S G K D S H H P A R T A H Y G
61-80	H H P A R T A H Y G S L P Q K S H G R T
71-90	S L P Q K S H G R T Q D E N P V H F F
81-100	Q D E N P V H F F K N I V T P R T P P
91-110	K N I V T P R T P P P S Q K G R G L S
101-120	P S Q K G R G L S L S R F S W G A E G
111-130	L S R F S W G A E G Q R P G F G Y G G R
121-140	Q R P G F G Y G G R A S D Y K S A H K G
131-150	A S D Y K S A H K G F K G V D A Q G T L
141-160	F K G V D A Q G T L S K I F K L G G R D
151-170	S K I F K L G G R D S R S G S P M A R R
82-100	D E N P V V H F F K N I V T P R T P P
83-105	E N P V V H F F K N I V T P R T P P S Q G K
141-165	F K G V D A Q G T L S K I F K L G G R D S R S G S

4a. ábra



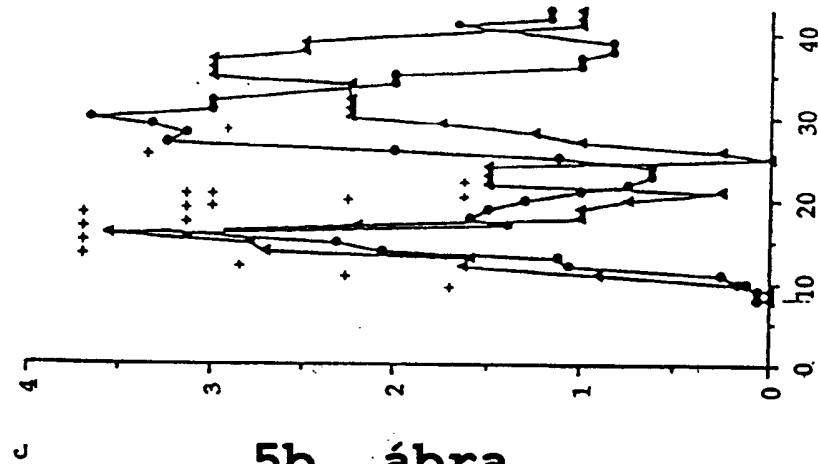
ifj. Szentpéteri Ádám
 szabadalmi ügyvivő
 az S.B.G. & K. Nemzetközi
 Szabadalmi Iroda tagja
 H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
 Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

4b. ábra

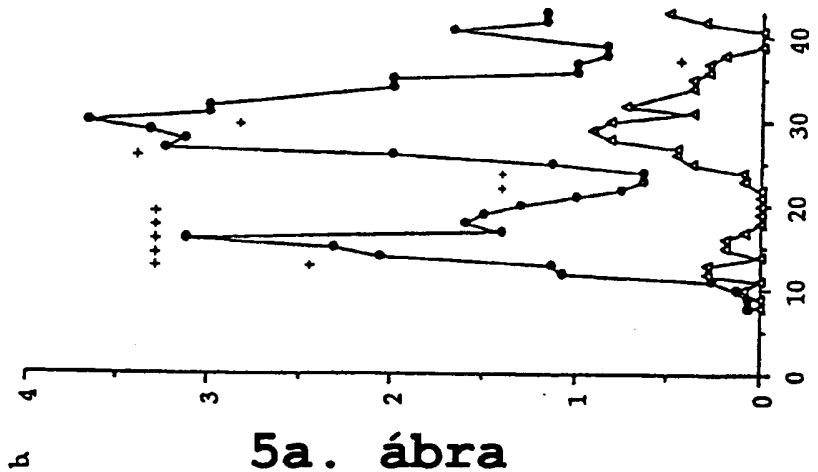


ifj. Szentpéteri Ádám
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & K. Nemzetközi
Szabadalmiroda tagja
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

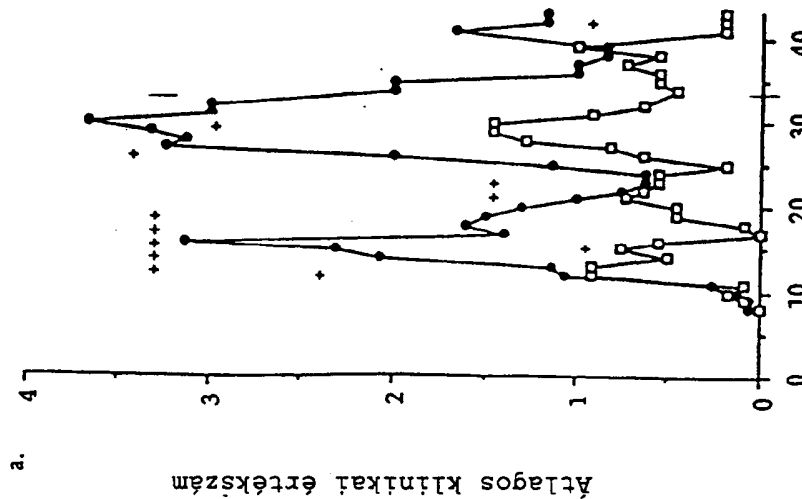
5c. ábra



5b. ábra



5a. ábra

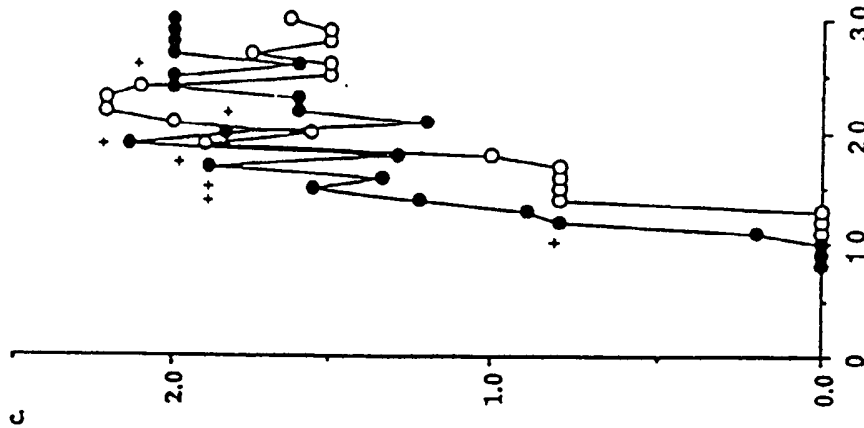


Ábramagyarázat

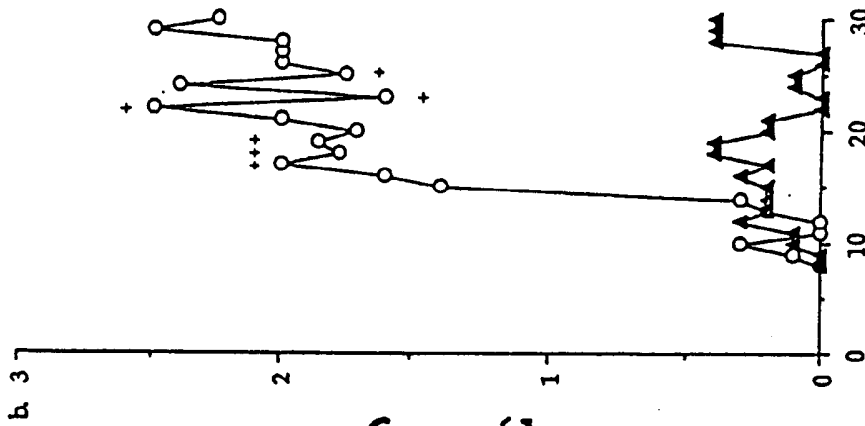
- = Kontroll PBS csoport
- = Acl-11-gyel kezelt egerek
- + = Elpusztult egerek
- △ = Kezelés Acl-11 + 31-47 peptidekkel
- ▲ = Kezelés Ova 323-339-cel

