



المملكة العربية السعودية
Kingdom of Saudi Arabia



الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

براءة اختراع

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

فايزر انك.
Pfizer Inc.

بتاريخ : 1444/05/28 هـ
الموافق : 2022/12/22 م

براءة اختراع رقم : SA 11808

عن الاختراع المسمى :

مقارنات عديد سكاريد- بروتين مكمورة عقدية من المجموعة (ب)

GROUP B STREPTOCOCCUS POLYSACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATES

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

الرئيس التنفيذي:

د. عبدالعزيز بن محمد السويلم



[19] الهيئة السعودية للملكية الفكرية

[11] رقم البراءة: SA 11808 B1

[12] براءة اختراع

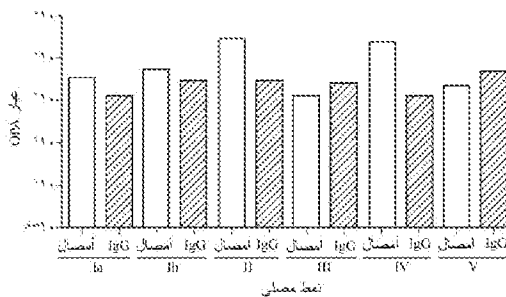
[45] تاريخ المنح: 1444/05/28 هـ

الموافق: 2022/12/22 م

[86] رقم الطلب الدولي: PCT/IB2016/052455 تاريخ إيداع الطلب الدولي: 2016/04/29 م [87] رقم النشر الدولي: WO/2016/178123 تاريخ النشر الدولي: 2016/11/10 م [51] التصنيف الدولي (IPC³): A61K 047/034, A61K 047/036 A61K 009/008, A61P 031/004 C07K 016/012, C07K 016/012 A61K 039/009 [56] المراجع: EP 0534764, US 5795580 WO 2014097099, WO 2014053607 WO 2006110381, WO 2014053612 C Florindo ET AL" Epidemiological surveillance of colonising group B Streptococcus epidemiology in the Lisbon and Tagus Valley regions, Portugal (2005 to 2012): emergence of a new epidemic type IV/clonal complex 17 clone". الفاحص: حصه بنت عمر البيز	[21] رقم الطلب: 517390274 [22] تاريخ دخول المرحلة الوطنية: 1439/02/13 هـ الموافق: 2017/11/02 م [30] بيانات الأسبقية: US 62/156,500 2015/05/04 م US 62/237,813 2015/10/06 م US 62/237,820 2015/10/06 م US 62/319,539 2016/04/07 م [72] اسم المخترع: أناليسا سيبييل اندرسون ، امارديب سينج بوبيندر بهالا ، روبرت جي. كيه. دونالد ، جانكسن جو ، كاثرين اوت جانسن ، راجش كومار كينشان ، لاكشمي كاندك ، جين-هوان كيم ، بول ليبراتور ، أفاري كريشنا براساد ، مارك ادوارد روبين ، انجريد لي سكولي ، سودام سينج ، سيندي سودونج يانج [73] مالك البراءة: فايزر انك عنوانه: 235 ايسيت، 42 ان دي ستريت، نيويورك، الولايات المتحدة الأمريكية جنسيته: امريكية [74] الوكيل: شركة كدسه للملكية الفكرية
--	---

إضافياً بطرق لبحث استجابة مناعية في كائنات ضد GBS و/أو لخفض أو منع مرض GBS عدواني في كائنات باستخدام التركيبات المبينة هنا. يمكن استخدام الأجسام المضادة الناتجة لمعالجة أو منع عدوى GBS عن طريق علاج مناعي سلبي. الشكل (1)

عدد عناصر الحماية (25)، عدد الأشكال (25)



[54] اسم الاختراع: متقارنات عديد سكاريد- بروتين مكورة عقدية من المجموعة (ب)

GROUP B STREPTOCOCCUS POLYSACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATES

[57] الملخص: يتعلق الاختراع بمتقارنات عديد سكاريد-

بروتين مولدة للمناعة تشمل عديد سكاريد كبسولي (CP) (capsular polysaccharide) من العقديّة اللبنيّة (Streptococcus agalactiae)، يشار إليها عادةً بمكورة عقدية من المجموعة (ب) (group B streptococcus) (GBS)، وبروتين حامل، حيث ينتقى CP من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia, Ib, Ic, Id, Ie, If, Ig, Ih, Ii, Ij, Ik, Il, Im, In, Io, Ip, Iq, Ir, Is, It, Iu, Iv, Iw, Ix, Iy, Iz. وحيث CP له مستوى sialic acid أكبر من حوالي 60%. يتعلق الاختراع أيضاً بطرق لعمل متقارنات وتركيبات مولدة للمناعة تشمل المتقارنات. يتعلق الاختراع أيضاً بتركيبات مولدة للمناعة تشمل متقارنات عديد سكاريد- بروتين، حيث تشمل المتقارنات على CP من النمط المصلي IV من GBS ونمط مصلي إضافي واحد على الأقل. يتعلق الاختراع

مقارنات عديد سكاريد - بروتين مكورة عقدية من المجموعة (ب)

GROUP B STREPTOCOCCUS POLYSACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATES

الوصف الكامل

خلفية الاختراع

يتعلق الاختراع بمقارنات عديد سكاريد - بروتين مولدة للمناعة تشمل عديد سكاريد كبسولي (capsular polysaccharide) (CP) من العقدية اللبنية (Streptococcus agalactiae)،
يشار إليها عادةً بمكورة عقدية من المجموعة (ب) (group B streptococcus) (GBS)،
وبروتين حامل، حيث ينتقى CP من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III،
IV، V، VI، VII، VIII، IX، وحيث CP له مستوى حمض sialic acid أكبر من حوالي 60%.
يتعلق الاختراع أيضاً بطرق لعمل مقارنات وتركيبات مولدة للمناعة تشمل المقارنات. يتعلق
الاختراع أيضاً بتركيبات مولدة للمناعة تشمل مقارنات عديد سكاريد - بروتين، حيث تشمل
المقارنات على CP من النمط المصلي GBS IV ونمط مصلي إضافي واحد على الأقل. يتعلق
الاختراع إضافياً بطرق لحث استجابة مناعية في كائنات ضد GBS و/أو لخفض أو منع مرض
GBS عدواني في كائنات باستخدام التركيبات المبينة هنا. يمكن استخدام الأجسام المضادة الناتجة
لمعالجة أو منع عدوى GBS عن طريق علاج مناعي سلبي.

إن العقدية اللبنية هي كائنات متعضية مكبسة بعديد سكاريد موجب الجرام معروفة أيضاً
بمكورة عقدية من المجموعة (ب) (GBS). فهي تعتبر مُطاعِم شائعة للمسالك التناسلية والقناة

الهضمية البشرية وتسبب أيضاً مرض خطير للأطفال وكبار السن

(Baker, C.J., Vaccine, 31(Suppl. 4):D3-D6 (2013)).

إن عامل الخطر الرئيسي لعدوى GBS في الأطفال هو استعمار خاص بالأمهات

(Dillon, H.C., et al., J. Pediatr., 110(1):31-36 (1987)).

واحدة من كل أربع نساء تحمل GBS عن طريق المستقيم والمهبل، مما قد يصيب السائل السلوي أو الجنين قبل أو أثناء الولادة ويؤدي إلى إنتان، التهاب رئوي، والتهاب السحايا

(Baker 2013; Heath, P.T., et al., BMJ Clin. Evid. (Online), pii:0323 (2014)).

5 إن 25% من الأطفال الناجين من التهاب السحايا GBS يعانون من خلل عصبي منهم 19%.

يعانون من التأخر المعرفي، الشلل الدماغي، العمى، وفقدان السمع

(Libster, R., et al., Pediatrics, 130(1):e8-152012 (2012)).

قد يتسبب GBS أيضاً في الإجهاض والولادات المبكرة ويرتبط بولادة الجنين ميتاً

(McDonald, H.M., et al., Infectious Diseases in Obstetrics and

Gynecology, 8(5-6):220-227 (2000); Randis, T.M., et al., The Journal of 10

Infectious Diseases, 210(2):265-273 (2014); Kessous, R., et al., J.

.Matern. Fetal Neonatal Med., 25(10):1983-1986 (2012)).

إن الأطفال أصحاب الأوزان المنخفضة جداً عن الولادة أكثر عرضة للإصابة، بنسبة تصل إلى

3% مصابين وتصل معدلات الوفيات إلى 30%، حتى مع المعالجة الفورية بالمضادات الحيوية

15 (Heath 2014).

إن إدخال فحص GBS والوقاية بالمضادات الحيوية أثناء الولادة (intrapartum

antibiotic prophylaxis) (IAP) في أواخر التسعينيات في أمريكا أظهر معدلات منخفضة

لأمراض حديثي الولادة التي تحدث في أول أسبوع في حياتهم (الأمراض مبكرة البدء

(early onset disease) [EOD])، لكن ليس لها تأثير يمكن قياسه على معدلات الأمراض

20 متأخرة البدء (late onset disease) (LOD) التي تظهر بعد ذلك في غضون أول 3 شهور

من الحياة. معدلات حالات EOD و LOD الأمريكية الحالية هي 0.25 و 0.27 لكل 1000 حالة

ولادة على التوالي

(Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Active Bacterial Core (ABC) Surveillance Report (2013) available at <http://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/gbs13.pdf>)

- 5 بعد إدخال لقاحات متقارن المكورات الرئوية لمنع مرض المكورات الرئوية العدوانية، بما في ذلك
تجرثم الدم والتهاب السحايا، وعلى الرغم من أن IAP لمنع مرض GBS، فإن GBS أصبح
السبب الوحيد الأكثر شيوعاً لإنتان حديثي الولادة (EOD) والتهاب السحايا (أكبر من شهرين) في
الأطفال في أمريكا
- 10 على عكس الولايات المتحدة، لا يعمل إدخال إرشادات المنع لمرض GBS عدواني على خفض
معدل حدوث EOD في هولندا أو المملكة المتحدة
- (Bekker, V., et al., The Lancet Infectious Diseases, 14(11):1083-1089
(2014); Lamagni, T.L., et al., Clin. Infect. Dis., 57(5):682-688 (2013))
- 15 قد يرجع عدم وجود تأثير إلى عدم وجود الفحص الشامل واقتصار IAP على الأمهات في
المجموعات الأكثر خطورة (مثلاً، حمى، الأغشية الممزقة المطولة). إن معدلات EOD تكون
أعلى في البلاد التي لا تستخدم IAP، مع متوسط حدوث مذكور بمقدار 0.75 لكل 1000 حالة
ولادة حية (95% CI -0.58 - 0.89)
- (Edmond, K.M, et al., Lancet, 379(9815):547-556 (2012))
- 20 المجموعة الأخرى المعرضة لخطر مرض GBS هي كبار السن. تتضمن عوامل الخطورة
مشكلات طبية مزمنة مثل داء السكري، السرطان، قصور في القلب، حالات عصبية، وحالات
متعلقة بالمسالك البولية. وفقاً لبيانات مراقبة CDC ABC، فإن معدل حدوث GBS العدواني
السنوي في أمريكا سنة 2013 كان 1000/0.28 في البالغين أو 12400 حالة/سنة في البالغين
≤ 65 عام. يقرب هذا المعدل حدوث مرض المكورات الرئوية العدوانية في كبار السن (مقابل

1000/0.30 لأجل < 65). يتوقع استمرار زيادة هذه المعدلات في كل من أمريكا وأوروبا (CDC 2013؛ Lamagni 2013).

- 5 إن أحد الطرق لمنع مرض GBS بين الأطفال وكبار السن هي استخدام لقاح يعتمد على عديد سكاريد. إن تطبيق لقاح وقائي GBS خاص بالأمهات له القدرة على منع مرض GBS بين الأطفال في أمريكا، بغض النظر عن استخدام IAP. على الرغم من أن عديد السكاريدات قد تكون مولدة للمناعة بمفردها، فقد تم استخدام تقارن عديد السكاريدات مع حاملات البروتين لتحسين توليد المناعة، تحديداً في الأطفال وكبار السن. تُصنع لقاحات متقارن عديد السكاريد - البروتين باستخدام عديد سكاريدات، بصفة عامة من غطاء سطح البكتيريا، متصلة مع حاملات البروتين. إن الارتباط الكيميائي لعديد السكاريد وحامل البروتين يحث استجابة مناعية ضد البكتيريا التي تعرض عديد السكاريد الموجود في اللقاح على سطحها، مما يمنع المرض. وفقاً لذلك، يعتبر التلقيح باستخدام عديد السكاريدات من بكتيريا مسببة للمرض هو استراتيجية محتملة لتعزيز مناعة العائل.
- 10 إن عديد السكاريدات التي تغطي البكتيريا تتفاوت بشكل كبير، حتى في فئة واحدة من البكتيريا. على سبيل المثال، يوجد في GBS عشرة أنماط مصلية مختلفة بسبب التفاوت في كبسولة عديد السكاريد البكتيرية. بالتالي، يكون من المرغوب بالنسبة للقاحات التي تعتمد على عديد سكاريد أن تتكون من مجموعة من عديد السكاريدات لضمان امتداد التغطية ضد السلالات الجائلة المختلفة.
- 15 قد يكون البروتين الحامل إما مولد ضد لبروتين ذو صلة من مسبب المرض المستهدف، يعزز الاستجابة المناعية الخاصة لمسبب المرض هذا، أو بروتين مولد للمناعة بشكل عام يعمل أكثر كمادة مساعدة أو مثير استجابة مناعية عام.
- 20 لقد تم تقييم مقارنات عديد سكاريد - بروتين أحادية التكافؤ فردية للأنماط المصلية GBS وهي la، lb، ll، III، و V في الطور 1 و 2 من التجارب السريرية في البالغين غير الحوامل (Brigtsen, A.K., et al., Journal of Infectious Diseases, 185(9):1277-1284 (2002); Baker, C.J., et al., J. Infect. Dis., 188(1):66-73 (2003); Baker,

C.J., et al., J. Infect. Dis., 189(6):1103-1112 (2004); Baker, C.J., et al.,
.Vaccine, 25(1):55-63 (2007))

وقد تمت أيضاً دراسة لقاحات متقارنة مع glycol II-TT و III-TT ثنائية التكافؤ ولقاحات ثلاثية
التكافؤ تشمل مقارنات مع glycol وهي la-CRM197، lb-CRM197 و III-CRM197 (Baker JID 2003؛ NCT01193920، Clicaltrials.gov، NCT01412801،
و NCT01446289). على الرغم من ذلك، لم يتم بعد الموافقة على لقاحات GBS.

علاوة على ذلك، بينما يغطي اللقاح ثلاثي التكافؤ < 90% من السلالات العدوانية التي
تسبب أمراض حديثي الولادة في جنوب أفريقيا

(Madzivhandila, M., et al., PloS One, 6(3):e17861 (2011)),

10 فإن نفس الأنماط المصلية تمثل فقط 62% و 66% من الخلاصات العدوانية في أمريكا الشمالية
وأوروبا، على التوالي، على أساس مراقبة الخلاصات الحديثة لحديثي الولادة من مجموعة عالمية
مكونة من 901 عينة مجمعة بين 2004 - 2013 من Tigecycline Evaluation and
Surveillance Trial (T.E.S.T., <http://www.testsurveillance.com/>).

15 أظهر تحليل السلالات الناتجة من عينات T.E.S.T. أن 95% من السلالات المجمعة
التي تنتمي إلى واحد من الأنماط المصلية الرئيسية الخمسة الموثقة (la، lb، II، III، و V) و 3%
آخرين منتمين للنمط المصلي IV. أكدت أيضاً سلسلة من المنشورات هيئة النمط المصلي IV على
مدى العقد الماضي في الأمريكتين وأوروبا

(Diedrick, M.J., et al., J. Clin. Microbiol., 48(9):3100-3104 (2010);

Teatero (2014); Meehan, M. et al., European Journal of Clinical
Microbiology & Infectious Diseases, 33(7):1155-1162 (2014); Florindo, 20
C., et al., Euro Surveillance: Bulletin European sur les Maladies
Transmissibles (European Communicable Disease Bulletin), 19(23)
(2014); Palmiero, J.K., et al., Journal of Clinical Microbiology,
.48(12):4397-4403 (2010))

أدت دراسة أيضاً لبحث نقل المستقيم/ المهبل في البالغين، الذي يعتبر عامل خطر لنقل GBS إلى الطفل، إلى استنتاج أن 97% من الخلاصات تنتمي إلى واحد من هذه الأنماط المصلية الستة، مع تمثيل النمط المصلي IV لتكرار بنسبة ~4%. أعدت الدراسة لمراقبة نقل عقدية حالة دموية- بيتا (التي تتضمن GBS)، المطثية العسيرة، والعنقودية الذهبية في البالغين الأصحاء الأمريكيين،
5 انظر

Matson, M.A., et al, ICAAC, Abstract I-306 (Washington, DC, Sep. 5-9, 2014).

بالمثل، أظهر تحليل عينات T.E.S.T. أن 98% من خلاصات الدم من الأمريكيين من البالغين أكبر سناً ≤ 65 سنة تنتمي إلى نفس المجموعات المصلية السائدة الست. إن الفرق الأكثر وضوحاً بين خلاصات كبار السن والمجموعات الأخرى هو توزيع المجموعات المصلية. بالنسبة
10 للخلاصات من المرضى كبار السن، تشكل سلالات النمط المصلي V المجموعة الأكبر (34% مقابل 18% لحديثي الولادة أو 18% لسلالات النقل في البالغين).

وقد وجدت دراسات أخرى أن هناك تباين جغرافي لانتشار النمط المصلي. على سبيل المثال، اتضح أن خلاصات النمط المصلي VI و VIII هي مستعمرات سائدة تخص امرأة حامل
15 سليمة في اليابان

(Lachenauer, C.S., et al., JID 179(4):1030-1033 (1999)).

وفقاً لذلك، هناك حاجة للقاحات متقارن عديد سكاريد- بروتين أو أجسام مضادة أحادية النسخ لمنح مناعة سلبية كوسيلة لمنع أو معالجة أمراض GBS، تتضمن تلك الناجمة عن ظهور النمط المصلي IV، بين السكان في جميع أنحاء العالم.

20 الوصف العام للاختراع

يتعلق الاختراع الحالي بمتقارنات عديد سكاريد- بروتين GBS مولدة للمناعة جديدة، طرق لإنتاج المتقارنات، وتركيبات مولدة للمناعة تشمل المتقارنات، وتتضمن الاختراع المبين في الطلب الأمريكي المؤقت رقم: 62/156500، المقيد في 4 مايو 2015؛ الطلب الأمريكي المؤقت رقم:

62/237813، المقيد في 4 مايو 2015؛ والطلب الأمريكي المؤقت رقم: 62/237820، المقيد في 6 أكتوبر 2015، المدمجين هنا بأكملهم بالمرجع. تصف العبارات التالية بعض جوانب وتجسيديات الاختراع.

- 5 في أحد الجوانب، يتعلق الاختراع بمقارن عديد سكاريد- بروتين مولد للمناعة يشمل عديد سكاريد كبسولي من المكورة العقدية من المجموعة (ب) (GBS) وبروتين حامل، حيث يكون لعديد السكاريد الكبسولي مستوى sialic acid أكبر من حوالي 60٪، أكبر من حوالي 95٪، أو حوالي 100٪. في تجسيد آخر، يُنزع sialyl من عديد السكاريد الكبسولي بنسبة تصل إلى 40٪ (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60٪). في تجسيد آخر، ينتقى عديد السكاريد الكبسولي من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، وIX.
- 10 في تجسيد إضافي، يشتمل مقارن عديد سكاريد- بروتين المولد للمناعة على عديد سكاريد كبسولي له حوالي 1 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.6، 0.65، 0.7، 0.75، 0.8، 0.85، 0.9، أو 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد.
- 15 في جانب آخر من الاختراع، يشتمل المقارن المولد للمناعة على عديد سكاريد كبسولي له وزن جزيئي بين حوالي 5 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون، أو بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون.
- 20 في تجسيد إضافي، يكون للمقارن المولد للمناعة الخاص بالاختراع وزن جزيئي بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون، مثلاً بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 15000 كيلودالتون أو بين حوالي 1000 وحوالي 10000 كيلودالتون.
- في أحد التجسيديات، يشتمل المقارن المولد للمناعة على عديد سكاريد كبسولي له بين حوالي صفر٪ وحوالي 40٪ O-acetylation، مثلاً أقل من حوالي 5٪، أقل من حوالي 4٪، أقل من حوالي 3٪، أقل من حوالي 2٪، أو أقل من حوالي 1٪ O-acetylation.
- 25 في أحد التجسيديات، يشتمل المقارن المولد للمناعة على عديد سكاريد كبسولي له على الأقل حوالي 0.1، 0.2، 0.3، 0.35 أو حوالي 0.4 مللي جزيئي جرامي من O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد. في تجسيد آخر، يشتمل المقارن المولد للمناعة على عديد

سكاريد كبسولي له أقل من حوالي 0.01، 0.02، 0.03، 0.04، أو 0.05 مللي جزيئي جرامي من O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد.

في أحد التجسيديات، يشتمل المتقارن المولد للمناعة على CRM197 أو tetanus toxoid مثل البروتين الحامل. في تجسيد محدد، يكون البروتين الحامل CRM197.

- 5 يتعلق تجسيد إضافي للاختراع بطرق لعزل عديد سكاريد كبسولي يشمل تفاعل عامل كاشف عضوي مع حساء خلية يشمل عديد سكاريد كبسولي ينتج بكتيريا. في أحد التجسيديات، تشتمل الطريقة أيضاً على خطوة طرد مركزي. في تجسيد آخر، تشتمل الطريقة أيضاً على خطوة ترشيح. في تجسيد محدد، ينتقى عديد السكاريد الكبسولي الذي ينتج البكتيريا من المجموعة المتكونة من العقديّة اللبنيّة (Streptococcus agalactiae)، العقديّة الرئوية (Streptococcus pneumoniae)،
- 10 العقنقوديّة الذهبية (Staphylococcus aureus)، النيسرية السحائية (Neisseria meningitidis)، الإشريكية القولونية (Escherichia coli)، السلمونيّة التيفية (Salmonella typhi)، المستدمية النزلية (Haemophilus influenzae)، الكلبسيّة الرئوية (Klebsiella pneumoniae)، التكور المعوي البرازي (Enterococcus faecium)، المكورة المعوية البرازية (Enterococcus faecalis). في أحد التجسيديات، ينتقى hydroxyl amine من المجموعة
- 15 المتكونة من amines المدرجة في جدول 2. في تجسيد إضافي، ينتقى hydroxyl amine من المجموعة المتكونة من diethyl hydroxylamine؛ dibenzyl hydroxylamine؛ hydroxylamine؛ ethylenediamine؛ triethylenetetramine؛ 1,1,4,7,10,10 hexamethyl triethylene tetramine؛ و 2,6,10, Trimethyl 2,6,10 triazaundecane.
- 20 في تجسيد آخر أيضاً، يكون تركيز hydroxyl amine حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 200 مللي جزيئي جرامي. في تجسيد إضافي، يكون الأس الهيدروجيني الخاص بالتفاعل حوالي 5.5 إلى حوالي 9.5. في تجسيد إضافي، يحدث التفاعل عند درجة حرارة حوالي 20° مئوية إلى حوالي 85° مئوية. في تجسيد آخر، يكون زمن التفاعل حوالي 10 ساعات إلى حوالي 90 ساعة.
- 25 في أحد الجوانب، يتعلق الاختراع بتركيبة مولدة للمناعة تشمل مقارنات عديد سكاريد-بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من نمط مصلي IV من المكورة العقديّة من المجموعة (ب) (GBS) ونمط مصلي إضافي واحد على الأقل منتقى من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، و IX. في تجسيد آخر،

تشتمل المقارنات على النمط المصلي IV من GBS ونمطين مصليين إضافيين على الأقل منتقين من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، IX. في تجسيد آخر، تشتمل المقارنات على النمط المصلي IV من GBS وثلاثة أنماط مصلية إضافية على الأقل منتقاة من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، IX. في تجسيد آخر، تشتمل المقارنات على النمط المصلي IV من GBS وأربعة أنماط مصلية إضافية على الأقل منتقاة من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، IX. في تجسيد محدد، تشتمل المقارنات على عديد سكاريد كبسولي من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV، V. في تجسيد إضافي، تشتمل التركيبة على النمط المصلي V من GBS. في تجسيد محدد، تشتمل المقارنات على عديد سكاريد كبسولي من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، V. في تجسيد آخر أيضاً، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على ستة مقارنات عديد سكاريد - بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريد كبسولي من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV و V من المكورة العقدية من المجموعة (ب). يتعلق أحد جوانب الاختراع بتركيبة مولدة للمناعة لا تحتوي على تداخل مناعي.

في أحد التجسيديات، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة إضافياً على مادة مسوغة، مثبت أس هيدروجيني، مادة مثبتة، مادة مساعدة، واق من البرد، ملح، كاتيون ثنائي التكافؤ، مادة منظفة غير أيونية، مثبت أكسدة شق حر، مادة حاملة مقبولين دوائياً أو خليط من ذلك. في تجسيد إضافي، تشتمل على مثبت أس هيدروجيني. قد يكون مثبت الأس الهيدروجيني MES، PIPES، HEPES، Tris (trimethamine)، فوسفات، acetate، borate، citrate، glycine، histidine أو succinate. في تجسيد مفضل، يكون مثبت الأس الهيدروجيني هو histidine.

في تجسيد آخر، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة إضافياً على منشط سطح. قد يكون منشط السطح هو esters حمض دهني polyoxyethylene sorbitan، polysorbate-80، polysorbate-60، polysorbate-40، polysorbate-20، أو polyoxyethylene alkyl ethers. في تجسيد مفضل، يكون منشط السطح هو polysorbate-80.

في تجسيد إضافي، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة إضافياً على مادة مسوغة. تنتقى المادة المسوغة من المجموعة المتكونة من النشا، جلوكوز، لاكتوز، sucrose، trehalose، raffinose، malt، أرز، stachyose، melezitose، dextran، mannitol، lactitol، palatinin، جيلاتين، malt، أرز،

دقيق، طباشير، هلام السليكا، sodium stearate، glycerol monostearate، تالك، glycine، lysine، arginine، كلوريد الصوديوم (NaCl)، حليب مقشود مجفف، glycerol، propylene glycol، ماء، و ethanol. في تجسيد مفضل، تكون المادة المسوغة هي كلوريد الصوديوم.

5 في تجسيد آخر أيضاً، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة إضافياً على مادة مساعدة. في أحد التجسيديات، تكون المادة المساعدة هي مادة مساعدة تعتمد على الألومنيوم أو QS-21. في تجسيد مفضل، تنتقى المادة المساعدة من المجموعة المتكونة من فوسفات الألومنيوم، aluminum hydroxyl phosphate، وهيدروكسيد الألومنيوم. في تجسيد مفضل أكثر، تكون المادة المساعدة هي فوسفات الألومنيوم.

10 في أحد جوانب الاختراع، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مثبت أس هيدروجيني، منشط سطح، مادة مسوغة، ومادة مساعدة اختيارياً، حيث يتم تثبيت الأس الهيدروجيني للتركيبة إلى أس هيدروجيني حوالي 6 إلى حوالي 7. في جانب آخر، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على histidine، polysorbate-80، كلوريد صوديوم، واختيارياً فوسفات الألومنيوم، حيث يتم تثبيت الأس الهيدروجيني للتركيبة إلى أس هيدروجيني حوالي 6 إلى حوالي 7. في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 25 مللي جزيئي جرامي من histidine، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.03% (حجم/ وزن) من polysorbate-80، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 250 مللي جزيئي جرامي من كلوريد الصوديوم (NaCl)، واختيارياً حوالي 0.25 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.75 مجم/ مليلتر من الألومنيوم مثل فوسفات الألومنيوم. في جانب إضافي من الاختراع، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على جرعة بمقدار حوالي 5 ميكروجرام/ مليلتر إلى حوالي 50 ميكروجرام/ مليلتر.

20 في تجسيد آخر من الاختراع، تكون التركيبة المولدة للمناعة مجفدة، اختيارياً في وجود مادة مسوغة واحدة على الأقل. في أحد التجسيديات، تنتقى المادة المسوغة الواحدة على الأقل من

المجموعة المتكونة من النشا، جلوكوز، لاكتوز، sucrose، trehalose، raffinose، stachyose، melezitose، dextran، mannitol، lactitol، palatinit، جيلاتين، malt،

أرز، دقيق، طباشير، هلام السليكا، sodium stearate، glycerol monostearate، تالك، glycine، arginine، lysine، كلوريد الصوديوم (NaCl)، حليب مقشود مجفف، glycerol، propylene glycol، ماء، و ethanol. في تجسيد مفضل، تنتقى المادة المسوغة الواحدة على

الأقل من المجموعة المتكونة من sucrose، mannitol، و glycine. في تجسيد محدد، تكون المادة المسوغة الواحدة على الأقل هي sucrose. في أحد الجوانب، تشتمل التركيبة المجفدة على حوالي 1% (وزن/ حجم) إلى حوالي 10% (وزن/ حجم) من المادة المسوغة الواحدة على الأقل، يُفضل أكثر من حوالي 5.5% (وزن/ حجم). في تجسيد آخر، تشتمل التركيبة المجفدة على مادة مسوغة إضافية. في أحد التجسيديات، تكون المادة المسوغة الإضافية mannitol أو glycine. في 5 تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المجفدة على حوالي 1% (وزن/ حجم) إلى حوالي 10% (وزن/ حجم) من المادة المسوغة الإضافية. في تجسيد آخر أيضاً، تتم إعادة تشكيل التركيبة المجفدة مع الماء، الماء للحقن (water for injection) (WFI)، معلق مساعد، أو محلول ملحي. في تجسيد محدد، تكون المادة المخففة هو معلق من أي مادة مساعدة موصوفة هنا، مثل المعلق المساعد المعتمد على الألومنيوم، يُفضل معلق فوسفات الألومنيوم. 10

يتعلق جانب آخر من الاختراع بطريقة لحث استجابة مناعية ضد GBS تشمل إعطاء كائن كمية فعالة من التركيبة المولدة للمناعة حسب الوصف هنا. في أحد التجسيديات، يتعلق الاختراع بطريقة لمنع أو الحد من مرض أو حالة تصاحب GBS في كائن تشمل إعطاء الكائن كمية فعالة من التركيبة المولدة للمناعة الموصوفة هنا. في تجسيد محدد، يكون الكائن هو أنثى تخطط للحمل أو أنثى حامل. في أحد التجسيديات، تكون الأنثى الحامل في النصف الثاني من حملها، مثلاً في 20 أسبوع أو 27 أسبوع على الأقل من فترة الحمل. في تجسيد مفضل، تكون الأنثى الحامل في 27 أسبوع أو 36 أسبوع من فترة الحمل. في تجسيد آخر، يكون الكائن من كبار السن، مثلاً بعمر 50 سنة أو أكبر، 65 سنة أو أكبر، و85 سنة أو أكبر. في تجسيد إضافي، يكون الكائن منقوص المناعة. في أحد الجوانب، قد يكون للكائن ظروف طبية منتقاة من المجموعة المتكونة من البدانة، مرض السكري، الإصابة بعدوى فيروس نقص المناعة البشري 20 (Human Immunodeficiency Virus) (HIV)، السرطان، مرض وعائي قلبي، أو مرض كبدي. في تجسيد مفضل، تكون المكورة العقدية من المجموعة (ب) هي العقدية اللبنية.

يتعلق جانب إضافي من الاختراع بأجسام مضادة ترتبط مع عديد سكاريد كبسولي في التركيبة المولدة للمناعة من الاختراع الحالي. في بعض التجسيديات، تتولد الأجسام المضادة عند

إعطاء التركيبة المولدة للمناعة لكائن. يتعلق جانب آخر بتركيبة تشمل الأجسام المضادة من الاختراع الحالي.

يتعلق جانب إضافي من الاختراع بطريقة منح مناعة سلبية لكائن تشمل الخطوات (أ) توليد مستحضر جسم مضاد باستخدام التركيبة المولدة للمناعة الموصوفة هنا؛ و(ب) إعطاء مستحضر الجسم المضاد للكائن لمنح المناعة السلبية. 5

يتعلق أحد جوانب الاختراع بطرق لصنع مقارنات عديد سكاريد- بروتين مولدة للمناعة من الاختراع الحالي تشمل الخطوات: (أ) تفاعل عديد سكاريد كبسولي GBS مع عامل مؤكسد ينتج عديد سكاريد منشط؛ و(ب) تفاعل عديد السكاريد المنشط مع بروتين حامل ينتج مقارن عديد سكاريد- بروتين، حيث تُجرى الخطوة (ب) في مذيب لا بروتوني قطبي. قد يكون المذيب dimethylformamide (DMF)، sulfolane، dimethylsulfoxide (DMSO) 10 و hexamethylphosphoramide (HMPA). في تجسيد مفضل، يكون المذيب هو dimethylsulfoxide (DMSO).

في أحد التجسيديات، يتفاعل عديد السكاريد مع 0.01 إلى 10 مكافئات جزيئية جرامية من العامل المؤكسد. في تجسيد محدد، يكون العامل المؤكسد هو periodate. في أحد التجسيديات، يكون periodate هو sodium periodate. 15

في تجسيد آخر، يكون تفاعل الأكسدة بين ساعة و 50 ساعة. في تجسيد إضافي، تظل درجة حرارة تفاعل الأكسدة بين حوالي 2° مئوية و حوالي 25° مئوية. في تجسيد آخر أيضاً، يُجرى تفاعل الأكسدة في مثبت أس هيدروجيني منتقى من المجموعة المتكونة من فوسفات الصوديوم، فوسفات البوتاسيوم، 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES)، و Bis-Tris. في أحد التجسيديات، يكون لمثبت الأس الهيدروجيني تركيز بين حوالي 1 ملي جزيئي جرامي و حوالي 500 ملي جزيئي جرامي. في تجسيد محدد، يُجرى تفاعل الأكسدة عند أس هيدروجيني بين حوالي 4 و حوالي 8. 20

في جانب إضافي من الاختراع، يكون العامل المؤكسد هو 2,2,6,6-tetramethyl-1-
N-chlorosuccinimide (NCS) في أحد التجسيديات، يكون piperidinyloxy (TEMPO).
مؤكسد تساهمي.

5 في أحد التجسيديات، تشتمل الخطوة (أ) لصنع متقارن عديد سكاريد- بروتين مولد للمناعة
من الاختراع الحالي إضافياً على إخماد تفاعل الأكسدة بإضافة عامل إخماد.

في تجسيد آخر، يكون تركيز عديد السكاريد بين حوالي 0.1 مجم/ مليلتر وحوالي 10
مجم/ مليلتر.

في تجسيد إضافي، تكون درجة أكسدة (DO) (degree of oxidation) عديد السكاريد
المنشط بين 5 و25.

10 في جانب آخر من الاختراع، تشتمل الطريقة إضافياً على خطوة تجفيد عديد السكاريد
المنشط. في أحد التجسيديات، يتم تجفيد عديد السكاريد المنشط في وجود سكاريد منتقى من
المجموعة المتكونة من sucrose، trehalose، raffinose، stachyose، melezitose،
lactitol، mannitol، dextran و palatinit.

15 في جانب إضافي من الاختراع، تشتمل الخطوة (ب) لصنع متقارن عديد سكاريد- بروتين
مولد للمناعة من الاختراع الحالي على (1) اتحاد عديد السكاريد المنشط مع بروتين حامل، و(2)
تفاعل عديد السكاريد المنشط المركب والبروتين الحامل مع عامل اختزال لتشكيل متقارن عديد
سكاريد- بروتين حامل كبسولي GBS. في أحد التجسيديات، يكون تركيز عديد السكاريد المنشط
في الخطوة (2) بين حوالي 0.1 مجم/ مليلتر وحوالي 10 مجم/ مليلتر. في تجسيد إضافي،
تكون النسبة المبدئية (الوزن بالوزن) لعديد السكاريد المنشط إلى البروتين الحامل بين 1:5

20 و1:0.1. في تجسيد آخر، ينتقى عامل الاختزال من المجموعة المتكونة من sodium
sodium triacetoxymborohydride، cyanoborohydride (NaBH₃CN)،
borohydride أو zinc borohydride في وجود Bronsted acids أو Lewis acids،
amine boranes مثل 2,6-diborane-، 2-picoline borane، pyridine borane،
dimethylamine-borane، methanol أو benzylamine-BH₃، t-BuMeiPrN-BH₃، أو

5-ethyl-2-methylpyridine borane (PEMB) في تجسيد مفضل، يكون عامل الاختزال هو (NaBH₃CN). في تجسيد آخر أيضاً، تكون كمية عامل الاختزال بين حوالي 0.1 وحوالي 10 مكافئات جزيئية جرامية. في تجسيد إضافي، تكون مدة تفاعل الاختزال من الخطوة (2) بين ساعة و 60 ساعة. في تجسيد آخر، تظل درجة حرارة تفاعل الاختزال بين 10° مئوية و 40° مئوية.

5 في جانب إضافي من الاختراع، تشتمل خطوة صنع متقارن عديد سكاريد - بروتين مولد

للمناعة إضافياً على خطوة (الخطوة ج)) تغطية aldehyde غير متفاعل بإضافة

borohydride. في أحد التجسيديات، تكون كمية borohydride بين حوالي 0.1 وحوالي 10

مكافئات جزيئية جرامية. في جانب آخر، ينتقى borohydride من المجموعة المتكونة من

lithium، sodium cyanoborohydride، sodium borohydride (NaBH₄)

10 borohydride، potassium borohydride، tetraethylammonium borohydride،

calcium borohydride و magnesium borohydride. في تجسيد مفضل، يكون

borohydride هو sodium borohydride (NaBH₄). في تجسيد إضافي، تكون مدة خطوة

التغطية بين 0.1 ساعة و 10 ساعات. في تجسيد آخر أيضاً، تظل درجة حرارة خطوة التغطية بين

حوالي 15° مئوية و حوالي 45° مئوية.

15 في جانب آخر من الاختراع، تشتمل الطريقة إضافياً على خطوة تنقية متقارن عديد

سكاريد - بروتين. في أحد التجسيديات، يشتمل متقارن عديد سكاريد - بروتين على أقل من حوالي

40% من عديد سكاريد حر بالمقارنة مع إجمالي كمية عديد السكاريد. في تجسيد آخر، تكون نسبة

(الوزن بالوزن) عديد السكاريد إلى البروتين الحامل في المتقارن بين حوالي 0.5 وحوالي 3. في

تجسيد إضافي، تكون درجة تقارن المتقارن بين 2 و 15.

20 يتعلق جانب آخر أيضاً من الاختراع بطرق لصنع مقارنات عديد سكاريد - بروتين مولد

للمناعة من الاختراع الحالي تشمل الخطوات: (أ) تفاعل عديد سكاريد كبسولي GBS معزول مع

عامل مؤكسد؛ (ب) إخماد تفاعل الأكسدة من الخطوة (أ) بإضافة عامل إخماد مما يؤدي إلى إنتاج

عديد سكاريد كبسولي GBS منشط؛ (ج) اتحاد عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط مع بروتين

حامل، (د) تفاعل عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط المركب والبروتين الحامل مع عامل

25 اختزال لتشكيل متقارن عديد سكاريد - بروتين حامل كبسولي GBS، و (هـ) تغطية aldehyde

غير المتفاعل بإضافة sodium borohydride (NaBH_4)، حيث تُجرى الخطوات (ج)، (د) و(هـ) في DMSO.

شرح مختصر للرسومات

- شكل 1. مقارنة النشاط الطهائي للأمصال و IgG المعزول من الفئران المحصنة باللقاحات أحادية التكافؤ GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197. 5
- شكل 2. ثبات GBS Ia-CRM197 (كما يتضح بالتغيير بالنسبة المئوية في الوزن الجزيئي باستخدام SEC MALLS) بعد التخزين السريع (أربعة أسابيع) عند 50° مئوية. 10
- شكل 3. ثبات GBS Ib-CRM197 (كما يتضح بالتغيير بالنسبة المئوية في الوزن الجزيئي باستخدام SEC MALLS) بعد التخزين السريع (أربعة أسابيع) عند 50° مئوية. 10
- شكل 4. ثبات GBS II-CRM197 (كما يتضح بالتغيير بالنسبة المئوية في الوزن الجزيئي باستخدام SEC MALLS) بعد التخزين السريع (أربعة أسابيع) عند 50° مئوية. 15
- شكل 5. ثبات GBS III-CRM197 (كما يتضح بالتغيير بالنسبة المئوية في الوزن الجزيئي باستخدام SEC MALLS) بعد التخزين السريع (أربعة أسابيع) عند 50° مئوية. 15
- شكل 6. ثبات GBS IV-CRM197 (كما يتضح بالتغيير بالنسبة المئوية في الوزن الجزيئي باستخدام SEC MALLS) بعد التخزين السريع (أربعة أسابيع) عند 50° مئوية. 15
- شكل 7. ثبات GBS V-CRM197 (كما يتضح بالتغيير بالنسبة المئوية في الوزن الجزيئي باستخدام SEC MALLS) بعد التخزين السريع (أربعة أسابيع) عند 50° مئوية. 15
- شكل 8. ثبات GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS III-CRM197، و GBS IV-CRM197 (كما يتضح من خلال sialic acid حر) بعد التخزين عند 37° مئوية. 20
- شكل 9. ثبات الأس الهيدروجيني في لقاح GBS سداسي التكافؤ (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) باستخدام succinate كمثبت أس هيدروجيني.