A betegség indukálása óta eltelt napok száma

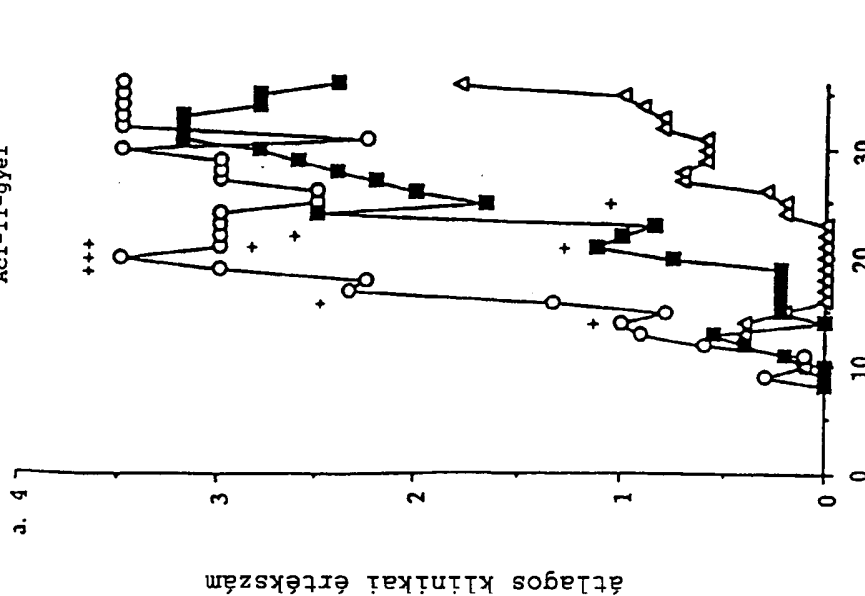
6c. ábra



6b. ábra



6a. ábra

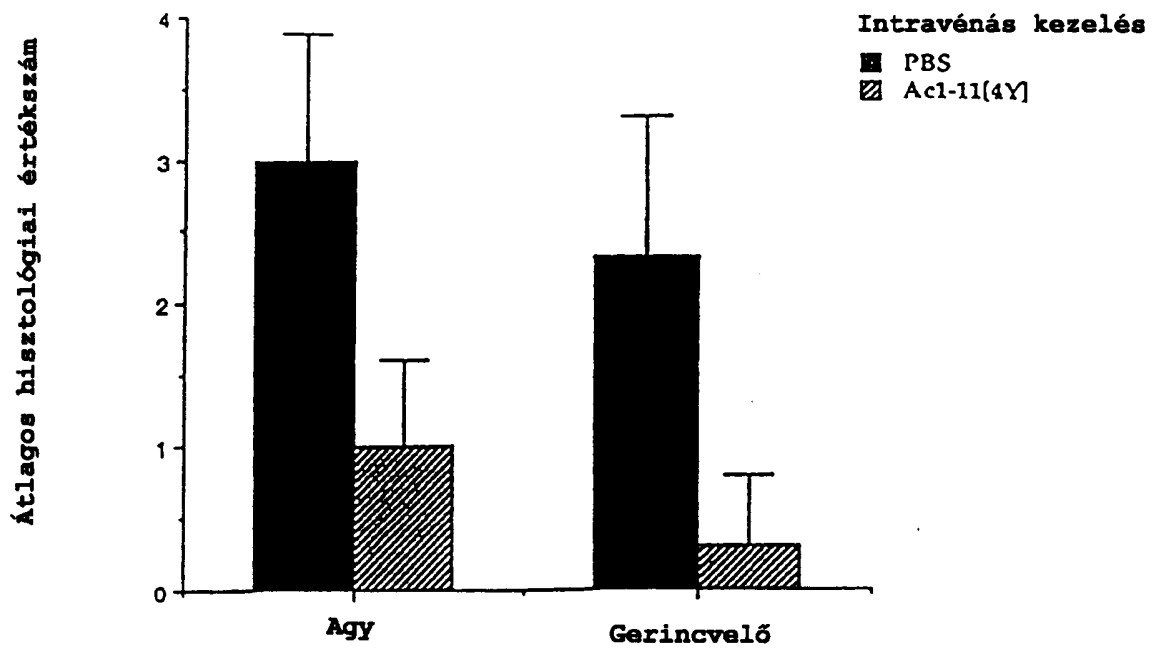


Δ = i.v. kezelés 250 nmol/l
 Ac1-11[4Y]-nal
 $\blacktriangle$ = i.v. kezelés 2,5 nmol/l
 Ac1-11[4Y]-nal
 $\bullet$ = i.v. kezelés 2,5 nmol/l
 Ac1-11-gyel

Ábramagyarázat
 + = Elpusztult egerek
 O = i.v. kezelés PBS-sel
 ■ = i.v. kezelés 250 nmol/l
 Ac1-11-gyel