- شكل 10. ثبات الأس الهيدروجيني في لقاح GBS سداسي التكافؤ (GBS Ia-) CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، GBS، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) باستخدام histidine كمثبت أس هيدروجيني.
- شكل 11. تأثير تركيز مثبت الأس الهيدروجيني histidine في اللقاح GBS سداسي التكافؤ (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، GBS، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على ارتباط مقارنات GBS مع الألومنيوم عند جرعة 10 ميكروجرام/ مليلتر.
- شكل 12. تأثير تركيز مثبت الأس الهيدروجيني histidine في اللقاح GBS سداسي التكافؤ (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، GBS، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على ارتباط مقارنات GBS مع الألومنيوم عند جرعة 40 ميكروجرام/ مليلتر.
- شكل 13. تأثير تركيز polysorbate-80 في لقاح GBS سداسي التكافؤ (GBS Ia-) CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، GBS، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على فقدان إجمالي توليد الضد بالنسبة المئوية عند إجهاد الرج.
- شكل 14. تأثير تركيز الألومنيوم في لقاح GBS سداسي التكافؤ (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على ارتباط مقارنات GBS مع الألومنيوم.
- شكل 15. تأثير 5.5% (وزن/ حجم) من sucrose في 10 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفف (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي.
- شكل 16. تأثير 7% (وزن/ حجم) من sucrose في 10 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفف (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على

استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي.

شكل 17. تأثير 8.5% (وزن/ حجم) من sucrose في 10 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفد (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II- CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي. 5

شكل 18. تأثير 5.5% (وزن/ حجم) من sucrose في 50 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفد (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II- CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي.

شكل 19. تأثير 7% (وزن/ حجم) من sucrose في 50 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفد (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II- CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي. 10

شكل 20. تأثير 8.5% (وزن/ حجم) من sucrose في 50 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفد (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II- CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي. 15

شكل 21. تأثير 7% (وزن/ حجم) من sucrose في 40 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفد (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II- CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197) على استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي. 20

شكل 22. تأثير 2% (وزن/ حجم) من sucrose و 4% (وزن/ حجم) من mannitol في 40 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفد (GBS Ia-CRM197،

GBS IV-، GBS III-CRM197، GBS II-CRM197، GBS Ib-CRM197
CRM197، و GBS V-CRM197) على استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي.

شكل 23. تأثير 3% (وزن/ حجم) من sucrose و 3% (وزن/ حجم) من mannitol في
40 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفد (GBS Ia-CRM197،
GBS IV-، GBS III-CRM197، GBS II-CRM197، GBS Ib-CRM197 5
CRM197، و GBS V-CRM197) على استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي.

شكل 24. تأثير 2% (وزن/ حجم) من sucrose و 4% (وزن/ حجم) من glycine في
40 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفد (GBS Ia-CRM197،
GBS IV-، GBS III-CRM197، GBS II-CRM197، GBS Ib-CRM197
CRM197، و GBS V-CRM197) على استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي. 10

شكل 25. تأثير 3% (وزن/ حجم) من sucrose و 3% (وزن/ حجم) من glycine في
40 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة لقاح GBS سداسي التكافؤ مجفد (GBS Ia-CRM197،
GBS IV-، GBS III-CRM197، GBS II-CRM197، GBS Ib-CRM197
CRM197، و GBS V-CRM197) على استعادة توليد الضد لكل نمط مصلي.

15 الوصف التفصيلي:

من المفهوم أن هذا الاختراع لا يقتصر على طرق معينة، وقد تختلف الحالات التجريبية
الموصوفة، مثل الطرق والحالات. من المفهوم أيضاً أن المصطلحات الموصوفة هنا مستخدمة
لغرض وصف التجسيديات المحددة فقط، ولا يُقصد تحديدها.

على الرغم من استخدام أي طرق ومواد مشابهة أو مكافئة لتلك الموصوفة هنا في تنفيذ أو
اختبار الاختراع، يتم الآن وصف الطرق والمواد المفضلة. جميع المنشورات المذكورة هنا مدمجة
بالمراجع بأكملها. 20

إن المصطلحات المستخدمة هنا لها المعاني التي يعرفها ويدركها هؤلاء المهرة في الفن،
على الرغم من ذلك، لغرض الملاءمة والاكتمال، يتم أدناه وفي المواصفة ذكر مصطلحات معينة
ومعانيها.

حسب الاستخدام في هذه المواصفة وعناصر الحماية الملحقة، تتضمن صيغ المفرد "a"، "an"، و"the" إشارات للجمع مالم يشير السياق صراحةً إلى خلاف ذلك. بالتالي، على سبيل المثال، تتضمن الإشارات إلى "الطريقة (method)" طريقة واحدة أو أكثر، و/أو خطوات من النوع الموصوف هنا و/أو التي ستتضح للهؤلاء المهرة في الفن عند قراءة هذا الكشف إلى آخره.

5 يُقصد بالمصطلح "حوالي (about)" أو "تقريباً (approximately)" ضمن نطاق قيمة ذو دلالة إحصائية. قد يكون هذا النطاق بمقدار حجمي، نموذجياً ضمن 20٪، نموذجياً أكثر ضمن 10٪، ونموذجياً أكثر أيضاً ضمن 5 من قيمة أو نطاق معين. يعتمد التفاوت المسموح به الذي يشمل المصطلح "حوالي" أو "تقريباً" على نظام معين قيد الدراسة، ويمكن أن يقدره أحد أصحاب المهارة العادية في الفن بسهولة. كلما يُذكر نطاق معين في هذا الطلب، يتم أيضاً تصور كل عدد صحيح في النطاق كتجسيد للاختراع. 10

ويلاحظ في هذا الكشف أن المصطلحات مثل "يشمل (comprises)"، "مشمئل (comprised)"، "شامل (comprising)"، "يحتوي (contains)"، "محتوي (containing)"، إلخ قد يكون لها المعنى الموصوف في قانون براءة الاختراع الأمريكية؛ مثلاً، فإنها قد تعني "يتضمن (includes)"، "متضمن (included)"، "بما في ذلك (including)"، إلخ. تشير تلك المصطلحات إلى إدراج مكونات معينة أو مجموعة من المكونات بدون استبعاد أي مكونات أخرى. إن المصطلحات مثل "متكون بشكل أساسي من (consisting essentially of)" و"يتكون بشكل أساسي من (consists essentially of)" لها المعنى الموصوف في قانون براءة الاختراع الأمريكية؛ مثلاً، فإنها تسمح بإدراج مكونات أو خطوات إضافية لا تقلل من خصائص الاختراع الجديدة أو الأساسية، أي، تستبعد مكونات أو خطوات إضافية غير مذكورة التي تقلل من خصائص الاختراع الجديدة أو الأساسية، وتستبعد مكونات أو خطوات من الفن السابق، مثلاً وثائق في الفن السابق مذكورة هنا أو مدمجة بالمرجع هنا، خصوصاً أن هدف هذه الوثيقة هو تحديد تجسيديات يمكن منحها براءة الاختراع، مثلاً، جديدة، غير واضحة، مبتكرة، عن الفن السابق، مثلاً، عن الوثائق المذكورة هنا أو المدمجة بالمرجع هنا. ويكون للمصطلحات "يتكون من (consists of)" و"متكون من (consisting of)" المعنى الموصوف في قانون براءة الاختراع الأمريكية؛ أي، أن هذه المصطلحات لا يمكن تعديلها. وفقاً لذلك، تشير هذه المصطلحات إلى إدراج مكون معين أو مجموعة من المكونات واستبعاد جميع المكونات الأخرى. 20 25

- يشير المصطلح "مولد ضد (antigen)" عموماً إلى جزيء حيوي، عادةً يكون بروتين، ببتيدي، عديد سكاريد، ليبيد أو متقارن يحتوي على إبيتوب واحد على الأقل قد يرتبط به انتقائياً جسم مضاد من أصل واحد؛ أو في بعض الأمثلة، مع مادة مولدة للمناعة قد تثير إنتاج الأجسام المضادة أو استجابات خلية T، أو كل منهما، في حيوان، يتضمن تركيبات يتم حقنها في أو امتصاصها في حيوان. يمكن أن تتولد الاستجابة المناعية للجزيء الكامل، أو لقسم واحد أو أكثر من أقسام الجزيء المتنوعة (مثلاً، إبيتوب أو hapten). يمكن استخدام المصطلح للإشارة إلى جزيء منفرد أو إلى مجموعة متجانسة أو مغايرة من جزيئات مولدة للضد. يتم تمييز مولد الضد من خلال الأجسام المضادة، مستقبلات خلية T أو عناصر أخرى للمناعة الخلوية و/أو الخلوية المحددة. يتضمن المصطلح "مولد ضد (antigen)" جميع الإبيتوبات المولدة للضد ذات الصلة. يمكن تعريف إبيتوبات مولد ضد معين باستخدام أي عدد من تقنيات تخطيط الإبيتوب المعروفة في الفن، انظر، مثلاً، 5
- Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, NJ
- على سبيل المثال، يمكن تحديد الإبيتوبات الخطية عن طريق، مثلاً، تخليق عدد كبير من الببتيدات على الدعائم الصلبة بالتزامن، الببتيدات المقابلة لأقسام من جزيء البروتين، وتفاعل الببتيدات مع الأجسام المضادة بينما تظل الببتيدات مرتبطة بالدعائم. هذه التقنيات معروفة في الفن وموصوفة في، مثلاً براءة الاختراع الأمريكية رقم: 4708871؛ 10
- Geysen, H.M., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:3998-4002 (1984);
Geysen, H.M., et al., Molec. Immunol., 23(7):709-715 (1986),
الدمجين جميعهم هنا بالمرجع بأكملهم. بالمثل، يمكن تعريف الإبيتوبات التهايوية بتحديد تهايؤ مكاني للأحماض الأمينية مثلاً عن طريق تصوير البلورات بأشعة X ورنين مغناطيسي نووي ثنائي الأبعاد (مثلاً، بروتوكولات تخطيط الإبيتوب، أعلاه). علاوة على ذلك، لأغراض تخص الاختراع الحالي، يمكن أيضاً استخدام "مولد ضد" للإشارة إلى بروتين يتضمن تعديلات، مثلاً حذفات، إضافات واستبدالات (تحفظية بطبيعتها بصفة عامة، لكنها قد لا تكن تحفظية)، مع الترتيب الأصلي، مادام البروتين لديه القدرة على استخلاص استجابة مناعية. قد تكون هذه التعديلات متعمدة، من خلال تطهير موجه الموقع، أو من خلال مصادر أولية تخليقية محددة، أو من خلال طريقة معالجة هندسية وراثية، أو قد تكون عرضية، مثلاً من خلال طفرات العائل، التي تنتج مولدات الضد. علاوة 25

على ذلك، يمكن اشتقاق، الحصول على، أو عزل مولد الضد من ميكروب، مثلاً بكتيريا، أو قد يكون كائن متعضي كامل. بالمثل، يُدرج أيضاً في التعريفات أوليجونيكلو تيد أو عديد نيكلو تيد، الذي يُظهر مولد ضد، مثلاً، في تطبيقات تحصين حمض نووي. تُدرج أيضاً مولدات ضد تخليقية، على سبيل المثال، عديد ببتيدات، إبيتوبات مجانية، ومولدات ضد مشتقة تخليقياً أو صناعياً أخرى

5 (Bergmann, C., et al., Eur. J. Immunol., 23(11):2777-2781(1993);

Bergmann, C.C., et al., J. Immunol., 157(8):3242-3249(1996); Suhrbier,

.A., Immunol. and Cell Biol., 75(4):402-408 (1997))

تشير المصطلحات "لقاح (vaccine)" أو "تركيبة لقاح (vaccine composition)"،

المستخدمة بشكل تبادلي، إلى تركيبات دوائية تشمل تركيبة مولدة للمناعة واحدة على الأقل تحت

10 استجابة مناعية في حيوان.

عديد سكاريد كبسولي:

حسب الاستخدام هنا، يشير المصطلح "سكاريد (saccharide)" إلى شطر سكر فردي أو

وحدة أحادي سكاريد واتحادات من شطرين سكر فرديين أو أكثر أو وحدات أحادي سكاريد يتم

اتصالهم تساهمياً لتشكيل ثنائي سكاريد، أوليجوسكاريد، وعديد سكاريد. يمكن استخدام المصطلح

15 "سكاريد" بشكل تبادلي مع المصطلح "كربوهيدرات (carbohydrate)". قد يكون عديد السكاريد

خطي أو متفرع.

يشير "أحادي سكاريد (monosaccharide)" هنا إلى متخلف سكر فردي في أوليجوسكاريد.

يشير المصطلح "ثنائي سكاريد (disaccharide)" هنا إلى عديد سكاريد مكون من وحدتين أو

شطرين من أحادي سكاريد متصلين معاً برابطة glycosidic.

20 في أحد التجسيديات، يكون عديد السكاريد هو أوليجوسكاريد (oligosaccharide) (OS).

يشير "أوليجوسكاريد (oligosaccharide)" حسب الوصف هنا إلى مركب يحتوي على وحدتين أو

شطرين أو أكثر من أحادي سكاريد. ضمن سياق أوليجوسكاريد، يكون وحدة أو شطر مونومر فردي

هو أحادي سكاريد مرتبط، أو قد يكون مرتبط، عبر مجموعة hydroxyl مع وحدة أو شطر أحادي

سكاريد آخر. يمكن تحضير أوليجوسكاريدات من خلال إما تخليق كيميائي من سكريات متخلقة فردية

25 محمية أو من خلال انحلال كيميائي لعديد السكاريدات الناتجة حيوياً. بصورة تبادلية، يمكن تحضير

أوليجوسكاريدات من خلال طرق إنزيمية في المعمل.

في تجسيد مفضل، يكون عديد السكاريد هو عديد سكاريد (polysaccharide) (PS)، يشير إلى بوليمر خطي أو متفرع له على الأقل 5 وحدات أو أشطر أحادي سكاريد. لغرض التوضيح، سيشار هنا إلى عدد كبير من وحدات التكرار، حيث يكون n أكبر من 5، مثلاً أكبر من حوالي 10، كعديد سكاريد.

5 في أحد التجسيديات، يكون عديد السكاريد هو عديد سكاريد لسطح خلية. يشير عديد سكاريد لسطح خلية إلى عديد سكاريد له على الأقل قسم يقع على غشاء الخلية البكتيري الأبعد أو سطح الخلية البكتيري، بما في ذلك طبقة peptidoglycan، جدار خلية، وكبسولة. نموذجياً، يرتبط عديد سكاريد لسطح خلية بحث استجابة مناعية في الجسم الحي. قد يكون عديد سكاريد لسطح خلية "عديد سكاريد لسطح خلية (cell wall polysaccharide)" أو "عديد سكاريد كبسولي (capsular polysaccharide)". يشكل عديد سكاريد لسطح خلية نموذجياً طبقة متقطعة على السطح البكتيري.

10 في أحد التجسيديات، يكون عديد السكاريد هو عديد سكاريد كبسولي. يشير عديد سكاريد كبسولي إلى بوليمر سكري يتضمن وحدات تكرار لأحادي سكاريد واحد أو أكثر مرتبط بوصلات glycosidic. يشكل عديد سكاريد كبسولي نموذجياً طبقة تشبه كبسولة حول خلية بكتيرية. يشير عديد سكاريد كبسولي (Capsular polysaccharide) "أو" "عديد سكاريد بشكل كبسولة (capsule polysaccharide)" إلى كبسولة عديد سكاريد خارج جدار خلية معظم خلاصات المكورات العقدية. على سبيل المثال، يكون لجميع عديد السكاريدات الكبسولية GBS بناء تكرار متفرع له sialic acid متصل مع α 2-3 طرفي هناك حاجة له في الفوعة البكتيرية. لقد تم الكشف عن sialic acid مرتبط بكبسولة (محدد كميته باختبار HPLC) في < 94% من خلاصات عدوانية من حديثي الولادة من T.E.S.T. مزروع في المعمل.

20 اكتشف المخترعون الحاليون أن مستوى sialic acid من عديد السكاريد الكبسولي GBS يعتبر سمة هامة لإنتاج استجابة مناعية. قدمت الكشوف السابقة معلومات متضاربة فقط فيما يتعلق بمستويات sialic acid للنمط المصلي V، واستنتاج أنه يُفضل النمط المصلي V منزوع sialyl (منشور طلب براءة الاختراع الدولية رقم: 2012/035519) وأنه يمكن استخدام محتوى sialic acid < 50% للنمط المصلي V (منشور طلب براءة الاختراع الدولية رقم: 2014/053612). على الرغم من ذلك، لا يصف أي من هذه المراجع أهمية مستويات sialic acid لعل الأقل معظم عديد سكاريدات GBS على توليد المناعة. وجد المخترعون الحاليون بشكل مفاجيء أن عديد السكاريدات

25

الكبسولي GBS يتطلب حوالي 60% أو أكثر من sialic acid قبل التقارن لتوفير استجابة مناعية يمكن مقارنتها مع عديد السكاريدات التي لها مستويات sialic acid أصلية (أي، 100% أو أكثر من حوالي 95%). إن مستويات sialic acid بنسبة 58%، ضمن النطاق السابق المبين للنمط المصلي V، تؤثر سلباً على توليد المناعة.

5 وفقاً لذلك، في أحد تجسيديات الاختراع، تشتمل عديد السكاريدات الكبسولية على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص بها، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من حوالي 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، تصل إلى حوالي 5% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 95%).

يجب ملاحظة أن 100% من مستوى sialic acid يقابل حوالي 1 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد. بالتالي، قد يكون لعديد السكاريدات الكبسولية حوالي 1 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد. في تجسيد إضافي، قد يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد، على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد، على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد، على الأقل حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد، على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد، على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي

جرامي من عديد سكاريد.

متخلفات sialic الطرفية لبعض الأنماط المصلية لعدد السكاريد الكبسولي (CP) تكون O-acetylated (OAc) جزئياً

(Lewis, A.L., et al., Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 101(30):11123-8 (2004)) 5

الأنماط المصلية lb، III، IV، V، VI، و IX تكون O-acetylated جزئياً (تصل إلى ~40%)، بينما يكون للأنماط المصلية Ia، II، و VII قليل من O-acetylation أو قد لا يكون لها O-acetylation (أقل من حوالي 5%) (Lewis 2004). في أحد تجسيدات الاختراع، يشتمل عديد السكاريدات الكبسولية على مستوى O-acetylation الطبيعي الخاص بها (حوالي صفر % إلى حوالي 40%). في تجسيد آخر، يمكن نزع O-acetyl من عديد السكاريدات الكبسولية (أقل من حوالي 5%). يمكن تحديد درجة O-acetylation لعديد السكاريد أو أوليجوسكاريد بأي طريقة معروفة في الفن، على سبيل المثال، NMR البروتون

(Lemerminier, X., et al., Carbohydrate Research, 296:83-96 (1996); Jones, C., et al., Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 30:1233-1247 (2002); 15

منشورات طلبات براءة الاختراع الدولية أرقام: 2005/033148 و 00/56357). توصف طريقة أخرى شائعة الاستخدام في (Hestrin, S., J. Biol. Chem., 180:249-261 (1949)).

يجب أيضاً ملاحظة أن 100% من O-acetate يقابل حوالي 1 مللي جزئي جرامي من O-acetate لكل مللي جزئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد. وفقاً لذلك، تشتمل عديد سكاريدات O-acetylated جزئياً على الأقل على حوالي 0.1، 0.2، 0.3، 0.35 أو حوالي 0.4 مللي جزئي جرامي من O-acetate لكل مللي جزئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد. يشتمل عديد سكاريد منزوع O-acetyl على أقل من حوالي 0.01، 0.02، 0.03، 0.04، أو 0.05 مللي جزئي جرامي من O-acetate لكل مللي جزئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد.

إن الكائنات المتعضية المجهرية العقدية التي يمكن أن تتسبب في مرض عدواني تكون بصورة عامة قادرة أيضاً على إنتاج CP يعمل على كبسلة البكتيريا ويحسن مقاومتها للتصفية من خلال نظام مناعي فطري عائل. يعمل CP على تغطية الخلية البكتيرية بكبسولة حماية تجعل

25

البكتيريا مقاومة للالتهام والقتل داخل الخلايا. تكون البكتيريا بدون كبسولة أكثر عرضة للالتهام. كثيراً ما يكون عديد السكاريدات الكبسولية عامل فوعة هام للعديد من مسببات المرض البكتيرية، بما في ذلك، المستدمية النزلية، العقدية الرئوية، النيسيرية السحائية، والعنقودية الذهبية.

يمكن استخدام عديد السكاريد بشكل الكبسولة لتنميط فصائل معينة من البكتيريا بنمط مصلي.

5 يحدث التنميط عن طريق التفاعل مع مصل مضاد معين أو جسم مضاد أحادي النسخ متولد لبناء خاص أو سمة إبيتوب فردية لعديد سكاريد بشكل كبسولة. يوجد 10 أنماط مصلية GBS: la، lb، وII-IX (2013) (4) 19 (Ferrieri, P., et al., Emerg. Infect. Dis. [Internet], متاح من http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/19/4/12-1572_article.

في أحد تجسيدات الاختراع، يتم عزل عديد السكاريد من العقدية اللبنية. يمكن عزل عديد

10 السكاريد أي سلالة عقدية لبنية مكبسلة، مثلاً 090، A909 (ATCC رقم وصول BAA-1138)، 515 (ATCC رقم وصول BAA-1177)، B523، CJB524، MB 4052 (ATCC رقم وصول 31574)، H36B (ATCC رقم وصول 12401)، S40، S42، MB 4053 (ATCC رقم وصول 31575)، M709، 133، 7357، PFEGBST0267، MB 4055 (ATCC رقم وصول 31576)، 18RS21 (ATCC رقم وصول BAA-1175)، S16، S20، V8 (ATCC رقم وصول 12973)، DK21، DK23، UAB، 5401، PFEGBST0708، 15 MB 4082 (ATCC رقم وصول 31577)، M132، 110، M781 (ATCC رقم وصول BAA-22)، D136C(3) (ATCC رقم وصول 12403)، M782، S23، 120، MB 4316 (ATCC رقم وصول M-732)، 31475، M132، K79، COH1 (ATCC رقم وصول BAA-1176)، 3139 (ATCC رقم وصول 49446)، CZ-NI-016، PFEGBST0961، 1169-NT1، CJB111 (ATCC رقم وصول BAA-23)، CJB112، 2603 V/R (ATCC رقم وصول BAA-611)، 10/81 NCTC، CJ11، PFEGBST0837، 118754، 114852، 114862، 114866، 118775، B 4589، B 4645، SS1214، CZ-PW-119، 7271، CZ-PW-045، JM9130013، JM9130672، IT-NI-016، IT-PW-62، وIT-PW-64.

25 يمكن عزل عديد السكاريدات الموصوفة هنا بالطرق المعروفة في الفن، بما فيها، على سبيل المثال، الطرق الموصوفة هنا. حسب الاستخدام هنا، يشير "معزول (isolated)" إلى الحصول عليه

- من وفصله عن مصدر معين. يشير المصطلح "معزول" أيضاً إلى عدم وجوده في شكله طبيعي الوجود المحدد، حالته، و/أو بيئته. على سبيل المثال، يشير "معزول من المكورة العقدية (isolated from streptococcus)" إلى مادة يتم الحصول عليها من وفصلها عن خلية مكورة عقدية. لا يكون عديد السكاريد المعزول طبيعي الوجود. يُقصد بالمصطلح "معزول" أنه تتم إزالة المادة من بيئتها الأصلية (مثلاً، البيئة الطبيعية إذا كانت طبيعية الوجود أو من الكائن المتعضي العائل الخاص بها إذا كانت مخلقة، أو مأخوذة من بيئة إلى بيئة أخرى). على سبيل المثال، يكون عديد السكاريد بشكل كبسولة "المعزول"، البروتين أو الببتيد خالي بشكل كبير من مادة خلوية أو بروتينات ملوثة أخرى من مصدر الخلية أو النسيج الذي يُشتق منه البروتين، أو خالي بشكل كبير من مصادر أولية كيميائية أو مواد كيميائية أخرى عند التخليق كيميائياً، أو يكون من ناحية أخرى في خليط كجزء من تفاعل كيميائي. في الاختراع الحالي، يمكن عزل البروتينات أو عديد السكاريدات من الخلية البكتيرية أو من المخلفات الخلوية، بحيث تتوافر في شكل مفيد في تصنيع تركيبة مولدة للمناعة. قد يتضمن المصطلح "معزول" أو "عزل (isolating)" تنقية، أو تطهير، بما في ذلك طرق لتنقية عديد سكاريد معزول معروف في الفن و/أو طرق موصوفة هنا. تتضمن الجملة "خالي بشكل كبير من مادة خلوية (substantially free of cellular material)" مستحضرات عديد ببتيد/بروتين يتم فيها فصل عديد الببتيد/البروتين عن المكونات الخلوية الخاصة بالخلية الذي يُعزل أو يُنتج منها تخليقاً. بالتالي، عديد السكاريد بشكل كبسولة، البروتين أو الببتيد الخالي بشكل كبير من مادة خلوية يتضمن مستحضرات عديد السكاريد بشكل كبسولة البروتين أو الببتيد الذي له أقل من حوالي 30٪، 20٪، 10٪، 5٪، 2.5٪، أو 1٪ (بالوزن الجاف) من البروتين الملوثة أو عديد السكاريد أو مادة خلوية أخرى. عند إنتاج عديد الببتيد/البروتين تخليقاً، يُفضل أيضاً أن يكون خالي بشكل كبير من وسط مزرعة، أي وسط مزرعة يمثل أقل من حوالي 20٪، 10٪، أو 5٪ من حجم مستحضر البروتين. عند إنتاج عديد الببتيد/البروتين أو عديد السكاريد بالتخليق الكيميائي، يُفضل أيضاً أن يكون خالي بشكل كبير من مصادر أولية كيميائية أو مواد كيميائية أخرى، أي يُفصل عن المصادر الأولية الكيميائية أو المواد الكيميائية الأخرى المتضمنة في تخليق البروتين أو عديد السكاريد. وفقاً لذلك، يكون لمستحضرات عديد الببتيد/البروتين أو عديد السكاريد أقل من حوالي 30٪، 20٪، 10٪، 5٪ (بالوزن الجاف) من مصادر أولية أو مركبات كيميائية غير عديد الببتيد/البروتين أو شذفة من عديد السكاريد محل الدراسة.

- في أحد تجسيدات الاختراع، يتم عزل عديد السكاريد من بكتيريا. في أحد تجسيدات الاختراع، ينتج عديد السكاريد تخليقياً. في تجسيد إضافي، يكون عديد السكاريد تخليقي أو مخلوق كيميائياً وفقاً لطرق تقليدية. في تجسيد إضافي من الاختراع، يتم تحضير عديد السكاريد عن طريق الإظهار في عائل بديل بعد نسخ وإظهار مسار تخليقي حيوي لإنتاج عديد السكاريد. في أحد التجسيدات، يكون عديد السكاريد مولد للمناعة. على سبيل المثال، اكتشف المخترعون أن كل عديد سكاريد موصوف 5 هنا يمكنه حث أو إحداث استجابة مناعية. يشير المصطلح "مولد للمناعة (immunogenic)" إلى القدرة على بدء، حدوث، تسبب، تحسين، تعزيز و/أو زيادة الاستجابة المناعية الخلطية و/أو التي تتسبب فيها خلية بصورة غير مباشرة في كائن ثديي. في أحد التجسيدات، يكون الكائن الثديي إنسان، كائن رئيس، أرنب، خنزير، فأر، إلخ.
- يستخدم الوزن الجزيئي لعديد السكاريد الكبسولي في التركيبات المولدة للمناعة. تكون عديد 10 السكاريدات الكبسولية عالية الوزن الجزيئي قادرة على حث استجابات مناعية لجسم مضاد معين بسبب ارتفاع تكافؤ الإبيتوبات الموجودة على السطح المولد للضد. يتم تصور عزل وتنقية عديد السكاريدات الكبسولية عالية الوزن الجزيئي للاستخدام في مقارنات، تركيبات وطرق الاختراع الحالي. على الرغم من ذلك في أحد التجسيدات، يمكن تحديد حجم عديد السكاريد إلى نطاق وزن جزيئي (molecular weight) (MW) أقل من الوزن الجزيئي لعديد السكاريد الكبسولي الأصلي 15 قبل التقارن مع بروتين حامل. يقل حجم عديد السكاريد الكبسولي المنقى لتوليد مقارنات لها خصائص و/أو إنتاجيات ترشيح مفيدة.
- في أحد التجسيدات، يقل حجم عديد السكاريد الكبسولي المنقى عن طريق تجانس عالي الضغط. يحقق التجانس عالي الضغط معدلات قص عالية عن طريق ضخ تيار العملية خلال مسار تدفق له أبعاد صغيرة بشكل كافٍ. يزيد معدل القص باستخدام ضغط تجانس مطبق أكبر، ويمكن 20 أن يزيد زمن التعرض بإعادة تدوير تيار التلقية خلال أداة التجانس.
- في أحد التجسيدات، يكون عديد السكاريد الموصوف هنا قادر على حث النشاط الطهائي. في تجسيد آخر، يكون عديد السكاريد الموصوف هنا قادر على حث النشاط الطهائي ونشاط الالتهام (مثلاً، نشاط طهائي خلوي التهامي).
- يشير النشاط الطهائي أو الطهائية إلى عملية ترتبط فيها طهائية (على سبيل المثال، جسم مضاد أو عامل تكميلي) مع مولد ضد (مثلاً، عديد سكاريد معزول موصوف هنا)، تسهل ارتباط 25

مولد الضد مع ملتهمة أو خلية ملتهمة (مثلاً، ملتهمة كبيرة، خلية شجيرية، خلية بيضاء مفصصة النواة (polymorphonuclear leukocyte) (PMNL). بعض البكتيريا، على سبيل المثال، البكتيريا المكسلة غير الملتهمة نموذجياً بسبب وجود الكبسولة، من الممكن أن تميزها الملتهفات عند تغطيتها بجسم مضاد طهائي. في أحد التجسيديات، يحدث عديد السكاريد استجابة مناعية، مثلاً، جسم مضاد يكون طهائياً. في أحد التجسيديات، يكون النشاط الطهائي مضاد لمكورة موجبة الجرام، يُفضل مضاد لأنواع مكورة عقدية، يُفضل أكثر مضاد لسلالة واحد على الأقل من العقدية اللبنية.

في تجسيد آخر أيضاً، يكون عديد السكاريد الموصوف هنا قادر على حث استجابة مناعية مبيدة للبكتيريا. في أحد التجسيديات، يكون النشاط المبيد للبكتيريا مضاد لمكورة موجبة الجرام، يُفضل مضاد لأنواع مكورة عقدية، يُفضل أكثر مضاد لسلالة واحد على الأقل من العقدية اللبنية.

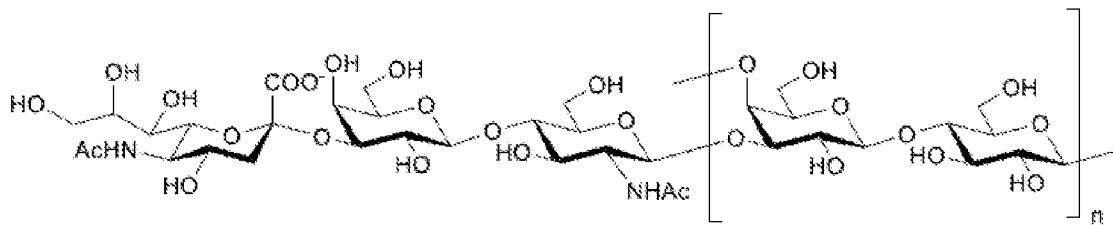
10 إن طرق قياس الطهائية، الالتهام، و/أو النشاط المبيد للبكتيريا معروفين في الفن، على سبيل المثال، بقياس الانخفاض في الحمل البكتيري في الجسم الحي (مثلاً، عن طريق قياس مستويات تجرثم الدم في الكائنات الثديية المتحددة بنوع مكورة عقدية) و/أو بقياس قتل الخلية البكتيرية في المعمل (مثلاً، اختبار نشاط التهام خلوي طهائي في المعمل). في أحد التجسيديات، يكون عديد السكاريد قادر على حث نشاط طهائي، التهامي، و/أو مبيد للبكتيريا بالمقارنة مع مقارن ملائم، على سبيل المثال، بالمقارنة مع أمصال مضادة ضد مكورة موجبة الجرام مقتولة بالحرارة.

النمط المصلي Ia

يتضمن أحد التجسيديات عديد سكاريد كبسولي GBS من النمط المصلي Ia. يمكن تصوير

بناء النمط المصلي Ia كالتالي:

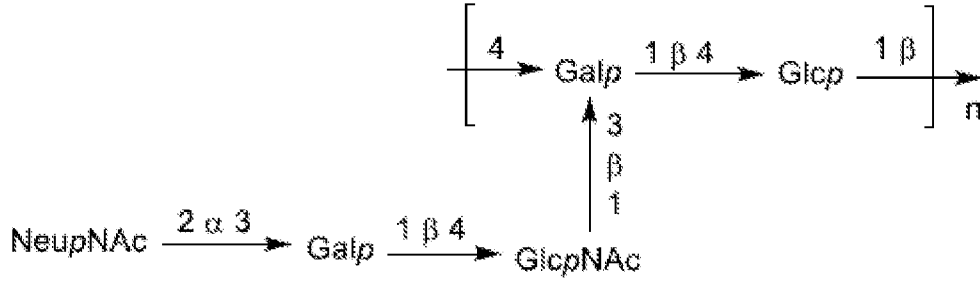
(أ)



20

أو

(ب)



يكون الوزن الجزيئي لعدد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي la قبل التقارن بين

حوالي 5 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، مثلاً بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 750

كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي

450 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين 25 كيلودالتون وحوالي

350 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون

وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون، بين حوالي 50

كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي

50 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين

حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون،

بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 200

كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي

500 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون

وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 75

كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي

75 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين

حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 650

كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون

وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 100

كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين

حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 300

كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون

وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 200

- كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، أو بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون. في أحد التجسيديات المفضلة، يكون الوزن الجزيئي لعديد السكاريد الكبسولي قبل التقارن بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون. في تجسيد مفضل آخر، يكون الوزن الجزيئي لعديد السكاريد الكبسولي قبل التقارن بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون. يتم تصور كل عدد صحيح في أي من النطاقات الموصوفة أعلاه كتجسيد للكشف.

في تجسيد خاص، تُستخدم عملية تجانس عالي الضغط لتقليل حجم النمط المصلي la لعديد السكاريد الكبسولي GBS الأصلي مع الحفاظ على السمات البنائية، مثلاً sialic acid، لعديد السكاريد.

- في أحد تجسيديات الاختراع، يشتمل عديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي la على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص به، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، أو تصل إلى حوالي 5% (مستوى

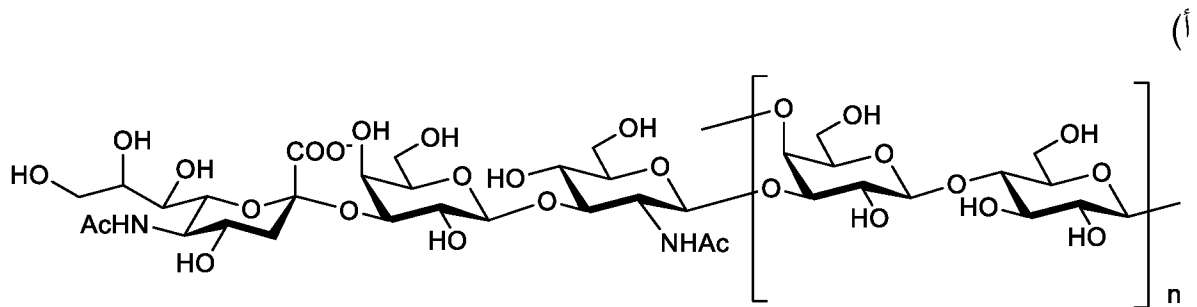
sialylation أكبر من حوالي 95%) قبل التقارن.

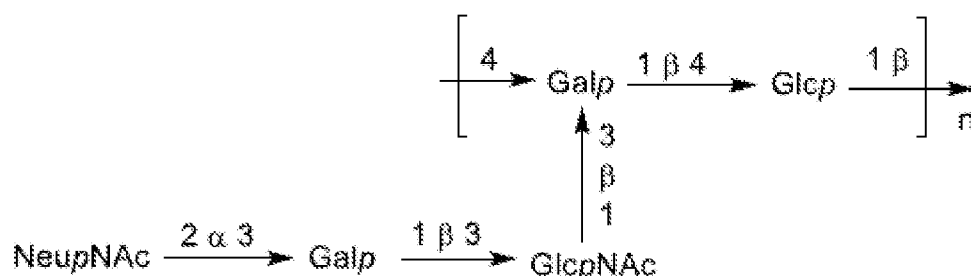
في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي la حوالي 1 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. في 5 تجسيد إضافي، يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على 10 حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن.

15 يكون عديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي la أقل من حوالي 5%. O-acetylated. تتضمن بعض السلالات التمثيلية لعديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي la من الاختراع 090، A909 (ATCC رقم وصول BAA-1138)، 515 (ATCC رقم وصول BAA-1177)، B523، CJB524، و MB 4052 (ATCC رقم وصول 31574).

النمط المصلي lb

20 يتضمن أحد التجسيديات عديد سكاريد كبسولي GBS من النمط المصلي lb. يمكن تصوير بناء النمط المصلي lb كالتالي:



[illegible]

- كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، أو بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون. في أحد التجسيديات المفضلة، يكون الوزن الجزيئي لعديد السكاريد الكبسولي قبل التقارن بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون. يتم تصور كل عدد صحيح في أي من النطاقات الموصوفة أعلاه كتجسيد للكشف.
- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- في أحد تجسيديات الاختراع، يشتمل عديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي lb على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص به، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، أو تصل إلى حوالي 5% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 95%) قبل التقارن.

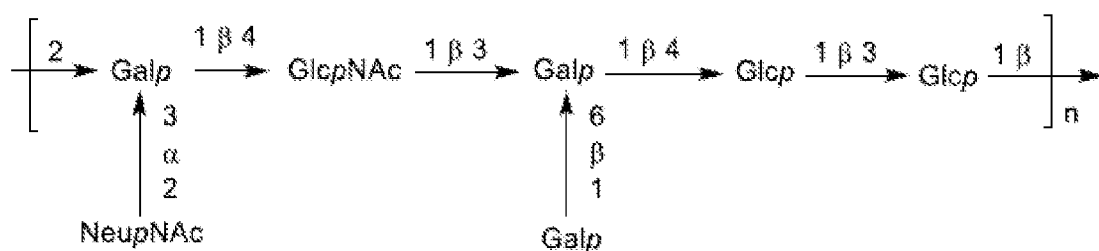
في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي lb حوالي 1 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. في تجسيد إضافي، يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن.

يكون عديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي lb بين حوالي صفر % وحوالي 40% O-acetylated. في أحد تجسيديات الاختراع، يكون عديد السكاريد منزوع O-acetyl (أي، أقل من حوالي 5% O-acetylated). تتضمن بعض السلالات التمثيلية لعديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي lb من الاختراع H36B (ATCC رقم وصول 12401)، S40، S42، MB 4053 (ATCC رقم وصول 31575)، M709، 133، 7357، و PFEGBST0267.