A betegség indukálása óta eltelt napok száma

7. ábra



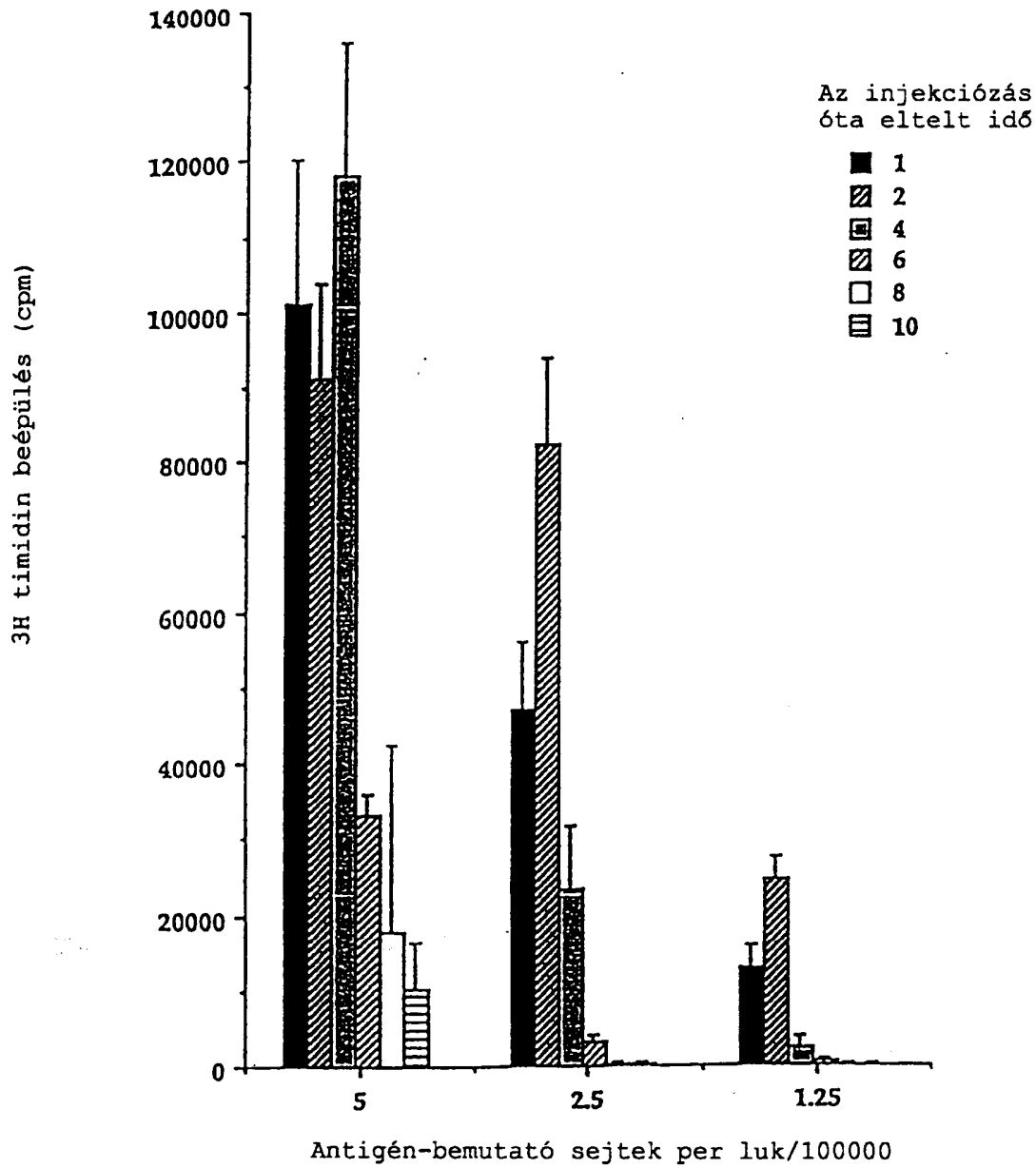
Jéfi Szentnádori Ádám

ivó
Szentnádori Ádám

Szentnádori Ádám tagja

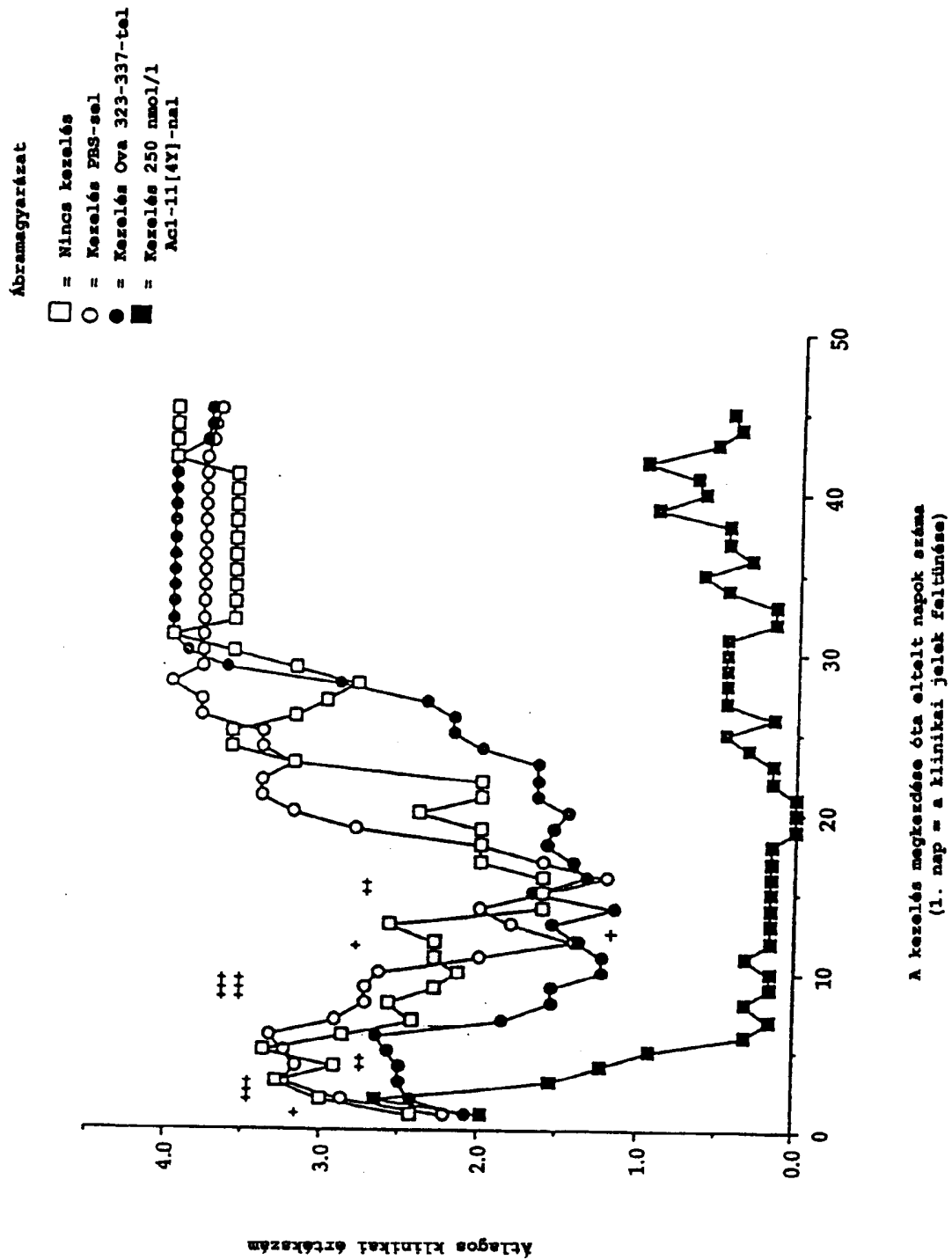
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

8. ábra



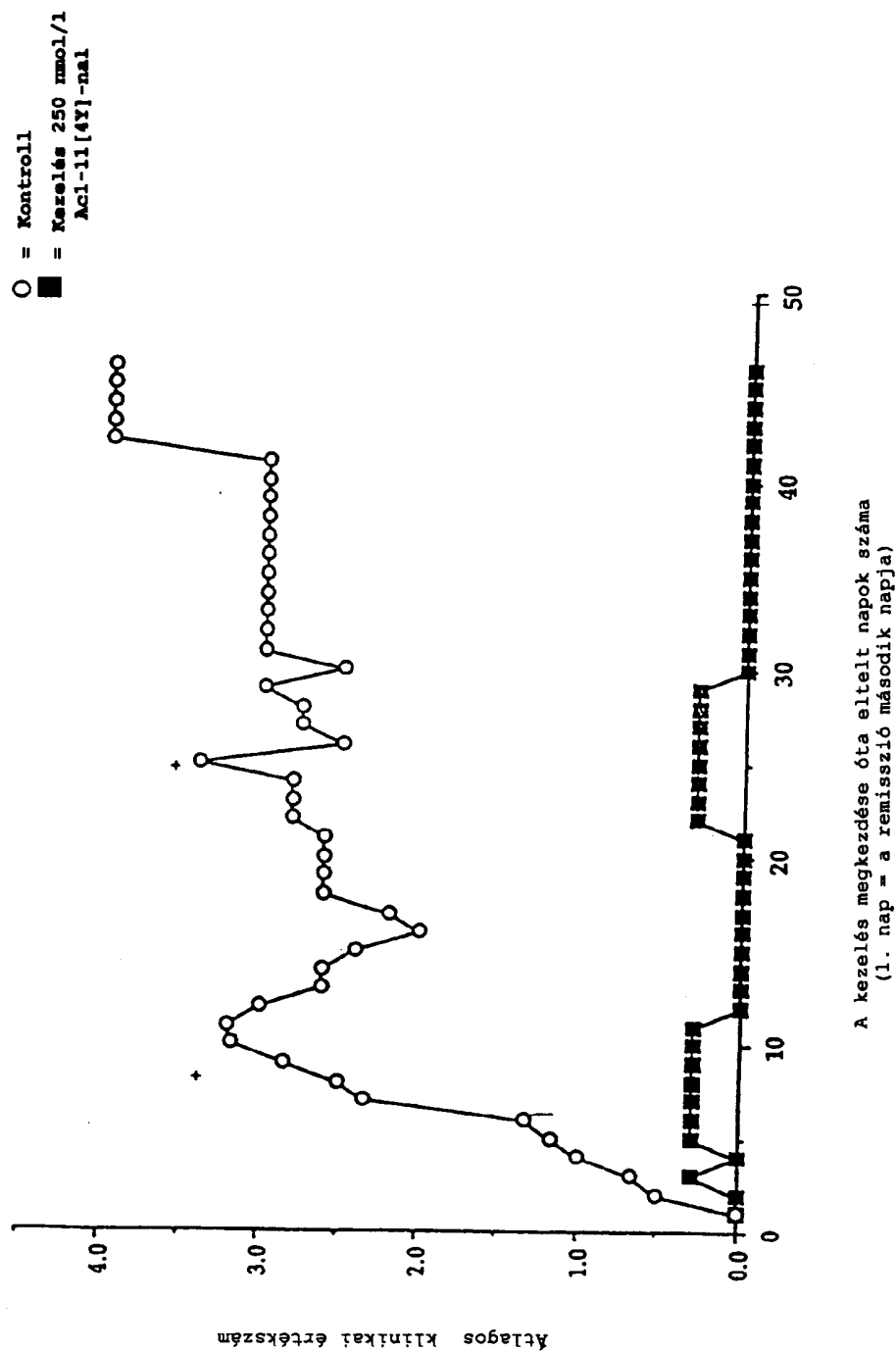
Ifj. Szentpéteri Ádám
 szabadalmi ügyvivő
 az S.B.G. & K. Nemzetközi
 Szabadalmiroda tagja
 H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
 Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

9. ábra



ifj. Szentpéteri Ádám
szabadalmi ügyvivő)
az S.B.G. & K. Nemzetközi
Szabadalmi Iroda tagja)
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

10. ábra



ifj. Szentpéteri Ádám

szabadalmi ügyvivő

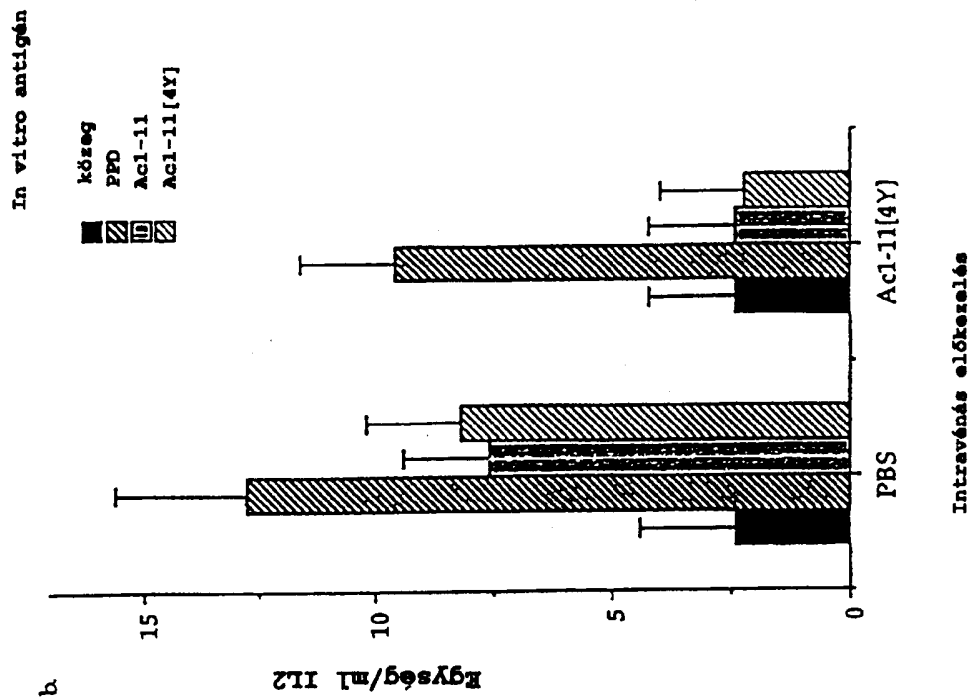
H. B. K. K. Nemzetközi

Szabadalmi Iroda tagja

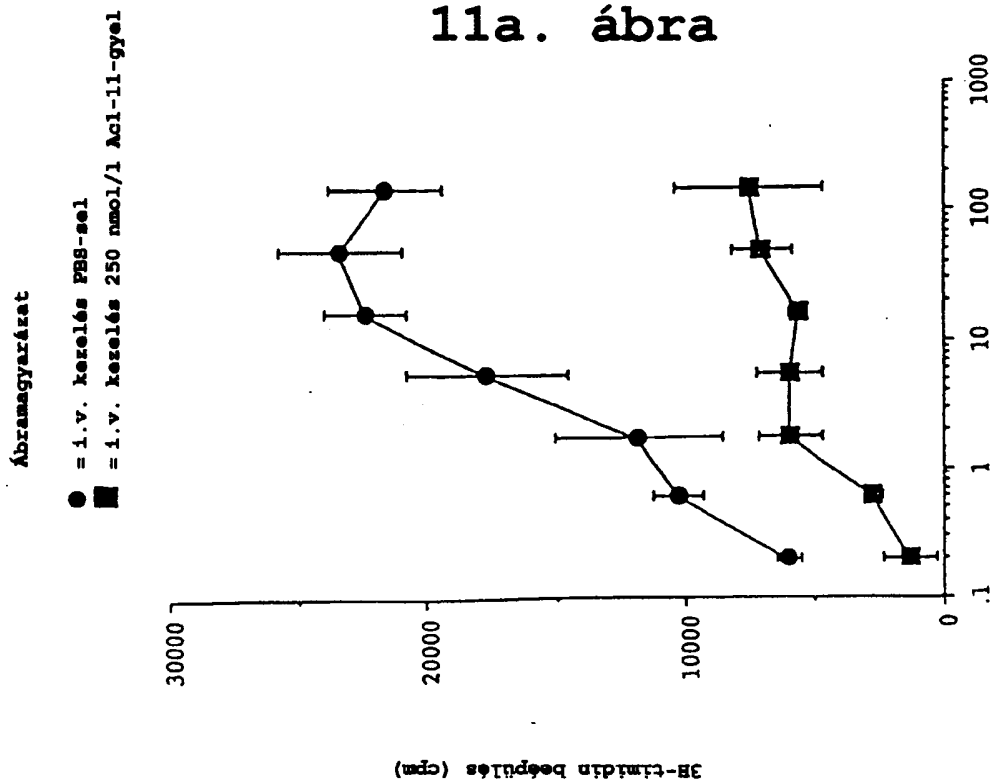
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.

Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

11b. ábra



11a. ábra

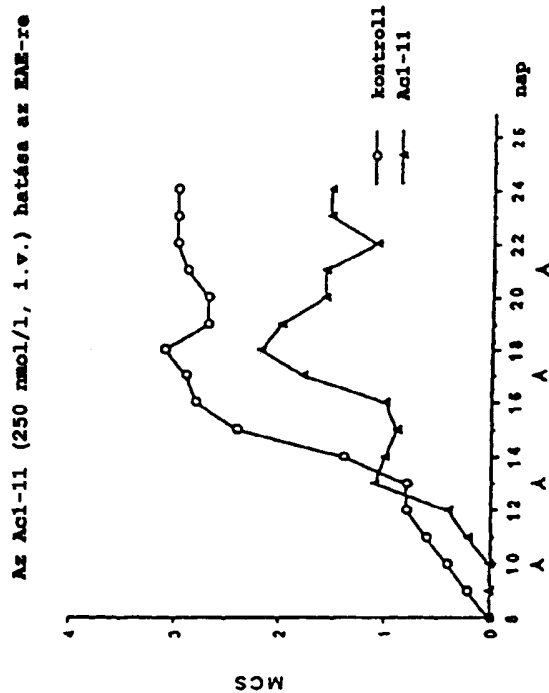


ifj. Szentpéteri Ádám

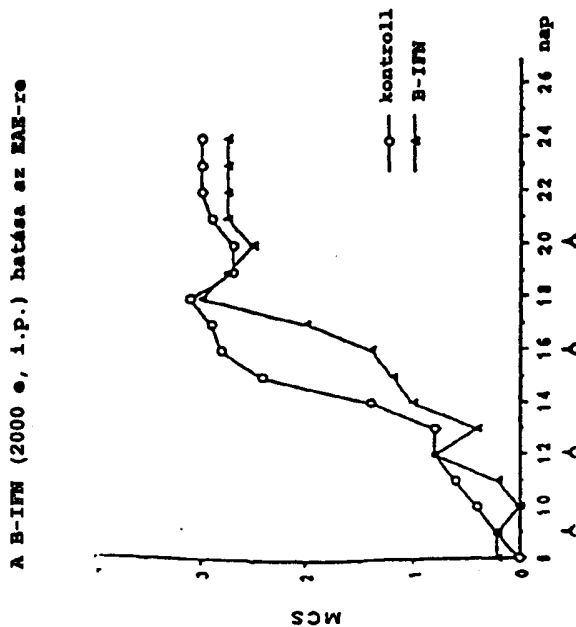
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & K. Nemzetközi
Szabadalmi Iroda tagja

H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

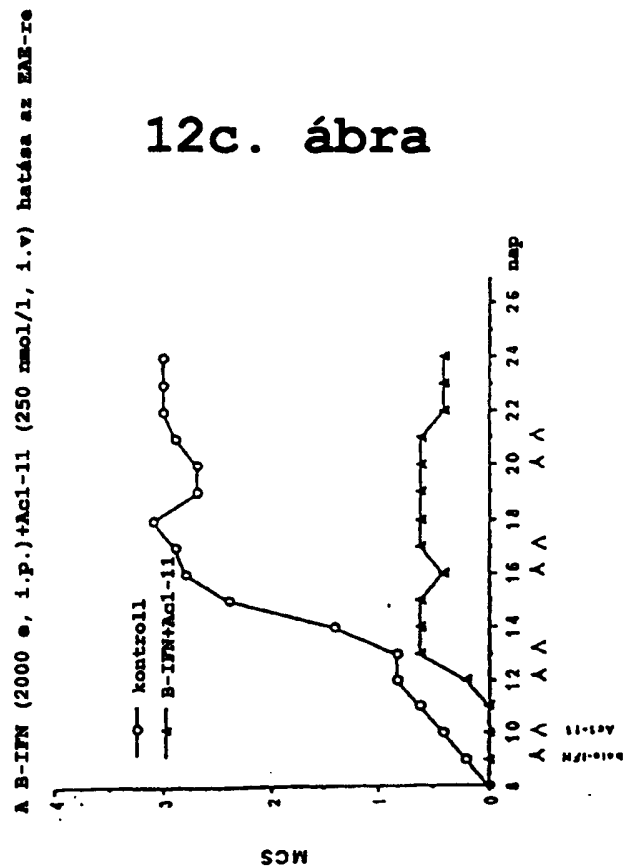
12b. ábra



12a. ábra



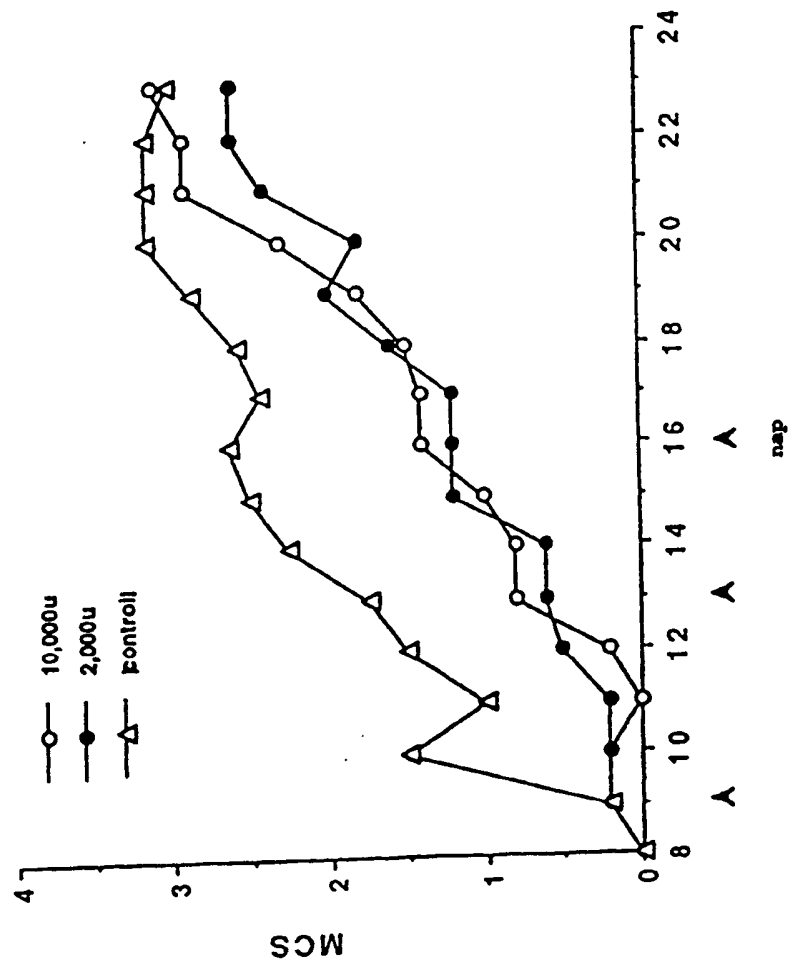
12c. ábra



ifj. Szentpéteri Ádám

szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & Könyvek
Szabadalmi Iroda tagja
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