النمط المصلي II

يتضمن أحد التجسيديات عديد سكاريد كبسولي GBS من النمط المصلي II. يمكن تصوير بناء النمط المصلي II كالتالي:

(أ)



11808

كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، أو بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون. في أحد التجسيديات المفضلة، يكون الوزن الجزيئي لعديد السكاريد الكبسولي قبل التقارن بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون. يتم تصور كل عدد صحيح في أي من النطاقات الموصوفة أعلاه كتجسيد للكشف.

في أحد تجسيديات الاختراع، يشتمل عديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي II على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص به، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى

حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، أو تصل إلى حوالي 5% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 95%) قبل التقارن.

- 5 في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي II حوالي 1 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. في تجسيد إضافي، يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن.
- 10
- 15

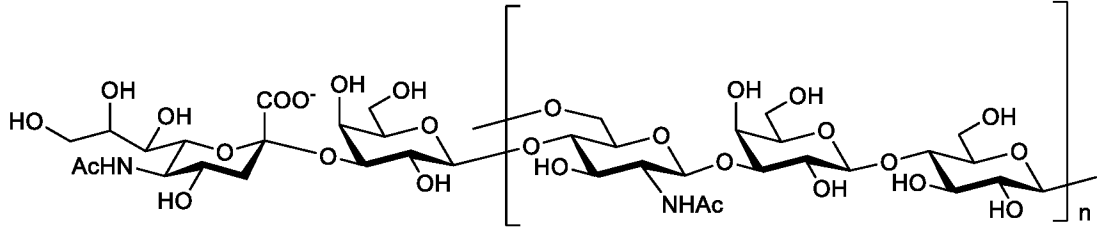
يكون عديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي II أقل من حوالي 5% O-acetylated. تتضمن بعض السلالات التمثيلية لعديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي II من الاختراع MB 4055 (ATCC رقم وصول 31576)، 18RS21 (ATCC رقم وصول BAA-1175)، S16، S20، V8 (ATCC رقم وصول 12973)، DK21، DK23، UAB، 5401، و PFEGBST0708.

20

النمط المصلي III

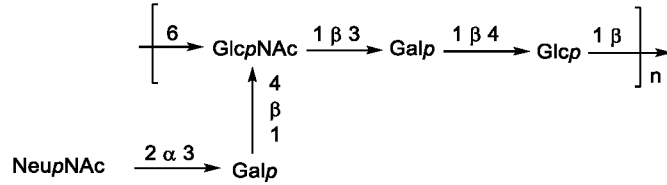
يتضمن أحد التجسيديات عديد سكاريد كبسولي GBS من النمط المصلي III. يمكن تصوير بناء النمط المصلي III كالتالي:

(أ)



أو 5

(ب)



يكون الوزن الجزيئي لعديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي III قبل التقارن بين

حوالي 5 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، مثلا بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 750

كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 10

450 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون

وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 25

كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون، بين حوالي

50 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين

حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، 15

بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 300

كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي

200 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون

وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 75

كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 20

- 75 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، أو بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون. في أحد التجسيديات المفضلة، يكون الوزن الجزيئي لعدد السكاريد الكبسولي قبل التقارن بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون. في تجسيد مفضل آخر، يكون الوزن الجزيئي لعدد السكاريد الكبسولي قبل التقارن بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون. يتم تصور كل عدد صحيح في أي من النطاقات الموصوفة أعلاه كتجسيد للكشف.
- 25 في تجسيد محدد، تُستخدم عملية التجانس عالي الضغط لتقليل حجم النمط المصلي III لعدد سكاريد كبسولي GBS أصلي مع الحفاظ على السمات البنائية، مثلاً، sialic acid، لعدد السكاريد.

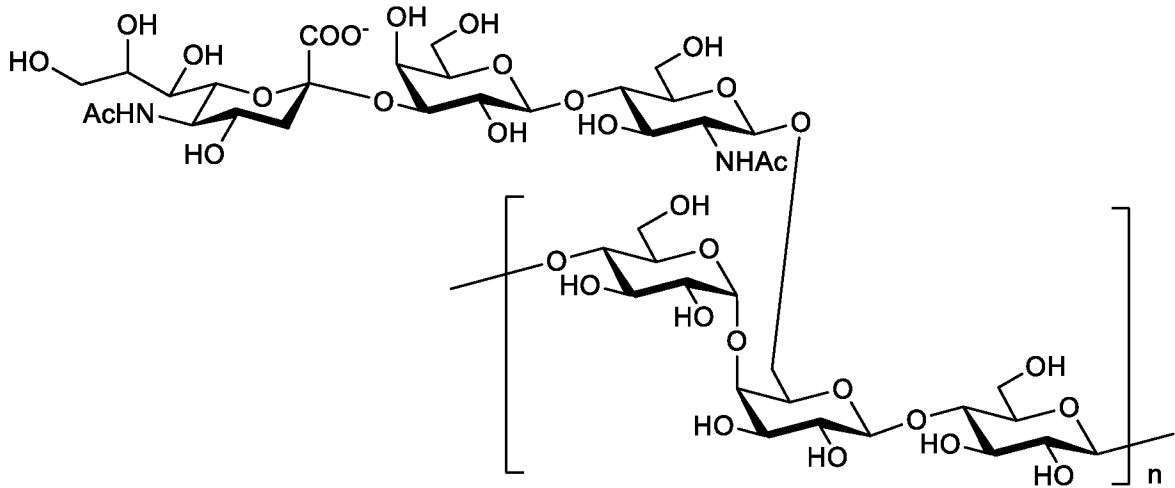
- في أحد تجسيدات الاختراع، يشتمل عديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي III على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص به، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، أو تصل إلى حوالي 5% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 95%) قبل التقارن.
- 10 في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي III حوالي 1 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. في تجسيد إضافي، يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن.
- 15 يكون عديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي III بين حوالي صفر% وحوالي 40% O-acetylated. في أحد تجسيدات الاختراع، يكون عديد السكاريد منزوع O-acetyl (أي، أقل من حوالي 5% O-acetylated). تتضمن بعض السلالات التمثيلية لعديد السكاريدات الكبسولية
- 20
- 25

من النمط المصلي III من الاختراع MB 4082 (ATCC رقم وصول 31577)، M132، 110،
M781 (ATCC رقم وصول BAA-22)، (3) D136C (ATCC رقم وصول 12403)، M782،
S23، 120، MB 4316 (ATCC؛ M-732 رقم وصول 31475)، M132، K79، COH1،
(ATCC رقم وصول BAA-1176)، و PFEGBST0563.

5 النمط المصلي IV

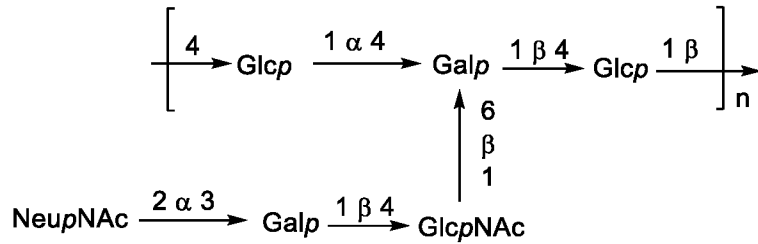
يتضمن أحد التجسيديات عديد سكاريد كبسولي GBS من النمط المصلي IV. يمكن
تصوير بناء النمط المصلي IV كالتالي:

(أ)



أو 10

(ب)



يكون الوزن الجزيئي لعديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي IV قبل التقارن بين

حوالي 5 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، مثلا بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 750

كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 15

450 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون

وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 25

- [illegible]

كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، أو بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون. في أحد التجسيديات المفضلة، يكون الوزن الجزيئي لعديد السكاريد الكبسولي قبل التقارن بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون. يتم تصور كل عدد صحيح في أي من النطاقات الموصوفة أعلاه كتجسيد للكشف. 5

في أحد تجسيديات الاختراع، يشتمل عديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي IV على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص به، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، أو تصل إلى حوالي 5% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 95%) قبل التقارن. 10

في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي IV حوالي 1 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. في تجسيد إضافي، يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي 20 25

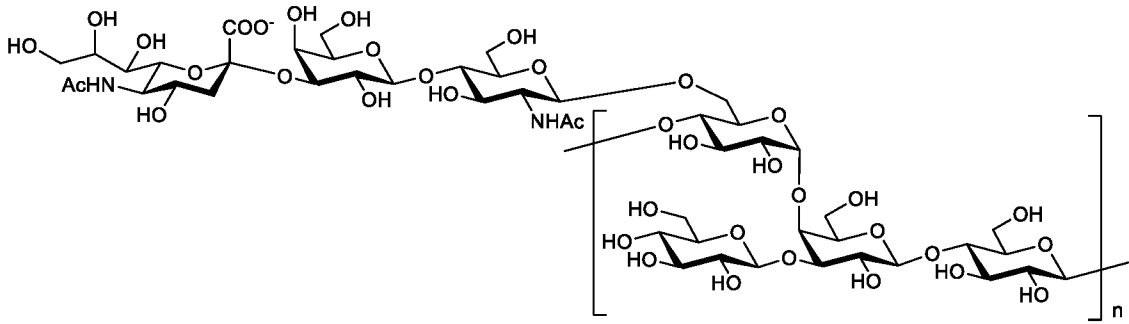
من عديد السكاريد قبل التقارن.

يكون عديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي IV بين حوالي صفر% وحوالي 40% O-acetylated. في أحد تجسيديات الاختراع، يكون عديد السكاريد منزوع O-acetyl (أي، أقل من حوالي 5% O-acetylated). تتضمن بعض السلالات التمثيلية لعدد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي IV من الاختراع 3139 (ATCC رقم وصول 49446)، CZ-NI-016، و PFEGBST0961.

النمط المصلي V

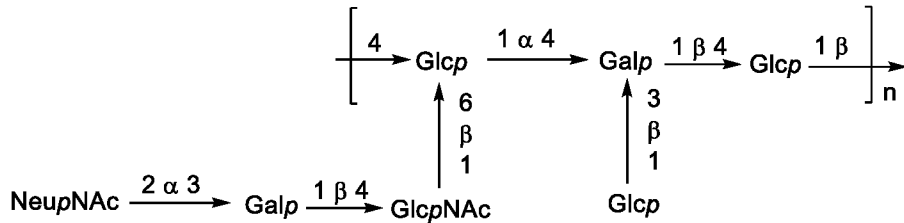
يتضمن أحد التجسيديات عديد سكاريد كبسولي GBS من النمط المصلي V. يمكن تصوير بناء النمط المصلي V كالتالي:

10 (أ)



أو

(ب)



يكون الوزن الجزيئي لعدد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي V قبل التقارن بين حوالي 5 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، مثلاً بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 25 كيلودالتون

15

- [illegible]

حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، أو بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون. في أحد التجسيديات المفضلة، يكون الوزن الجزيئي لعديد السكاريد الكبسولي قبل التقارن بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون. يتم تصور كل عدد صحيح في أي من النطاقات الموصوفة أعلاه كتجسيد للكشف.

في أحد تجسيديات الاختراع، يشتمل عديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي V على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص به، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، أو تصل إلى حوالي 5% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 95%) قبل التقارن.

في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي V حوالي 1 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. في تجسيد إضافي، يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد،

على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن.

يكون عديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي V بين حوالي صفر % وحوالي 40 %.

5 O-acetylated. في أحد تجسيديات الاختراع، يكون عديد السكاريد منزوع O-acetyl (أي، أقل من حوالي 5 % O-acetylated). تتضمن بعض السلالات التمثيلية لعدد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي V من الاختراع 1169-NT1، CJB111 (ATCC رقم وصول BAA-23)، CJB112، 2603 V/R (ATCC رقم وصول BAA-611)، NCTC 10/81، CJ11، و PFEGBST0837.

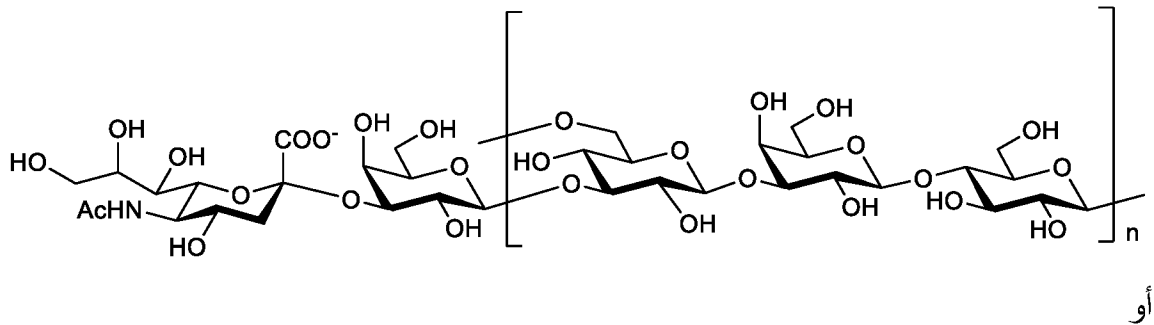
10 النمط المصلي VI

يوصف عديد سكاريدات كبسولية GBS من النمط المصلي VI في

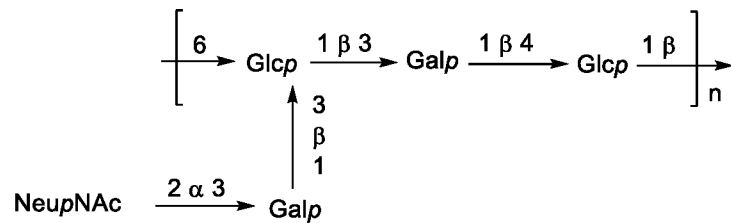
von Hunolstein, C., et al., Infection and Immunity, 61(94):1272-1280 (1993)،

تندمج الكشف الخاصة به هنا بالمرجع بأكملها. يمكن تصوير بناء النمط المصلي VI كالتالي:

15 (أ)



أو



(ب)

[illegible]

كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، أو بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون. يتم تصور كل عدد صحيح في أي من النطاقات الموصوفة أعلاه كتجسيد للكشف.

5 في أحد تجسيديات الاختراع، يشتمل عديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي VI على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص به، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، أو تصل إلى حوالي 5% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 95%) قبل التقارن.

15 في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي VI حوالي 1 مللي جزيئي sialic acid من جرامي لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. في تجسيد إضافي، يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن.

يكون عديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي VI بين حوالي صفر % وحوالي 40% O-acetylated. في أحد تجسيديات الاختراع، يكون عديد السكاريد منزوع O-acetyl (أي، أقل من حوالي 5% O-acetylated). تتضمن بعض السلالات التمثيلية لعدد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي III من الاختراع 118754، 114852، 114862، 114866، 118775، B 4589، B 4645، SS1214، وCZ-PW-119.

5

النمط المصلي VII

يوصف عديد سكاريدات كبسولية GBS من النمط المصلي VII في

(Kogan, G., et al., Carbohydrate Research, 277(1):1-9 (1995)

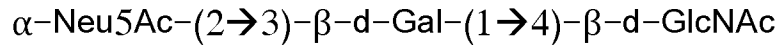
تندمج الكشف الخاصة به هنا بالمرجع بأكملها. تكون وحدة تكرار النمط المصلي VII كالتالي:



6

↑

1



يكون الوزن الجزيئي لعدد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي VII قبل التقارن بين 15

حوالي 5 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، مثلاً بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 750

كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي

450 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون

وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 50

كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون، بين حوالي 20

75 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين

حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون،

بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 300

كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي

- 200 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، أو بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون. يتم تصور كل عدد صحيح في أي من النطاقات الموصوفة أعلاه كتجسيد للكشف. 20

- في أحد تجسيدي الاختراع، يشتمل عديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي VII على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص به، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى 25

sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، أو تصل إلى حوالي 5% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 95%) قبل التقارن.

- 5 في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي VII حوالي 1 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. في تجسيد إضافي، يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن.
- 10
- 15

يكون عديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي VII أقل من 5% O-acetylated. تتضمن بعض السلالات التمثيلية لعديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي VII من الاختراع 7271 و CZ-PW-045.

20 النمط المصلي VIII

توصف عديد سكاريدات كبسولية GBS من النمط المصلي VIII في

Kogan, G., et al., The Journal of Biological Chemistry, 271(15):8786-8790 (1996)

تندمج الكشف الخاصة به هنا بالمرجع بأكملها. تكون وحدة تكرار النمط المصلي VIII كالتالي:



25 وحوالی 500 کیلوڈالتون، بین حوالی 200 کیلوڈالتون وحوالی 450 کیلوڈالتون، بین حوالی 200

كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، أو بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون. يتم تصور كل عدد صحيح في أي من النطاقات الموصوفة أعلاه كتجسيد للكشف. 10

في أحد تجسيديات الاختراع، يشتمل عديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي VIII على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص به، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، أو تصل إلى حوالي 5% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 95%) قبل التقارن. 15

في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي VIII حوالي 1 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. في تجسيد إضافي، يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، 25

على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن.

يكون عديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي VIII بين حوالي صفر % وحوالي 40 % O-acetylated. في أحد تجسيدات الاختراع، يكون عديد السكاريد منزوع O-acetyl (أي، أقل من حوالي 5 % O-acetylated). تتضمن بعض السلالات التمثيلية لعدد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي VIII من الاختراع JM9130013 و JM9130672.

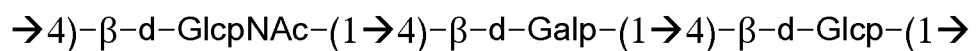
النمط المصلي IX

يوصف عديد سكاريدات كبسولية GBS من النمط المصلي IX في

Berti, F., et al., The Journal of Biological Chemistry, 289(34):23437-2348

15 (2014)،

تندمج الكشف الخاصة به هنا بالمرجع بأكملها. يتم تصوير بنية النمط المصلي IX كالتالي:

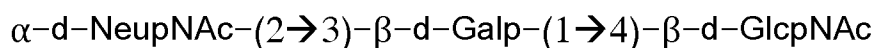


6

↑

1

20



يكون الوزن الجزيئي لعدد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي IX قبل التقارن بين حوالي 5 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، مثلاً بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي

- [illegible]

أعلاه كتجسيد للكشف.

في أحد تجسيديات الاختراع، يشتمل عديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي IX على مستوى sialic acid الطبيعي الخاص به، مثلاً حوالي 100% أو أكثر من 95%. في تجسيد آخر، يمكن نزع sialyl من عديد السكاريدات الكبسولية بنسبة تصل إلى حوالي 40% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 60%)، مثلاً تصل إلى حوالي 35% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 65%)، تصل إلى حوالي 30% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 70%)، تصل إلى حوالي 25% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 75%)، تصل إلى حوالي 20% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 80%)، تصل إلى حوالي 15% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 85%)، تصل إلى حوالي 10% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 90%)، أو تصل إلى حوالي 5% (مستوى sialylation أكبر من حوالي 95%) قبل التقارن. 10

في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي من النمط المصلي IX حوالي 1 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.95 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. في تجسيد إضافي، يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل حوالي 0.6 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، مثلاً على الأقل حوالي 0.65 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.7 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.75 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.8 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.85 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، على الأقل حوالي 0.9 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد، أو على الأقل حوالي 0.95 ملي جزيئي جرامي من sialic acid لكل ملي جزيئي جرامي من عديد السكاريد قبل التقارن. 15 20

يكون عديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي IX بين حوالي صفر% وحوالي 40%. O-acetylated 25 في أحد تجسيديات الاختراع، يكون عديد السكاريد منزوع O-acetyl (أي، أقل

من حوالي 5% O-acetylated). تتضمن بعض السلالات التمثيلية لعديد السكاريدات الكبسولية من النمط المصلي IX من الاختراع IT-NI-016، IT-PW-62، و IT-PW-64.

مقارنات عديد سكاريد- بروتين

- 5 حسب الاستخدام هنا، تشتمل "المقارنات (conjugates)" على عديد سكاريد بشكل كبسولة له عادةً نطاق وزن جزيئي مرغوب وبروتين حامل، حيث يتقارن عديد السكاريد بشكل كبسولة مع البروتين الحامل. قد تحتوي المقارنات أو لا تحتوي على كمية من عديد سكاريد بشكل كبسولة. حسب الاستخدام هنا، يشير "عديد السكاريد بشكل كبسولة حر (free capsule polysaccharide)" إلى عديد السكاريد بشكل كبسولة غير متصل تساهمياً مع (أي، غير مرتبط تساهمياً مع، ممتز مع أو محصور في أو مع) عديد السكاريد الكبسولي المقارن- البروتين الحامل.
- 10 يمكن استخدام المصطلحات "عديد السكاريد بشكل كبسولة حر"، "عديد السكاريد الحر (free polysaccharide)" و "السكاريد الحر (free saccharide)" بالتبادل ويُقصد بها نقل نفس المعنى. بصرف النظر عن طبيعة جزيء الحامل، فإنه يمكن أن يتقارن مع عديد السكاريد الكبسولي سواء مباشرةً أو من خلال وصلة. حسب الاستخدام هنا، يشير "ليتقارن (to conjugate)"، "مقارن (conjugated)" و "تقارن (conjugating)" إلى عملية يرتبط فيها عديد سكاريد كبسولي بكتيري مع جزيء الحامل. يُحسن التقارن توليد المناعة الخاص بعديد السكاريد الكبسولي البكتيري. يمكن إجراء
- 15 التقارن وفقاً للطرق الموصوفة أدناه أو عن طريق عمليات معروفة في الفن. تشير "تركيبية مقارنة مولدة للمناعة (conjugate immunogenic composition)"، حسب الاستخدام هنا، إلى تركيبية مولدة للمناعة حيث تتضمن المادة المولدة للمناعة عديد سكاريد مولد للضد متصل تساهمياً مع بروتين حامل لإنتاج مقارن عديد سكاريد- بروتين. في أحد التجسيّدات، يمكن صياغة مقارن عديد سكاريد- بروتين من الاختراع كتركيبية عديدة التكافؤ مولدة للمناعة.

- حسب الاستخدام هنا، يشير المصطلح "الوزن الجزيئي (molecular weight)" لمقارن البروتين الحامل- عديد سكاريد إلى الوزن الجزيئي المحسوب بالتحليل الكروماتوجرافي باستثناء مقاس (size exclusion chromatography) (SEC) مع كاشف تبعثر أشعة الليزر متعدد الزوايا (multiangle laser light scattering detector) (MALLS).
- 25

- حسب الاستخدام هنا، يشير "مقارن عديد سكاريد- بروتين (polysaccharide-protein conjugate)" إلى جزيء عديد سكاريد مقارن مع جزيء حامل بروتين من خلال رابطة تساهمية واحدة أو أكثر. قد يكون من المرغوب تقارن عديد السكاريد مع بروتين من أنواع أخرى معروفة بأنها مولدة للمناعة في العائل المستهدف. وفقاً لذلك، في أحد التجسيديات، يكون الجزيء الحامل هو بروتين حامل. كما هو محدد هنا، يُشار إلى بروتين أجنبي بأنه "بروتين حامل (carrier protein)".
- 5 تعمل البروتينات الحاملة على تحسين توليد الضد وتوليد المناعة لعدد السكاريد. حسب الاستخدام هنا، يشير المصطلح "تأثير الحامل (carrier effect)" إلى العملية التي يتم فيها تحسين توليد الضد وتوليد المناعة لجزيء ضعيف من حيث توليد المناعة أو غير مولد للمناعة، بارتباطه مع جزيء مولد للمناعة بشكل أكبر مثل الحامل (مثلاً، بروتين مغاير). في هذه الحالة، يصبح عديد السكاريد في مقارن عديد السكاريد- البروتين المتحد أكثر توليداً للمناعة من عرضه بمفرده. تحتوي البروتينات الحاملة على إبيتوبات خلية T لإثارة مساعدة خلية T على توفير استجابات جسم مضاد.
- 10 يشير بروتين حامل" أو "حامل البروتين (protein carrier)" حسب الاستخدام هنا، إلى أي جزيء بروتين يمكن أن يتقارن مع مولد ضد (مثلاً عديد السكاريدات الكبسولية) الذي تكون الاستجابة المناعية مطلوبة ضده. إن تقارن مولد الضد مثلاً عديد السكاريد مع بروتين حامل يجعل مولد الضد مولد للمناعة. يُفضل أن تكون البروتينات الحاملة بروتينات غير سامة مولدة للتفاعل ويمكن الحصول عليها بكمية ونقاء كافيين. الأمثلة على البروتينات الحاملة هي توكسينات، toxoids أو أي مادة تفاعلية متقاطعة طافرة (mutant cross-reactive material) (CRM197) لتوكسين من التيتانوس، الدفتيريا، السعال الديكي، أنواع زائفة، E. coli، أنواع مكورة عنقودية، وأنواع مكورة عقدية.
- 15 يجب أن تكون البروتينات الحاملة مستجيبة لإجراءات تقارن قياسية. في أحد التجسيديات الخاصة من الاختراع الحالي، يُستخدم CRM197 مثل البروتين الحامل.
- 20 تكون مواد التفاعل المتقاطع أو CRMs مفيدة بشكل خاص لبعض تجسيديات الاختراع الحالي. يمكن إنتاج بروتينات معدلة وراثياً، تكون مشابهة لبعض التوكسينات البكتيرية من ناحية توليد الضد، لكنها غير سامة. تسمى هذه المواد "مواد التفاعل المتقاطع (cross reacting materials)"، أو CRMs. يكون CRM197 (Wyeth/Pfizer Inc., Sanford, NC) جدير بالملاحظة بحيث يكون له تغير حمض أميني فردي من توكسين الدفتيريا الأصلي ولا يمكن تمييزه مناعياً عنه. انظر:
- 25

- ؛Pappenheimer, A.M., et al., Immunochem., 9(9):891-906 (1972)
- براءة الاختراع الأمريكية رقم: 5614382، المندمجة الكشف الخاصة به هنا بالمرجع بأكملها. يكون CRM197 شكل متباين غير سام (أي، toxoid) من توكسين الدفتيريا معزول من مزارع سلالة الوتديّة الخناقية C7 (β197) التي تنمو في وسط معتمد على casamino acids و خلاصة الخميرة. يكون CRM197 منقى من بالترشيح الفائق، ترسيب ammonium sulfate، وتحليل كروماتوجرافي بتبادل الأيون. أودع American Type Culture Collection مزرعة سلالة الوتديّة الخناقية C7 (β197)، التي تنتج بروتين CRM197، وخُصص لها ATCC رقم وصول 53281. تكون toxoids الدفتيريا الأخرى مناسبة أيضاً للاستخدام كبروتينات حاملة. يكون CRM3201 شكل متباين معالج وراثياً من توكسين السعال الديكي. انظر:
- 10 (1988) 240(4852):656-659 Black, W.J., et al., Science, المندمجة الكشف الخاصة به هنا بالمرجع بأكملها.
- بالإضافة إلى toxoid دفتيريا (diphtheria toxoid) (DT)، CRM197، و toxoid السعال الديكي، تتضمن أمثلة أخرى على البروتينات الحاملة tetanus toxoid (TT)، toxoid كوليرا (مثلاً، حسب الوصف في منشور طلب براءة الاختراع الدولية رقم: 2004/083251)، toxoid غير مستقر الحرارة (labile toxoid) (E. coli (LT)، toxoid مستقر الحرارة (stable toxoid) 15 (E. coli (ST) toxoid، pneumolysin من S. pneumonia (من نوع بري أو طافر مع سمية منخفضة)، بروتين سطح متعلق بالمكورات الرئوية (pneumococcal surface protein A) (PspA)، بروتين التصاق متعلق بالمكورات الرئوية (pneumococcal adhesin protein A) (PsaA)، C5a peptidase من مكورة عقدية، الحالة الدموية من المكورات العنقودية الذهبية، بروتينات المستدمية النزلية غير القابلة للتمييز (Nontypeable Haemophilus influenzae) 20 (NTHi)، بروتين المستدمية النزلية D، توكسينات خارجية/ toxoid للمطثيات الحاطمة، مولد ضد لسطح التهاب الكبد B، مولد ضد لب التهاب الكبد B، بروتين فيروس عجلي 7 VP، وبروتين F و G من الفيروس المخلوي التنفسي، ألبومين البيض، الهيموسيانين اللزيق (keyhole limpet (KLH) haemocyanin)، ألبومين المصل البقري (BSA) (bovine serum albumin)، مشتق بروتين منقى من tuberculin (purified protein derivative of tuberculin) (PPD)، 25 وتوكسين خارجي للزائفة أو مشتقاته، بما في ذلك التوكسين الخارجي A للزائفة الزنجارية الطافر غير

السام الناتج بصورة تخليقية. يمكن أيضاً استخدام بروتينات غشاء خارجي بكتيرية مثل معقد بروتين الغشاء الخارجي c (outer membrane protein complex c) (OMPC)، porins، بروتينات ارتباط transferrin، أو توكسين معوي C. difficile (توكسين A) وتوكسين خلوي (توكسين B). يمكن أيضاً استخدام بروتينات أخرى، مثل ألبومين البيض، الهيموسيانين اللزيق (KLH)، ألبومين المصل البقري (BSA) أو مشتق بروتين منقى من PPD tuberculin (كبروتينات حاملة). في تجسيد مفضل، يكون البروتين الحامل هو toxoid الدفتيريا. بصورة مفضلة، يكون البروتين الحامل هو CRM197. في أحد تجسيديات الاختراع، يكون البروتين الحامل هو tetanus toxoid.

لتخليق تركيبة مولدة للمناعة لمتقارن عديدة التكافؤ، يمكن إنتاج مقارنات عديد سكاريد-بروتين عن طريق تقارن خليط من عديد سكاريدات منقاة من بكتيريا من نوعين مختلفين مع بروتين حامل. تبادلياً، يمكن إنتاج تركيبة مولدة للمناعة لمتقارن عديدة التكافؤ عن طريق اتحاد عديد سكاريدات منقاة من بكتيريا نمطين مصليين مختلفين أو أكثر من نفس البكتيريا وتقارنهم كخليط مع بروتين حامل. تبادلياً، يمكن خلط مقارنات عديد السكاريد- البروتين الناتجة من تفاعل نمط واحد من عديد سكاريد مع بروتين حامل في تفاعلات منفصلة باستخدام عديد سكاريدات مختلفة. بالتالي، قد تتضمن تركيبة مولدة للمناعة عديدة التكافؤ بروتين حامل يحمل مجموعة متجانسة أو مغايرة من عديد سكاريدات متصلة.

بعد تقارن عديد السكاريد الكبسولي مع البروتين الحامل، تُجرى تنقية مقارنات عديد السكاريد- البروتين (الغنية بالنسبة إلى كمية مقارن عديد السكاريد- بروتين) من خلال العديد من التقنيات. تتضمن التقنيات، مثلاً، عمليات تركيز/ ترشيح ثنائي، ترسيب/ تصفية، تحليل كروماتوجرافي عمود، وترشيح عميق.

حسب الوصف أعلاه، يتعلق الاختراع الحالي بمقارنات تشمل عديد سكاريدات كبسولية GBS مقارنة مع بروتينات حاملة. يوفر أحد تجسيديات الاختراع مقارنات تشمل عديد سكاريد كبسولي GBS من نمط مصلي IV مقارن مع بروتين حامل ومقارن إضافي واحد على الأقل يشمل عديد سكاريد كبسولي GBS من نمط مصلي Ia مقارن مع بروتين حامل، عديد سكاريد كبسولي GBS من نمط مصلي Ib مقارن مع بروتين حامل، عديد سكاريد كبسولي GBS من نمط مصلي II مقارن مع بروتين حامل، عديد سكاريد كبسولي GBS من نمط مصلي III مقارن مع بروتين حامل، عديد سكاريد كبسولي GBS من نمط مصلي V مقارن مع بروتين حامل، عديد سكاريد

كبسولي GBS من نمط مصلي VI متقارن مع بروتين حامل، عديد سكاريد كبسولي GBS من نمط مصلي VII متقارن مع بروتين حامل، عديد سكاريد كبسولي GBS من نمط مصلي VIII متقارن مع بروتين حامل، أو عديد سكاريد كبسولي GBS من نمط مصلي IX متقارن مع بروتين حامل. في أحد جوانب الاختراع، يكون لعدد السكاريدات وزن جزيئي بين حوالي 5 كيلودالتون و1000 كيلودالتون؛ يكون للمتقارنات وزن جزيئي بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون؛ وتشتمل المقارنات على أقل من حوالي 40% من عديد سكاريد حر بالنسبة إلى عديد السكاريد الإجمالي. في أحد التجسيّدات، تشتمل المقارنات على أقل من حوالي 30%، أقل من حوالي 25%، أقل من حوالي 20%، أقل من حوالي 15%، أقل من 10%، أو أقل من حوالي 5% من عديد سكاريد حر بالنسبة إلى عديد السكاريد الإجمالي.

في أحد التجسيّدات، يكون لعديد السكاريد من النمط المصلي Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، و/أو IX وزن جزيئي قبل التقارن بين حوالي 5 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، مثلاً بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 250 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 350 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون.

كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 450 كيلودالتون، بين حوالي 250 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 750 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 650 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 600 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 550 كيلودالتون، أو بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون. يتم تصور كل عدد صحيح في أي من النطاقات الموصوفة أعلاه كتجسيد للكشف.

في أحد التجسيديات، يكون للمقارن وزن جزيئي بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون، مثلا بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 15000 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 10000 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 9000 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 8000 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 7000 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 6000 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 5000 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 4000 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 3000 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 2000 كيلودالتون، بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 15000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 10000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 9000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 8000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 7000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 6000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 5000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 4000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون

وحوالي 3000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 2000 كيلودالتون، بين حوالي 500 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون، بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 15000 كيلودالتون، بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 10000 كيلودالتون، بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 9000 كيلودالتون، بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 8000 كيلودالتون، بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 7000 كيلودالتون، بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 6000 كيلودالتون، بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 5000 كيلودالتون، بين حوالي 1500 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون، بين حوالي 1500 كيلودالتون وحوالي 10000 كيلودالتون، بين حوالي 1500 كيلودالتون وحوالي 9000 كيلودالتون، بين حوالي 1500 كيلودالتون وحوالي 8000 كيلودالتون، بين حوالي 1500 كيلودالتون وحوالي 7000 كيلودالتون، بين حوالي 1500 كيلودالتون وحوالي 6000 كيلودالتون، بين حوالي 1500 كيلودالتون وحوالي 5000 كيلودالتون، بين حوالي 2000 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون، بين حوالي 2000 كيلودالتون وحوالي 15000 كيلودالتون، بين حوالي 2000 كيلودالتون وحوالي 10000 كيلودالتون، بين حوالي 2000 كيلودالتون وحوالي 9000 كيلودالتون، بين حوالي 2000 كيلودالتون وحوالي 8000 كيلودالتون، بين حوالي 2000 كيلودالتون وحوالي 7000 كيلودالتون، بين حوالي 2000 كيلودالتون وحوالي 6000 كيلودالتون، بين حوالي 2500 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون، بين حوالي 2500 كيلودالتون وحوالي 15000 كيلودالتون، بين حوالي 2500 كيلودالتون وحوالي 10000 كيلودالتون، بين حوالي 2500 كيلودالتون وحوالي 9000 كيلودالتون، بين حوالي 2500 كيلودالتون وحوالي 8000 كيلودالتون، بين حوالي 2500 كيلودالتون وحوالي 7000 كيلودالتون، بين حوالي 2500 كيلودالتون وحوالي 6000 كيلودالتون، بين حوالي 3000 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون، بين حوالي 3000 كيلودالتون وحوالي 15000 كيلودالتون، بين حوالي 3000 كيلودالتون وحوالي 10000 كيلودالتون، بين حوالي 3000 كيلودالتون وحوالي 9000 كيلودالتون، بين حوالي 3000 كيلودالتون وحوالي 8000 كيلودالتون، بين حوالي 3000 كيلودالتون وحوالي 7000 كيلودالتون، أو بين حوالي 3000 كيلودالتون وحوالي 6000 كيلودالتون.

25 في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي IV وزن جزيئي من أي من النطاقات المذكورة أعلاه.

la في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي la وزن جزيئي من أي من النطاقات المذكورة أعلاه.

lb في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي lb وزن جزيئي من أي من النطاقات المذكورة أعلاه.

5 في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي II وزن جزيئي من أي من النطاقات المذكورة أعلاه.

III في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي III وزن جزيئي من أي من النطاقات المذكورة أعلاه.

V في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي V وزن جزيئي من أي من النطاقات المذكورة أعلاه. 10

VI في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي VI وزن جزيئي من أي من النطاقات المذكورة أعلاه.

VII في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي VII وزن جزيئي من أي من النطاقات المذكورة أعلاه.

VIII في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي VIII وزن جزيئي من أي من النطاقات المذكورة أعلاه. 15

IX في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي IX وزن جزيئي من أي من النطاقات المذكورة أعلاه.

في أحد التجسيديات، يكون لمتقارنات الاختراع على الأقل حوالي 0.6، 0.65، 0.7، 0.75، 0.8، 0.85، 0.9، 0.95، 0.97 أو 0.98 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد. في تجسيد مفضل، يكون للمتقارنات على الأقل حوالي 0.9 أو 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد. 20

في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي IV محتوى sialic acid على الأقل من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي Ia محتوى sialic acid على الأقل من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

5 في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي Ib محتوى sialic acid على الأقل من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي II محتوى sialic acid على الأقل من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

10 في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي III محتوى sialic acid على الأقل من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي V محتوى sialic acid على الأقل من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي VI محتوى sialic acid على الأقل من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

15 في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي VII محتوى sialic acid على الأقل من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي VIII محتوى sialic acid على الأقل من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

20 في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي IX محتوى sialic acid على الأقل من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

في أحد التجسيديات، يشتمل متقارن الاختراع على أقل من حوالي 0.01، 0.02، 0.03، 0.04، أو 0.05 مللي جزيئي جرامي من O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار

عديد سكاريد. في تجسيد آخر، يشمل المتقارن على الأقل حوالي 0.1، 0.2، 0.3، 0.35 أو 0.4 مللي جزئي جرامي من O-acetate لكل مللي جزئي جرامي من وحدة تكرار عديد سكاريد.

في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي IV محتوى O-acetate من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

5 في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي Ia محتوى O-acetate من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

Ib في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي محتوى O-acetate من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

10 في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي II محتوى O-acetate من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

III في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي محتوى O-acetate من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

V في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي محتوى O-acetate من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

15 VI في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي محتوى O-acetate من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

VII في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي محتوى O-acetate من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

20 VIII في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي محتوى O-acetate من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

IX في أحد التجسيديات، يكون لمتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي محتوى O-acetate من أي قيمة من القيم المذكورة أعلاه.

في تجسيد إضافي، يشتمل المتقارن المولد للمناعة على أقل من حوالي 40٪، أقل من حوالي 35٪، أقل من حوالي 30٪، أقل من حوالي 25٪، أقل من 20٪، أقل من حوالي 15٪، أقل من حوالي 10٪، أو أقل من حوالي 5٪ من عديد السكاريد الكبسولي GBS بالمقارنة مع الكمية الإجمالية لعديد السكاريد الكبسولي GBS. في تجسيد مفضل يشتمل المتقارن المولد للمناعة على أقل من حوالي 5٪ من السكاريد الحر غير المتفاعل بالمقارنة مع الكمية الإجمالية لعديد السكاريد الكبسولي GBS.

في تجسيد آخر أيضاً، تكون نسبة (الوزن بالوزن) عديد السكاريد الكبسولي GBS إلى البروتين الحامل في المتقارن بين حوالي 0.5 وحوالي 3. في أحد الجوانب، تكون نسبة عديد السكاريد الكبسولي GBS إلى البروتين الحامل في المتقارن بين حوالي 0.5 وحوالي 2، بين حوالي 0.5 وحوالي 1.5، بين حوالي 0.5 وحوالي 1، بين حوالي 1 وحوالي 1.5، أو بين حوالي 1 وحوالي 2. في تجسيد مفضل، تكون نسبة عديد السكاريد الكبسولي GBS إلى البروتين الحامل في المتقارن بين حوالي 0.8 وحوالي 1.

في تجسيد آخر، تكون درجة تقارن المتقارن بين 2 و15، بين 2 و13، بين 2 و10، بين 2 و8، بين 2 و6، بين 2 و5، بين 2 و4، بين 3 و15، بين 3 و13، بين 3 و10، بين 3 و8، بين 3 و6، بين 3 و5، بين 3 و4، بين 5 و15، بين 5 و10، بين 8 و15، بين 8 و12، بين 10 و15، أو بين 10 و12. في تجسيد مفضل، تكون درجة تقارن المتقارن بين 2 و5. التقارن:

قد يكون التقارن مباشر، حيث ترتبط الذرات من عديد السكاريد تساهمياً مع الذرات من سطح البروتين. بصورة بديلة، قد يكون التقارن من خلال جزيء وصلة، يتفاعل مع كل من عديد السكاريد والبروتين ويصل الاثنين، ويربط الكربوهيدرات بالبروتين.

عندما يتقارن حامل ومولد ضد واحد أو أكثر مثل عديد سكاريد (أي، يتصلان تساهمياً)، يمكن أن يكون التقارن من خلال أي عملية، طريقة كيميائية أو تقنية جينية معروفة في الفن. على سبيل المثال، يمكن أن يتقارن عديد ببتيد حامل ومولد ضد واحد أو أكثر منتقى من المجموعة التي تشمل كربوهيدرات، أوليجوسكاريد، ليبيد، أوليجوسكاريد ليبيدي، عديد سكاريد، متقارن أوليجوسكاريد-بروتين، متقارن عديد سكاريد-بروتين، متقارن ببتيد-بروتين، متقارن أوليجوسكاريد-ببتيد، متقارن عديد سكاريد-ببتيد، متقارن بروتين-بروتين، متقارن أوليجوسكاريد ليبيدي-بروتين، متقارن عديد

سكاريد- بروتين، أو أي اتحاد من ذلك، من خلال تقنيات، تتضمن لكن ليس على سبيل الحصر:

(1) اقتران مباشر من خلال مجموعات بروتين وظيفية (مثلاً، وصلة thiol-thiol، وصلة amine-carboxyl، وصلة amine-aldehyde؛ اقتران إنزيم مباشر)؛ (2) اقتران متجانس ثنائي الوظيفية لأجل amines (مثلاً، باستخدام bis-aldehydes)؛ (3) اقتران متجانس ثنائي الوظيفية لأجل thiols (مثلاً، باستخدام bis-maleimides)؛ (4) اقتران متجانس ثنائي الوظيفية عن طريق عوامل كاشفة منشطة ضوئياً (5) اقتران مغاير ثنائي الوظيفية لأجل amines مع thiols (مثلاً، باستخدام maleimides)؛ (5) اقتران مغاير ثنائي الوظيفية عن طريق عوامل كاشفة منشطة ضوئياً (مثلاً، عائلة β -carbonyldiazo)؛ (7) إدخال مجموعات تفاعلية مع amine في عديد سكاريد أو أوليجوسكاريد عن طريق تنشيط cyanogen bromide أو عملية carboxymethylation؛ (8) إدخال مجموعة تفاعلية مع thiol في عديد سكاريد أو أوليجوسكاريد عن طريق مركب مغاير ثنائي الوظيفية مثل maleimido-hydrazide؛ (9) تقارن بروتين- ليبيد من خلال إدخال مجموعة كارهة للماء في البروتين و(10) تقارن بروتين- ليبيد من خلال إدخال مجموعة تفاعلية في الليبيد. أيضاً، يتم تصور تقنيات "اقتران غير تساهمي (non-covalent coupling)" مغاير ثنائي الوظيفية مثل التفاعل البيني لأجل Biotin-Avidin. تُدرج طرق أخرى معروفة في الفن لإجراء تقارن أوليجوسكاريديات وعديد سكاريديات مع بروتينات حاملة مولدة للمناعة في مجال بعض تجسيدات الاختراع.

في تجسيد، يتم الحصول على مقارنات عديد سكاريد كبسولي- بروتين GBS عن طريق تنشيط عديد سكاريد مع 1-cyano-4-dimethylamino pyridinium tetrafluoroborate (CDAP) لتشكيل cyanate ester. قد يقترن عديد السكاريد المنشط مباشرة أو من خلال مجموعة مبادئ (وصلة) مع مجموعة amino على البروتين الحامل. على سبيل المثال، قد يكون المبادئ هو cystamine أو cysteamine لتوفير عديد سكاريد thiolated يمكن اقترانه مع الحامل عن طريق وصلة thioether ناتجة بعد التفاعل مع بروتين حامل منشط مع maleimide (على سبيل المثال باستخدام GMBS) أو بروتين حامل haloacetylated (على سبيل المثال باستخدام SIB، SIAB، sulfo-SIAB، SIA، أو SBAP).

في أحد الجوانب، يقترن cyanate ester (مصنوع اختياريًا عن طريق كيمياء CDAP) مع hexane diamine أو adipic acid dihydrazide (ADH) ويتقارن سكاريد المشتق من

amino مع البروتين الحامل باستخدام كيميائ carbodiimide (مثلا، EDAC أو EDC) من خلال مجموعة carboxyl على البروتين الحامل. توصف هذه المقارنات على سبيل المثال في منشورات طلب براءة الاختراع الدولية أرقام: 93/15760، 95/08348، و96/29094.

هناك تقنيات مناسبة أخرى تستخدم carbodiimides، hydrazides، esters نشطة،

5 EDC، S--NHS، N-hydroxysuccinimide، p-nitrobenzoic acid، norborane

وTSTU. يوصف العديد في منشور طلب براءة الاختراع الدولية رقم: 98/427214. قد يتضمن

التقارن وصلة carbonyl يمكن تشكيلها من تفاعل مجموعة hydroxyl حرة من السكريد مع

(CDI) 1,1 carbonyldiimidazole أو (CDT) 1,1 carbonyl di 1,2,4 triazole، انظر:

Bethell, et al., J. Biol. Chem., 254:2572-2574 (1979); Hearn, et al., J.

10 Chromatogr., 218:509-518 (1981)

وبعده تفاعل مع بروتين لتشكيل وصلة carbamate. قد يتضمن ذلك اختزال طرف أنوميري إلى

مجموعة hydroxyl أولية، حماية/ نزع حماية اختيارية لمجموعة hydroxyl الأولية، تفاعل مجموعة

hydroxyl الأولية مع CDI/CDT لتشكيل مركب وسطي CDI/CDT carbamate، واقتران

المركب الوسطي CDI/CDT carbamate مع مجموعة amino على بروتين.

15 في تجسيدات مفضلة، يتم تحضير مقارنات عديد السكريد الكبسولي - البروتين GBS من

الاختراع باستخدام الأمينة الاختزالية. تتضمن الأمينة الاختزالية خطوتين: (1) أكسدة عديد السكريد

لتوليد وظيفيات aldehyde من diols تجاورية في وحدة سداسي سكاريد فردية و(2) اختزال عديد

السكريد المنشط وبروتين حامل لتشكيل مقارن.

في تجسيد، يتم تنشيط (أكسدة) عديد السكريد الكبسولي GBS عن طريق عملية تشمل

20 الخطوات:

(أ) تفاعل عديد سكاريد كبسولي GBS معزول مع عامل أكسدة؛ و

(ب) إخماد تفاعل الأكسدة بإضافة عامل إخماد وإنتاج عديد سكاريد كبسولي GBS منشط.

في أحد جوانب الاختراع، يكون تركيز عديد السكريد الكبسولي المعزول بين حوالي 0.1

مجم/ مليلتر وحوالي 10 مجم/ مليلتر، مثلا بين حوالي 0.5 مجم/ مليلتر وحوالي 5 مجم/ مليلتر/

25 بين حوالي 1 مجم/ مليلتر وحوالي 3 مجم/ مليلتر، أو حوالي 2 مجم/ مليلتر.

في تجسيد محدد، يكون عامل الأكسدة هو periodate. يعمل periodate على أكسدة

مجموعات hydroxyl التجاورية لتشكيل مجموعات carbonyl أو aldehyde وحدوث انشقاق لرابطة C-C. يتضمن المصطلح 'periodate' كل من periodate و periodic acid. يتضمن هذا المصطلح أيضاً كل من metaperiodate (IO₄⁻) و orthoperiodate (IO₆⁵⁻). يتضمن المصطلح 'periodate' أيضاً أملاح periodate المتنوعة التي تتضمن sodium periodate و potassium periodate. في تجسيد مفضل، يكون عامل الأكسدة هو sodium periodate. في تجسيد مفضل، يكون periodate المستخدم لأكسدة عديد السكاريد الكبسولي GBS هو metaperiodate. في تجسيد مفضل يكون periodate المستخدم لأكسدة عديد السكاريد الكبسولي من نمط مصلي هو sodium metaperiodate.

5 في تجسيد آخر، يتفاعل عديد السكاريد مع 0.01، إلى 10، 0.05 إلى 5، 0.1 إلى 1، 0.5 إلى 1، 0.7 إلى 0.8، 0.05 إلى 0.5، أو 0.1 إلى 0.3 مكافئ جزئي جرامي من عامل الأكسدة. في تجسيد محدد، يتفاعل عديد السكاريد مع حوالي 0.05، حوالي 0.1، حوالي 0.15، حوالي 0.2، حوالي 0.25، حوالي 0.3، حوالي 0.35، حوالي 0.4، حوالي 0.45، حوالي 0.5، حوالي 0.55، حوالي 0.6، حوالي 0.65، حوالي 0.7، حوالي 0.75، حوالي 0.8، حوالي 0.85، حوالي 0.9، أو حوالي 0.95 مكافئ جزئي جرامي من عامل الأكسدة. في تجسيد إضافي، يتفاعل عديد السكاريد مع حوالي 0.1 مكافئ جزئي جرامي من عامل الأكسدة. في تجسيد إضافي، يتفاعل عديد السكاريد مع حوالي 0.15 مكافئ جزئي جرامي من عامل الأكسدة. في تجسيد إضافي، يتفاعل عديد السكاريد مع حوالي 0.25 مكافئ جزئي جرامي من عامل الأكسدة. في تجسيد آخر أيضاً، يتفاعل عديد السكاريد مع حوالي 0.5 مكافئ جزئي جرامي من عامل الأكسدة. في تجسيد بديل، يتفاعل عديد السكاريد مع حوالي 0.6 مكافئ جزئي جرامي من عامل الأكسدة. في تجسيد آخر أيضاً، يتفاعل عديد السكاريد مع حوالي 0.7 مكافئ جزئي جرامي من عامل الأكسدة.

10 في أحد تجسيديات الاختراع، تكون مدة تفاعل الأكسدة بين حوالي ساعة وحوالي 50 ساعة، بين حوالي 10 ساعات وحوالي 30 ساعة، بين حوالي 15 ساعة وحوالي 20 ساعة، بين حوالي 15 ساعة وحوالي 17 ساعة، أو حوالي 16 ساعة.

15 في جانب آخر للاختراع، تظل درجة حرارة تفاعل الأكسدة بين حوالي 2° مئوية وحوالي 25° مئوية، بين حوالي 2° مئوية وحوالي 8° مئوية، أو بين حوالي 20° مئوية وحوالي 25° مئوية. في أحد التجسيديات المفضلة، تظل درجة حرارة التفاعل عند حوالي 23° مئوية. في تجسيد مفضل آخر،

تظل درجة حرارة التفاعل عند حوالي 5° مئوية.
في جانب آخر، يُجرى تفاعل الأكسدة في مثبت أس هيدروجيني منتقى من المجموعة
المتكونة من potassium phosphate، sodium phosphate،
(MES) 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid، و Bis-Tris. في تجسيد مفضل، يكون
5 مثبت الأس الهيدروجيني هو potassium phosphate.

في جانب إضافي، يكون لمثبت الأس الهيدروجيني تركيز بقيمة بين حوالي 1 مللي جزئي
جرامي وحوالي 500 مللي جزئي جرامي، بين حوالي 1 مللي جزئي جرامي وحوالي 300 مللي
جزئي جرامي، أو بين حوالي 50 مللي جزئي جرامي وحوالي 200 مللي جزئي جرامي. في تجسيد
مفضل، يكون لمثبت الأس الهيدروجيني تركيز بقيمة حوالي 100 مللي جزئي جرامي.

10 في أحد الجوانب، يُجرى تفاعل الأكسدة عند أس هيدروجيني بين حوالي 4 وحوالي 8، بين
حوالي 5 وحوالي 7، أو بين حوالي 5.5 وحوالي 6.5. في تجسيد مفضل، يكون الأس الهيدروجيني
حوالي 6.

في أحد التجسيديات، يتم الحصول على عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط بتفاعل
حوالي 0.5 مجم/ لتر إلى حوالي 5 مجم/ مليلتر من عديد سكاريد كبسولي معزول مع حوالي 0.05
15 إلى حوالي 0.3 مكافئ جزئي جرامي من periodate عند درجة حرارة بين حوالي 20° مئوية
و25° مئوية.

في تجسيد آخر، يتم الحصول على عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط بتفاعل حوالي
0.5 مجم/ لتر إلى حوالي 5 مجم/ مليلتر من عديد سكاريد كبسولي معزول مع حوالي 0.05 إلى
حوالي 0.3 مكافئ جزئي جرامي من periodate عند درجة حرارة بين حوالي 2° مئوية و8° مئوية.
20 في تجسيد آخر، يُنقى عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط وفقاً لطرق يعرفها الشخص
الماهر في الفن، مثل تحليل كروماتوجرافي يعتمد على نفاذية الهلام (gel permeation
(GPC) chromatography)، ديلزة، أو ترشيح فائق/ ترشيح ثنائي. على سبيل المثال، يُنقى عديد
السكاريد الكبسولي المنشط عن طريق التركيز والترشيح الثنائي باستخدام أداة ترشيح فائق.

في أحد التجسيديات، تكون درجة أكسدة عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط بين 5 و25،
مثلاً بين 5 و15، بين 5 و10، بين 10 و25، بين 10 و20، بين 10 و15. في تجسيد مفضل
25 تكون درجة أكسدة عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط بين 10 و20، بين 11 و19، بين 12

و18، بين 13 و17، أو بين 14 و16.

في تجسيد آخر، يكون لعديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط وزن جزيئي بين حوالي 5 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون، مثلاً بين حوالي 50 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 500 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 300 كيلودالتون، بين حوالي 200 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون، وبين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 700 كيلودالتون. في تجسيد مفضل، يكون لعديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط وزن جزيئي بين حوالي 75 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون.

10 في تجسيد، يكون عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط مجفد، اختياريًا في وجود السكاريد. في تجسيد مفضل، يُنتقى السكاريد من sucrose، trehalose، raffinose، stachyose، melezitose، dextran، mannitol، lactitol و palatinit. في تجسيد مفضل، يكون السكاريد هو sucrose. يمكن أن يتحد عديد السكاريد الكبسولي المنشط المجفد مع محلول يشمل البروتين الحامل.

15 في تجسيد آخر، يتحد عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط مع البروتين الحامل ويُجفد، اختياريًا في وجود سكاريد. في أحد الجوانب، يُنتقى السكاريد من sucrose، trehalose، raffinose، stachyose، melezitose، dextran، mannitol، lactitol و palatinit. في تجسيد مفضل، يكون السكاريد هو sucrose. يمكن بعد ذلك إعادة تعليق عديد السكاريد المجفد بصورة مشتركة والبروتين الحامل في محلول ويُجرى تفاعلهم مع عامل اختزال.

20 يمكن أن يتقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط مع بروتين حامل عن طريق عملية تشمل الخطوات:

(أ) اتحاد عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط مع بروتين حامل، و

(ب) تفاعل عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط المركب والبروتين الحامل مع عامل اختزال لتشكيل متقارن عديد سكاريد كبسولي GBS- بروتين حامل.

يعد تقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط مع البروتين الحامل عن طريق الأمانة الاختزالية في مذيب قطبي لا بروتوني مناسباً للحفاظ على مستويات ضئيلة من عديد السكاريد الحر بالمقارنة مع، على سبيل المثال، الأمانة الاختزالية في محلول مائي حيث يرتفع مستوى عديد السكاريد غير المتفاعل (الحر) بشكل ملحوظ. في تجسيد مفضل، تُجرى الخطوة (أ) والخطوة (ب) في مذيب قطبي لا بروتوني. 5

في أحد التجسيديات، تشتمل الخطوة (أ) على إذابة عديد السكاريد الكبسولي GBS المجفد في محلول يشمل بروتين حامل ومذيب قطبي لا بروتوني. في تجسيد آخر، تشتمل الخطوة (أ) على إذابة عديد السكاريد الكبسولي GBS المجفد بصورة مشتركة والبروتين الحامل في مذيب قطبي لا بروتوني.

10 في أحد التجسيديات، يُنتقى المذيب القطبي اللا بروتوني من المجموعة المتكونة من dimethylformamide (DMF)، sulfolane، dimethylsulfoxide (DMSO) و hexamethylphosphoramide (HMPA). في تجسيد مفضل، يكون المذيب القطبي اللا بروتوني هو DMSO.

عند إجراء الخطوات (أ) و (ب) في محلول مائي، تُجرى الخطوات (أ) و (ب) في مثبت أس هيدروجيني في وسط مائي، يُفضل أن يُنتقى من ADA، Bis-tris، HEPES، MES، PBS، TEA، POPSO، HEPPSO، MOBS، DIPSO، MOPS، BES، MOPSO، PIPES، EPPS، Bicine أو HEPB عند أس هيدروجيني بين حوالي 6 وحوالي 8.5، بين حوالي 7 وحوالي 8، أو بين حوالي 7 وحوالي 7.5. في تجسيد مفضل يكون مثبت الأس الهيدروجيني هو PBS. في تجسيد مفضل يكون الأس الهيدروجيني حوالي 7.3. 15

20 في أحد التجسيديات، يكون تركيز عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط في الخطوة (ب) بين حوالي 0.1 مجم/مليلتر وحوالي 10 مجم/مليلتر، بين حوالي 0.5 مجم/مليلتر وحوالي 5 مجم/مليلتر، أو بين حوالي 0.5 مجم/مليلتر وحوالي 2 مجم/مليلتر. في تجسيد مفضل، يكون تركيز عديد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي المنشط في الخطوة (ب) حوالي 0.1 مجم/مليلتر، حوالي 0.2 مجم/مليلتر، حوالي 0.3 مجم/مليلتر، حوالي 0.4 مجم/مليلتر،

حوالي 0.5 مجم/ مليلتر، حوالي 0.6 مجم/ مليلتر، حوالي 0.7 مجم/ مليلتر، حوالي 0.8 مجم/ مليلتر، حوالي 0.9 مجم/ مليلتر، حوالي 1 مجم/ مليلتر، حوالي 1.1 مجم/ مليلتر، حوالي 1.2 مجم/ مليلتر، حوالي 1.3 مجم/ مليلتر، حوالي 1.4 مجم/ مليلتر، حوالي 1.5 مجم/ مليلتر، حوالي 1.6 مجم/ مليلتر، حوالي 1.7 مجم/ مليلتر، حوالي 1.8 مجم/ مليلتر، حوالي 1.9 مجم/ مليلتر، حوالي 2 مجم/ مليلتر، حوالي 2.1 مجم/ مليلتر، حوالي 2.2 مجم/ مليلتر، حوالي 2.3 مجم/ مليلتر، حوالي 2.4 مجم/ مليلتر، حوالي 2.5 مجم/ مليلتر، حوالي 2.6 مجم/ مليلتر، حوالي 2.7 مجم/ مليلتر، حوالي 2.8 مجم/ مليلتر، حوالي 2.9 مجم/ مليلتر، أو حوالي 3 مجم/ مليلتر.

10 في تجسيد مفضل تكون النسبة المبدئية (الوزن بالوزن) لعدد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي المنشط إلى البروتين الحامل بين 1:5 و 1:0.1، 1:2 و 1:0.1، 1:2 و 1:1، 1:1.5 و 1:0.1، 1:1 و 1:0.3، 1:1 و 1:0.6، 1:1 و 1:1. في تجسيد مفضل تكون النسبة المبدئية لعدد السكاريد الكبسولي GBS من النمط المصلي المنشط إلى البروتين الحامل بين حوالي 1:0.4، 1:0.5، 1:0.6، 1:0.7، 1:0.8، 1:0.9، 1:1، 1:1.1، 1:1.2، 1:1.3، 1:1.4، 1:1.5، 1:1.6، 1:1.7، 1:1.8، 1:1.9، 1:2.

15 في تجسيد، يكون عامل الاختزال هو sodium cyanoborohydride، sodium triacetoxymethylborohydride، sodium borohydride أو zinc borohydride في وجود Bronsted acids أو Lewis acids، amine boranes مثل pyridine borane، 2-picoline borane، 2,6-diborane-methanol، dimethylamine-borane، benzylamine-BH₃، t-BuMeiPrN-BH₃ أو 5-ethyl-2-methylpyridine borane (PEMB). في تجسيد مفضل، يكون عامل الاختزال هو sodium cyanoborohydride.

20 في تجسيد آخر، تكون كمية عامل الاختزال المستخدمة في الخطوة (ب) بين حوالي 0.1 وحوالي 10 مكافئ جزيئي جرامي، بين حوالي 0.5 وحوالي 5 مكافئ جزيئي جرامي، أو بين حوالي 1 وحوالي 2 مكافئ جزيئي جرامي. في تجسيد مفضل، تكون كمية عامل الاختزال المستخدمة في الخطوة (ب) حوالي 1، 1.1، 1.2، 1.3، 1.4، 1.5، 1.6، 1.7، 1.8، 1.9، أو 2 مكافئ جزيئي جرامي.

في تجسيد مفضل، تكون مدة الخطوة (ب) بين ساعة و60 ساعة، بين 10 ساعات و50 ساعة، بين 40 ساعة و50 ساعة، أو بين 42 ساعة و46 ساعة. في تجسيد مفضل، تكون مدة الخطوة (ب) حوالي 44 ساعة.

5 في تجسيد إضافي، تظل درجة حرارة التفاعل في الخطوة (ب) بين 10° مئوية و 40° مئوية، بين 15° مئوية و 30° مئوية، أو بين 20° مئوية و 26° مئوية. في تجسيد مفضل، تظل درجة حرارة التفاعل في الخطوة (ب) بين عند حوالي 23° مئوية.

في تجسيد إضافي، تشتمل عملية تحضير متقارن مولد للمناعة تشمل عديد سكاريد كبسولي GBS متصل تساهمياً مع بروتين حامل إضافياً على خطوة (الخطوة ج)) تغطية (إخماد) aldehydes غير المتفاعلة بإضافة borohydride.

10 في أحد التجسيديات، يكون العامل الكاشف للتغطية borohydride منتقى من المجموعة المتكونة من sodium cyanoborohydride، sodium borohydride (NaBH_4)، lithium borohydride، potassium borohydride، tetraethylammonium borohydride، calcium borohydride، و magnesium borohydride. في تجسيد مفضل يكون العامل الكاشف للتغطية هو sodium borohydride.

15 في تجسيد آخر أيضاً، تكون كمية borohydride المستخدمة في الخطوة (ج) بين حوالي 0.1 وحوالي 10 مكافئ جزيئي جرامي، بين حوالي 0.5 وحوالي 5 مكافئ جزيئي جرامي، أو بين حوالي 1 و3 مكافئ جزيئي جرامي. في تجسيد مفضل، تكون كمية borohydride المستخدمة في الخطوة (ج) حوالي 2 مكافئ جزيئي جرامي.

في أحد التجسيديات المفضلة، يكون borohydride المستخدم في الخطوة (ج) هو NaBH_4 بتركيز حوالي 2 مكافئ جزيئي جرامي. 20

في أحد التجسيديات، تكون مدة الخطوة (ج) بين 0.1 ساعة و10 ساعات، بين 0.5 ساعة و5 ساعات، بين ساعتين و4 ساعات. في تجسيد مفضل، تكون مدة الخطوة (ج) حوالي 3 ساعات.

في تجسيد آخر، تظل درجة حرارة التفاعل في الخطوة (ج) بين 15° مئوية وحوالي 45° مئوية، بين حوالي 15° مئوية وحوالي 30° مئوية، أو بين حوالي 20° مئوية وحوالي 26° مئوية. في تجسيد مفضل، تظل درجة حرارة التفاعل في الخطوة (ج) عند 23° مئوية

بعد تقارن عديد السكاريد الكبسولي GBS مع البروتين الحامل والتغطية، يمكن تنقية

5 متقارن عديد السكاريد- البروتين (الغني بالنسبة إلى كمية متقارن عديد السكاريد- البروتين) بمجموعة من التقنيات التي يعرفها الشخص الماهر. تتضمن هذه التقنيات الدليزة، عمليات التركيز/ الترشيح الثنائي، ترشيح تدفق تماسي، التصفية/ الترسيب، تحليل كروماتوجرافي عمود (DEAE) أو تحليل كروماتوجرافي لتفاعل بيني كاره للماء)، والترشيح العميق.

10 في تجسيد إضافي، يشتمل المتقارن المولد للمناعة على أقل من حوالي 40٪، أقل من حوالي 35٪، أقل من حوالي 30٪، أقل من حوالي 25٪، أقل من حوالي 20٪، أقل من حوالي 15٪، أقل من حوالي 10٪، أو أقل من حوالي 5٪ من عديد سكاريد كبسولي GBS حر بالمقارنة مع الكمية الإجمالية من عديد السكاريد الكبسولي GBS. في تجسيد مفضل يشتمل المتقارن المولد للمناعة على أقل من حوالي 5٪ من سكاريد حر غير متفاعل بالمقارنة مع الكمية الإجمالية من عديد السكاريد الكبسولي GBS.

15 في تجسيد مفضل، يكون لمتقارن عديد السكاريد GBS- البروتين وزن جزيئي جرامي بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون، مثلاً بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 15000 كيلودالتون أو بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 10000 كيلودالتون.

في تجسيد آخر أيضاً، تكون نسبة (الوزن بالوزن) عديد السكاريد الكبسولي GBS إلى البروتين الحامل في المتقارن بين حوالي 0.5 وحوالي 3. في أحد الجوانب، تكون نسبة عديد السكاريد الكبسولي GBS إلى البروتين الحامل في المتقارن بين حوالي 0.5 وحوالي 2، بين حوالي 0.5 وحوالي 1.5، بين حوالي 0.5 وحوالي 1، بين حوالي 1 وحوالي 1.5، أو بين حوالي 1 وحوالي 2. في تجسيد مفضل، تكون نسبة عديد السكاريد الكبسولي GBS إلى البروتين الحامل في المتقارن بين حوالي 0.8 وحوالي 1.

في تجسيد آخر، تكون درجة تقارن المتقارن بين 2 و15، بين 2 و13، بين 2 و10، بين 2 و8، بين 2 و6، بين 2 و5، بين 2 و4، بين 3 و15، بين 3 و13، بين 3 و10، بين 3 و8، بين 3 و6، بين 3 و5، بين 3 و4، بين 5 و15، بين 5 و10، بين 8 و15، بين 8 و12، بين 10 و15، أو بين 10 و12. في تجسيد مفضل، تكون درجة تقارن المتقارن بين 2 و5.

5 في أحد جوانب الاختراع، يتم الحصول على مقارنات عديد السكاريد الكبسولي GBS- البروتين من خلال طريقة الأمينة الاختزالية الموصوفة أعلاه. على سبيل المثال، في أحد الجوانب يوفر الكشف الحالي مقارنات عديد سكاريد كبسولي GBS- بروتين تشمل عديد سكاريد متقارن مع بروتين حامل ناتج أو يمكن الحصول عليه من الطريقة التي تشمل الخطوات:

(أ) تفاعل عديد سكاريد كبسولي GBS معزول مع عامل أكسدة؛

10 (ب) إخماد تفاعل الأكسدة بإضافة عامل إخماد وإنتاج عديد سكاريد كبسولي GBS منشط؛

(ج) اتحاد عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط مع بروتين حامل،

(د) تفاعل عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط المركب والبروتين الحامل مع عامل اختزال

لتشكيل متقارن عديد سكاريد كبسولي GBS- بروتين حامل، واختيارياً

(هـ) تغطية aldehyde غير متفاعل بإضافة sodium borohydride (NaBH_4).

15 في تجسيد مفضل، تُجرى الخطوات (ج) و(د) في DMSO.

في جانب آخر للاختراع، يتم تحضير مقارنات عديد السكاريد الكبسولي GBS- البروتين

الحامل من الاختراع باستخدام الأمينة الاختزالية حسب الوصف أعلاه، لكن مع شق حر من

2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (TEMPO) و N-chlorosuccinimide

(NCS) مثل المؤكسد المشترك في خطوة التنشيط/ الأكسدة. انظر منشور طلب براءة الاختراع

الدولية رقم: 2014/097099، المدمج هنا بالمرجع بأكمله. في هذا التجسيد، يتم تحضير

المقارنات السكرية من عديد السكاريدات الكبسولية GBS باستخدام شق حر TEMPO لأكسدة

الكحولات الأولية للسكاريد إلى aldehydes باستخدام NCS مثل المؤكسد المشترك (فيما يلي

"أكسدة NCS / TEMPO (TEMPO/NCS oxidation)"، حسب الموصوف في مثال 7

ومنشور طلب براءة الاختراع الدولية رقم: 2014/097099. بالتالي في أحد الجوانب، من الممكن الحصول على مقارنات عديد السكاريدات الكبسولية GBS بطريقة تشمل خطوات: (أ) تفاعل عديد سكاريد كبسولي GBS مع TEMPO و NCS في مذيب لإنتاج سكاريد منشط؛ و(ب) تفاعل السكاريد المنشط مع بروتين حامل يشمل مجموعة amine واحدة أو أكثر (فيما يلي "أمانة اختزالية- NCS /TEMPO (TEMPO/NCS-reductive amination)". في أحد التجسيديات، قد يكون المذيب هو مذيب مائي أو DMSO.

5 في أحد الجوانب، تنتج مقارنات عديد السكاريد الكبسولي GBS- البروتين من خلال الطريقة المذكورة. على سبيل المثال، في أحد الجوانب يوفر الكشف الحالي مقارن عديد سكاريد كبسولي GBS- بروتين يشمل عديد سكاريد مقارن مع بروتين حامل ناتج أو يمكن الحصول عليه بالطريقة التي تشمل الخطوات: أ) تفاعل سكاريد مع 2,2,6,6-tetramethyl-1- (TEMPO) piperidinyloxy و (NCS) N-chlorosuccinimide في مذيب لإنتاج سكاريد منشط؛ و(ب) تفاعل السكاريد المنشط مع بروتين حامل يشمل مجموعة amine واحدة أو أكثر. في أحد التجسيديات، قد يكون المذيب هو مذيب مائي أو DMSO.

التركيبات المولدة للمناعة:

15 بعد تنقية المقارنات الفردية، يمكن اتحادها لصياغة تركيبة مولدة للمناعة من الاختراع الحالي، يمكن استخدامها، على سبيل المثال، في لقاح. يمكن تحقيق صياغة التركيبة المولدة للمناعة من الاختراع الحالي باستخدام طرق معروفة في الفن.

20 إن "الاستجابة المناعية (immune response)" لتركيبية مولدة للمناعة تعتبر تطور في كائن له استجابة مناعية خلطية و/أو تتسبب فيها خلية بصورة غير مباشرة للجزيئات الموجودة في التركيبة محل الدراسة (على سبيل المثال، مولد ضد، مثلاً بروتين أو عديد سكاريد). لأغراض الاختراع الحالي، تعتبر "الاستجابة المناعية الخلطية (humoral immune response)" هي استجابة مناعية يتسبب فيها جسم مضاد بصورة غير مباشرة وتتضمن توليد الأجسام المضادة ذات الانجاذبية لمولدات الضد الموجودة في التركيبات المولدة للمناعة من الاختراع، بينما تكون "الاستجابة المناعية التي تتسبب فيها خلية بصورة غير مباشرة (cell-mediated immune response)"

(response) هي استجابة يتسبب فيها خلايا ليمفاوية T و/أو خلايا دم بيضاء أخرى. تحدث "الاستجابة المناعية التي تتسبب فيها خلية بصورة غير مباشرة" بظهور الإبيتوبات المولدة للضد في اتصال مع جزيئات معقد التوافق النسيجي الرئيسي (major histocompatibility complex) (MHC) من الفئة I والفئة II. يعمل ذلك على تنشيط خلايا T مساعدة CD4+ تخص مولد ضد 5 أو خلايا ليمفاوية T سامة للخلايا CD8+ (cytotoxic T lymphocyte cells) (CTLs). إن CTLs لها خصوصية للبيتيد أو مولدات الضد الليبيدية المتواجدة في اتصال مع البروتينات التي يشفرها MHC أو CD1 والتي تظهر على سطح الخلايا. تساعد CTLs في حث وتعزيز التدمير داخل الخلايا والميكروبات داخل الخلايا، أو تحلل الخلايا المصابة بهذه الميكروبات. يتضمن جانب آخر من المناعة الخلوية استجابة تخص مولد ضد عن طريق خلايا T مساعدة. تعمل خلايا T المساعدة على مساعدة استئثار وظيفة، وتركيز نشاط، خلايا المستجيب غير الخاصة 10 مقابل خلايا تعرض مولدات ضد بيتيد في اتصال مع جزيئات MHC القياسية وغير القياسية على سطحها. يشير "استجابة مناعية تتسبب فيها خلية بصورة غير مباشرة" أيضاً إلى إنتاج سيتوكينات، chemokines وجزيئات أخرى تنتج من خلايا T منشطة و/أو خلايا دم بيضاء أخرى، تتضمن تلك المشتقة من خلايا CD4+ T و CD8+ T. يمكن تحديد قدرة مولد ضد أو تركيبة محددة على استئثار استجابة مناعية تتسبب فيها خلية بصورة غير مباشرة من خلال عدد من الاختبارات، مثل 15 اختبارات تكاثر اللمفاويات (تنشيط الخلايا اللمفاوية)، اختبارات خلية سامة خلوية CTL، باختبار خلايا لمفاوية T تخص مولد الضد في كائن محسس، أو عن طريق قياس إنتاج سيتوكين عن طريق الخلايا T في استجابة لإعادة الاستئثار مع مولد ضد. تُعرف هذه الاختبارات جيداً في الفن. انظر، مثلاً:

Erickson, A.L., et al., J. Immunol., 151(8):4189-4199 (1993); Doe, B., et al., Eur. J. Immunol. 24(10):2369-2376 (1994) 20

يشير المصطلح "مولد للمناعة (immunogenic)" إلى قدرة مولد ضد أو لقاح على إحداث استجابة مناعية، سواء الخلطية أو التي تتسبب فيها خلية بصورة غير مباشرة، أو كلاهما.

يُستخدم كل من "كمية مولدة للمناعة (immunogenic amount)"، أو "كمية فعالة

مناعياً (immunologically effective amount)" أو "جرعة (dose)" هنا بشكل تبادلي، 25

ويشير كل منهما بصفة عامة إلى كمية مولد الضد أو التركيبية المولدة للمناعة الكافية لحدوث استجابة مناعية، إما استجابة خلوية (خلية T) أو خلطية (خلية B أو جسم مضاد)، أو كلاهما، حسب القياس باختبارات قياسية يعرفها الشخص الماهر في الفن.

- يشير "تدخل مناعي (Immune interference)" أو "تدخل مناعي مؤثر (significant immune interference)" حسب الوصف هنا إلى زيادة ملحوظة إحصائياً في الاستجابة المناعية لمولد ضد فردي في لقاح متعدد التكافؤ أو متعدد المكونات بالمقارنة مع الاستجابة المناعية لنفس مولد الضد عند إعطاؤه في لقاح أحادي التكافؤ.
- يشير استجابة مناعية "مُحصنة (protective)" إلى قدرة تركيبية مولدة للمناعة على إحداث استجابة مناعية، إما خلطية أو التي تتسبب فيها خلية بصورة غير مباشرة، تعمل على حماية الكائن من الإصابة بالعدوى. يجب ألا تكون الحماية المتوفرة مطلقة، أي، لا يجب منع أو محو الإصابة بالعدوى كلياً، إذا كان هناك تحسن ملحوظ إحصائياً بالمقارنة مع مجموعة مقارنة من الكائنات، مثلاً حيوانات مصابة لم تُعطى لقاح أو تركيبية مناعية. قد تقتصر الحماية على التخفيف من حدة أو سرعة ظهور أعراض الإصابة. هناك العديد من الاختبارات المعروفة في الفن لتحديد إذا كانت الاستجابة المناعية تدل على "استجابة مناعية مُحصنة". على سبيل المثال، يمكن قياس الزيادة في مستويات الجسم المضاد عن طريق اختبار ارتباط، مثل اختبار ELISA لخلية كاملة الموصوف أدناه. تتضمن الاختبارات الأخرى قياس الاستجابات الوظيفية للجسم المضاد، مثلاً تسهيل قتل البكتيريا، التي يمكن اختبارها باختبار التهام خلوي طهائي (opsonophagocytosis assay) حسب الوصف أدناه. في حالات معينة، قد تتضمن "الاستجابة المناعية المُحصنة" حث زيادة بمقدار ضعفين في مستويات الجسم المضاد أو زيادة بمقدار أربعة أضعاف في مستويات الجسم المضاد التي تخص مولد ضد محدد في 50% على الأقل من الكائنات. في حالة أخرى، قد تتضمن "الاستجابة المناعية المُحصنة" انخفاض في عد البكتيريا بنسبة على الأقل 10%، 25%، 50%، 65%، 75%، 80%، 85%، 90%، 95%، أو أكثر.