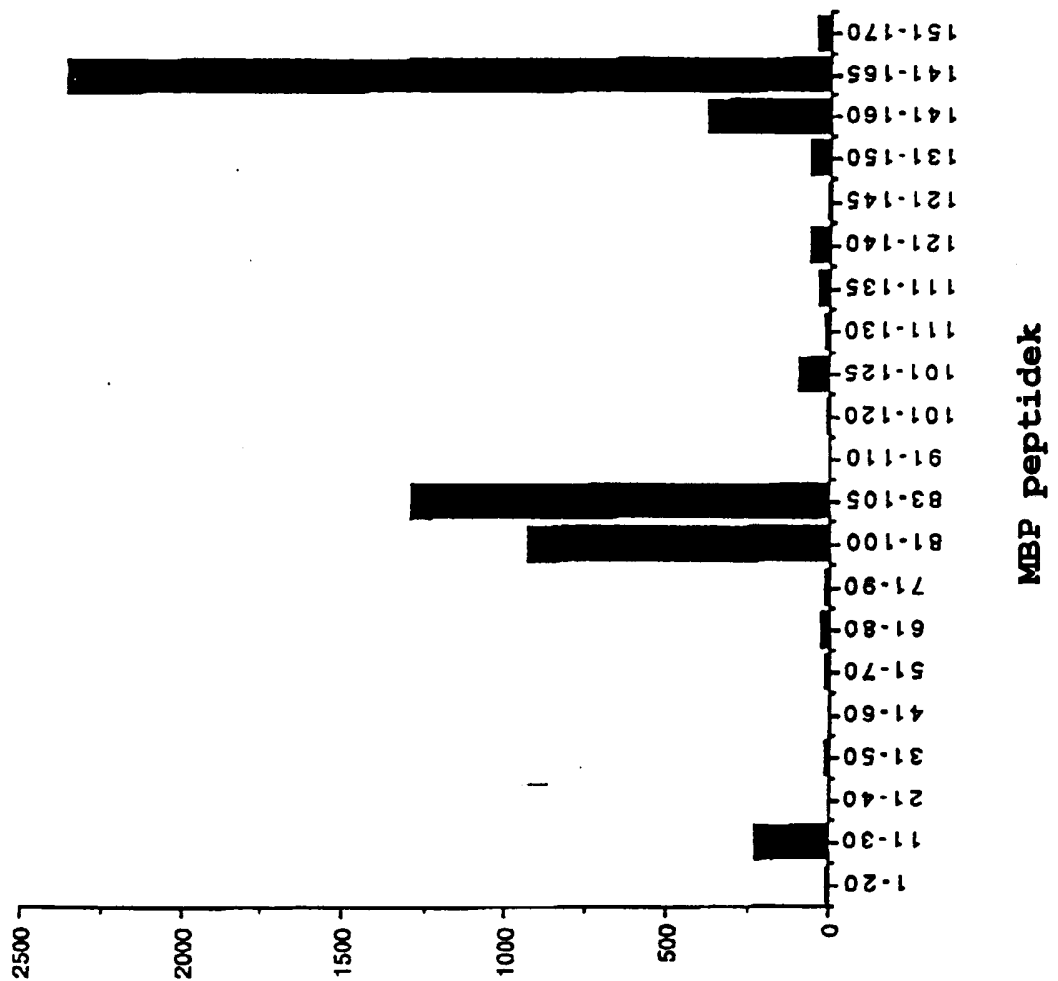
13. ábra



14. ábra

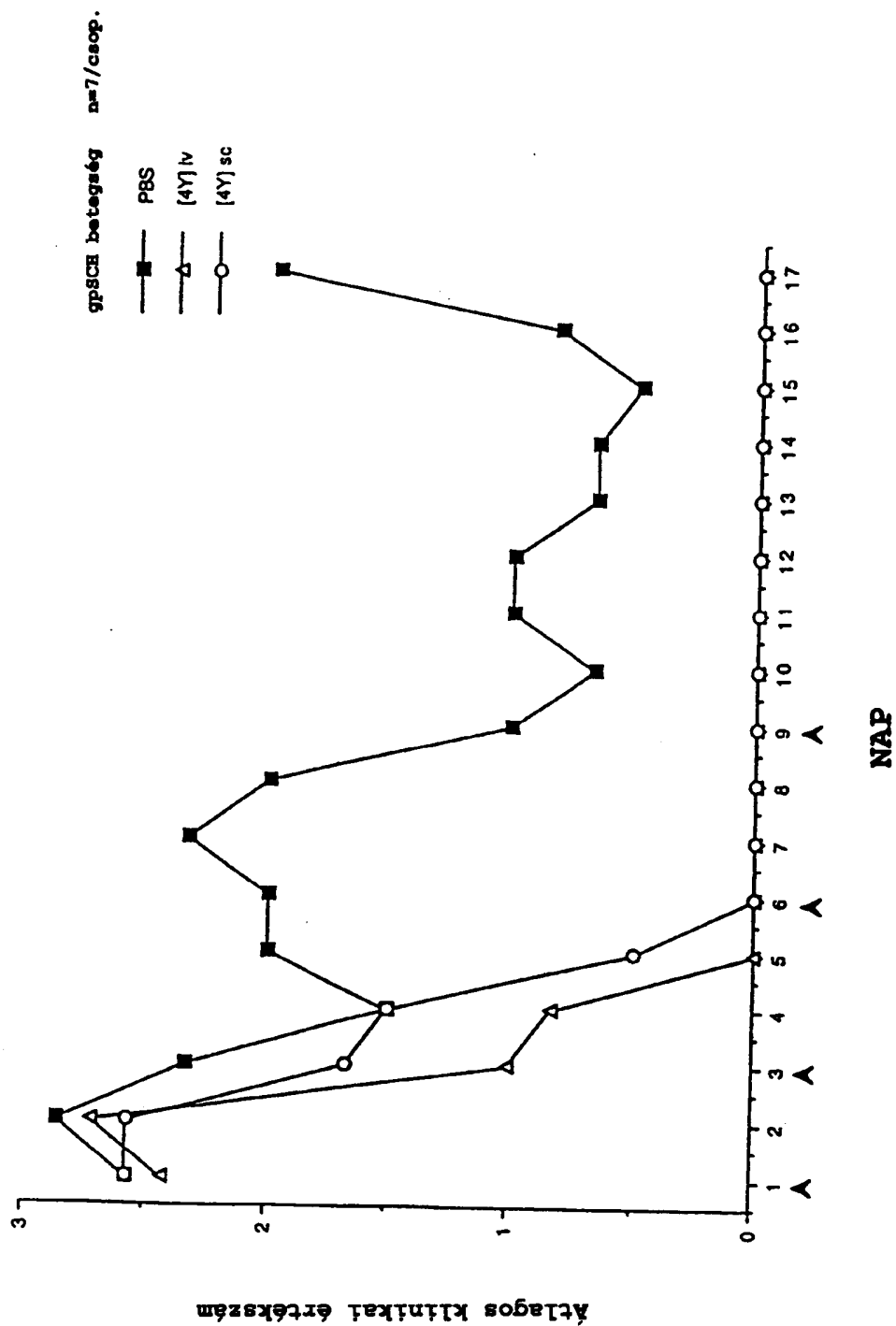
Aminosav csoportok	Aminosav szekvenciák
13-25	KYLATASTMDHAR
31-50	RHRDTGILDSIGRFFGGDRG
61-80	HHPARTAHYGSLPQKSHGRT
82-92	DENPVVHFFKN
82-96	DENPVVHFFKNIVTP
82-97	DENPVVHFFKNIVTPR
82-98	DENPVVHFFKNIVTPRT
82-100	DENPVVHFFKNIVTPRTPP
82-100 [100P>Y]	HFFANIVTPRTP
83-100	ENPVVHFFKNIVTPRTPP
83-101	ENPVVHFFKNIVTPRTPPP
84-97	NPVVHFFKNIVTPR
84-100	NPVVHFFKNIVTPRTPP
85-100	PVVHFFKNIVTPRTPP
86-105	VVHFFKNIVTPRTPPPSQGK
87-99	VHFFKNIVTPRTP
88-100	HFFKNIVTPRTPP
88-99	HFFKNIVTPRTP
82-100 [100P>Y]	DENPVVHFFKNIVTPRTPY
111-135	LSRFSWGAEGQRPFGYGGRASDYK
122-140	RPFGYGGRASDYKSAHKG
139-170	KGFGVDAQGTLISKIFKLGGGRDSRSGSPMARR
141-160	FKGVDAQGTLISKIFKLGGRD
142-166	KGVDAQGTLISKIFKLGGGRDSRSGSP
142-168	KGVDAQGTLISKIFKLGGGRDSRSGSPMA
146-160	AQGTLISKIFKLGGRD
153-170	IFKLGGGRDSRSGSPMARR