- تُحسب كمية المتقارن المحدد في تركيبية بصفة عامة على أساس إجمالي عديد السكاريد، المتقارنة وغير المتقارنة، من أجل هذا المتقارن. على سبيل المثال، متقارن عديد سكاريد كبسولي GBS له 20% من عديد سكاريد حر سيكون له حوالي 80 ميكروجرام/ملييلتر من عديد السكاريد

الكبسولي GBS المتقارن وحوالي 20 ميكروجرام/ مليلتر من عديد السكاريد الكبسولي GBS غير المتقارن في 100 ميكروجرام/ مليلتر من جرعة سكاريد كبسولي GBS. عادةً لا تؤخذ مساهمة البروتين الحامل في المتقارن في الاعتبار عند حساب جرعة المتقارن. قد تتفاوت كمية المتقارن اعتماداً على النمط المصلي للمكورات العقدية. بصفة عامة، تشتمل كل جرعة على حوالي 0.01

- 5 مجم/ مليلتر إلى حوالي 100 ميكروجرام/ مليلتر من كل عديد سكاريد، تحديداً حوالي 1 ميكروجرام/ مليلتر إلى حوالي 70 ميكروجرام/ مليلتر، وتحديداً أكثر حوالي 5 ميكروجرام/ مليلتر إلى حوالي 50 ميكروجرام/ مليلتر. إن "الكمية المولدة للمناعة" لمكونات عديد السكاريد المختلفة في التركيبة المولدة للمناعة قد تتسع ويشمل كل منها حوالي 0.01 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 0.1 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 0.25 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 0.5 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 1 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 2 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 3 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 4 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 5 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 6 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 7 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 8 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 9 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 10 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 15 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 20 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 25 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 30 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 40 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 50 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 60 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 70 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 80 ميكروجرام/ مليلتر، حوالي 90 ميكروجرام/ مليلتر، أو حوالي 100 ميكروجرام/ مليلتر من أي مولد ضد لعدد سكاريد محدد. تدل جرعة أو كمية مولدة للمناعة من تركيبة مولدة للمناعة متعددة التكافؤ على جرعة من كل عديد سكاريد مالم يُشار إلى خلاف ذلك. على سبيل المثال، تحتوي جرعة بمقدار 10 ميكروجرام/ مليلتر من تركيبة مولدة للمناعة سداسية التكافؤ على 10 ميكروجرام/ مليلتر من كل ستة عديد سكاريدات.
- 20

يمكن قياس تأثير مولد ضد كمولد للمناعة من خلال قياس مستويات نشاط خلية B بقياس مستويات الأجسام المضادة الجائلة التي تخص مولد الضد في المصل باستخدام اختبارات مناعية، اختبارات ترسيب مناعي، اختبارات جسم مضاد وظيفي، مثلاً اختبار طهائي في المعمل والعديد من الاختبارات الأخرى المعروفة في الفن. يمكن قياس معيار آخر لتأثير مولد ضد كمولد مناعة لخلية T إما عن طريق اختبارات الانقسام، أو الاختبارات الحالة للخلايا، مثل اختبارات إطلاق

25

- الكروم لقياس قدرة خلية T على حل خليتها المستهدفة الخاصة. علاوة على ذلك، في الاختراع الحالي، يمكن أيضاً تحديد "كمية مولدة للمناعة" بقياس مستويات مصل الجسم المضاد الذي يخصص مولد ضد المحثة بعد إعطاء مولد الضد أو بقياس قدرة الأجسام المضادة المُحثة على تحسين القدرة الالتهامية الطهائية لخلايا الدم البيضاء الخاصة حسب الوصف هنا. يمكن قياس مستوى حماية الاستجابة المناعية باختبار تحدي العائل المحصن مع مولد الضد الذي تم حقنه.
- 5 على سبيل المثال، إذا كان مولد الضد الذي يُرغب في استجابة مناعية له هو بكتيريا، فيمكن قياس مستوى الحماية المُحث "بالكمية المولدة للمناعة" لمولد الضد عن طريق كشف النسبة المئوية للبقاء على قيد الحياة أو النسبة المئوية للوفيات بعد اختبار تحدي الحيوانات مع الخلايا البكتيرية. في أحد التجسيّدات، يمكن قياس مقدار الحماية بقياس عرض واحد على الأقل مصاحب للإصابة البكتيرية، على سبيل المثال، حمى مصاحبة للإصابة. تتفاوت كمية كل من مولدات الضد في لقاح أو تركيبات مولدة للمناعة متعددة مولدات الضد أو متعددة المكونات بالنسبة إلى كل من المكونات الأخرى ويمكن تحديدها بطرق يعرفها الفني الماهر. تتضمن هذه الطرق، على سبيل المثال، إجراءات لقياس توليد المناعة و/أو الفعالية في الجسم الحي.
- 10 يتعلق المصطلح "تركيبية مولدة للمناعة" بأي تركيبية دوائية تحتوي على مولد ضد، مثلاً، كائن متعضي مجهري، أو مكون منه، ويمكن استخدام هذه التركيبية لإحداث استجابة مناعية في كائن. يمكن استخدام التركيبات المولدة للمناعة من الاختراع الحالي لمعالجة إنسان عرضة للإصابة GBS، بإعطاء التركيبات المولدة للمناعة بواسطة طريقة جهازية عن طريق الأدمة أو عن طريق الأغشية المخاطية. قد تتضمن هذه الإعطاءات حقن بواسطة طرق داخل العضل
- 15 (intramuscular) (i.m.)، داخل الغشاء البريتوني (intraperitoneal) (i.p.)، داخل الأدمة (intradermal) (i.d.)، أو تحت الجلد؛ تطبيق من خلال أداة توصيل عبر الأدمة أو دفعية؛ أو من خلال إعطاء عن طريق الأغشية المخاطية إلى الفم/القناة الهضمية، السبيل التنفسي أو السبيل البولي التناسلي. في أحد التجسيّدات/ يمكن استخدام التركيبية المولدة للمناعة في تصنيع لقاح أو في إثارة أجسام مضاد متعددة النسخ أو أحادية النسخ يمكن استخدامها لحماية أو معالجة حيوان سلباً.
- 20

- في أحد الجوانب، يتعلق الاختراع الحالي بتركيبات مولدة للمناعة تتضمن كمية فعالة من عديد سكاريد، أوليجوسكاريد، متقارن عديد سكاريد- بروتين واحد على الأقل، أو مكافئ حيوي له، حسب الوصف هنا. على سبيل المثال، في أحد التجسيّدات، تتضمن التركيبة المولدة للمناعة مقارنات عديد سكاريد- بروتين، حيث يُنتقى عديد السكاريد الكبسولي من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية العقديّة من المجموعة (ب) وهم la، lb، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، و IX 5
- وحيث يكون لعدد السكاريد الكبسولي مستوى sialic acid أكبر من حوالي 60%. في مثال آخر، تتضمن التركيبة المولدة للمناعة مقارنات عديد سكاريد- بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريد كبسولي من النمط المصلي IV العقدي من المجموعة (ب) ونمط مصلي إضافي واحد على الأقل منتقى من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية la، lb، II، III، V، VI، 10
- VII، VIII، و IX. في تجسيد آخر، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مقارنات عديد سكاريد- بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من النمط المصلي IV العقدي من المجموعة (ب) ونمطين مصليين إضافيين منتقين من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية la، lb، II، III، V، VI، VII، VIII، و IX. في تجسيد آخر أيضاً، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مقارنات عديد سكاريد- بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من النمط المصلي IV العقدي من المجموعة (ب) وثلاثة أنماط مصلية إضافية على الأقل منتقاة من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية la، lb، II، III، V، VI، VII، VIII، و IX. في تجسيد إضافي، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مقارنات عديد سكاريد- بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من النمط المصلي IV العقدي من المجموعة (ب) وأربعة أنماط مصلية إضافية على الأقل منتقاة من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية la، lb، II، 15
- III، V، VI، VII، VIII، و IX. في تجسيد محدد، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مقارنات عديد سكاريد- بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من الأنماط المصلية العقديّة من المجموعة (ب) وهي la، lb، II، III، و V. في تجسيد آخر، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مقارنات عديد سكاريد- بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من الأنماط المصلية العقديّة من المجموعة (ب) وهي la، lb، II، III، و IV. في تجسيد آخر أيضاً، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مقارنات عديد سكاريد- بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من النمط المصلي IV العقدي من المجموعة (ب) 20
- 25

وخمسة أنماط مصلية إضافية على الأقل منتقاة من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، V، VI، VII، VIII، و IX. في أحد التجسيديات، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على ستة مقارنات عديد سكاريد-بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريد كبسولي من الأنماط المصلية العقدية من المجموعة (ب) وهي Ia، Ib، II، III، IV و V.

- 5 في تجسيد، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة من الاختراع من 2 إلى 10 أنماط مصلية مختلفة من العقدية اللبنية. بالتالي في تجسيد، قد تكون التركيبة المولدة للمناعة من الاختراع تركيبة مقارن GBS لها تكافؤ بمقدار 2، 3، 4، 5، 6، 7، 8، 9 أو 10. في أحد التجسيديات، تكون التركيبة المولدة للمناعة تركيبة مقارن GBS لها تكافؤ بمقدار 5. في تجسيد آخر، تكون التركيبة المولدة للمناعة تركيبة مقارن GBS لها تكافؤ بمقدار 6. في تجسيد آخر أيضاً، تكون التركيبة المولدة للمناعة تركيبة مقارن GBS لها تكافؤ بمقدار 7. في تجسيد إضافي، تكون التركيبة المولدة للمناعة تركيبة مقارن GBS لها تكافؤ بمقدار 8.
- 10

- على الرغم من استخدام التعاليم السابقة لأقل من 6، أقل من 5، أو أقل من 4 مولدات ضد GBS في تركيبة (انظر منشورات طلب براءة الاختراع الدولية أرقام: 2006/082527 و 2006/082530) وتجارب التدخل المناعي، تحديداً فيما يتعلق باستخدام النمط المصلي V في تركيبات متعددة التكافؤ (انظر منشور طلب براءة الاختراع الدولية رقم: 2012/035519)، لا يظهر الاختراع الحالي أي تدخل مناعي واضح باستخدام أربعة مولدات ضد GBS أو أكثر أو باستخدام النمط المصلي V في تركيبة متعددة التكافؤ. وفقاً لذلك، يتعلق الاختراع الحالي بتركيبات مولدة للمناعة متعددة التكافؤ تشتمل مقارنات عديد سكاريد-بروتين تشتمل أربعة أنماط مصلية على الأقل من عديد سكاريد كبسولي GBS، مثلاً خمسة أنماط مصلية على الأقل من عديد سكاريد كبسولي GBS، ستة أنماط مصلية على الأقل من عديد سكاريد كبسولي GBS، سبعة أنماط مصلية على الأقل من عديد سكاريد كبسولي GBS، ثمانية أنماط مصلية على الأقل من عديد سكاريد كبسولي GBS، تسعة أنماط مصلية على الأقل من عديد سكاريد كبسولي GBS، حيث لا يكون للتركيبة تدخل مناعي واضح. في تجسيد محدد، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على نمط مصلي V من عديد سكاريد كبسولي GBS.
- 15
- 20

- قد تشمل مقارنات عديد السكاريد - البروتين على نفس حاملات البروتين أو حاملات بروتين مختلفة. في أحد التجسيدات، تشمل المقارنات على نفس حامل البروتين ويتقارن عديد السكاريدات مع نفس جزيء حامل البروتين (جزيئات حاملة لها اثنين أو أكثر من عديد سكاريدات مختلفة مقارنة معه) [انظر على سبيل المثال منشور طلب براءة الاختراع الدولية رقم: 083251/ 5 [2004]. في تجسيد آخر، يتقارن كل من عديد السكاريدات فردياً مع جزيئات حامل البروتين المختلفة (كل جزيء من حامل البروتين له فقط نوع واحد من عديد سكاريد متقارن معه). في التجسيد المذكور، يتقارن عديد السكاريدات الكبسولية فردياً مع البروتين الحامل.
- يمكن التحقق من كميات المكونات المثلى لتركيبية مولدة للمناعة محددة بدراسات قياسية تتضمن ملاحظة استجابات مناعية ملائمة في الكائنات. بعد التلقيح المبدئي، قد تتلقى الكائنات تطعيم معزز واحد أو أكثر متباعدين بشكل كاف. 10
- قد تشمل التركيبات المولدة للمناعة من الاختراع إضافياً على مادة حافظة واحدة أو أكثر بالإضافة إلى عديد من مقارنات عديد السكاريد الكبسولي - البروتين. يتطلب FDA أن تحتوي المنتجات الحيوية في القارورات متعددة الجرعات (عدة الجرعات) على مادة حافظة، مع القليل من الاستثناءات. يصور الاختراع الحالي استخدام القارورات عديدة الجرعات. تتضمن منتجات اللقاح التي تحتوي على مواد حافظة لقاحات تحتوي على benzethonium chloride 15 (anthrax)، 2-phenoxyethanol، Polio، Lyme، HepA، DTaP (عن غير الطريق الفموي)، و Typhoid، Pneumo phenol (عن غير الطريق الفموي). تتضمن المواد الحافظة التي تمت الموافقة على استخدامها في العقاقير القابلة للحقن، مثلاً، chlorobutanol، 2-phenoxyethanol، propylparaben، methylparaben، m cresol 20 benzyl، benzoic acid، benzalkonium chloride، benzethonium chloride، phenol، alcohol و phenylmercuric nitrate.
- في جانب آخر، يتعلق الاختراع بتركيبية تتضمن عديد سكاريد واحد على الأقل من الموصوف هنا ومادة مسوغة، مثبت أس هيدروجيني، مادة مثبتة، مادة مساعدة، واق من البرد، ملح، كاتيون ثنائي التكافؤ، مادة منظفة غير أيونية، مثبت أكسدة شق حر، مادة حاملة مقبولين دوائياً أو خليط من ذلك. 25

قد تشتمل التركيبة المولدة للمناعة اختياريًا على مثبت أس هيدروجيني واحد أو أكثر مقبول فيسيولوجيًا منتقى من، لكن لا يقتصر على Tris ،MES ،PIPES ،HEPES ،histidine ،glycine ،citrate ،borate ،acetate ،phosphate ،(trimethamine) وsuccinate. في تجسيد مفضل، يكون مثبت الأس الهيدروجيني هو histidine.

- 5 في أحد التجسيديات، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مثبت أس هيدروجيني بتركيز من حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 50 مللي جزيئي جرامي، حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 40 مللي جزيئي جرامي، حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 30 مللي جزيئي جرامي، حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 20 مللي جزيئي جرامي، حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 10 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 10 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 40 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 35 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 25 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 20 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 15 مللي جزيئي جرامي، حوالي 15 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 40 مللي جزيئي جرامي، حوالي 15 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 35 مللي جزيئي جرامي، حوالي 15 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 25 مللي جزيئي جرامي، أو حوالي 15 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 20 مللي جزيئي جرامي. في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مثبت أس هيدروجيني بتركيز من حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 25 مللي جزيئي جرامي، ويُفضل أكثر حوالي 20 مللي جزيئي جرامي.

في أحد التجسيديات المفضلة، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على histidine بتركيز حوالي 20 مللي جزيئي جرامي.

- في بعض التجسيديات، يُثبت الأس الهيدروجيني للصياغة إلى نطاق أس هيدروجيني من حوالي 5 إلى حوالي 7.1، مثلاً حوالي 5.3 إلى حوالي 7.1، حوالي 5.5 إلى حوالي 7، حوالي 6 إلى حوالي 7، حوالي 6 إلى حوالي 6.5، حوالي 6.3 إلى حوالي 7، أو حوالي 6.5 إلى حوالي 25

7. في تجسيد إضافي، يُثبت الأس الهيدروجيني للصياغة إلى نطاق أس هيدروجيني بقيمة حوالي 6، 6.1، 6.2، 6.3، 6.4، 6.5، 6.6، 6.7، 6.8، 6.9، أو 7. في تجسيد مفضل، يُثبت الأس الهيدروجيني للصياغة إلى نطاق أس هيدروجيني بقيمة من حوالي 6 إلى حوالي 7، ويُفضل أكثر حوالي 6.5.

5 قد تشمل التركيبة المولدة للمناعة اختياريًا على منشط سطح غير أيوني واحد أو أكثر، يتضمن لكن لا يقتصر على esters حمض دهني polyoxyethylene sorbitan، polysorbate-، polysorbate-60 (TWEEN 60)، polysorbate-80 (TWEEN 80) polysorbate-40 (TWEEN 40)، polysorbate-20 (TWEEN 20)، و polyoxyethylene alkyl ethers، بما في ذلك لكن ليس على سبيل الحصر BRIJ 35، BRIJ 58، وآخرين مثل 10 من PLURONIC و سلسلة SPAN 85، NP40، TRITON X- 114، TRITON X-100 منشطات سطح غير أيونية (مثلا، PLURONIC 121). في أحد التجسيديات، تشمل التركيبة المولدة للمناعة على polysorbate-80 أو polysorbate-40، يُفضل polysorbate-80 (PS80).

في أحد التجسيّدات، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على منشط سطح بتركيز من حوالي 15 0.001% إلى حوالي 2% (حجم/ وزن)، حوالي 0.001% إلى حوالي 1%، حوالي 0.001% إلى حوالي حوالي 0.5%، حوالي 0.001% إلى حوالي 0.1%، حوالي 0.001% إلى حوالي 0.05%، حوالي 0.001% إلى حوالي 0.01%، حوالي 0.001% إلى حوالي 0.005%، حوالي 0.005% إلى حوالي 2%، حوالي 0.005% إلى حوالي 1%، حوالي 0.005% إلى حوالي 0.5%، حوالي 0.005% إلى حوالي 0.1%، حوالي 0.005% إلى حوالي 0.05%، حوالي 0.005% إلى حوالي 0.01%، حوالي 0.01% إلى حوالي 2%، حوالي 0.01% إلى حوالي 1%، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.5%، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.01%، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.1%، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.05%، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.04%، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.03%، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.015%، حوالي 2%، حوالي 0.015% إلى حوالي 1%، حوالي 0.015% إلى حوالي 0.5%، حوالي 0.015% إلى حوالي 0.1%، حوالي 0.015% إلى حوالي 0.05%، حوالي 0.015% إلى حوالي 0.04%، حوالي 0.015% إلى حوالي 0.03%، حوالي 0.015% إلى حوالي 0.02%، حوالي 0.02% إلى حوالي 1%،

- حوالي 0.02% إلى حوالي 0.5%، حوالي 0.02% إلى حوالي 0.1%، حوالي 0.02% إلى حوالي 0.05%، حوالي 0.02% إلى حوالي 0.04%، حوالي 0.02% إلى حوالي 0.03%، حوالي 0.05% إلى حوالي 2%، حوالي 0.05% إلى حوالي 1%، حوالي 0.05% إلى حوالي 0.5%، حوالي 0.05% إلى حوالي 0.1%، حوالي 0.1% إلى حوالي 2%، حوالي 0.1% إلى حوالي 1%، حوالي 0.1% إلى حوالي 0.5% أو حوالي 0.1% إلى حوالي 0.25%. في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على منشط سطح بتركيز من حوالي 0.01% إلى حوالي 0.03%، ويُفضل أكثر حوالي 0.02%.
- 5
- في تجسيد آخر، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على polysorbate-80 بتركيز من حوالي 0.001% إلى حوالي 2% (يُفضل بنسبة تصل إلى حوالي 0.25%) أو polysorbate-40 بتركيز من حوالي 0.001% إلى حوالي 1% (يُفضل بنسبة تصل إلى حوالي 0.5%).
- 10
- في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على PS80 بتركيز بقيمة حوالي 0.02%.
- لا ينبغي الخلط بين المواد الحاملة المقبولة دوائياً و"البروتينات الحاملة"، المستخدمة في ارتباط الكربوهيدرات من الاختراع مع بروتين وتعديل الاستجابة المناعية لتلك الكربوهيدرات. لتجنب الخلط بين حاملات البروتين الموصوفة هنا، يُفضل المصطلح مادة مخففة مقبول دوائياً على حاملات مقبولة دوائياً، لكن يمكن استخدام هذه المصطلحات من حين إلى آخر بالتبادل. يُقصد بالمصطلح "مادة حاملة مقبولة دوائياً" (pharmaceutically acceptable carrier) "مادة حاملة وافقت عليها وكالة تنظيمية فيدرالية، حكومة الولاية، أو وكالة تنظيمية أخرى، أو مدرجة في دستور الأدوية الأمريكي أو دستور أدوية مميز بصفة عامة للاستخدام في الحيوانات، بما في ذلك البشر والكائنات الثديية غير البشرية. يشير المصطلح "حامل (carrier)" إلى مادة مخففة، مادة مساعدة، مادة مسوغة، أو وسط ناقل تُعطى معها التركيبة الدوائية. تتضمن المواد المخففة المقبولة دوائياً أي وكل المذيبات التقليدية، أوساط التشيت، الحشوات، المواد الحاملة الصلبة، المحاليل المائية، مواد التغليف، عوامل مضادة للبكتيريا ومضادة للفطريات، عوامل متساوية التوتر وعوامل تأخير الامتصاص، إلخ. قد تكون المواد المخففة المقبولة دوائياً سوائل معقمة، مثل الماء والزيوت، تتضمن التي في البترول، الحيوانات، الخضروات أو من التي من أصل تخليقي. يمكن استخدام
- 15
- 20
- 25

- ماء، ماء للحقن (WFI)، محاليل ملحية معقمة متساوية التوتر، محلول ملحي مثبت الأس الهيدروجيني بالفوسفات، معلقات مساعدة، dextrose مائي ومحاليل glycerol، واتحاد من ذلك، كمادة حاملة سائلة، تحديداً للمحاليل القابلة للحقن. قد تشمل المواد المخففة المقبولة دوائياً إضافياً على كميات ضئيلة من المواد الإضافية مثل عوامل ترطيب أو استحلاب، مواد حافظة أو مثبتات
- 5 أس هيدروجيني، تحسن عمر التخزين أو التأثير في الجسم. إن تحضير واستخدام المواد المخففة المقبولة دوائياً معروف جيداً في الفن. توصف أمثلة على المواد الحاملة المقبولة دوائياً في Remington's Pharmaceutical Sciences" by E. W. Martin. في أحد التجسيديات، تكون المادة المخففة ماء، ماء للحقن (WFI)، معلق مساعد، أو محلول ملحي. في تجسيد محدد، تكون المادة المخففة معلق من أي مادة مساعدة موصوفة هنا. في تجسيد مفضل، تكون المادة المخففة معلق مساعد معتمد على ألومنيوم، مثل معلق فوسفات الألومنيوم.
- 10 تتضمن المواد المسوغة الدوائية المناسبة نشا، جلوكوز، لاكتوز، sucrose، trehalose، palatinin، lactitol، mannitol، dextran، melezitose، stachyose، raffinose جيلاتين، malt، أرز، دقيق، طباشير، هلام السليكا، sodium stearate، glycerol، monostearate، تالك، glycine، arginine، lysine، كلوريد الصوديوم (NaCl)، حليب مقشود مجفف، glycerol، propylene glycol، ماء، ethanol، إلخ. في تجسيد مفضل، تكون المادة المسوغة هي NaCl.
- 15 في أحد التجسيديات، تشمل التركيبة المولدة للمناعة على مادة مسوغة عند تركيز من حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 500 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 450 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 400 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 350 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 300 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 250 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 200 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 150 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 100 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 50 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 30 مللي جزيئي جرامي،
- 20
- 25

- [illegible]

- مللي جزيئي جرامي، حوالي 200 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 500 ملي جزيئي جرامي، حوالي 200 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 450 ملي جزيئي جرامي، حوالي 200 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 400 ملي جزيئي جرامي، حوالي 200 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 350 ملي جزيئي جرامي، حوالي 200 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 300 ملي جزيئي جرامي، حوالي 200 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 250 ملي جزيئي جرامي، حوالي 250 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 500 ملي جزيئي جرامي، حوالي 250 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 450 ملي جزيئي جرامي، حوالي 250 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 400 ملي جزيئي جرامي، حوالي 250 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 350 ملي جزيئي جرامي، حوالي 250 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 300 ملي جزيئي جرامي، حوالي 300 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 450 ملي جزيئي جرامي، حوالي 300 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 400 ملي جزيئي جرامي، حوالي 300 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 350 ملي جزيئي جرامي، حوالي 350 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 300 ملي جزيئي جرامي، حوالي 350 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 250 ملي جزيئي جرامي، حوالي 250 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 200 ملي جزيئي جرامي، حوالي 200 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 150 ملي جزيئي جرامي، أو حوالي 450 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 500 ملي جزيئي جرامي. في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مادة مسوغة عند تركيز من حوالي 10 ملي جزيئي جرامي إلى حوالي 250 ملي جزيئي جرامي، والأكثر تفضيلاً حوالي 150 ملي جزيئي جرامي.
- 20 في أحد التجسيديات المفضلة، المادة المسوغة هي NaCl عند تركيز حوالي 150 ملي جزيئي جرامي.

يمكن أن تحتوي التركيبة أيضاً، عند الرغبة، على كميات صغيرة من عوامل بلل، تكتل، استحلاب، أو عوامل مثبتة للأس الهيدروجيني. قد تأخذ هذه التركيبات شكل محاليل، معلقات، مستحلب، مسحوق مجفد أو كعكة، إلخ. يجب أن تتفق الصياغة مع طرق الإعطاء. باستثناء ما

إذا كان أي وسط أو عامل تقليدي غير متوافق مع المقوم النشط، فإن استخدامه في التركيبات المولدة للمناعة للاختراع الحالي يكون متوقعا.

- 5 في تجسيد، تكون التركيبة المولدة للمناعة مجفدة، اختياريًا في وجود مادة مسوغة واحدة على الأقل. في تجسيد مفضل، تنتقى مادة مسوغة واحدة على الأقل من المجموعة المتكونة من نشأ، جلوكوز، لاكتوز، sucrose، trehalose، raffinose، stachyose، melezitose، mannitol، dextran، palatinin، جيلاتين، malt، أرز، دقيق، طباشير، هلام سيليك، sodium stearate، glycerol monostearate، تالك، arginine، glycine، lysine، كلوريد صوديوم (sodium chloride) (NaCl)، حليب مقشود مجفف، glycerol، propylene glycol، ماء، و ethanol. في تجسيد مفضل، تنتقى مادة مسوغة واحدة على الأقل من المجموعة المتكونة من sucrose، mannitol، و glycine. في تجسيد محدد، الماد المسوغة الوحدة على الأقل هي sucrose. في تجسيد آخر، تشتمل التركيبة المجفدة على مادة مسوغة إضافية. في أحد هذه التجسيديات، المادة المسوغة الإضافية هي mannitol أو glycine.
- 10 في تجسيد آخر، تشتمل التركيبة المجفدة على حوالي 1% (وزن/ حجم) إلى حوالي 10% (وزن/ حجم) من سكاريد واحد على الأقل، مثلاً حوالي 1.5%، 2%، 2.5%، 3%، 3.5%، 4%، 4.5%، 5%، 5.5%، 6%، 6.5%، 7%، 7.5%، 8%، 8.5%، 9%، 9.5 أو 10%. في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المجفدة على أكبر من حوالي 5.5% (وزن/ حجم) من مادة مسوغة واحدة على الأقل، مثلاً أكبر من حوالي 7% (وزن/ حجم). في تجسيد إضافي، تشتمل التركيبة المجفدة على حوالي 1% (وزن/ حجم) إلى حوالي 10% (وزن/ حجم) من المادة المسوغة الإضافية، مثلاً حوالي 1.5%، 2%، 2.5%، 3%، 3.5%، 4%، 4.5%، 5%، 5.5%، 6%، 6.5%، 7%، 7.5%، 8%، 8.5%، 9%، 9.5 أو 10%. في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المجفدة على حوالي 1% (وزن/ حجم) إلى حوالي 10% (وزن/ حجم) من المادة المسوغة الواحدة على الأقل وحوالي 1% (وزن/ حجم) إلى حوالي 10% (وزن/ حجم) من المادة المسوغة الإضافية.
- 15 في تجسيد آخر أيضاً، يعاد تشكيل التركيبة المجفدة مع ماء، ماء للحقن (water for injection) (WFI)، معلق مساعد، أو محلول ملحي. في تجسيد مفضل، المادة المخففة هي معلق مساعد معتمد على الألومنيوم، مثلاً معلق فوسفات ألومنيوم.
- 20 25

- في أحد التجسيديات، تتضمن التركيبة عديد سكاريد معزول موصوف هنا وجزء مادة حاملة. قد تتضمن جزيئات المادة الحاملة المناسبة بروتينات، عديد سكاريدات، polylactic polyglycollic acids، acids، أحماض أمينية بوليمرية، بوليمرات تساهمية لحمض أميني، مواد متراكمة ليبيدية (مثلا قطيرات زيت أو جسيمات شحمية)، وجسيمات فيروسية غير نشطة. إن أمثلة على المواد الحاملة الدقائقية تتضمن تلك المشتقة من بوليمرات polymethyl methacrylate، 5 بالإضافة إلى جسيمات دقيقة مشتقة من poly(lactides) و poly(lactide-co-glycolides)، تعرف على أنها PLG.
- تشمل التركيبات المولدة للمناعة من الاختراع الحالي أيضا واحد أو أكثر من "المواد المعدلة للمناعة (immuno modulators)" الإضافية، وهي عوامل يمكنها تعديل أو اضطراب على جهاز المناعة، كما نلاحظ في سواء زيادة تنظيم أو خفض تنظيم للمناعة يتسبب فيها بصورة 10 غير مباشرة خلية و/أو الخلطية. في أحد التجسيديات الخاصة، يفضل زيادة تنظيم لأذرع يتسبب فيها بصورة غير مباشرة خلية و/أو الخلطية لجهاز المناعة. تتضمن أمثلة على المواد المعدلة للمناعة المعينة، على سبيل المثال، مادة مساعدة أو سيتوكين، أو ISCOMATRIX (CSL Limited, Parkville, Australia) الموصوفة في براءة الاختراع الأمريكية رقم 5254339 ضمن عوامل أخرى. يشير المصطلح "مادة مساعدة (adjuvant)" إلى مركب أو خليط يحسن 15 الاستجابة المناعية مع مولد ضد كما هو موصوف هنا إضافيا.
- إن أمثلة غير حصرية للمواد المساعدة التي يمكن استخدامها في تركيبة الاختراع الحالي تتضمن نظام مساعد RIBI (Ribi Inc., Hamilton, Mont.)، هلامات معدنية، مثل هلام هيدروكسيد ألومنيوم؛ مستحلبات ماء - في - زيت، مثلا، مواد مساعدة Freund كاملة وغير كاملة، بوليمر تساهمي Block (CytRx, Atlanta Ga.)، SAF-M (Chiron, Emeryville Calif.)، مادة مساعدة AMPHIGEN®، saponin، Quil A أو جزء مقتطع saponin آخر؛ ليبيد A monophosphoryl؛ ومادة مساعدة لبيد - Avridine amine. إن أمثلة غير حصرية لمستحلبات زيت في ماء نافعة كمادة مساعدة في اللقاح من الاختراع تتضمن MF59 (براءة الاختراع الأمريكية رقم 6299884) (المحتوية على 5% Squalene، 0.5% polysorbate 80، و 0.5% Span 85) (المحتوية اختياريا على كميات متنوعة من MTP-PE) المصاغة في 25

- جسيمات بمقاس دون الميكرون باستخدام جهاز تمييع مجهري مثل الجهاز التمييع المجهري طراز 110Y (Microfluidics, Newton, MA)، و SAF (المحتوي على 10% Squalene، 0.4% polysorbate 80، 5% بوليمر متكامل مع L121 pluronic، و thr-MDP، سواء بالتحويل في جهاز تمييع مجهري إلى مستحلب بمقاس دون الميكرون أو تدويمه لإنتاج مستحلب بمقاس جسيم أكبر)؛ SEAM62 معدلة (محتوية على 5% (حجم/حجم) squalene (Sigma)، 1% (حجم/حجم) (حجم) منظف SPAN® 85 (منشطات سطح ICI)، 0.7% (حجم/حجم) منظف polysorbate 80 (منشطات سطح ICI)، 2.5% (حجم/حجم) ethanol، 200 ميكروجرام/مليلتر Quil A، 100 ميكروجرام/مليلتر كولسترول، و 0.5% (حجم/حجم) lecithin) و SEAM 1/2 معدلة (محتوية على 5% (حجم/حجم) squalene، 1% (حجم/حجم) منظف SPAN® 85، 0.7% (حجم/حجم) polysorbate 80، 2.5% (حجم/حجم) ethanol، 100 ميكروجرام/مليلتر Quil A و 50 ميكروجرام/مليلتر كولسترول).
- تتضمن أيضا مواد مساعدة مناسبة مستخدمة في تحسين استجابة المناعة، بدون تحديد، MPL™ (3-O-deacylated monophosphoryl lipid A, Corixa, Hamilton, MT) الموصوفة في براءة الاختراع الأمريكية رقم: 4912094. إن مواد مساعدة مناسبة للاستخدام أيضا هي نظائر ليبيد A صناعي أو مركبات aminoalkyl glucosamine phosphate (AGP)، أو مشتقات أو نظائر من ذلك، المتاحة من Corixa (Hamilton, MT)، والموصوفة في براءة الاختراع الأمريكية رقم 6113918. أحد مركبات AGP هو 2-[(R)-3-Tetradecanoyloxy-tetradecanoyl-amino] ethyl 2-Deoxy-4-O-phosphono-2-[(R)-3-3-O-[(R)-3-tetra-decanoyoxy-tetradecanoyl]-b-D-glucopyranoside المعروف أيضا بأنه 529 (المعروف في السابق بأنه RC529). تصاغ المادة المساعدة 529 في شكل مائي (AF) (aqueous form) أو مستحلب مستقر (SE) (stable emulsion).
- تتضمن مواد مساعدة أخرى أيضا مشتقات cyclodextrin (براءة الاختراع الأمريكية رقم: 6165995)؛ بوليمر polyanionic (براءة الاختراع الأمريكية رقم: 6610310)؛ ببتيدات muramyl، مثلا N-acetyl-muramyl-L-threonyl-D-isoglutamine (thr-MDP)،

- و-N-acetyl-normuramyl-L-alanine-2-(1'-2' dipalmitoyl-sn-glycero-3-
؛Avridine ؛Amphigen ؛hydroxy-phosphoryl-oxy)-ethylamine (MTP-PE)
؛pluronic polyols ؛glycoside /D-lactide-poly lactide ؛L121/squalene
Stimulon™ QS-21 (Antigenics، مثل، saponins، Bordetella مقتول؛
5 (Framingham, MA.)، الموصوف في براءة الاختراع الأمريكية رقم: 5057540
Mycobacterium tuberculosis؛ عديد سكاريدات شحمية بكتيرية؛ عديد نيكلو تيدات صناعية،
مثل أوليجو نيكلو تيدات محتوية على واحدة تكرر CpG (مثلا، براءة الاختراع الأمريكية رقم
620746)؛ IC-31 (Intercell AG, Vienna, Austria)، الموصوفة في براءات الاختراع
الأوروبية أرقام 1296713 و 1326634؛ pertussis toxin (PT) أو طفرة منه، cholera
10 toxin أو طفرة منه (مثلا براءة الاختراع الأمريكية أرقام 7285281، 7332174، 7361355
و 7384640)؛ أو toxin معطوب بالحرارة E. coli (LT) أو طفرة منه، خصوصا LT-K63،
LT-R72 (مثلا، براءة الاختراع الأمريكية أرقام 6149919، 7115730 و 7291588).
- إن "المواد المعدلة للمناعة" الأخرى التي قد تكون موجودة في اللقاح تتضمن، مثلا واحدة
أو أكثر من 1- α ، 1- β ، 2، 4، 5، 6، 7، 8، 10، 12، inter leukins (انظر، مثلا، براءة
15 الاختراع الأمريكية رقم 5723127)، 13، 14، 15، 16، 17، 18 (وأشكالها الطفيرية)؛
 α ، β ، γ interferons؛ عامل استثارة مستعمرة ملتزمة كبرى - خلايا محببة (GM-CSF)
(انظر، مثلا، براءة الاختراع الأمريكية رقم 5078996 و ATCC رقم وصول 39900)؛ عامل
استثارة مستعمرة ملتمة كبرى (macrophage colony stimulating factor) (M-CSF)؛
عامل استثارة مستعمرة خلايا محببة (granulocyte colony stimulating factor)
20 (G-CSF)؛ أو عوامل تتركز الورم α و β . تتضمن مواد مساعدة أخرى أيضا نافعة في التركيبات
المولدة للمناعة الموصوفة هنا chemokines، بما في ذلك بدون تحديد، MCP-1، MIP-1 α ،
MIP-1 β و RANTES؛ جزيئات التصاق، مثل selectin، مثلا، L-selectin، P-selectin
و E-selectin؛ جزيئات شبيهة بالمخاطين، مثل CD34، GlyCAM-1 و MadCAM-1؛
عضو من عائلة integrin مثل LFA-1، VLA-1، Mac-1، و p150.95؛ عضو من العائلة
25 الفائقة للجلوبولين المناعي مثل PECAM، ICAMs، مثل ICAM-1، ICAM-2 و ICAM-3،

CD2 و LFA-3؛ جزيئات استثارة مشتركة مثل B7-1، B7-2، CD40 و CD40L؛ عوامل نمو تتضمن عامل نمو وعائي، عامل نمو عصبي، عامل نمو أرومة ليفية، عامل نمو بشري، PDGF، BL-1، وعامل نمو بطاني وعائي؛ جزيئات مستقبل تتضمن مستقبل Fas، TNF، Flt، Apo-1، p55، WSL-1، DR3، TRAMP، Apo-3، AIR، LARD، NGRF، DR4، DR5، KILLER، TRAIL-R2، TRICK2، و DR6؛ و Caspase (ICE).

5 من المفهوم أنه إذا تم استخدام سواء مادة معدلة للمناعة و/أو مادة مساعدة أو اختيار أي مادة معدلة للمناعة و/أو مادة مساعدة مراد استخدامها سوف يعتمد على الكائن الذي يتم إعطائه اللقاح أو التركيبة المولدة للمناعة، طريقة الحقن، وعدد من الحقنات المعطاة. على سبيل المثال، إذا تعرض الكائن لسبب مرضي طبيعي، قد لا تكون هناك حاجة إلى مادة مساعدة كمولدات ضد اللقاح التي يمكنها أن تحث استجابة الذاكرة بشكل فعال. في تجسيديات معينة، سوف تتضمن التركيبة المولدة للمناعة مادة مساعدة واحدة أو أكثر. في أحد التجسيديات، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مادة مساعدة معتمدة على الألومنيوم. في أحد هذه التجسيديات، المادة المساعدة الألومنيوم هي هيدروكسيد الألومنيوم، فوسفات الألومنيوم، أو فوسفات هيدروكسيل الألومنيوم. في تجسيد محدد. المادة المساعدة هي فوسفات الألومنيوم. في تجسيد آخر من الاختراع، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على QS-21 كالمادة المساعدة.

10 في أحد التجسيديات، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مادة مساعدة عند تركيز من حوالي 0.1 مجم/مليلتر إلى حوالي 1 مجم/مليلتر، 0.1 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.9 مجم/مليلتر، 0.1 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.8 مجم/مليلتر، 0.1 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.7 مجم/مليلتر، 0.1 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.6 مجم/مليلتر، 0.1 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.5 مجم/مليلتر، 0.1 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.1 مجم/مليلتر، 0.1 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.3 مجم/مليلتر، 0.1 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.2 مجم/مليلتر، 0.25 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.95 مجم/مليلتر، 0.25 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.85 مجم/مليلتر، 0.25 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.75 مجم/مليلتر، 0.25 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.65 مجم/مليلتر، 0.25 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.55 مجم/مليلتر، 0.25 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.45 مجم/مليلتر، 0.25 مجم/مليلتر إلى حوالي 0.35 مجم/مليلتر، 0.5 مجم/مليلتر إلى

حوالي 1 مجم/ مليلتر، 0.5 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.9 مجم/ مليلتر، 0.5 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.8 مجم/ مليلتر، 0.5 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.75 مجم/ مليلتر، 0.5 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.7 مجم/ مليلتر، 0.5 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.65 مجم/ مليلتر، 0.5 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.6 مجم/ مليلتر، 0.75 مجم/ مليلتر إلى حوالي 1 مجم/ مليلتر، 0.75 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.95 مجم/ مليلتر، 0.75 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.9 مجم/ مليلتر، و0.75 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.85 مجم/ مليلتر. في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مادة مساعدة عند تركيز من 0.25 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.75 مجم/ مليلتر، والأكثر تفضيلاً حوالي 0.5 مجم/ مليلتر.

في تجسيد مفضل، المادة المساعدة هي مادة مساعدة معتمدة على الألومنيوم عند تركيز 0.5 مجم/ مليلتر. في أحد هذه التجسيديات، المادة المساعدة المعتمدة على الألومنيوم هي فوسفات ألومنيوم أو فوسفات هيدروكسيل ألومنيوم.

في أحد التجسيديات، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على متقارن عديد سكاريد - بروتين كما هو موصوف هنا، مثبت أس هيدروجيني، منشط سطح، مادة مسوغة، واختيارياً مادة مساعدة، حيث تعزل التركيبة إلى مثبت أس هيدروجيني حوالي 6 إلى حوالي 7.

في أحد هذه التجسيديات، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على متقارن عديد سكاريد - بروتين GBS، مثبت أس هيدروجيني، منشط سطح، مادة مسوغة، واختيارياً مادة مساعدة، حيث تعزل التركيبة إلى مثبت أس هيدروجيني حوالي 6 إلى حوالي 7 وحيث يكون لعديد السكاريد الكبسولي مستوى sialic acid أكبر من حوالي 60%.

في أحد التجسيديات الخاصة، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على متقارن عديد سكاريد - بروتين GBS، histidine، polysorbate-80، كلوريد صوديوم، واختيارياً فوسفات ألومنيوم، حيث تعزل التركيبة إلى مثبت أس هيدروجيني حوالي 6 إلى حوالي 7 وحيث يكون لعديد السكاريد الكبسولي مستوى sialic acid أكبر من حوالي 60%.

في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على حوالي 5 ميكروجرام/ مليلتر إلى حوالي 50 ميكروجرام/ مليلتر من متقارن عديد سكاريد - بروتين GBS، حوالي 10 ملي جزئي

جرامي إلى حوالي 25 مللي جزيئي جرامي من histidine، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.03% (حجم/ وزن) من polysorbate-80، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 250 مللي جزيئي جرامي من كلوريد صوديوم، واختياريا حوالي 0.25 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.75 مجم/ مليلتر ألومنيوم كفسفات ألومنيوم، حيث يكون لعدد السكاريد الكبسولي مستوى sialic acid أكبر من حوالي 60%.

5

في أحد هذه التجسيديات، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على اثنين على الأقل من مقارنات عديد سكاريد - بروتين GBS، مثبت أس هيدروجيني، منشط سطح، مادة مسوغة، واختياريا مادة مساعدة، حيث تعزل التركيبة إلى أس هيدروجيني حوالي 6 إلى حوالي 7 وحيث تشمل المقارنات عديد سكاريدات كبسولية من نمط مصلي IV من المكورة العقديّة (GBS) من المجموعة (ب) ونمط مصلي إضافي واحد على الأقل منتقى من المجموعة المتكونة من la، lb، II، III، V، VI، VII، VIII، و IX.

10

في أحد التجسيديات الخاصة، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على اثنين على الأقل من مقارنات عديد سكاريد - بروتين GBS، histidine، polysorbate-80، كلوريد صوديوم، واختياريا فوسفات ألومنيوم، حيث تعزل التركيبة إلى أس هيدروجيني حوالي 6 إلى حوالي 7 وحيث تشمل المقارنات عديد سكاريدات كبسولية من نمط مصلي IV من المكورة العقديّة (GBS) من المجموعة (ب) ونمط مصلي إضافي واحد على الأقل منتقى من المجموعة المتكونة من la، lb، II، III، V، VI، VII، VIII، و IX.

15

في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على حوالي 5 ميكروجرام/ مليلتر إلى حوالي 50 ميكروجرام/ مليلتر لكل من اثنين على الأقل من مقارنات عديد سكاريد - بروتين GBS، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 25 مللي جزيئي جرامي من histidine، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.03% (حجم/ وزن) من polysorbate-80، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 250 مللي جزيئي جرامي من كلوريد صوديوم، واختياريا حوالي 0.25 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.75 مجم/ مليلتر ألومنيوم كفسفات ألومنيوم، وحيث تشمل المقارنات عديد سكاريدات كبسولية من نمط مصلي IV من المكورة العقديّة (GBS) من المجموعة (ب) ونمط

20

مصلي إضافي واحد على الأقل منتقى من المجموعة المتكونة من la، lb، ll، III، V، VI، VII، VIII، و IX.

تقييم التركيبات المولدة للمناعة

- 5 تستخدم اختبارات مختلفة في المعمل لتقييم التوليد المناعي للتركيبات المولدة للمناعة من الاختراع. على سبيل المثال، يجري اختبار طهائي في المعمل عن طريق التحضين معا لخليط من الخلايا المكورة العقدية، مصل خامد بالحرارة يحتوي على أجسام مضادة تخص مولدات الضد الذي نحن بصدد، ومصدر مكمل خارجي المنشأ. يجري خلوي طهائي (Opsonophagocytosis) أثناء تحضين خلايا متعددة شكل النواة معزولة حديثا (polymorphonuclear cells) (PMN's) أو خلايا مستجيب متميزة مثل HL60s وخليط الجسم المضاد/ المكمل/ الخلايا المكورة العقدية.
- 10 يتم قتل الخلايا البكتيرية المغطاة مع الجسم المضاد والمكمل عند التهام خلوي طهائي. تحدد وحدات تكوين مستعمرة (Colony forming units) (cfu) لبقاء البكتيريا على قيد الحياة التي تم استعادتها من عملية تيسير الالتهام بوضع خليط الاختبار في طبق. تسجل العيارات كمعكوس للتخفيف الأعلى الذي يعطي قتل بكتيري بنسبة 50٪، حسب التحديد مقارنة مع مقارنات الاختبار.
- يمكن أيضا استخدام اختبار ELISA خلية كاملة لتقييم التولد المناعي في المعمل والتعرض السطحي لمولد الضد، حيث تغلف السلالة البكتيرية محل الدراسة (العقدية اللبنية) فوق طبق، مثل طبق به 96 عين، وتتفاعل أمصال الاختبار من حيوان محصن مع الخلايا البكتيرية. إذا كان الجسم المضاد، الذي يخص مولد الضد الخاص بالاختبار متفاعل مع الإبيتوب مكشوف السطح لمولد الضد، فمن الممكن الكشف عنه بطرق قياسية معروفة للماهر في الفن. بطريقة بديلة، قد يستخدم مقياس خلوي للتدفق لقياس التعرض السطحي لمولدات ضد عديد سكاريد كبسولي وخصوصية أجسام مضادة، بما في ذلك أجسام مضادة أحادية النسخ.
- 20

يمكن عندئذ اختبار مولد ضد يظهر النشاط المطلوب في المعمل في نموذج اختبار تحدي حيوان في الجسم الحي. في تجسيدات معينة، تستخدم التركيبات المولدة للمناعة في تحصين حيوان (مثلا، فأر) بطرق وأساليب تحصين معروفة للمهرة في الفن (مثلا، في الأنف، عن غير الطريق المعوي، فموي، شرجيا، مهبلية، عبر الجلد، في البريتون، في الوريد، تحت الجلد، إلخ). عقب

تحصين الحيوان مع تركيبة مولدة للمناعة GBS، يتم اختبار تحدي الحيوان مع سلالة العقدية اللبنة ويختبر لمقاومة عدوى المكورة العقدية.

5 في أحد التجسيديات، تحصن فئران خالية من مسببات المرض وتتحدى مع العقدية اللبنة. على سبيل المثال، تحصن الفئران مع جرعة واحدة أو أكثر لمولد الضد المرغوب في التركيبة المولدة للمناعة. لاحقاً، تتحدى الفئران مع العقدية اللبنة وتراقب فترة البقاء على قيد الحياة مع مرور الوقت بعد التحدي.

طرق الاستخدام

يشير المصطلح "ناقص المناعة (Immunocompromised)"، كما هو مستخدم هنا إلى كائن يعاني من العوز المناعي بالنسبة إلى ذراع (أذرع) خلوي و/أو خلطي لجهاز المناعة. طبقاً لذلك، يتم توقع مدى العوز المناعي في وظيفة المناعة بالتفاوت من ضعف طفيف في عملية المناعة لاستكمال كبح المناعة.

15 يشير المصطلح "كائن (subject)" إلى كائن ثديي، طائر، سمك، حيوان زاحف، أو أي حيوان آخر. إن المصطلح "كائن" يتضمن أيضاً البشرين. إن المصطلح "كائن" يتضمن أيضاً الحيوانات المرباة بالمنزل. تتضمن أمثلة غير محدودة للحيوانات المرباة بالمنزل: كلاب، قطط، خنازير، أرانب، جرذان، فئران، يربيع، فئران هامستر، خنازير غينيا، ابن مقرض، طيور، ثعابين، سحالي، أسماك، سلاحف، وضفادع. يتضمن المصطلح "كائن" أيضاً حيوانات الماشية. تتضمن أمثلة غير محدودة لحيوانات الماشية: الألبكة، البيسون، الجمل، الماشية، الغزال، الخنازير، الجياد، اللاما، البغال، القردة، الخراف، الماعز، الأرانب، الرنة، الياك، الدواجن، الأوز، والديوك الرومية.

حسب الاستخدام هنا، يشير "معالجة (treatment)" (بما في ذلك أشكال متباينة من ذلك، على سبيل المثال "علاج (treat)" أو "معالج (treated)" إلى أي واحد أو أكثر مما يلي: (1) الوقاية من الإصابة بالعدوى أو عودة الإصابة، كما في اللقاح التقليدي، (2) الحد من شدة أو القضاء على الأعراض، و(3) القضاء إلى حد كبير أو الكامل لمسببات المرض أو الاضطراب محل الدراسة. لذلك، قد تنفذ المعالجة بصورة وقائية (قبل الإصابة بالعدوى) أو بصورة علاجية (بعد الإصابة بالعدوى). في الاختراع الحالي، يمكن استخدام المعالجات الوقائية أو العلاجية. طبقاً

لتجسيد محدد من الاختراع الحالي، يتم توفير تركيبات وطرق علاج، بما في ذلك التحصين الوقائي و/أو العلاجي، حيوان عائل ضد الإصابة بالعدوى الميكروبية (على سبيل المثال، بكتيريا مثل العقديّة اللبنيّة). تكون طرق الاختراع الحالي مفيدة من أجل منح مناعة وقائية و/أو علاجية لكائن. يمكن أيضا ممارسة طرق الاختراع الحالي على كائنات من أجل تطبيقات بحث الطب الحيوي.

5 في جانب آخر، يتعلق الاختراع بطريقة لحث الاستجابة المناعية مقابل GBS في كائن

عن طريق إعطاء كائن كمية مؤثرة من التركيبة المولدة للمناعة الموصوفة هنا. في أحد التجسيّدات، يتعلق الاختراع بطريقة لمنع أو خفض مرض أو حالة مصاحبة للمكورة العقديّة من المجموعة (ب) في كائن عن طريق إعطاء الكائن كمية مؤثرة من التركيبة المولدة للمناعة الموصوفة هنا. في جانب، يتعلق الاختراع بتركيبة مولدة للمناعة الموصوفة هنا للاستخدام كدواء.

10 في جانب، يتعلق الاختراع بتركيبة مولدة للمناعة الموصوفة هنا للاستخدام في طريقة لحث

الاستجابة المناعية مقابل GBS في كائن. في تجسيد محدد، الكائن هو إناث تعد أن تصبح حامل أو أنثى حامل. في أحد هذه التجسيّدات، تكون الأنثى الحامل في النصف الثاني من الثلاثة شهور الثالثة من الحمل، مثل عند 20 أسبوع على الأقل أو 27 أسبوع على الأقل من الحمل. في تجسيد مفضل، تكون الإناث الحامل عند الأسبوع 27 إلى الأسبوع 36 من الحمل. في تجسيد آخر،

15 الكائن هو شخص بالغ، مثلا بالغ يبلغ من العمر 50 عام أو أكبر، 65 عام أو أكبر، و85 عام أو أكبر. في تجسيد إضافي، يكون الكائن ناقص المناعة. في أحد الجوانب، قد يكون الكائن حالة طبية منتقاة من المجموعة المتكونة من السمّة، مرض السكر، عدوى HIV، سرطان، مرض قلبي وعائي، أو مرض الكبد. في تجسيد مفضل، المكورة العقديّة من المجموعة (ب) هي العقديّة اللبنيّة.

في أحد التجسيّدات، تشتمل التركيبة المولدة للمناعة على مقارنات عديد سكاريد-بروتين

20 مشتملة على نمط مصلي IV من GBS ونمط مصلي إضافي واحد على الأقل منتقى من

المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، وIX. في تجسيد آخر، تشتمل المقارنات على النمط المصلي IV من GBS ونوعين مصليين إضافيين على الأقل منتقيان من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، V، VI، VII، VIII، وIX. في تجسيد إضافي، تشتمل المقارنات على النمط المصلي IV من GBS وثلاثة أنماط

25 مصلية إضافية على الأقل منتقاة من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III،

- IV، V، VI، VII، VIII، IX. في تجسيد آخر أيضا، تشتمل المقارنات على النمط المصلي IV من GBS وأربعة أنماط مصلية إضافية على الأقل منتقاة من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، V، VI، VII، VIII، IX. في تجسيد محدد، تشتمل المقارنات على الأنماط المصلية من GBS Ia، Ib، II، III، IV. في تجسيد إضافي، تشتمل المقارنات على النمط المصلي IV من GBS وخمسة أنماط مصلية إضافية على الأقل منتقاة من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، IX. في تجسيد إضافي، تشتمل التركيبية على النمط المصلي V من GBS. في تجسيد محدد، تشتمل المقارنات على الأنماط المصلية من GBS Ia، Ib، II، III، V. في تجسيد مفضل، تشتمل التركيبية المولدة للمناعة على ستة مقارنات عديد سكاريد - بروتين من الأنماط المصلية GBS Ia، Ib، II، III، V. يتعلق أحد جوانب الاختراع بتركيبية مولدة للمناعة لا تحتوي على تداخل مناعي.
- 10
- يمكن تحديد كمية مؤثرة أو مولدة للمناعة من التركيبية المولدة للمناعة عن طريق إجراء دراسة استجابة جرعة التي يتم فيها تحصين الكائنات بكميات متزايدة تدريجيا من التركيبية المولدة للمناعة والاستجابة المناعية التي يتم تحليلها لتحديد الجرعة المثلى. يمكن استنتاج نقاط البدء للدراسة من بيانات التحصين في نماذج حيوانية. قد تختلف كمية الجرعة اعتمادا على الحالات الخاصة للفرد. يمكن تحديد الكمية في تجارب روتينية بواسطة وسائل معروفة لهؤلاء المهرة في الفن.
- 15
- يمكن إعطاء كمية مؤثرة مناعيا من التركيبية المولدة للمناعة بعدد جرعات ملائمة إلى الكائن لإثارة الاستجابة المناعية. قد تختلف كمية الجرعة اعتمادا على الحالات الخاصة للفرد، مثلا العمر والوزن. يمكن تحديد هذه الكمية في تجارب روتينية بواسطة وسائل معروفة لهؤلاء المهرة في الفن.
- 20
- في أحد التجسيديات، يظهر المرضى الذين تم إعطائهم التركيبات المولدة للمناعة من الاختراع خفض في معدلات نقل العقدية اللبنية. يعتبر هذا الانخفاض في النقل أو الفترة الزمنية الطويلة الذي يقضيه باعتباره غير ناقل بعد إعطاء التركيبية المناعية كبير من منظور الحاجة الطبية. على سبيل المثال، يمكن تقييم الانخفاض في نقل العقدية اللبنية الكلى في النواقل بعد جرعة واحدة من التركيبية المولدة للمناعة من الاختراع. على سبيل المثال، قبل يوم واحد من إعطاء
- 25

التركيبة المولدة للمناعة، قد يتم فحص مجموعة من البالغين يبلغوا من العمر 18-50 عام للنقل عن طريق مسحات الأنف، الحلق، الأبط، الشرجي، الغشاء العجاني، والمهبل بعد الزراعة لتحديد حالة النقل الخاصة بها. تاليا، يمكن إعطاء المجموعة كمية مولدة للمناعة من الاختراع مع مجموعة تتلقى مقارن. تجرى مسحات الأنف، الحلق، الأبط، الشرجي، الغشاء العجاني، والمهبل أسبوعيا خلال فترة زمنية 12 أسبوع، وتجري شهريا حتى 6 شهور بعد إعطاء تركيبة مولدة للمناعة 5 وتقارن مع علاج وهمي. نقطة نهاية أولية واحدة هي مقارنة معدلات النقل في المرضى بعد إعطاء تركيبة مولدة للمناعة مقابل علاج وهمي عند فواصل زمنية 3 أشهر بعد التحصين.

أجسام مضادة

- إن "جسم مضاد (antibody)" هو جزيء جلوبولين مناعي (immunoglobulin) قادر على الارتباط بصفة خاصة مع هدف، مثل كربوهيدرات، عديد نيكلوتيد، ليبيد، عديد ببتيد، إلخ، 10 خلال موقع إدراك مولد ضد واحد على الأقل، موضوع في المنطقة المتغيرة من جزيء الجلوبولين المناعي. حسب الاستخدام هنا، مالم يشير خلاف ذلك في السياق، لا يشمل المصطلح على أجسام مضادة أحادية النسخ أو متعددة النسخ سليمة فقط، لكن أيضا الأجسام المضادة المعالجة هندسيا (مثلا، خيميرية (chimeric)، مكتسبة السمة البشرية (humanized) و/أو مشتقة (derivatized) لتعديل وظائف مستجيب، ثبات وأنشطة حيوية أخرى) وشدف من ذلك (مثلا 15 Fab، Fab'، F(ab')₂، Fv)، سلسلة فردية (scFv) وأجسام مضادة للمجال (بما في ذلك، مثلا، أجسام مضادة لسمة قرش وفصيلة الجمال)، وبروتينات التحام مشتملة على بروتين جسم مضاد، أجسام مضادة عديدة التكافؤ (multivalent antibodies)، أجسام مضادة متعددة الخصوصية (multispecific antibodies) (مثلا أجسام مضادة ثنائية الخصوصية طالما أنها 20 تظهر النشاط الحيوي المطلوب) وشدف جسم مضاد كما هو موصوف هنا، وأي هيئة معدلة أخرى من جزيء جلوبولين مناعي تشمل موقع إدراك مولد ضد. يتضمن الجسم المضاد جسم مضاد من أي صنف، مثل IgG، IgA، أو IgM (أو صنف فرعي من ذلك)، ولا توجد حاجة لأن يكون الجسم المضاد من أي صنف محدد. اعتمادا على ترتيب الحمض الأميني للجسم المضاد للمنطقة الثابتة لسلسله الثقيلة، يمكن تعيين الجلوبولينات المناعية إلى أصناف مختلفة. هناك خمسة 25 أصناف رئيسية من الجلوبولينات المناعية: IgA، IgD، IgE، IgG، و IgM، والعديد منها قد

يقسم إضافيا إلى أصناف فرعية (أنواع متماثلة)، على سبيل المثال، IgG1، IgG2، IgG3، IgG4، IgA1 و IgA2 في بشريين. تسمى المجالات الثابتة للسلسلة الثقيلة المقابلة للأصناف المختلفة من الجلوبيولينات المناعية alpha، delta، epsilon، gamma، و mu، على التوالي. تكون بناءات الوحدة الفرعية والهيئات ثلاثية الأبعاد للأصناف المختلفة من الجلوبيولينات المناعية معروفة جيدا. 5

تشمل فقط "شدف جسم مضاد (antibody fragments)" قسم من جسم مضاد سليم، حيث يفضل أن يحتفظ القسم بوحدة على الأقل من، ويفضل معظم أو كل، الوظائف المصاحبة طبيعيا لذلك القسم عند تواجده في الجسم المضاد السليم.

- يشير "نشاط وظيفي (Functional activity)" للجسم المضاد أو "جسم مضاد وظيفي (functional antibody)" كما هو مستخدم هنا إلى جسم مضاد الذي، كحد أدنى، يمكن أن يرتبط بصفة خاصة مع مولد ضد. الوظائف الإضافية تعرف في الفن وقد تتضمن مكونات إضافية من الجهاز المناعي الذي يؤثر على تصفية أو قتل المسبب للمرض مثل من خلال الطهاية، ADCC أو السمية الخلوية التي يتسبب فيها بصورة غير مباشرة مكمل. بعد ارتباط مولد ضد، يمكن أن تتوسط أي من وظائف الجسم المضاد اللاحقة خلال المنطقة Fc من الجسم المضاد. 10
- اختبار التهام خلوي طهائي للجسم المضاد (OPA) هو اختبار في المعمل مصمم لقياس قتل بمساعدة مكمل Ig في المعمل لبكتيريا مع خلايا مستحبيب (خلايا دم بيضاء)، بالتالي تقليد العملية الحيوية. قد يثبط أيضا ارتباط الجسم المضاد بصورة مباشرة الوظيفة الحيوية لمولد ضد الذي يرتبط. في بعض التجسيديات، يشير "جسم مضاد وظيفي (functional antibody)" إلى جسم مضاد الذي يكون وظيفي كالمقاس بواسطة قتل البكتيريا في نموذج فعالية حيوان أو اختبار قتل التهامي خلوي طهائي الذي يوضح أن الأجسام المضادة تقتل البكتيريا. 15

في أحد الجوانب، يتعلق الاختراع بجسم مضاد معزول أو شذفة من ذلك التي ترتبط بصفة خاصة مع عديد سكاريد الموصوفة هنا. يشير جسم مضاد "معزول (isolated)" حسب الاستخدام هنا إلى جسم مضاد جرى تحديده وفصله و/أو استرجاعه من مكون من بيئته الطبيعية. المكونات الملوثة من بيئتها الطبيعية هي مواد تتداخل مع الاستخدامات التشخيصية أو العلاجية للجسم المضاد، وقد تتضمن إنزيمات، هرمونات، ومذيبات بروتينية أو غير بروتينية أخرى. في تجسيديات 20

- تمثيلية، ينقى الجسم المضاد (1) إلى أكثر من 95% بالوزن من الجسم المضاد كما هو محدد بطريقة Lowry، والأكثر تفضيلاً أكثر من 99% بالوزن، (2) إلى درجة كافية للحصول على الأقل على 15 متخلف من ترتيب الحمض الأميني الداخلي أو الطرفي N باستخدام متتبع كأس تدويم، أو (3) حتى التجانس بواسطة SDS-PAGE تحت شروط اختزال أو عدم اختزال باستخدام Coomassie blue أو، يفضل، بقعة فضة. يتضمن جسم مضاد معزول الجسم المضاد في الموقع داخل خلايا تخليقية حيث لا يوجد على الأقل مكون واحد من البيئة الطبيعية للجسم المضاد. على نحو مألوف، مع هذا، سوف يحضر جسم مضاد معزول بواسطة خطوة تنقية واحدة على الأقل.
- 5
- الجسم المضاد الذي "يرتبط بصفة خاصة مع (specifically binds to)" أو "يخص (specific for)" عديد سكاريد محدد أو إبيتوب على عديد سكاريد محدد هو واحد يرتبط مع عديد سكاريد محدد أو إبيتوب على عديد سكاريد محدد بدون الارتباط إلى حد كبير مع أي من عديد السكاريد أو إبيتوب عديد السكاريد الأخرى.
- 10
- تشير الكلمة "علامة (label)" عند الاستخدام هنا إلى تركيبة أو مركب قابلة للكشف التي تتقارن بصورة مباشرة أو غير مباشرة مع الجسم المضاد لتوليد جسم مضاد "معلم". تكون العلامة قابلة للكشف بذاتها (مثلاً، علامات نظير مشع أو علامات استتيعاع) أو، في حالة العلامة الإنزيمية، قد يحفز التغيير الكيميائي من تركيبة أو مركب المادة الخاضعة الذي يكون قابل للكشف.
- 15
- يوفر الاختراع إضافياً أجسام مضادة وتركيبات جسم مضاد التي ترتبط بصفة خاصة وانتقائية مع مولد ضد واحد أو أكثر للتركيبة المولدة للمناعة من الاختراع الحالي. في بعض التجسيديات، تتولد الأجسام المضادة عند إعطاء كائن تركيبة مولدة للمناعة من الاختراع الحالي. في بعض التجسيديات، يوفر الاختراع أجسام مضادة منقاة أو معزولة موجهة مقابل واحد أو أكثر من مولدات الضد للتركيبة المولدة للمناعة للاختراع الحالي. في بعض التجسيديات، الأجسام المضادة من الاختراع الحالي هي أجسام مضادة وظيفية كالمقاسة عن طريق قتل بكتيريا في سواء نموذج فعالية حيوان أو من خلال اختبار قتل خلية ملتهمة كبيرة. في بعض التجسيديات، تمنح الأجسام المضادة من الاختراع مناعة سلبية لكائن. يوفر إضافياً الاختراع الحالي جزيئات عديد نيكلويتيد
- 20
- 25

تشفر جسم مضاد أو شذفة جسم مضاد من الاختراع، وخلية أو خط خلية (مثل خلايا ورم هجين أو خطوط خلية معالجة هندسيا أخرى لإنتاج أجسام مضادة تخليقية) وحيوان معدل وراثيا الذي ينتج جسم مضاد أو تركيبية جسم مضاد من الاختراع، باستخدام تقنيات معروفة جيدا لهؤلاء المهرة في الفن.

5 قد تستخدم الأجسام المضادة وتركيبات الجسم المضاد من الاختراع في طريقة معالجة أو منع عدوى المكورة العقدية، مرض أو حالة مصاحبة للعقدية الفاطعة للدر في كائن، تشتمل الطريقة على إنتاج مستحضر جسم مضاد عديد النسخ وأحادي النسخ، وباستخدام جسم مضاد وتركيبية جسم مضاد مذكور لمنح مناعة سلبية في الكائن. قد تكون أيضا الأجسام المضادة من الاختراع مفيدة من أجل طرق التشخيص، مثلا، الكشف عن وجود أو تحديد كميا مستويات مولد ضد واحد أو أكثر من التركيبات المولدة للمناعة من الاختراع الحالي. 10

قد تظهر استجابات الجسم المضاد لتكرار البناءات مثل عديد سكاريد من الاختراع الحالي بعض السمات الفريدة. على سبيل المثال، قد يعني تنظيم وحدات تكرار أن جزيئات مولد الضد للأوزان الجزيئية المختلفة بصورة واسعة يمكن أن ترتبط مع أجسام مضاد تخص عديد السكاريد. ثانيا، قد تكون بناءات التكرار لعديد سكاريدات طويلة أكبر قادرة على حث استجابات جسم مضاد معتمدة على خلية T. لذلك، عند استخدام عديد سكاريدات متقارنة مع حوامل بروتين لها إبيتوبات مساعدة لخلية T، يمكن إثارة كل من استجابات جسم مضاد معتمدة على خلية T وغير معتمدة على خلية T. لذلك، يمكن تعديل الاستجابة المناعية عن طريق إنتقاء ملائم لمقاس عديد السكاريد وما إذا كان يستخدم بروتين حامل أم لا. 15

أجسام مضادة عديدة النسخ

20 في تجسيديات معينة، الجسم المضاد ضد عديد السكاريد هو جسم مضاد عديد النسخ. تشير أجسام مضادة عديدة النسخ، كما هو محدد هنا، إلى خليط من أجسام مضادة لها خصوصيات مختلفة مشتقة من مستحضر مصل وناشئة من نسخ خلية B مختلفة. يكون تحضير وتمييز الأجسام المضادة عديدة النسخ معروفة في الفن.

- ترتفع الأجسام المضادة عديدة النسخ في كائن، على سبيل المثال في كائن ثديي، عن طريق إعطاء حقنة واحدة أو أكثر من مولد مناعي أو تركيبة مولدة للمناعة الموصوفة هنا، و عند الرغبة، مادة مساعدة، مثبت أس هيدروجيني، و/أو مادة مخففة. يمكن استخدام مجموعة من الأنواع الحيوانية لإنتاج أمصال مضادة خاصة. نموذجيا الحيوانات المستخدمة لإنتاج أمصال
- 5 مضادة عديدة النسخ ضد سكاريد هي رئيسيات غير بشرية، ماعز، أغنام، أرنب، فأر، جرد، هامستر أو خنزير غينيا. نموذجيا، يحقن مولد للمناعة أو تركيبة مولدة للمناعة مع أو بدون المادة المساعدة في كائن ثديي عن طريق حقنات متعددة. قد تتضمن المادة المولدة للمناعة عديد سكاريد، أوليجوسكاريد، متقارن بروتين عديد سكاريد أو عديد سكاريد الموصوفة هنا، أو مجمع كبير من مولدات المناعة. نموذجيا، بدءا من 2-6 أسابيع بعد التحصين الأول، يجمع الدم من حيوان محصن، يترك للتجلط ويحصد المصل. يحتوي المصل على أجسام مضادة وحيدة النسخ
- 10 ضد سكاريد من حيوان محصن ويشار إليه غالبا على أنه أمصال مضادة.
- أجسام مضادة أحادية النسخ

- قد يحضر جسم مضاد أحادي النسخ ضد سكاريد خلال استخدام تقنيات ورم هجين معروفة. نموذجيا، إن تحضير أجسام مضادة أحادية النسخ يتضمن تحصين أول لعائل حيوان هدف مناسب مع مولد للمناعة مختار مشتمل على عديد سكاريد، أوليجوسكاريد، متقارن بروتين عديد سكاريد أو عديد سكاريد من الاختراع الحالي. عند الرغبة، قد تتضمن مادة مساعدة، مثبت أس هيدروجيني، و/أو مواد مخففة. يجرى التحصين بطريقة كافية لإثارة خلايا ليمفاوية B لإنتاج أو إظهار أجسام مضادة ترتبط بصفة خاصة مع عديد سكاريد أو متقارن من ذلك. بطريقة بديلة، تحصن الخلايا الليمفاوية في المعمل.
- 15

- تلتحم عندئذ الخلايا الليمفاوية مع خط خلية خالدة باستخدام عامل التحام مناسب، مثل polyethylene glycol، لتشكيل خلية ورم هجين. يكون مصدر محددات الخلايا الليمفاوية سواء مع الأجسام المضادة أحادية النسخ من مصدر بشري أو حيواني. بصفة عامة، تستخدم خلايا ليمفاوية لدم طرفي (peripheral blood lymphocytes) ("PBLs") إذا كانت الأجسام المضادة والخلايا من المصدر البشري مرغوبة، وتستخدم خلايا الطحال وخلايا العقدة الليمفاوية إذا كانت المصادر الثديية غير البشرية مرغوبة.
- 20
- 25

- إن خطوط خلية خالدة هي نموذجية خلايا ثديية متحولة، بصفة خاصة خلايا ورم نخاعي لمصدر قارض، بقري وبشري. عادة، تستخدم خطوط خلية ورم نخاعي لجرد أو فأر. تزرع خلايا الورم الهجين في وسط مزرعة مناسب يفضل أن يحتوي على مادة واحدة أو أكثر تُثبِّط النمو أو البقاء على قيد الحياة لخلايا خالدة، غير ملتزمة. على سبيل المثال، إذا افتقرت الخلايا الأصلية إلى enzyme hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT) أو HPRT)، سوف يتضمن وسط المزرعة لأجل الأورام الهجينة نموذجيا hypoxanthine، aminopterin، و thymidine (وسط HAT)، التي تكون مواد تمنع نمو خلايا ناقصة HGPRT.
- 5
- تختار خطوط خلية خالدة لاعتبارات عملية مثل أنواع أصلية وخصائص نمو والتحام. على سبيل المثال، خطوط الخلية الخالدة المناسبة هي تلك التي تلتحم بدرجة كافية، تدعم إظهار مستوى عالي ثابت من الجسم المضاد عن طريق خلايا إنتاج الجسم المضاد المنتقاة، وتكون حساسة لوسط مثل وسط HAT. إن أمثلة على خطوط خلية خالدة تتضمن: خطوط ورم نخاعي فأري. خطوط خلية ورم نخاعي متغاير بشري - فأري وورم نخاعي بشري تم وصفها أيضا من أجل إنتاج أجسام مضادة أحادية النسخ بشرية.
- 10
- يفرز الجسم المضاد أحادي النسخ في وسط المزرعة عن طريق خلايا ورم هجين. يختبر عندئذ وسط المزرعة من أجل وجود أجسام مضادة أحادية النسخ التي يتم إدراكها ويربط عديد سكاريد. تحدد خصوصية ارتباط ضد عديد سكاريد من الأجسام المضادة أحادية النسخ خاصة المنتجة عن طريق خلايا ورم هجين عن طريق واحد من الإجراءات العديدة التي تكون معروفة جيدا في الفن. على سبيل المثال، قد تحدد خصوصية ارتباط جسم مضاد بواسطة ترسيب مناعي، اختبار مناعي شعاعي (radioimmunoassay) (RIA)، تبقع western، اختبار امتصاص مناعي مرتبط بإنزيم (enzyme-linked immunoabsorbent assay) (ELISA) أو رنين بلازمون سطح (مثلا Biacore). يتحدد الأبيتوب الدقيق الذي يتم إدراكه عن طريق جسم مضاد أحادي النسخ عن طريق تخطيط الإبيتوب. تعرف جيدا هذه الاختبارات والتقنيات في الفن.
- 15
- بعد تحديد خلايا ورم هجين تنتج أجسام مضادة لها الخصوصية المرغوبة، تنسخ فرعيا النسخ عن طريق الحد من التخفيف وتزرع باستخدام طرق قياسية. وسط المزرعة المناسب لهذا
- 20
- 25

الغرض يتضمن، على سبيل المثال، وسط Dulbecco's Modified Eagle's ووسط RPMI-1640. بطريقة بديلة، تنمو خلايا الورم الهجين في الجسم الحي كاستسقاء في الكائن الثديي. تعزل الأجسام المضادة أحادية النسخ المفردة عن طريق النسخ الفرعية وتنقى من وسط المزرعة أو تستسقى الموائع عن طريق إجراءات تنقية جلوبيولين مناعي تقليدي مثل، تحليل كروماتوجرافي A- Sepharose, hydroxylapatite بروتين، رحلان كهربائي هلام، ديلزة أو تحليل كروماتوجرافي لانجذابية.

بطريقة بديلة، يمكن الحصول على أجسام مضادة لها الخصوصية المرغوبة ومن الأنواع المرغوبة للمصدر خلال استخدام مكتبات عرض ملتزمة. بصورة إضافية، قد يوجد في الفن أمثلة على طرق وعوامل كاشفة سهلة الاستخدام بصورة خاصة للاستخدام في توليد وفحص مكتبة عرض جسم مضاد.

استخدامات الأجسام المضادة

في أحد الجوانب، يتعلق الاختراع باستخدام تركيبة مولدة للمناعة الموصوفة هنا لإنتاج جسم مضاد GBS و/أو شذفة جسم مضاد. قد تستخدم مقارنات بروتين عديد السكاريد الموصوفة هنا و/أو الأجسام المضادة المتولدة منها، في مجموعة من تقنيات التشخيص المناعي معروفة لهؤلاء المهرة في الفن، بما في ذلك، تقنيات متعلقة بمصفوفة مجهرية و ELISA. بصورة إضافية، قد تستخدم هذه العوامل الكاشفة لتقييم استجابات الجسم المضاد، بما في ذلك، مستويات جسم مضاد مصل، على سبيل المثال، لمقارنات عديد سكاريد مولدة للمناعة. قد تتضمن منهجيات الاختبار من الاختراع استخدام علامات مثل الاستشعاع، لمعان كيميائي، نشاط إشعاعي، علامات إنزيمية أو جزيئات صبغة، و/أو عوامل كاشفة مولدة للمناعة ثانوية من أجل الكشف المباشر أو الغير مباشر للمعقد بين مولد ضد أو جسم مضاد في عينة بيولوجية وجسم مضاد مقابل أو مولد ضد مرتبط مع الدعامة الصلبة.

قد يكون الجسم المضاد أو شذفة الجسم المضاد المنتجة مفيدة في العلاج المناعي السلبي أو للوقاية ضد عدوى المكورة العقدية.

طرق إنتاج عديد سكاريد

- في جانب آخر أيضا، يتعلق الاختراع بطريقة لإنتاج عديد السكاريدات الموصوفة هنا. تتضمن الطريقة زراعة GBS ويجمع عديد السكاريد المنتج بواسطة البكتيريا. في أحد التجسيديات، تتضمن GBS العقدية اللبنية. قد تكون البكتيريا أي سلالة من العقدية اللبنية. في تجسيد مفضل، البكتيريا هي سلالة مكبسلة من العقدية اللبنية. تتضمن سلالات العقدية اللبنية للاستخدام في
- 5 الاختراع الحالي 090، A909 (ATCC رقم وصول BAA-1138)، 515 (ATCC رقم وصول BAA-1177)، B523، CJB524، MB 4052 (ATCC رقم وصول 31574)، H36B (ATCC رقم وصول 12401)، S40، S42، MB 4053 (ATCC رقم وصول 31575)، M709، 133، 7357، PFEGBST0267، MB 4055 (ATCC رقم وصول 31576)، 18RS21 (ATCC رقم وصول BAA-1175)، S16، S20، V8 (ATCC رقم وصول 12973)، DK21، DK23، UAB، 5401، PFEGBST0708، MB 4082 (ATCC رقم وصول 31577)، M132، 110، M781 (ATCC رقم وصول BAA-22)، D136C(3) (ATCC رقم وصول 12403)، M782، S23، 120، MB 4316 (M-732؛ ATCC رقم وصول 31475)، M132، K79، COH1 (ATCC رقم وصول BAA-1176)، PFEGBST0563 (ATCC رقم وصول 49446)، CZ-NI-016، 3139، PFEGBST0961 (ATCC رقم وصول BAA-23)، CJB112، 15 2603 V/R (ATCC رقم وصول BAA-611)، NCTC 10/81، CJ11، PFEGBST0837، 118754، 114852، 114862، 114866، 118775، B 4589، 4645، SS1214، CZ-PW-119، 7271، CZ-PW-045، JM9130013، 20 قد ينتج عديد السكاريد الموصوف هنا عن طريق زراعة GBS في وسط ملائم. قد يتضمن الوسط الملائم حساء Columbia. قد يتضمن الوسط dextrose، hemin، و/أو جلوكوز. بصورة مفضلة، يتضمن الوسط حساء Columbia و dextrose. إذا تم زراعة العقدية اللبنية باستخدام حساء Columbia و dextrose، بصورة مفضلة تكون درجة حرارة المزرعة من 20 إلى 40° مئوية، بصورة مفضلة، 37° مئوية. في تجسيد مفضل، تزرع البكتيريا تحت شروط هوائية. في 25 تجسيد مفضل آخر، تزرع البكتيريا لمدة 12 إلى 60 ساعة.

- قد يجمع عديد السكاريد من المزرعة الناتجة عن طريق استخدام طريقة معروفة في الفن لتجميع المادة المستهدفة من الزراعة، على سبيل المثال، تسخين، معالجة بإنزيم، طرد مركزي، ترسيب، معالجة مع كربون منشط و/أو ترشيح. (انظر على سبيل المثال، منشور طلب براءة الاختراع الأمريكي أرقام: 2006/0228380، 2006/0228381، 2007/0184071، 2007/0184072، 2007/0231340، و2008/0102498؛ منشور طلب براءة الاختراع الدولي للطلب الدولي رقم: 2008/118752). في أحد التجسيديات، تطرد مركزيا المزرعة المحتوية على البكتيريا وعديد السكاريد وتعالج مع إنزيم، على سبيل المثال، lysozyme، RNase، DNase، Pronase، mutanolysin، واتحادات من ذلك. على سبيل المثال، في أحد التجسيديات، يضاف مذيب عضوي مناسب إلى المادة الطافية التي تم الحصول عليها إلى بروتينات المادة المترسبة، تزال المادة المترسبة بالطرد المركزي. قد يترسب عندئذ عديد السكاريد عن طريق إضافة مذيب عضوي ملائم إضافي إلى المادة الطافية، ويجمع عديد السكاريد بالطرد المركزي. بصفة خاصة أكثر، قد يتم الحصول على عديد السكاريد الموصوف هنا بإضافة ethanol عند تركيز نهائي من حوالي 25 حجم % إلى المادة الطافية التي منها تزال البكتيريا، يزال الترسيب الذي يحتوي على بروتين بالطرد المركزي، بإضافة ethanol إلى تركيز نهائي من حوالي 75 حجم % إليه، وعندئذ تجمع المادة المترسبة بالطرد المركزي. تجفف المادة المترسبة الناتجة مع النيتروجين. يعاد تعليق المادة المترسبة الناتجة في Tris و0.05% Na Azide.
- يوفر جانب إضافي من الاختراع طريقة جديدة، باستخدام عوامل كاشفة عضوية مثل مركبات hydroxyl amine مشتقة، من أجل عزل CPs لوزن جزيئي عالي سليم بصورة كبيرة مع الحفاظ على مجموعات N- و O-acetyl. بما أن هذه الطريقة لا تحلل الخلايا، تتلوث CPs المعزولة بالطرد المركزي بحد أدنى مع مكونات داخل الخلية وقد تؤدي إلى إنتاجية كلية أعلى. مع ذلك، هذه العوامل الكاشفة تشق شوائب المولد الضد من المجموعة (ب) إلى شدف صغيرة جدا بسبب وصلاتها phosphodiester المتعددة، التي يمكن أن تزال بسهولة بواسطة الترشيح الثنائي.
- في أحد التجسيديات، يعزل CP عن طريق تفاعل hydroxyl amine مع عجينة خلية مشتملة على عديد سكاريد كبسولي ينتج بكتيريا. في تجسيد خاص، تشتمل الطريقة إضافيا على خطوة طرد مركزي. في تجسيد آخر، تشتمل الطريقة إضافيا على خطوة الترشيح. في تجسيد آخر

- أيضا، ينتقى عديد السكاريد الكبسولي الذي ينتج بكتيريا من المجموعة المتكونة من العقديّة اللبنيّة
(*Streptococcus agalactiae*)، العقديّة الرئويّة (*Streptococcus pneumoniae*)،
العنقوديّة الذهبية (*Staphylococcus aureus*)، النيسرية السحائية (*Neisseria*)
(*meningitidis*)، الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)، السلمونيّة التيفيّة (*Salmonella*)
5 (*typhi*)، المستدمية النزليّة (*Haemophilus influenzae*)، الكلبسيّة الرئويّة (*Klebsiella*)
(*pneumoniae*)، التكور المعوي البرازي (*Enterococcus faecium*)، والمكورة المعوية البرازيّة
(*Enterococcus faecalis*).
- في جانب من الاختراع، قد يدرج hydroxyl amine في جدول 2 في المثال 2. في
تجسيد مفضل، ينتقى hydroxyl amine من المجموعة المتكونة من dibenzyl
10 ethylenediamine؛ hydroxylamine؛ diethyl hydroxylamine؛ hydroxylamine
؛ triethylenetetramine؛ 1,1,4,7,10,10 hexamethyl triethylene tetramine
و 2,6,10, Trimethyl 2,6,10 triazaundecane.
- في أحد جوانب الاختراع، يكون تركيز hydroxyl amine حوالي 5 مللي جزيئي جرامي
إلى حوالي 200 مللي جزيئي جرامي، مثل حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 150 مللي
15 جزيئي جرامي، حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 100 مللي جزيئي جرامي، حوالي 5 مللي
جزيئي جرامي إلى حوالي 75 مللي جزيئي جرامي، حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 50
مللي جزيئي جرامي، حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 25 مللي جزيئي جرامي، حوالي 5
مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 10 مللي جزيئي جرامي، 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 200
مللي جزيئي جرامي، مثل حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 150 مللي جزيئي جرامي،
20 حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 100 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي
جرامي إلى حوالي 75 مللي جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 50 مللي
جزيئي جرامي، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 25 مللي جزيئي جرامي، حوالي 25
مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 200 مللي جزيئي جرامي، حوالي 25 مللي جزيئي جرامي إلى
حوالي 150 مللي جزيئي جرامي، حوالي 25 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 100 مللي جزيئي
25 جرامي، حوالي 25 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 75 مللي جزيئي جرامي، حوالي 25 مللي

جزيئي جرامي إلى حوالي 50 مللي جزيء جرامي، حوالي 50 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 200 مللي جزيئي جرامي، حوالي 50 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 150 مللي جزيئي جرامي، 50 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 100 مللي جزيئي جرامي، وحوالي 50 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 75 مللي جزيئي جرامي.