15. ábra



ifj. Szentpéteri Ádám
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & H. Nemzetközi
Szabadalmi Iroda tagja
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

16. ábra



ifj. Szentpéteri Ádám

szabadalmi ügyvivő

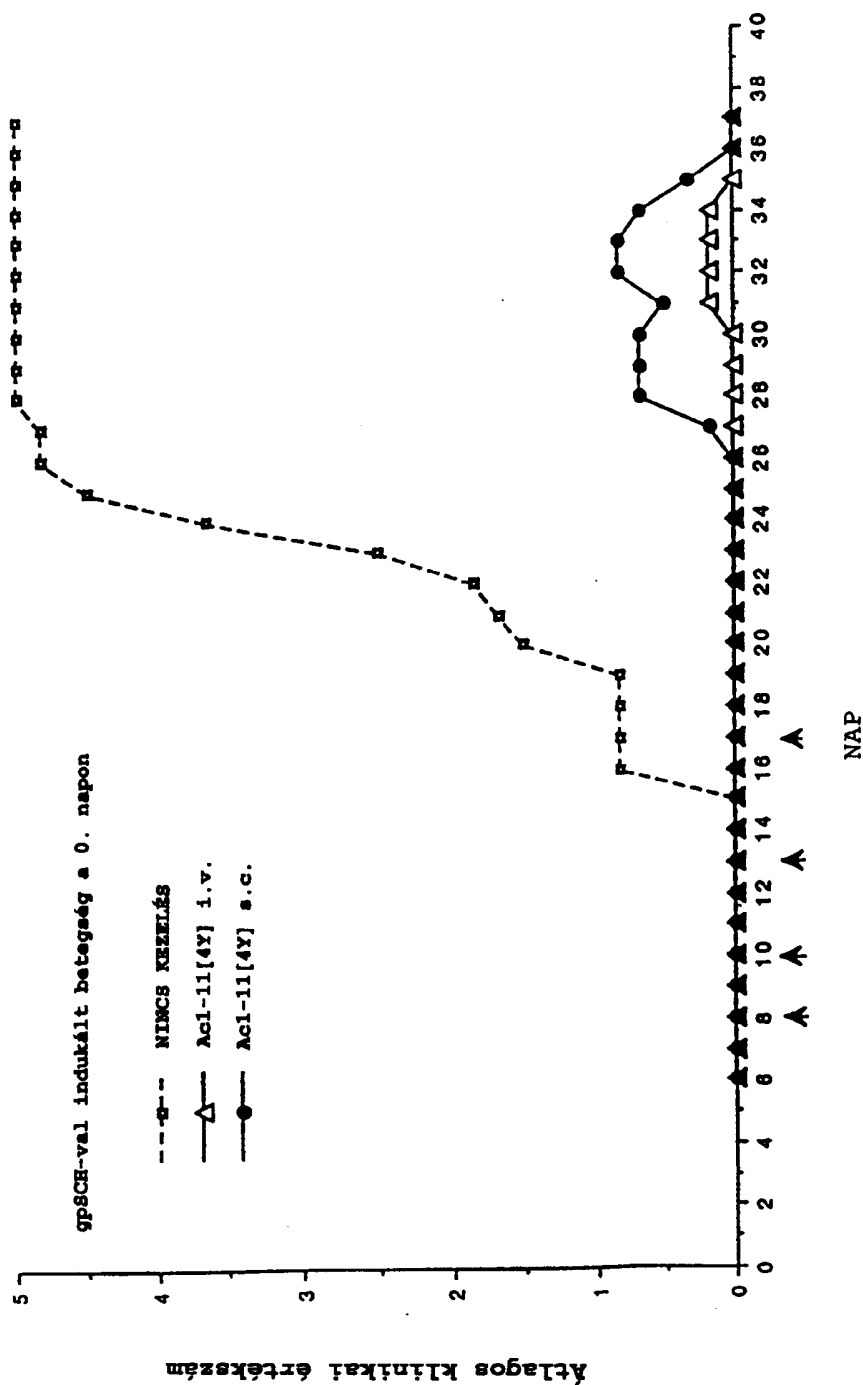
az S.B.G. & K. Nemzetközi

Szabadalmiroda tagja

H-1062 Budapest, Andrássy út 113.

Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

17. ábra



ifj. Szentpéteri Ádám

szabadalmi ügyvivő

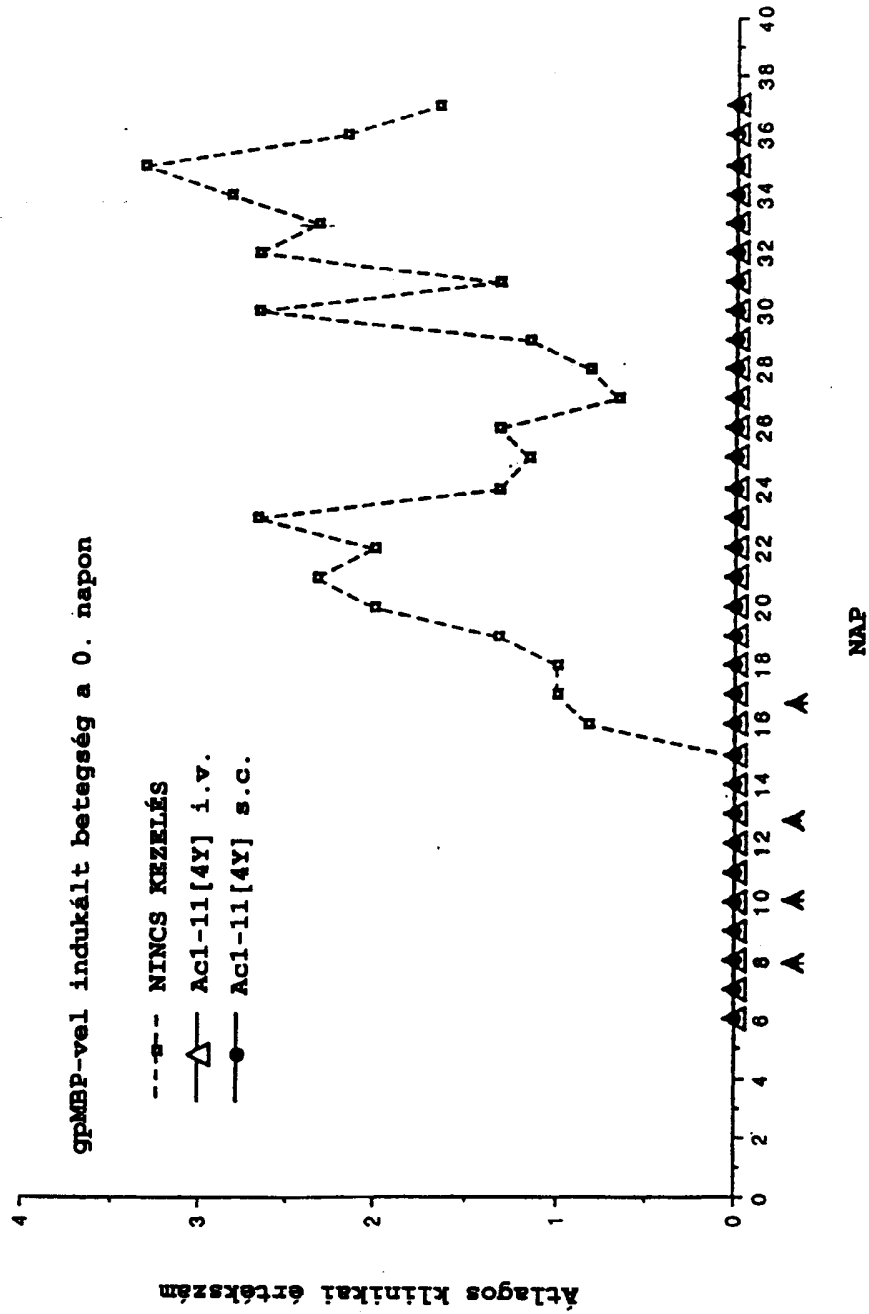
az S. B. G. & K. Nemzetközi

Szabadalmi Iroda tagja

H-1062 Budapest, Andrássy út 113.

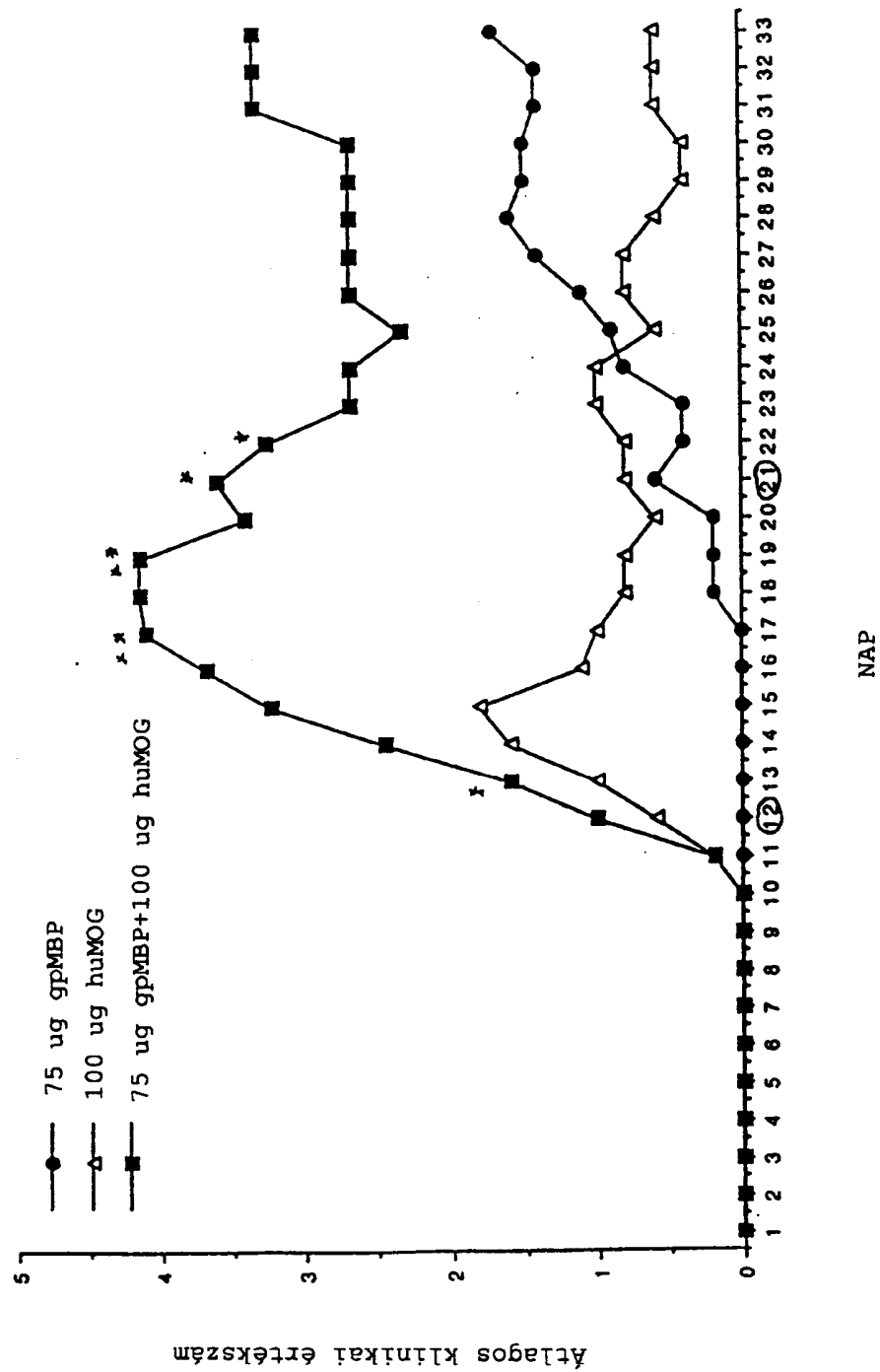
Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

18. ábra



iff. Szentpéteri Ádám
 szabadalmi ügyvivő
 az S.B.G. & K. Nemzetközi
 Szabadalmi Iroda tagja
 H-1062 Budapest, Andrassy út 113.
 Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

19. ábra



20. ábra