5 في جانب آخر، يستبقى الأس الهيدروجيني للتفاعل عند حوالي 5.5 إلى حوالي 9.5، مثل حوالي 5.5 إلى حوالي 9، حوالي 5.5 إلى حوالي 8.5، حوالي 5.5 إلى حوالي 8، حوالي 5.5 إلى حوالي 7.5، حوالي 5.5 إلى حوالي 7، حوالي 5.5 إلى حوالي 6.5، حوالي 6 إلى حوالي 9.5، حوالي 6 إلى حوالي 9، حوالي 6 إلى حوالي 8.5، حوالي 6 إلى حوالي 8، حوالي 6 إلى حوالي 7.5، حوالي 6 إلى حوالي 7، حوالي 6.5 إلى حوالي 9.5، حوالي 6.5 إلى حوالي 8.5، حوالي 6.5 إلى حوالي 8، حوالي 6.5 إلى حوالي 7.5، حوالي 7 إلى حوالي 9.5، حوالي 7 إلى حوالي 8.5، حوالي 7 إلى حوالي 8.5، وحوالي 7 إلى حوالي 8.

في جانب إضافي من الاختراع، يحدث التفاعل عند درجة حرارة من حوالي 20° مئوية إلى حوالي 85° مئوية، مثل حوالي 20° مئوية إلى حوالي 80° مئوية، حوالي 20° مئوية إلى حوالي 85° مئوية، حوالي 20° مئوية إلى حوالي 75° مئوية، حوالي 20° مئوية إلى حوالي 70° مئوية، حوالي 20° مئوية إلى حوالي 65° مئوية، حوالي 20° مئوية إلى حوالي 60° مئوية، حوالي 20° مئوية إلى حوالي 55° مئوية، حوالي 20° مئوية إلى حوالي 50° مئوية، حوالي 25° مئوية إلى حوالي 85° مئوية، حوالي 25° مئوية إلى حوالي 80° مئوية، حوالي 25° مئوية إلى حوالي 75° مئوية، حوالي 25° مئوية إلى حوالي 70° مئوية، حوالي 25° مئوية إلى حوالي 65° مئوية، حوالي 25° مئوية إلى حوالي 60° مئوية، حوالي 25° مئوية إلى حوالي 55° مئوية، حوالي 25° مئوية إلى حوالي 50° مئوية، حوالي 30° مئوية إلى حوالي 85° مئوية، حوالي 30° مئوية إلى حوالي 80° مئوية، حوالي 30° مئوية إلى حوالي 75° مئوية، حوالي 30° مئوية إلى حوالي 70° مئوية، حوالي 30° مئوية إلى حوالي 65° مئوية، حوالي 30° مئوية إلى حوالي 60° مئوية، حوالي 30° مئوية إلى حوالي 55° مئوية، حوالي 30° مئوية إلى حوالي 50° مئوية، حوالي 35° مئوية إلى حوالي 85° مئوية، حوالي 35° مئوية إلى حوالي 80° مئوية، حوالي 35° مئوية إلى حوالي 75° مئوية، حوالي 35° مئوية إلى حوالي 70° مئوية، حوالي 35° مئوية إلى حوالي 65° مئوية، حوالي 35° مئوية إلى حوالي 60° مئوية، وحوالي 35° مئوية إلى حوالي 25

- 55° مئوية، حوالي 40° مئوية إلى حوالي 85° مئوية، حوالي 40° مئوية إلى حوالي 80° مئوية،
حوالي 40° مئوية إلى حوالي 75° مئوية، حوالي 40° مئوية إلى حوالي 70° مئوية، حوالي 40° مئوية
إلى حوالي 65° مئوية، حوالي 40° مئوية إلى حوالي 60° مئوية، حوالي 45° مئوية إلى حوالي
85° مئوية، حوالي 45° مئوية إلى حوالي 80° مئوية، حوالي 45° مئوية إلى حوالي 75° مئوية،
5 حوالي 45° مئوية إلى حوالي 70° مئوية، حوالي 45° مئوية إلى حوالي 65° مئوية، حوالي 50° مئوية
إلى حوالي 85° مئوية، حوالي 50° مئوية إلى حوالي 80° مئوية، حوالي 50° مئوية إلى حوالي
75° مئوية، حوالي 50° مئوية إلى حوالي 70° مئوية، حوالي 55° مئوية إلى حوالي 85° مئوية،
حوالي 55° مئوية إلى حوالي 80° مئوية، حوالي 55° مئوية إلى حوالي 75° مئوية، حوالي 60° مئوية
إلى حوالي 85° مئوية، وحوالي 65° مئوية إلى حوالي 85° مئوية.
- 10 في جانب آخر أيضا، يكون زمن التفاعل حوالي 10 ساعات إلى حوالي 90 ساعة، مثلا
حوالي 10 ساعات إلى حوالي 85 ساعة، حوالي 10 ساعات إلى حوالي 80 ساعة، حوالي 10
ساعات إلى حوالي 75 ساعة، حوالي 10 ساعة إلى حوالي 70 ساعة، حوالي 10 ساعة إلى
حوالي 60 ساعة، حوالي 10 ساعة إلى حوالي 50 ساعة، حوالي 10 ساعة إلى حوالي 40
ساعة، حوالي 10 ساعات إلى حوالي 30 ساعة، حوالي 10 ساعة إلى حوالي 25 ساعة، حوالي
10 ساعة إلى حوالي 20 ساعة، حوالي 10 ساعات إلى حوالي 15 ساعة، حوالي 15 ساعة إلى
حوالي 90 ساعة، حوالي 15 ساعة إلى حوالي 85 ساعة، حوالي 15 ساعة إلى حوالي 80
ساعة، حوالي 15 ساعة إلى حوالي 75 ساعة، حوالي 15 ساعة إلى حوالي 70 ساعة، حوالي
15 ساعة إلى حوالي 60 ساعة، حوالي 15 ساعة إلى حوالي 50 ساعة، حوالي 15 ساعة إلى
حوالي 40 ساعة، حوالي 15 ساعة إلى حوالي 30 ساعة، 15 ساعة إلى حوالي 20 ساعة، مثل
حوالي 20 ساعة إلى حوالي 90 ساعة، حوالي 20 ساعة إلى حوالي 85 ساعة، حوالي 20 ساعة
إلى حوالي 80 ساعة، حوالي 20 ساعة إلى حوالي 75 ساعة، حوالي 20 ساعة إلى حوالي 70
ساعة، حوالي 20 ساعة إلى حوالي 60 ساعة، حوالي 20 ساعة إلى حوالي 50 ساعة، حوالي
20 ساعة إلى حوالي 40 ساعة، حوالي 20 ساعة إلى حوالي 30 ساعة، وحوالي 20 ساعة إلى
حوالي 25 ساعة.

بطريقة بديلة، في تجسيد آخر من الاختراع، يخلق عديد السكاريد كيميائيا. قد يخلق عديد السكاريد كيميائيا طبقا لطرق تقليدية.

- 5 في تجسيد آخر أيضا من الاختراع، يحضر عديد السكاريد عن طريق الإظهار في عائل بديل بعد نسخ وإظهار مسار تخليق حيوي لإنتاج عديد السكاريد. على سبيل المثال، قد تعدل خلية عائل لإنتاج عديد سكاريد له بناء مماثل لعدد السكاريد الموصوف هنا، حيث تتطابق جزئيا وحدة تكرار عديد السكاريد المنتج في خلية العائل مع وحدة تكرار عديد السكاريد الموصوف هنا. يتمثل عديد السكاريد بنائيا مع عديد السكاريد الموصوف هنا، إذا كانت، على سبيل المثال، وحدة التكرار لعدد السكاريد لها فرع مفقود، يكون متغاير في المقاس و/أو متغاير في ترتيب المتفرع، كالمقارنة مع وحدة تكرار عديد السكاريد الموصوف هنا. بصورة مفضلة، خلية العائل هي خلية عائل بكتيريا.
- 10 الأمثلة

- تظهر الأمثلة التالية بعض تجسيديات الاختراع الحالي. مع ذلك، من المفهوم أن هذه الأمثلة للتوضيح فقط وليس من المفترض أن تكون نهائية تماما بالنسبة لشروط ونطاق هذا الاختراع. من المتوقع أنه عندما يتم تحديد شروط التفاعل النموذجية (مثلا، درجة الحرارة، زمن التفاعل، إلخ) يمكن استخدام أيضا الشروط لكل من النطاقات الخاصة المذكورة أعلاه وأدناه، على الرغم من أنها أقل ملائمة. جميع الأجزاء والنسب المئوية المشار إليها إلى هنا هي على أساس الوزن ويتم التعبير عن جميع درجات الحرارة بالدرجات المئوية ما لم ينص على خلاف ذلك.
- 15 علاوة على ذلك، تجرى الأمثلة التالية باستخدام التقنيات القياسية، التي تكون معروفة جيدا وروتينية لهؤلاء المهرة في الفن، فيما عدا الحالات التي يرد وصفها بخلاف ذلك بالتفصيل. كما هو محدد أعلاه، تتمثل الأمثلة التالية لأغراض توضيحية، ولا ينبغي تفسيرها بأي طريقة تحد من نطاق هذا الاختراع.
- 20

مثال 1: تحضير مقارنات عديد سكاريد - بروتين مع عديد سكاريدات De-O-Acetylated

تخمر سلالات العقدية اللبنية للأنماط المصلية الخاصة في مزرعة مطمورة مع مقارن أس هيدروجيني في وسط محدد. تتحسن الإجراءات والأوساط خلال التجريب وامتدادات التقنيات الأساسية الموصوفة سابقا في

von Hunolstein, C. et al., Appl. Micro. Biotech. 38(4):458-462 (1993).

يزال عديد السكاريد الكبسولي من الخلايا عن طريق معالجة NaOH. بعد التوضيح، توفر سلسلة من خطوات ترشيح كربون، الترسيب، و UF/DF عديد السكاريد المنقى. انظر مثلاً، براءة الاختراع الأمريكية رقم: 8652480. تستخدم الكيمياء الأمينة المختزلة لتقارن عديد السكاريد المنشط مع CRM197. انظر، مثلاً براءة الاختراع الأمريكية رقم: 5360897. 5

مثال 2: عزل عديد سكاريدات O-Acetylated

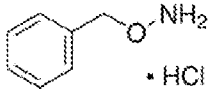
يعاد تعليق عجينة الخلية من نمط مصلي la عديد سكاريد كبسولي (CP) GBS الناتج بعد القتل بالحرارة وطردها حساء التخمر مركزيا (1.2 لتر) في 175 مليلتر من 25 مثبت أس هيدروجيني فوسفات بوتاسيوم 25 مللي جزئي جرامي (25 مللي جزئي جرامي، أس هيدروجيني 6.9). يخلط المعلق مع محلول hydroxyl amine O-sulfonic acid مائي بتركيز نهائي 10 مللي جزئي جرامي. يتم تحديد الأس الهيدروجيني للمعلق ليصبح حوالي 5.8. يقلب المعلق عند 55° مئوية لمدة 72 ساعة. فيما بعد، يطرد المعلق مركزيا عند حوالي 10000 دورة في الدقيقة وتجمع المادة المعلقة. تتحلل المادة المعلقة المحتوية على CPs المنشقة الخام له الوزن الجزيئي والإنتاجية. يخضع القسم المتبقي للتنقية بواسطة ترشيح ثنائي باستخدام 30 كيلودالتون من غشاء MWCO باستخدام ماء للحقن (WFI). يتحلل إضافيا عديد السكاريد المنقى للوزن الجزيئي عن طريق تحليل كروماتوجرافي باستثناء المقاس متحد مع كاشف تبعثر ضوء متعدد الزوايا (multiangle light scattering detector) (SEC-MALS) (جدول 1).

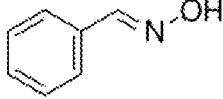
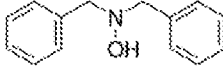
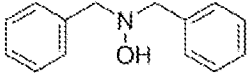
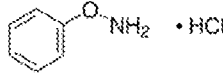
جدول 1. تنقية نمط مصلي la من GBS عن طريق الترشيح

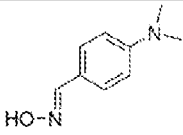
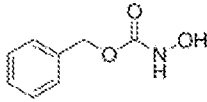
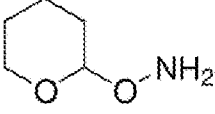
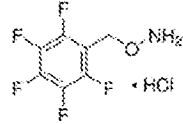
العينة	الوزن الجزيئي (كيلودالتون)	تشتيت متعدد (Poly (PD) Dispersity)
خام	340	1.2
عديد سكاريد منقى	320	1.3

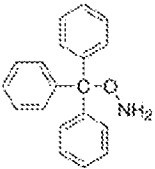
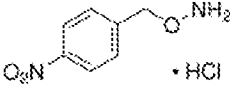
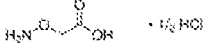
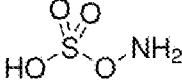
تفحص hydroxyl amines عديدة، كل من مركبات مستبدلة مع أكسجين ونيتروجين من أجل نشاطها باستخدام الطريقة الموصوفة أعلاه. تحسب الإنتاجية بواسطة تحليل كروماتوجرافي نفاذية هلام متحد مع كشف تبعثر ضوء متعدد الزوايا (GPC-MALS) للمواد الطافية الخام باستخدام استجابة معامل الانكسار (RI) ومربع قيمة زيادة معامل الانكسار المحدد (dn/dc) بمقدار 0.135. تعتمد الإنتاجية على نوع من hydroxyl amines وتحسين الشروط مثلاً التركيز، درجة الحرارة وزمن التفاعل (انظر جدول 2). بصفة عامة، تركيز hydroxyl amine المتزايد، درجة الحرارة الأعلى وزمن التفاعل الأطول يؤدي إلى الإنتاجية الأعلى.

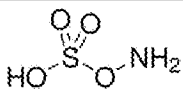
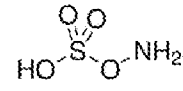
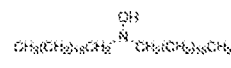
جدول 2. فحص hydroxyl amines متنوعة وتحسين شروط نمط مصلي la عديد سكاريد كبسولي GBS

مثال رقم	عامل كاشف	تركيز (ملي جزيئي جرامي)	درجة الحرارة (° مئوية)	الزمن (بالساعة)	التخمير الإنتاجية (لتر/1/1)	الوزن الجزيئي لعدد سكاريد (كيلودالتون)	تشيتيت متعدد (PD)
1	 benzylhydroxylamine hydrochloride	10	55	72	42	2240	1.2

1.2	1400	68	72	55	10	 Benzaldehyde oxime	2
1.3	980	101	72	55	10	 N,N- dibenzylhydroxyl amine	3
1.3	590	320	17	55	50	 N,N- dibenzylhydroxyl amine	4
1.3	850	109	72	55	10	 O- phenylhydroxyla mine hydrochloride	5

1.2	1400	90	72	55	10	 4- (dimethylamino) benzaldehyde oxime	6
1.5	1835	323	84	55	10	 Benzyl hydroxylcarbam ate	7
1.4	1270	304	84	55	10	 O-(tetrahydro- 2H-pyran-2- yl)hydroxylamin e	8
1.6	1330	185	84	55	10	 O- ((perfluoropheny l)methyl)hydroxy lamine	9

1.7	1275	371	84	55	10	 O- tritylhydroxylami ne	10
1.3	3500	190	84	55	10	 O-(4- nitrobenzyl) hydroxylamine hydrochloride	11
1.2	2600	252	84	55	10	 2- (aminooxy)aceti c acid hydrochloride	12
1.4	490	463	84	55	10	 (aminooxy)sulfo nic acid	13

1.2	270	460	17	55	50	 (aminooxy)sulfo nic acid	14
1.2	500	240	21	23	100	 (aminooxy)sulfo nic acid	15
1.7	4700	380	84	55	10	 N,N- dioctadecylhydr oxylamine	16

وجد أن hydroxyl amines مستبدلة وغير مستبدلة فعالة جدا في إطلاق عديد سكاريد

كبسولي GBS من جدار الخلية. هذه الطريقة تؤدي إلى عزل CPS لها وزن جزيئي عالي مع

حفظ مجموعات O- acetyl و N- acetyl. من بين المركبات العديدة المفحوصة، وجد أن

dibenzyl hydroxyl amine يكون أكثر فعالية. تظهر البيانات في جدول 3 (dibenzyl)

5 [dibenzyl hydroxylamine] 50 - مللي جزيئي جرامي؛ أس هيدروجيني - 7-8؛ درجة الحرارة

50° مئوية؛ الزمن - 42 ساعة).

جدول 3. بيانات إطلاق GBS CPs باستخدام dibenzyl hydroxylamine

نوع GBS	la	lb	III
إنتاجية إطلاق عديد سكاريد	%86	%81	%46
إنتاجية تنقية كلية	%63	%54	%30

الوزن الجزيئي (Mw)	330 كيلودالتون	212 كيلودالتون	171 كيلودالتون
O-acetylation (NMR)	NA	%31	%37
N-acetylation (NMR)	%106	%104	%87

NA - يكون النمط المصلي la غير O-acetylated

بما أن dibenzyl hydroxyl amine له قابلية ذوبان ضئيلة في الماء، يكون المشتق البديل من hydroxyl amine الذي يكون قابل للذوبان في الماء بشكل حر وله نشاط مماثل أو أعلى من dibenzyl hydroxylamine. بعد فحص المكونات القليلة، وجد أن diethyl hydroxyl amine بديلا جيدا. تظهر البيانات في جدول 4 [dibenzyl hydroxylamine] - 5 100 مللي جزيئي جرامي؛ أس هيدروجيني - 7-8؛ درجة الحرارة -60° مئوية؛ الزمن - 19 ساعة).

جدول 4. بيانات إطلاق GBS CPs باستخدام dibenzyl hydroxylamine

نوع GBS	la	lb	III
إنتاجية إطلاق عديد سكاريد %	100	94	59
الوزن الجزيئي (Mw)	890 كيلودالتون	560 كيلودالتون	309 كيلودالتون

وجد أيضا أن Hydroxyl amine (NH₂-OH) فعالة في انشقاق CPS من جدار

الخلية. تظهر البيانات في جدول 5 [dibenzyl hydroxylamine] - 100 مللي جزيئي جرامي؛ أس هيدروجيني - 7-7.5؛ درجة الحرارة -65° مئوية؛ الزمن - 17 ساعة). بالنسبة للنمط المصلي III، الإنتاجية هي 54% بعد 17 ساعة؛ مع ذلك، تزداد الإنتاجية حتى 70% بعد ثلاثة أيام ونصف.

جدول 5. بيانات إطلاق GBS CPs باستخدام hydroxylamine

نوع GBS	la	III
إنتاجية إطلاق عديد سكاريد %	100	54
الوزن الجزيئي (Mw)	1160 كيلودالتون	500 كيلودالتون

فحص Oligoamines من أجل إطلاق عديد سكاريد كبسولي GBS من الخلايا

وجد أن Hydroxyl amine ومركبته المستبدلة فعال جدا لانشقاق عديد سكاريدات كبسولية من جدار الخلية GBS. مع ذلك، وجد أنها أقل فعالية للأنماط المصلية II و V. بالتالي، تختبر oligoamines بسبب الاعتقاد بأنها يمكن أن تكون أكثر نشاطا بسبب وظيفية amine المتعددة. 5

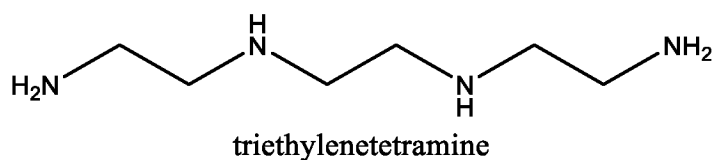
وجد أن Ethylene diamine فعال في إطلاق عديد سكاريدات كبسولية من جميع الأنماط المصلية. تظهر البيانات في جدول 6 [ethylenediamine] - 50 أو 100 مللي جزيئي جرامي؛ أس هيدروجيني 8؛ الزمن 16 ساعة؛ درجة الحرارة 80° مئوية؛ 25 مللي جزيئي جرامي (EDTA).

جدول 6: بيانات إطلاق GBS CPs باستخدام Ethylenediamine 10

نمط مصلي GBS	استعادة (%)	وزن جزيئي (كيلودالتون)
la	96%	242
lb	83%	225
II	30%	76
III	68%	94
V	30%	235

تختبر oligoamines تمثيلية أخرى من أجل نشاطها باستخدام عجناات خلية للأنماط المصلية la و V ولكن وجد أيضا أنها أقل كفاءة للنمط المصلي V. تظهر البيانات في جدول 7 ([triethylenetetramine] - 100 مللي جزيئي جرامي؛ أس هيدروجيني - 8.9؛ درجة الحرارة - 60° مئوية؛ الزمن - 15 ساعة)، 8 (1,1,4,7,10,10 hexamethyl triethylene) [tetramine] - 10 مللي جزيئي جرامي؛ أس هيدروجيني - 6.3؛ درجة الحرارة - 60° مئوية؛ الزمن - 20 ساعة)، و 9 [2,6,10,Trimethyl 2,6,10 triazaundecane] - 10 مللي جزيئي جرامي؛ أس هيدروجيني - 7-8؛ درجة الحرارة - 60° مئوية؛ الزمن - 19 ساعة).

جدول 7. بيانات إطلاق GBS CPs باستخدام Triethylenetetramine



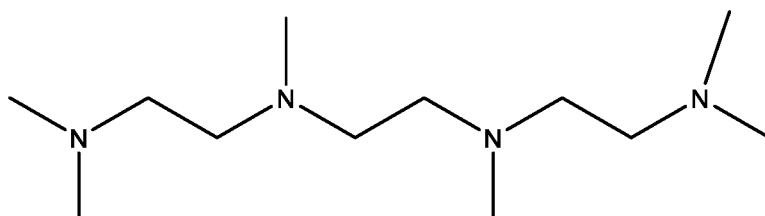
نوع GBS	la	V
إنتاجية إطلاق عديد سكاريد %	100	حوالي 10 بعد 2.5 يوم
الوزن الجزيئي (Mw)	1280	nd

nd - غير محدد

10

جدول 8. بيانات إطلاق GBS CPs باستخدام 1,1,4,7,10,10 Hexamethyl

Triethylene Tetramine



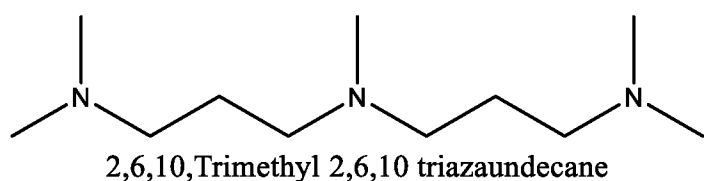
1,1,4,7,10,10 hexamethyl triethylene tetramine

نوع GBS	la	V
إنتاجية إطلاق عديد سكاريد %	100	حوالي 1 %
الوزن الجزيئي (Mw)	980	nd

nd - غير محدد

جدول 9. بيانات إطلاق GBS CPs باستخدام 2,6,10,Trimethyl 2,6,10

Triazaundecane



نوع GBS	la	V
إنتاجية إطلاق عديد سكاريد %	100	حوالي 1 %
الوزن الجزيئي (Mw)	1100	nd

nd - غير محدد

5

مثال 3. تقارن عديد سكاريدات كبسولية GBS عن طريق أمينة اختزالية

تنشيط عديد سكاريد

تجرى أكسدة عديد سكاريد في مثبت أس هيدروجيني فوسفات بوتاسيوم 100 مللي جزيئي جرامي (أس هيدروجيني 0.5 ± 6) عن طريق إضافة متتالية من كمية محسوبة من مثبت أس هيدروجيني فوسفات بوتاسيوم 500 مللي جزيئي جرامي (أس هيدروجيني 6) وماء من أجل الحقن (WFI) لإعطاء تركيز عديد سكاريد النهائي بمقدار 2 جم/لتر. عند الرغبة، يضبط الأس الهيدروجيني للتفاعل إلى أس هيدروجيني 6، تقريبا. بعد ضبط الأس الهيدروجيني، تضبط درجة حرارة التفاعل إلى 23°C مئوية. تبدأ الأكسدة بإضافة تقريبا 0.25 جزيئي جرامي مكافئ من sodium periodate. يجرى تفاعل الأكسدة عند $5 \pm 3^\circ\text{C}$ مئوية خلال 16 ساعة، تقريبا.

10

يجرى التركيز والترشيح الثنائي من عديد سكاريد المنشط باستخدام كاسيتات فائقة الترشيح 5K MWCO. يجرى الترشيح الثنائي مقابل حجم ثنائي 20 ضعف من WFI. يخزن بعدئذ عديد السكاريد المنشط المنقى عند $5 \pm 3^\circ\text{C}$ مئوية. يتميز السكاريد المنشط المنقى، ضمن غيره، بأن له (1) تركيز سكاريد بواسطة اختبار مقياس لون؛ (2) تركيز aldehyde بواسطة اختبار مقياس لون؛ (3) درجة أكسدة، و (4) وزن جزيئي بواسطة SEC-MALLS.

يتم تحديد درجة أكسدة (DO = جزيئات جرامية من وحدة تكرار سكر / جزيئات جرامية من aldehyde) عديد السكاريد المنشط كما يلي:

تحدد جزيئات جرامية لوحدة تكرار سكر عن طريق طرق مقياس لون متنوعة، على سبيل المثال، باستخدام طريقة Anthrone. بالنسبة لطريقة Anthrone، يتكسر أولاً عديد السكاريد إلى أحادي السكاريدات عن طريق تأثير sulfuric acid والحرارة. يتفاعل العامل الكاشف Anthrone مع hexoses لتشكيل معقد ملون أخضر - أصفر الذي يقرأ الامتصاص بواسطة مقياس طيف ضوئي عند 625 نانومتر. ضمن نطاق الاختبار، يتناسب الامتصاص بصورة مباشرة مع كمية hexose الحالية.

تحدد أيضاً جزيئات aldehyde الجرامية بصورة متزامنة، باستخدام طريقة مقياس لون MBTH. يشتمل اختبار MBTH تشكيل مركب azine عن طريق تفاعل مجموعات aldehyde (من العينة المحددة) مع 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazine (عامل كاشف للاختبار MBTH). يتأكسد 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazine الفائض من أجل تشكيل كاتيون متفاعل. يتفاعل الكاتيون المتفاعل و azine لتشكيل حامل لون أزرق. يقرأ بعدئذ حامل اللون المتشكل بواسطة مقياس طيف ضوئي عند 650 نانومتر.

يركب عديد سكاريد منشط مع مادة مسوغة sucrose، والتجفيد

يركب عديد السكاريد المنشط مع sucrose إلى نسبة 25 جم من sucrose لكل جرام من عديد سكاريد منشط. تجفد بعدئذ زجاجة الخليط المركب. بعد التجفيد، تخزن الزجاجات المحتوية على عديد السكاريد المنشط المجفد عند $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ مئوية. تجمد مغلفا الكمية المحسوبة من بروتين CRM197 وتجفد بصورة منفصلة. يخزن CRM197 المجفد عند $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ مئوية.

إعادة تشكيل عديد السكاريد المنشط المجفد وبروتين الحامل

يعاد تشكيل عديد السكاريد المنشط المجفد في dimethyl sulfoxide (DMSO) لامائي. عند اكتمال انحلال عديد السكاريد، تضاف كمية متساوية من DMSO لامائي إلى CRM197 المجفد من أجل إعادة التشكيل.

5 التقارن والتغطية

يتحد عديد السكاريد المنشط المعاد تشكيله مع CRM197 المعاد تشكيله في وعاء التفاعل، يليه الخلط بصورة كاملة للحصول على محلول صاف قبل بدء التقارن مع sodium cyanoborohydride. يكون تركيز عديد السكاريد النهائي في محلول التفاعل هو تقريبا 1 جم/لتر. يبدأ التقارن بإضافة 1-1.5 جزيئي جرامي مكافئ من sodium cyanoborohydride إلى خليط التفاعل ويحضر عند $23 \pm 2^\circ$ مئوية لمدة 20-48 ساعة. يتم الانتهاء من تفاعل التقارن عن طريق إضافة 2 جزيئي جرامي مكافئ من sodium borohydride (NaBH_4) لتغطية aldehydes غير المتفاعلة. يتم الحفاظ على تفاعل التغطية هذا عند $23 \pm 2^\circ$ مئوية لمدة ساعة واحدة.

تنقية المتقارن

15 يخفف المحلول المتقارن بنسبة 10:1 مع محلول ملحي 0.9% succinate 5 مللي جزيئي جرامي مبرد (أس هيدروجيني 6) في التحضير من أجل التنقية بواسطة ترشيح تدفق مماسي باستخدام أغشية 100-300K MWCO.

يمر المحلول المتقارن المخفف خلال مرشح 5 ميكرومتر، ويجرى الترشيح الثنائي باستخدام محلول ملحي 0.9% succinate 5 مللي جزيئي جرامي (أس هيدروجيني 6) كالوسط. بعد اكتمال الترشيح الثنائي، تنقل المادة المتبقية المتقارنة خلال مرشح 0.22 ميكرومتر. يخفف المتقارن إضافيا مع محلول ملحي 0.9% succinate 5 مللي جزيئي جرامي (أس هيدروجيني 6)، لتركيز سكاريد المستهدف تقريبا 0.5 مجم/مليلتر. بطريقة بديلة، ينقى المتقارن باستخدام محلول ملحي 0.9% Histidine 20 مللي جزيئي جرامي (أس هيدروجيني 6.5) بواسطة ترشيح

تدفق مماسي باستخدام أغشية 100-300K MWCO. تكتمل خطوة الترشيح النهائية 0.22 ميكرومتر للحصول على متقارن مولد للمناعة.

مثال 4: تأثيرات شروط تقارن مختلفة على مقارنات CRM197 - عديد سكاريد GBS

تتولد مقارنات للأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV و V من GBS عن طريق تنوع

- 5 شروط كيميائية أمينة اختزالية/أكسدة (periodate oxidation/reductive periodate amination chemistry) (PO/RAC) بصورة مقصودة، بما في ذلك، المذيب لأجل العامل الكاشف (وسط مائي مقابل DMSO)، مستويات مختلفة من sialic acid في عديد السكاريد الأولي، ودرجة تعديل إبيتوب سكاريد/أكسدة. بصفة عامة، وجد أن المقارنات المنتجة باستخدام DMSO كالمذيب لها مستويات أقل من عديد السكاريد (الحر) غير المتفاعل، وزن جزيئي لمقارن أعلى، ونسب بروتين/سكاريد أعلى من المقارنات المنتجة باستخدام وسط مائي.
- 10

تعتبر عملية التقارن التي تنتج مقارنات مع مستويات أقل من عديد السكاريد (الحر) غير المتفاعل مميزة ومفضلة. من المعروف أن مستويات عديد السكاريد (الحر) غير المتفاعل العالية قد تسبب استجابة مناعية غير معتمدة على خلية T زائدة، التي لديها القدرة على تخفيف استجابة معتمدة على خلية T المتولدة عن طريق مقارن عديد السكاريد - البروتين، وبالتالي خفض الاستجابة المولدة للمناعة المتولدة عن طريق المقارن.

15

يجرى نزوع sialyl بصورة كيميائية لعديد سكاريدات GBS منتقاة بواسطة طرق معروفة في الفن (انظر (Chaffin, D.O, et al., J Bacteriol 187(13):4615-4626 (2005) لتوليد أشكال متبانية لمقارن لتحديد تأثير % نزوع sialyl على التولد المناعي. تكون عملية نزوع sialyl أكبر من حوالي 40% (أي، مستويات sialic acid أقل من حوالي 60%) لها تأثير سالب على التولد المناعي.

20

بالتماثل مع معظم الحالات، درجة الأكسدة أقل من حوالي 5، أو تعديل إبيتوب سكاريد أكبر من حوالي 20%، لها تأثير سلبي على التولد المناعي. بما أن الأكسدة تحدث خلال sialic acid على عديد السكاريد الكبسولي، يبدو أن النتائج تشير إلى أن تعديل إبيتوب سكاريد أكبر من حوالي 20% يقلل من محتوى حمض sialic، مما يؤدي إلى تولد مناعي منخفض.

بالعكس، تنتج مقارنات لها مجموعة متنوعة من نسب بروتين/ سكاريد أو وزن جزيئي لعديد سكاريد استجابة مولدة للمناعة في فئران، مما يشير إلى نطاق عريض نسبيا من معايير القبول بالنسبة إلى هذه الخواص.

تتولد أيضا أشكال متباينة لمقارن إضافية باستخدام طرق كيميائية بديلة. تتضمن أحد

- 5 الكيمياء البديلة توليد مقارنات عن طريق تفاعل عديد السكاريد مع carbonylditriazole (CDT)، وإجراء تفاعل تقارن في DMSO. في كيمياء بديلة أخرى، تتولد المقارنات عن طريق أكسدة عديد السكاريد باستخدام عامل كاشف TEMPO [(2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-yl)oxyl] (بدلا من sodium periodate) يليه الاقتران باستخدام كيمياء أمينة اختزالية (TEMPO/RAC) في DMSO، كما هو مذكور بالتفصيل في مثال 3 أعلاه. تظهر جميع المقارنات المتولدة بواسطة الكيمياء البديلة هذه لتكون مولدة للمناعة في فئران، مما يشير إلى مدى ملائمة طرق الكيمياء البديلة إلى جانب PO/RAC. مع ذلك، بعض من كيمياء التقارن تجرى بصورة أفضل مع بعض الأنماط المصلية من غيرها.

يتم إجراء OPAs طبقا إلى Nanra, J.S., et al., Hum. Vaccin.

- (2013) 9(3):480-487, Immunother., مع استبدال مواد عزل لمكورة عقدية من المجموعة (ب) لأجل مواد عزل للمكورة العنقودية الذهبية وتجاوز خطوة الطهائية المسبقة. بعد ثلاث جرعات (Post dose three) (PD3) يتم توفير عيارات من OPA كمتوسط هندسي من مجموعة من 10-20 فأر محصنة مع 1 ميكروجرام/ مليلتر في كل جرعة للمقارن الخاص.

مقارنات CRM197 - عديد سكاريد للنمط المصلي la من GBS

- 20 تظهر المقارنات المتولدة باستخدام PO/RAC وعديد سكاريدات منشطة لها DO من 17-16 (تقريبا 6% تعديل إبيتوب سكاريد) لتكون مولدة للمناعة (مقارنات 1 و 3). مع ذلك، يكون لاستخدام عديد سكاريدات منشطة لها DO من 5.4 (تقريبا 19% تعديل إبيتوب سكاريد) تأثير سلبي على التولد المناعي (مقارن 2). بالتماثل، لا ينتج مستوى sialic acid 50% تقريبا أي استجابة مولدة للمناعة (مقارن 4). تظهر النتائج في جدول 10.

جدول 10. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة Periodate على

مقارنات CRM197 نمط مصلي la من GBS

المتقارن	1	2	3	4
المذيب	DMSO	DMSO	مائي	DMSO
الوزن الجزيئي لعدد سكاريد (كيلودالتون)	190	190	190	190
% Sialic Acid في عدد سكاريد أولي	95<	95<	95<	50
% تعديل	6	19	6	6
درجة الأكسدة (DO)	16.8	5.4	16.2	16.4
نسبة سكاريد/بروتين	0.8	0.8	2	1.1
% سكاريد حر	5>	5>	26	5>
الوزن الجزيئي لمقارن بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون	6040	15390	806	3763
عيار OPA	300	172	406	68

تتولد أشكال متباينة لمقارن إضافية باستخدام كيمياء تقارن بديلة وخواص جزيئية لمقارن

(تظهر النتائج في جدول 11). يتولد المقارن 5 عن طريق تفاعل عدد السكاريد مع

5 carbonylditriazole (CDT)، ويجرى تفاعل التقارن في DMSO. يتولد المقارن 6 بواسطة

أكسدة عدد السكاريد باستخدام عامل كاشف TEMPO (بدلاً من sodium periodate) يليه

التقارن باستخدام كيمياء أمينة اختزالية في DMSO، كما هو مذكور بالتفصيل في مثال 3 أعلاه.

يتولد المقارن 7 بواسطة PO/RAC وتنوع مقصود لمعايير التقارن لإنتاج مقارن مع نسبة

بروتين/سكاريد (saccharide/protein ratio) (SPR) عالية. يتولد المتقارن 8 بواسطة PO/RAC باستخدام عديد سكاريد له وزن جزيئي منخفض (40 كيلودالتون). تظهر جميع هذه المقارنات لتكون مولدة للمناعة في فأر، مما يشير إلى كيمياء مدى ملائمة تقارن بديلة، بجانب كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة periodate، بالإضافة إلى خواص مقارن بديلة، مثلاً SPR ووزن جزيئي منخفض من عديد السكاريد الأولي. 5

جدول 11. تأثير شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة Periodate وخيارات كيمياء بديلة على مقارنات CRM197 نمط مصلي la من GBS

مقارن	5	6	7	8
كيمياء التقارن	CDT	TEMPO/RAC	PO/RAC	PO/RAC
الوزن الجزيئي لعدد سكاريد (كيلودالتون)	383	220	383	40
% Sialic Acid في عديد سكاريد أولي	95<	95<	95<	95<
% تعديل	غير متاح	11	6	8
درجة الأكسدة (DO)	غير متاح	9.2	17.5	12
نسبة سكاريد/بروتين	1.2	0.9	2.5	1
% سكاريد حر	12.5	11.2	13.3	24.3
الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون	7128	1678	4347	2000
عيار OPA	1028	371	303	1484

مقارنات CRM197 - عديد سكاريد للنمط المصلي lb من GBS

- تظهر المقارنات المتولدة باستخدام PO/RAC وعديد سكاريدات منشطة لها DO بمقدار 15.8 (تقريباً 6% تعديل إبيتوب سكاريد) في DMSO لتكون مولدة للمناعة في فأر (مقارن 9 و11). تكون المقارنات المتولدة بواسطة PO/RAC في DMSO مولدة للمناعة أكثر بدرجة طفيفة من المقارن المقارن المتولد بواسطة PO/RAC في الوسط المائي عندما تكون كل الخواص الجزيئية للمقارن الأخرى مماثلة (مقارنات 9 و11، على التوالي). مع ذلك، يكون لاستخدام عديد سكاريدات منشطة لها DO من 4.7 (تقريباً 21% تعديل إبيتوب سكاريد) تأثير سلبي على التولد المناعي (مقارن 10). يتم إلغاء التولد المناعي بالكامل تقريباً، مع عدد قليل جداً من المستجيبين، في المقارن المتولد باستخدام PO/RAC و95% عديد سكاريد (5% مستوى sialic acid منزوع sialyl (مقارن 12)). تظهر النتائج في جدول 12.

جدول 12. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة Periodate على

مقارنات CRM197 نمط مصلي lb من GBS

المقارن	9	10	11	12
المذيب	DMSO	DMSO	مائي	DMSO
الوزن الجزيئي لعديد سكاريد (كيلودالتون)	120	120	120	120
% Sialic Acid في عديد سكاريد أولي	95<	95<	95<	5
% تعديل	6	21	6	9
درجة الأكسدة (DO)	15.8	4.7	15.8	11.7
نسبة سكاريد/ بروتين	1.1	1	2	1.1

7	33	5>	11	% سكاريد حر
8418	381	7302	2608	الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون
62	278	159	417	عيار OPA

تتولد أشكال متباينة لمقارن إضافية باستخدام كيمياء تقارن بديلة وخواص جزيئية لمقارن

(تظهر النتائج في جدول 13). يتولد المقارن 13 عن طريق PO/RAC باستخدام عديد سكاريد

له sialylation منخفض (65%) في عديد السكاريد الأولي. يتولد المقارن 14 بواسطة

PO/RAC وتنوع مقصود لمعايير التقارن لإنتاج مقارن مع نسبة بروتين/ سكاريد

5 (saccharide/protein ratio) (SPR) عالية. يتولد المقارن 15 بواسطة تفاعل عديد السكاريد

مع carbonylditriazole (CDT)، ويجرى تفاعل التقارن في DMSO. يتولد المقارن 16

بواسطة أكسدة عديد السكاريد باستخدام عامل كاشف TEMPO (بدلاً من sodium periodate)

يليه التقارن باستخدام كيمياء أمينة اختزالية في DMSO، كما هو مذكور بالتفصيل في مثال 3

أعلاه. تظهر جميع هذه المقارنات لتكون مولدة للمناعة في فأر، مما يشير إلى كيمياء مدى

10 ملائمة تقارن بديلة، بجانب كيمياء أمينة اختزالية/ أكسدة periodate، بالإضافة إلى خواص

تقارن بديلة، مثلاً SPR ووزن جزيئي منخفض من عديد السكاريد الأولي.

جدول 13. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/ أكسدة Periodate وخيارات

كيمياء بديلة لمقارنات CRM197 نمط مصلي lb من GBS

16	15	14	13	المقارن
TEMPO/RAC	CDT	PO/RAC	PO/RAC	كيمياء التقارن
150	141	141	141	الوزن الجزيئي لعدد سكاريد (كيلودالتون)

95<	95<	95<	65	% Sialic Acid في عديد سكاريد أولي
13	غير متاح	7	8	% تعديل
7.8	غير متاح	14.7	12	درجة الأكسدة (DO)
0.85	1.29	2.1	1.06	نسبة سكاريد/ بروتين
7	21	%16	%5>	% سكاريد حر
1400	2760	1594	5345	الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون
548	287	118	246	عيار OPA

مقارنات CRM197 - عديد سكاريد للنمط المصلي II من GBS

تظهر المقارنات المتولدة باستخدام PO/RAC وعديد سكاريدات منشطة لها DO من 4-15 (تقريباً 7-23% تعديل إبيتوب سكاريد) لتكون مولدة للمناعة في فأر (مقارنات 17-20). يظهر أيضاً المقارن المتولد باستخدام PO/RAC وعديد سكاريد مع 74% مستوى sialylation 5 (26% منزوع sialyl) ليكون مولد للمناعة (مقارن 20). تظهر النتائج في جدول 14.

جدول 14. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة Periodate على

مقارنات CRM197 نمط مصلي II من GBS

20	19	18	17	المقارن
DMSO	مائي	DMSO	DMSO	المذيب
109	109	95	95	الوزن الجزيئي لعديد سكاريد (كيلودالتون)

74	95<	95<	95<	% Sialic Acid في عديد سكاريد أولي
7	10	23	8	% تعديل
15.2	9.8	4.3	12.6	درجة الأكسدة (DO)
0.63	1.13	0.9	0.84	نسبة سكاريد/ بروتين
5>	6	5>	16	% سكاريد حر
6140	1611	4650	3600	الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون
684	2149	967	610	عيار OPA

تتولد أشكال متباينة لمقارن إضافية باستخدام كيمياء تقارن بديلة وخواص جزيئية لمقارن

(تظهر النتائج في جدول 15). يتولد المقارن 21 و 22 عن طريق PO/RAC وتنوع مقصود لمعايير التقارن لإنتاج مقارنات مع نسبة بروتين/ سكاريد (SPR) عالية ومنخفضة، على التوالي. يتولد المقارن 23 بواسطة أكسدة عديد السكاريد باستخدام عامل كاشف TEMPO (بدلاً من sodium periodate) يليه التقارن باستخدام كيمياء أمينة اختزالية في DMSO، كما هو مذكور 5 بالتفصيل في مثال 3 أعلاه. يتولد المقارن 24 بواسطة تفاعل عديد السكاريد مع carbonylditriazole (CDT)، ويجرى تفاعل التقارن في DMSO. تظهر جميع هذه المقارنات لتكون مولدة للمناعة في فأر، مما يشير إلى مدى ملاءمة كيمياء التقارن البديلة، بجانب كيمياء أمينة اختزالية/ أكسدة periodate، بالإضافة إلى خواص تقارن بديلة، مثلاً SPR.

10 جدول 15. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/ أكسدة Periodate وخيارات كيمياء بديلة على مقارنات CRM197 نمط مصلي II من GBS

24	23	22	21	المقارن
----	----	----	----	---------

CDT	TEMPO/RAC	PO/RAC	PO/RAC	كيمياء التقارن
109	109	109	109	الوزن الجزيئي لعديد سكاريد (كيلودالتون)
95<	95<	95<	95<	% Sialic Acid في عديد سكاريد أولي
غير متاح	11	10	10	% تعديل
غير متاح	8.8	10	10	درجة الأكسدة (DO)
0.87	0.66	2.03	0.61	نسبة سكاريد/ بروتين
12	%5>	25	5>	% سكاريد حر
603	5270	1480	8850	الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون
631	2167	891	3117	عيار OPA

مقارنات CRM197 - عديد سكاريد للنمط المصلي III من GBS

تظهر المقارنات المتولدة باستخدام PO/RAC وعديد سكاريدات منشطة لها DO من 10-17 (تقريباً 6-10% تعديل إبيتوب سكاريد) في DMSO لتكون مولدة للمناعة في فأر (مقارنات 25 و 30). تظهر المقارنات لها DO بمقدار 2.9 (تقريباً 34% تعديل إبيتوب سكاريد) أو نسبة بروتين/ سكاريد عالية (2.1) (مقارنات 26 و 27، على التوالي) لتكون مولدة للمناعة بصورة أقل نسبياً. يظهر المتقارن المتولد باستخدام PO/RAC وعديد سكاريد مع 81% مستوى sialylation (19% منزوع sialyl) ليكون مولد للمناعة (مقارن 30). مع ذلك، يظهر المتقارن المتولد باستخدام عديد سكاريد مع 58% مستوى sialylation (42% منزوع sialyl) ليكون مولد للمناعة بدرجة صغيرة (المقارن 29). يكون المتقارن المتولد بواسطة PO/RAC في DMSO

مولد للمناعة أكثر بدرجة طفيفة من المتقارن المتولد بواسطة PO/RAC في الوسط المائي عندما تكون كل الخواص الجزيئية للمتقارن الأخرى مماثلة (مقارنات 25 و 28، على التوالي). تظهر النتائج في جدول 16.

جدول 16. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة Periodate على

5 مقارنات CRM197 نمط مصلي III من GBS

المتقارن	25	26	27	28	29	30
المذيب	DMSO	DMSO	DMSO	مائي	DMSO	DMSO
الوزن الجزيئي لعدد سكاريد (كيلودالتون)	263	358	358	358	355	358
% Sialic Acid في عدد سكاريد أولي	95<	95<	95<	95<	58	81
% تعديل	10	34	6	8	6	6
درجة الأكسدة (DO)	10	2.9	17	13	16	17
نسبة سكاريد/بروتين	1.1	1.2	2.1	1.7	1.15	1.19
% سكاريد حر	10	7	24	19	5>	5>
الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون	2396	14340	3066	1885	5110	4643
عيار OPA	701	57	252	248	137	505

تتولد أشكال متباينة لمتقارن إضافية باستخدام كيمياء تقارن بديلة وخواص جزيئية لمتقارن (تظهر النتائج في جدول 17). يتولد المتقارن 31-35 عن طريق PO/RAC وتنوع مقصود

لمعايير التقارن لإنتاج مقارنات مع وزن جزيئي متنوع. يتولد المتقارن 36 بواسطة تفاعل عديد السكاريد مع carbonylditriazole (CDT)، ويجرى تفاعل التقارن في DMSO. يتولد المتقارن 37 بواسطة أكسدة عديد السكاريد باستخدام عامل كاشف TEMPO (بدلاً من sodium periodate) يليه التقارن باستخدام كيمياء أمينة اختزالية في DMSO، كما هو مذكور بالتفصيل في مثال 3 أعلاه. تظهر جميع هذه المقارنات لتكون مولدة للمناعة في فأر، مما يشير إلى مدى ملائمة كيمياء التقارن البديلة، بجانب كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة periodate، بالإضافة إلى خواص مقارن بديلة، مثلاً الوزن الجزيئي. لا تزال المقارنات المتولدة مع DO منخفضة تصل إلى 5 (تقريباً 20% تعديل إبيتوب سكاريد) مولدة للمناعة في فأر (مقارن 32 في جدول 17) بالمقارنة مع مقارنات متولدة مع DO بمقدار 29 (تقريباً 34% تعديل إبيتوب سكاريد) (مقارن 26 في جدول 16 أعلاه).

جدول 17. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة Periodate وخيارات كيمياء بديلة لمقارنات CRM197 نمط مصلي III من GBS

المتقارن	31	32	33	34	35	36	37
كيمياء التقارن	PO/R AC	PO/R AC	PO/R AC	PO/R AC	PO/R AC	CDT	TEMPO /RAC
الوزن الجزيئي لعدد سكاريد (كيلودالتون)	353	350	355	50	349	355	355
% Sialic Acid في عديد سكاريد أولي	95<	95<	95<	95<	95<	95<	95<

10	غير متاح	20	8	6	5	6	% تعديل
10	غير متاح	5	12	17	19	17	درجة الأكسدة (DO)
0.96	1.16	1	0.9	1.2	1.1	0.8	نسبة سكاريد/ بروتين
5>	5>	5>	20	5>	5>	5>	% سكاريد حر
3415	10740	8024	1201	4982	5291	9278	الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون
336	448	1116	441	176	204	646	عيار OPA

مقارنات CRM197 - عديد سكاريد للنمط المصلي IV من GBS

تظهر المقارنات المتولدة باستخدام PO/RAC وعديد سكاريدات منشطة لها DO بمقدار 6.9-14.2 (تقريباً 7-14% تعديل إبيتوب سكاريد) لتكون مولدة للمناعة في فأر (مقارنات 38-41). يظهر أيضاً المقارن المتولد باستخدام PO/RAC وعديد سكاريد مع 60% مستوى sialylation (40% منزوع sialyl) ليكون مولد للمناعة (مقارن 41). تظهر النتائج في جدول 5

18.

جدول 18. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة Periodate على

مقارنات CRM197 نمط مصلي IV من GBS

المتقارن	38	39	40	41
المذيب	DMSO	DMSO	مائي	DMSO
الوزن الجزيئي لعدد سكاريد (كيلودالتون)	143	143	133	121
% Sialic Acid في عدد سكاريد أولي	95<	95<	95<	60
% تعديل	7	14	7	8
درجة الأكسدة (DO)	14.2	6.9	13.6	13.2
نسبة سكاريد/بروتين	0.8	0.91	1.92	1
% سكاريد حر	5>	5>	33.4	5>
الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون	8268	10210	657	5691
عيار OPA	3140	2379	3080	6708

تتولد أشكال متباينة لمقارن إضافية باستخدام كيمياء تقارن بديلة وخواص جزيئية لمقارن.

تظهر النتائج في جدول 19. يتولد المقارن 42 و45 عن طريق PO/RAC وتنوع مقصود
5 لمعايير التقارن لإنتاج مقارنات مع DO عالي (مستوى أكسدة منخفض) و SPR عالي، على
التوالي. يتولد المقارن 43 بواسطة تفاعل عدد السكاريد مع carbonylditriazole (CDT)،
ويجرى تفاعل التقارن في DMSO. يتولد المقارن 44 بواسطة أكسدة عدد السكاريد باستخدام
عامل كاشف TEMPO (بدلاً من sodium periodate) يليه التقارن باستخدام كيمياء أمينة

اختزالية في DMSO، كما هو مذكور بالتفصيل في مثال 3 أعلاه. تظهر جميع المقارنات للنمط المصلي IV لتكون مولدة للمناعة في فأر، مما يشير إلى مدى ملائمة كيمياء التقارن البديلة، بجانب كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة periodate، بالإضافة إلى خواص تقارن، مثلاً SPR. لا تزال المقارنات المتولدة مع DO (أكسدة منخفضة) تصل إلى 20 على الأقل (تقريباً 5% تعديل إبيتوب سكاريد) مولدة للمناعة في فئران 5

جدول 19. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة Periodate وخيارات كيمياء بديلة على مقارنات CRM197 نمط مصلي IV من GBS

المقارن	42	43	44	45
كيمياء التقارن	PO/RAC	CDT	TEMPO	PO/RAC
الوزن الجزيئي لعدد سكاريد (كيلودالتون)	143	133	133	140
% Sialic Acid في عديد سكاريد أولي	95<	95<	95<	95<
% تعديل	5	غير متاح	7	7
درجة الأكسدة (DO)	20	غير متاح	13.7	14.6
نسبة سكاريد/بروتين	1	0.9	0.52	1.96
% سكاريد حر	5>	5>	6	5>
الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون	3580	12390	4580	2710
عيار OPA	8614	1989	7567	3695

مقارنات CRM197 - عديد سكاريد للنمط المصلي V من GBS

تظهر المقارنات المتولدة باستخدام PO/RAC وعديد سكاريدات منشطة لها DO بمقدار 4.4-14.6 (تقريباً 7-23% تعديل إبيتوب سكاريد) لتكون مولدة للمناعة في فئران (مقارنات 46 و47). لا يكون مقارن (5% مستوى sialylation) منزوع sialyl مولد للمناعة (مقارن 49)، وينتج المقارن المتولد باستخدام عملية PO/RAC تستخدم مذيب مائي استجابة مناعية منخفضة (مقارن 48). تظهر النتائج في جدول 20.

جدول 20. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة Periodate على

مقارنات CRM197 نمط مصلي V من GBS

المقارن	46	47	48	49
المذيب	DMSO	DMSO	مائي	DMSO
الوزن الجزيئي لعدد سكاريد (كيلودالتون)	132	132	132	132
% Sialic Acid في عديد سكاريد أولي	<95%	<95%	<95%	5%
% تعديل	7	23	8	6
درجة الأكسدة (DO)	14.6	4.4	12.1	18
نسبة سكاريد/بروتين	1.32	1.43	1.27	0.94
% سكاريد حر	11	>5	25.4	>5
الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون	4304	14510	573	4847

60	93	181	335	عيار OPA
----	----	-----	-----	----------

تتولد أشكال متباينة لمقارن إضافية باستخدام كيمياء تقارن بديلة وخواص جزيئية لمقارن.

تظهر النتائج في جدول 21. تتولد المقارنات 50 و 53 بواسطة PO/RAC وتتوزع مقصود

لمعايير التقارن لإنتاج مقارنات مع مستوى sialylation منخفض (81% sialylation) ووزن

جزيئي منخفض على التوالي. يتولد المقارن 51 بواسطة تفاعل عديد السكاريد مع

5 carbonylditriazole (CDT)، ويجرى تفاعل التقارن في DMSO. يتولد المقارن 52 بواسطة

أكسدة عديد السكاريد باستخدام عامل كاشف TEMPO (بدلاً من sodium periodate) يليه

التقارن باستخدام كيمياء أمينة اختزالية في DMSO، كما هو مذكور بالتفصيل في مثال 3 أعلاه.

تظهر جميع المقارنات للنمط المصلي V، فيما عدا المقارن المتولد باستخدام كيمياء CDT،

لتكون مولدة للمناعة في فئران، مما يشير إلى مدى ملاءمة كيمياء التقارن البديلة، بجانب كيمياء

10 أمينة اختزالية/أكسدة periodate، بالإضافة إلى خواص مقارن، مثلاً الوزن الجزيئي. يظهر

المقارن المتولد باستخدام كيمياء CDT أقل تولد مناعي ملحوظ مقارنة مع المقارنات الأخرى

المتولدة بواسطة RAC. يوفر المقارن مع عملية sialylation 81% (مقارن 50) استجابة

مناعية منخفضة مقارنة مع المقارن مع <95% sialylation (مقارن 53)، لكنه يكون أعلى من

المقارن مع 5% sialylation (مقارن 49 في جدول 20 أعلاه).

15 جدول 21. تأثيرات شروط عملية متنوعة من كيمياء أمينة اختزالية/أكسدة Periodate وخيارات

كيمياء بديلة على مقارنات CRM197 نمط مصلي V من GBS

المقارن	50	51	52	53
كيمياء التقارن	PO/RAC	CDT	TEMPO	PO/RAC
الوزن الجزيئي لعدد سكاريد (كيلودالتون)	159	193	193	37
% Sialic Acid في عديد سكاريد أولي	<81%	<95%	<95%	<95%

10	5	غير متاح	7	% تعديل
10.3	18.2	غير متاح	13.5	درجة الأكسدة (DO)
0.53	0.71	1.14	1.2	نسبة سكاريد/ بروتين
7.3	22.3	5>	5>	% سكاريد حر
3044	3501	4756	3037	الوزن الجزيئي بواسطة SEC-MALLS، كيلودالتون
279	320	101	160.3	عيار OPA

مثال 5: لقاحات متقارن أحادي التكافؤ GBS III-CRM197 و GBS V-CRM197 تنتج

استجابة OPA في فئران

تحصن فئران CD-1 إناث مع 1 ميكروجرام، 0.1 ميكروجرام أو 0.01 ميكروجرام من نمط مصلي III للمكورة العقدية (GBS) من المجموعة (ب) متقارن مع GBS III- CRM197 (GBS V- CRM197) أو نمط مصلي V من GBS متقارن مع CRM197 (GBS V-CRM197) ثلاث 5 مرات تحت الجلد عند الأسابيع صفر، 3 و 6. بعد الجرعة يتم تقييم ثلاثة أمصال (PD3) عن طريق اختبار التهامي خلوي طهائي (opsonophagocytic assay) (OPA). تجرى OPAs كما هو موصوف في المثال 4. تحت كل من المتقارنات استجابات OPA في فئران (جدول 22). يتم تعيين العينات بدون استجابة OPA القابلة للكشف كقيمة بمقدار 50.

جدول 22: مقارنات GBS III و GBS V تحت استجابات OPA في فئران 10

نوع متقارن	جرعة (ميكروجرام)	المتوسط الهندسي لعيار OPA
III	1	701
	0.1	103

50	0.01	
378	1	V
204	0.1	

مثال 6: : لقاحات متقارن أحادي التكافؤ GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197،

GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و-GBS V

CRM197 تنتج استجابة OPA في فئران

تحصن 6 مجموعات من فئران CD-1 إناث ثلاث مرات تحت الجلد مع لقاح محتوي

5 على 1 ميكروجرام من عديد سكاريد كبسولي (CP) GBS فردي متقارن مع CRM197 عند

الأسابيع صفر، 3 و6. تظهر الدراسات المبدئية أن الفئران ليس لديها عيارات OPA موجودة

مسبقا إلي أي من الأنماط المصلية الستة المختبرة. تتحلل الأمصال من PD3 بواسطة OPA

مقابل نمط مصلي GBS المتقارن الموجود في اللقاح. تجرى OPAs كما هو موصوف في مثال

4. تظهر النتائج في الجداول 23 و24 أدناه.

10 جدول 23: المتوسط الهندسي لعيارات OPA لفئران بعد التحصين مع مقارنات -GBS CPS

CRM197 الفردية

النمط المصلي	المتوسط الهندسي لعيار OPA
Ia	300
Ib	417
II	610
III	188
IV	3140

378	V
-----	---

جدول 24: ارتفاع ضعفي لعيارات OPA لفئران بعد التحصين مع مقارنات GBS CPS- CRM197 الفردية

النمط المصلي	المتوسط الهندسي لعيار OPA
Ia	6
Ib	8
II	12
III	4
IV	63
V	8

NB: يحسب الارتفاع الضعفي على افتراض أن الفئران ليس لديها عيار موجود مسبقا.

مثال 7: نشاط طهائي للأموال مقارنة مع IgG معزول من فئران محصنة مع لقاحات مقارن
5 أحادي التكافؤ GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197

تحصن فئران CD-1 أو BALB/c إناث مع 1 ميكروجرام من GBS CPSs فردية مقارنة
مع CRM197 ثلاث مرات تحت الجلد عند الأسبوع صفر، 3 و6. يستخدم سواء AIPO4 أو
QS-21 كمادة مساعدة. تختبر أمصال PD3 عن طريق OPA يخص نمط مصلي وبعدئذ يعزل
10 جزء مقتطع جلوبيولين مناعي G ويختبر من أجل نشاط OPA. يتعادل نشاط OPA IgG المنقى
إلى 5 مجم/ مليلتر (في نطاق من كمية IgG في مصل فأر طبيعي). تحت جميع المقارنات
GBS CPS الستة الأجسام المضادة IgG مع نشاط طهائي (شكل 1).

مثال 8: لقاءات متقارن أحادي التكافؤ GBS la-TT، GBS Ib-TT، GBS II-TT، GBS، GBS III-TT، GBS IV-TT و GBS V-TT تنتج استجابة OPA في أرناب

تحصن الأرناب ثلاث مرات مع 50 ميكروجرام/ مليلتر من عديد سكاريد نمط مصلي Ia

من GBS متقارن مع ذوفان الكزاز، 10 ميكروجرام/ مليلتر من عديد سكاريد نمط مصلي Ib من

5 GBS متقارن مع ذوفان الكزاز، 50 ميكروجرام/ مليلتر من عديد سكاريد نمط مصلي II من

GBS متقارن مع ذوفان الكزاز، 50 ميكروجرام/ مليلتر من عديد سكاريد نمط مصلي III من

GBS متقارن مع ذوفان الكزاز، 50 ميكروجرام/ مليلتر من عديد سكاريد نمط مصلي IV من

GBS متقارن مع ذوفان الكزاز، أو 50 ميكروجرام/ مليلتر من عديد سكاريد نمط مصلي V من

GBS متقارن مع ذوفان الكزاز مساعد مع Complete Freund's Adjuvant في الجرعة

10 الأولى و Incomplete Freund's Adjuvant في الجرعات الثانية والثالثة. تنتج المقارنات

باستخدام عديد سكاريدات لها مستوى sialic acid من <95% وكيمياء -4-cyano-1 CDAP

(dimethylamino pyridinium tetrafluoroborate). تقاس الاستجابات المناعية PD3

بواسطة OPA كما هو موصوف في المثال 4. تظهر عيارات الأمصال في جدول 25 بينما

تظهر عيارات IgG المنقاة في جدول 26 أدناه. تعتبر عديد السكاريدات للنمط المصلي Ia، Ib،

15 II، III، IV و V من GBS المتقارنة مع TT مولدة للمناعة بصورة كبيرة في الأرناب.

جدول 25: المتوسط الهندسي لعيارات OPA لأمصال أرناب بعد التحصين مع مقارنات GBS

CPS-TT الفردية

النمط المصلي GBS	المتوسط الهندسي لعيار OPA
Ib	11550
II	36753
IV	34345

جدول 26: المتوسط الهندسي لعيارات OPA من IgG لأرتب منقى بعد التحصين مع مقارنات GBS CPS-TT الفردية

النمط المصلي GBS	المتوسط الهندسي لعيار OPA (1 مجم/ مليلتر pAb)
Ia	7190
Ib	2817
II	41870
III	40146
IV	15565
V	12124

مثال 9: لقاح متقارن GBS سداسي التكافؤ ينتج استجابة OPA في رئيسيات غير بشرية

- 5 تحصن ثلاث مجموعات قرود مكاك ريسوس مع لقاح مكورة عقدية (GBS6) من المجموعة (ب) سداسي التكافؤ ثلاث مرات في العضل عند الأسابيع صفر، 4 و8. يشتمل اللقاح GBS6 على GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS V-CRM197. تحت مجموعتين فوسفات الألومنيوم (AlPO₄) كمادة مساعدة وتجرع مع سواء 5 ميكروجرام لكل متقارن أو 50 ميكروجرام لكل متقارن. تجرع المجموعة الثالثة مع 5 ميكروجرام لكل متقارن ولا تحتوي على مادة مساعدة.
- 10 يصف الجدول 27 أدناه جدول التحصين.

جدول 27: جدول تحصين قرود مكاك ريسوس

Alum						
المجموعة	عدد NHP	جرعة اللقاح (لكل متقارن)	على أنه AIPO4 (مجم/ مليلتر)	حجم التلقيح	التوصيل	جدول التحصين (أسابيع)
1	10	5 ميكروجرام	0.5	1 مليلتر	الحقن في العضل	صفر، 4، 8
2	10	50 ميكروجرام	0.5	1 مليلتر	الحقن في العضل	صفر، 4، 8
3	10	5 ميكروجرام	لا يوجد	1 مليلتر	الحقن في العضل	صفر، 4، 8

يتم تحليل مصل قبل التطعيم ومصل من PD3 بواسطة OPA من أجل جميع الأنماط المصلية GBS الستة الموجودة في اللقاح. تجرى OPAs كالموصوفة في مثال 4. تظهر النتائج في الجداول 28 و 29 أدناه. بالنسبة لجميع الأنماط المصلية الستة، تثير الصيغ المساعدة AIPO4 استجابة OPA قابلة للكشف (زيادة في العيار من قبل إلى PD3، أو ارتفاع ضعفي قبل 5 / PD3 < 1). تثير جرعة 5 ميكروجرام/ متقارن غير مساعدة استجابات OPA قابلة للكشف لأجل خمسة من ستة أنماط مصلية.

جدول 28: المتوسط الهندسي لعيارات OPA من قروود مكاك ريسوس قبل وبعد التحصين مع

GBS6

نمط مصلي		5 ميكروجرام + AIPO4		50 ميكروجرام + AIPO4		5 ميكروجرام لا توجد مادة مساعدة	
قبل	PD3	قبل	PD3	قبل	PD3	قبل	PD3

69	166	8106	118	2907	97	Ia
313	50	2957	53	3821	53	Ib
362	61	764	62	980	54	II
4515	762	8448	204	7759	105	III
899	309	3331	89	2350	78	IV
4226	6192	16476	442	5556	233	V

جدول 29: ارتفاع ضعفي لعيار OPA من قروود مكاك ريسوس بعد التحصين مع GBS6

نمط مصلي	5 ميكروجرام + AIPO4	50 ميكروجرام + AIPO4	5 ميكروجرام لا توجد مادة مساعدة
Ia	30	69	4
Ib	72	56	6
II	18	12	6
III	74	41	6
IV	30	37	3
V	24	37	1

مثال 10: لقاح متقارن GBS سداسي التكافؤ ينتج استجابة OPA في جرذان

تحصن جرذان إناث من نوع Sprague-Dawley مرتين تحت الجلد مع 5 ميكروجرام/

مليلتر لكل متقارن في لقاح متقارن عديد سكاريد GBS6 كما هو موصوف في مثال 9 مصاغة

5 سواء مع أو بدون فوسفات ألومنيوم (AIPO4). يتم تقييم مصلين قبل التطعيم (خط قاعدة) وبعد

الجرعة من أجل عيار اختبار OPA مقابل جميع الأنماط المصلية GBS المماثلة الستة. يتم

قياس عيارات OPA لكل نمط مصلي في نموذج اختبار من 384 عين GBS ويحسب الارتفاع الضعفي. الجرذان التي تعطى لقاح GBS6 لها استجابة جسم مضاد وظيفية قوية مقابل كل نمط مصلي بعد الجرعة الثانية؛ في غياب AIPO4، يتم ملاحظة زيادة من 7 إلى 205 ضعف بين الأنماط المصلية، بينما تراوحت في وجوده من 11 إلى 294 ضعف (الجدول 30).

5 جدول 30: بعد الجرعة 2 (PD2) الارتفاع الضعفي في عيارات اختبار نشاط التهامي خلوي طهائي (OPA) في جرذان محصنة مع لقاح متقارن GBS سداسي التكافؤ

الارتفاع الضعفي في المتوسط الهندسي لعيار OPA من قبل التطعيم إلى PD2		
نمط مصلي GBS	بدون AIPO4	مع AIPO4
Ia	36	11
Ib	7	39
II	205	294
III	107	141
IV	45	33
V	185	195

مثال 11: تحصين الإناث الحوامل مع لقاح متقارن سكر GBS أحادي التكافؤ أو سداسي التكافؤ يظهر تأثير وقائي من عدوى V أو GBS III في نسلهم بعد الولادة

تحصن فئران إناث CD-1 ثلاث مرات تحت الجلد مع اللقاح GBS6 كما هو موصوف

10 في مثال 9 محتوى على 5 ميكروجرام/مليلتر لكل متقارن و 100 ميكروجرام/مليلتر AIPO4، لقاح متقارن سكر أحادي التكافؤ GBS III أو V (كل منهم يحتوي على 10 ميكروجرام/مليلتر من متقارن و 100 ميكروجرام/مليلتر AIPO4) أو مقارن وسط ناقل بمفرده. تولد الفئران قبل التحصين الثالث. يتم تحدي نسل الفئران المحصنة مع جرعة مميتة من سواء بكتيريا نمط مصلي

III من GBS أو نمط مصلي V من GBS طبقا للقاح المتلقي، تراقب فترة البقاء على قيد الحياة لمدة 90 ساعة. يوفر تحصين الإناث مع AIP04 + GBS6 أو GBS III-CRM197 + AIP04 حماية كبيرة ($p > 0.0001$) لصغارها مقابل تحدي النمط المصلي III من GBS المميتة. بالمثل، يوفر تحصين الإناث مع AIP04 + GBS V-CRM197 حماية كبيرة ($p > 0.0001$) لصغارها مقابل تحدي النمط المصلي V من GBS المميتة. تظهر النتائج في جدول 31.

5

جدول 31: تحصين مع لقاح GBS أحادي التكافؤ وسداسي التكافؤ يزيد البقاء على قيد الحياة في النسل

# بقاء النسل على قيد الحياة/ إجمالي النسل (% بقاء على قيد الحياة)			
تحدي نمط مصلي	نسل من أنثى محصنة GBS6	نسل من أنثى محصنة أحادية التكافؤ من أصل مشترك	نسل من أنثى محصنة بوسط ناقل
III	22/20 (91%)	28/28 (100%)	29/9 (31%)
V		40/35 (85%)	27/3 (11%)

مثال 12: تحصين سلبي من أجسام مضادة أحادية التكافؤ GBS III في جردان رضاعة تظهر تأثير وقائي

تتولد أجسام مضادة أحادية النسخ (mAb) للنمط المصلي III للمكورة العقدية من المجموعة (ب) (GBS III) عن طريق تحصين فئران مع لقاح خماسي التكافؤ مشتمل على الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، و V. تنتقى نسخ mAb تخص GBS III، وتتولد CPs تدرك mAb من GBS III باستخدام إجراءات قياسية. يتم إعطاء mAb نمط مصلي III من GBS بصورة سلبية إلى جردان رضع (عدد = 10 لكل مجموعة؛ تظهر تجربتين مستقلتين) لمدة 16 ساعة قبل التحدي مع مادة عزل GBS III سريرية. بعد 4 ساعات من التحدي يحصد الدم ويعد

10

15

CFU المتبقي. المعالجة مع GBS III mAb تقلل CFU المستعاد في جردان رضع عن طريق 4 لوغاريتم أو أكبر (جدول 32).

جدول 32: GBS III mAb يقلل CFU المستعاد في جردان رضع

المعالجة	CFU المستعاد (لوغاريتم)	
GBS III mAb	1.8	تجربة 1
مقارن	7.5	
GBS III mAb	2.4	تجربة 2
مقارن	6.4	

مثال 13: تحصين سلبي من أجسام مضادة أحادية النسخ GBS Ib، III، و V في فئران حوامل

5 تظهر تأثير وقائي في نسلها بعد الولادة

تتولد الأجسام المضادة أحادية النسخ (mAb) (Monoclonal antibodies) من فئران

محصنة مع لقاح خماسي التكافؤ (GBS Ia-CRM197، GBS Ib-CRM197، GBS II-CRM197،

CRM197، GBS III-CRM197، و GBS V-CRM197) باستخدام إجراءات قياسية. يتم

تعريف mAbs بعدئذ حيث أنها تدرك بصفة خاصة عديد سكاريدات كبسولية لكل من الأنماط

10 المصلية الخمسة. تعطى بصورة سلبية جرعات 500 ميكروجرام/ مليلتر من mAb نمط مصلي

Ib من GBS (GBS Ib)، mAb نمط مصلي III من GBS (GBS III)، mAb نمط مصلي V

من GBS (GBS V)، أو mAb لمقارن مرتبط بنوع مماثل مع فئران حوامل تقريبا 24 إلى 48

ساعة قبل التوصيل. 24 ساعة إلى 48 ساعة بعد الولادة، يتم تحدي نسل إناث فأرية محصنة مع

جرعة مميتة من بكتيريا GBS Ib، GBS III أو GBS V. تراقب فترة البقاء على قيد الحياة لمدة

15 96 ساعة. تظهر نسبة بقاء على قيد الحياة أعلى بدرجة ملحوظة في مواليد إناث محصنة مع

GBS Ib mAb، GBS III mAb، أو GBS V mAb مقارنة مع mAb المقارن بعد تحدي

GBS (جدول 33).

جدول 33: GBS III gv mAb تزيد من البقاء على قيد الحياة في النسل

نمط مصلي لتحدي GBS		mAb مماثل	mAb مقارن
Ib	80	صفر	
III	93	صفر	
V	100	12	

مثال 14: ثبات مقارنات GBS

تصاغ بصورة فردية GBS II-، GBS Ib-CRM197، GBS Ia-CRM197، GBS V-CRM197، GBS IV-CRM197، GBS III-CRM197، و GBS V-CRM197 في 10 مللي جزيئي جرامي succinate-phosphate و 155 مللي جزيئي جرامي NaCl عند تنوع مستويات الأس الهيدروجيني إلى اختبار ثبات المقارنات في شروط تخزين متسارعة. يتم قياس النسبة المئوية للتغيير في الوزن الجزيئي، كما هو محدد بواسطة SEC MALLS، بعد 4 أسابيع من التخزين عند 50° مئوية. تظهر النتائج في الأشكال 2-7.

تختبر مقارنات GBS III-، GBS Ib-CRM197، GBS Ia-CRM197، GBS IV-CRM197، و CRM197 من أجل ثبات sialylation تحت شروط مثبت أس هيدروجيني متنوعة في جدول 34. يتم قياس sialic acid الحر (N acetyl neuraminic acid; NANA) باستخدام HPLC بعد شهر واحد من التخزين عند 37° مئوية. تظهر النتائج في الشكل 8.

تقترح كلا الدراستين أن المقارنات تجرى بصورة أفضل عند أس هيدروجيني أعلى من 6، وبصورة مثلى عند حوالي أس هيدروجيني 6.5.

جدول 34: شروط مثبت الأس الهيدروجيني من أجل اختبار ثبات sialylation

تركيز مثبت الأس الهيدروجيني (ملي جزئي جرامي)	مثبت للأس الهيدروجيني	تركيز ملح (ملي جزئي جرامي)	ملح	أس هيدروجيني
10	Succinate	صفر	لا يوجد	5.8
10	Succinate	صفر	لا يوجد	6.2
10	Succinate	صفر	لا يوجد	6.6
10	Succinate	صفر	لا يوجد	6.9
10	Succinate	150	NaCl	5.8
10	Succinate	150	NaCl	6.3
10	Succinate	150	NaCl	6.6
10	Succinate	150	NaCl	6.9
10	Histidine	صفر	لا يوجد	6.1
10	Histidine	صفر	لا يوجد	6.5
10	Histidine	صفر	لا يوجد	6.9
10	Histidine	150	NaCl	6.1
10	Histidine	150	NaCl	6.5
10	Histidine	150	NaCl	6.9

مثال 15: صياغة GBS6

- لتحديد اختيار مثبت الأس الهيدروجيني، تصاغ GBS Ib-، GBS Ia-CRM197، CRM197، GBS II-CRM197، GBS III-CRM197، GBS IV-CRM197، و GBS (GBS6) V-CRM197 معا باستخدام نفس شروط مثبت الأس الهيدروجيني كما هو مبين في جدول 33 أعلاه. يختبر الأس الهيدروجيني الفعلي للصياغات عند النقاط الزمنية التالية: صفر (عند إنتاج الصياغة)، بعد شهر واحد عند 5° مئوية، بعد شهر واحد عند 25° مئوية، وبعد شهر واحد عند 37° مئوية. يظهر التغيير في الأس الهيدروجيني في الصياغات باستخدام succinate كمثبت للأس الهيدروجيني، بينما لا يظهر التغيير في الصياغات باستخدام histidine كمثبت للأس الهيدروجيني. تظهر النتائج في الأشكال 9-10.
- 5
- يختبر أيضا تأثير تركيز مثبت الأس الهيدروجيني histidine على ارتباط مقارنات GBS مع الألومنيوم. تختبر الصياغة المشتمة على 150 مللي جزيئي جرامي NaCl، 0.01% polysorbate-80 عند أس هيدروجيني 6.5، و 0.5 مجم/ مليلتر من الألومنيوم على أنه AIPO4 مع تركيزين مختلفين من المقارنات (10 ميكروجرام/ مليلتر و 40 مجم/ مليلتر لكل نمط مصلي) وتركيزات مختلفة عديدة من histidine. يتم تحديد النسبة المئوية للمقارنات المرتبطة مع الألومنيوم بواسطة قياس الكمية الإجمالية لكل من المقارنات في اللقاح والكمية لكل من المقارنات المرتبطة مع الألومنيوم. يتم قياس المقارنات المرتبطة بواسطة الطرد المركزي لصياغة اللقاح، بإعادة تعليق كريات الألومنيوم، ذوبان الألومنيوم، وقياس المقارنات المرتبطة باستخدام قياس التعكر مع أجسام مضادة عديدة النسخ تخص نمط مصلي مقابل كل من الأنماط المصلية. تظهر النتائج في الأشكال 11-12. وجد أن تركيز مثبت أس هيدروجيني histidine يؤثر في النسبة المئوية لكل نمط مصلي مرتبط مع الألومنيوم، ويتضح التأثير أكثر عند الجرعة الأقل من الجرعة الأعلى.
- 10
- 15
- 20
- تجرى دراسة الرج لتحديد كمية (PS80) polysorbate-80 الذي يكون مرغوبا. تختبر الصياغات GBS6 المشتمة على 20 مللي جزيئي جرامي Histidine، 150 مللي جزيئي جرامي NaCl، 0.5 مجم/ مليلتر AIPO4 (إذا وجد)، وسواء لا يوجد PS80، 0.01% PS80، 0.02% PS80، أو 0.03% PS80 عند أس هيدروجيني 6.5 للنسبة المئوية من إجمالي فقدان تولد الضد عند إجهاد الرج. ترج المحاقن المعبأة مسبقا بالصياغات عند 500 دورة في الدقيقة لمدة
- 25

72 ساعة عند درجة حرارة الغرفة. تخزن العينات المقارنة (غير معرضة للرج) عند درجة حرارة الغرفة لمدة 72 ساعة. تظهر النتائج في الشكل 13.

5 يتم أيضا دراسة تركيز الألومنيوم في الصياغات GBS6 لتحديد التأثير على المقارنات GBS بالارتباط مع الألومنيوم. تختبر الصياغات GBS6 المشتملة على 10 مللي جزيئي جرامي Histidine 150، 150 مللي جزيئي جرامي NaCl، 0.02 % PS80، وسواء 0.25 مجم/ مليلتر، 0.5 مجم/ مليلتر، 0.75 مجم/ مليلتر، أو 1 مجم/ مليلتر من الألومنيوم مثل فوسفات الألومنيوم (AlPO₄) عند أس هيدروجيني 6.5 من أجل النسبة المئوية للمقارن المرتبط مع الألومنيوم. تزداد النسبة المئوية للارتباط مع AlPO₄ مع تركيز AlPO₄ المتزايد. تظهر النتائج في الشكل 14.

10 مثال 16: صياغة مجفدة GBS6

تختبر تشكيلة متنوعة من الصياغات المجفدة من

GBS6 (GBS Ia-CRM197, GBS Ib-CRM197, GBS II-CRM197, GBS III-CRM197, GBS IV-CRM197, GBS V-CRM197)

15 من أجل الثبات. تجفد صياغات جرعة (10 ميكروجرام/ مليلتر) ومنخفضة و(50 ميكروجرام/ مليلتر) مرتفعة مشتملة على 20 مللي جزيئي جرامي histidine عند أس هيدروجيني 6.5، 0.02 % PS80، حوالي 28 مللي جزيئي جرامي NaCl، وسواء 5.5 %، 7 % أو 8.5 % (وزن/ حجم) sucrose. يختبر ثبات الصياغات المجفدة بواسطة قياس الأس الهيدروجيني والرطوبة بعد 4 أشهر عند 5° مئوية، 4 أشهر عند 37° مئوية، وشهر واحد عند 50° مئوية. جميع الصياغات مستقرة اعتمادا على الأس الهيدروجيني والرطوبة (بيانات غير موضحة). بصورة إضافية، تختبر النسبة المئوية لاستعادة الاستعداد لكل نمط مصلي من أجل جميع الصياغات بعد 1، 4، و9 شهور عند كل من 5° مئوية و37° مئوية بعد 1، 2 و4 أسابيع عند 50° مئوية. تظهر النتائج في الأشكال 15-20.

تحضر أيضا التنوعات التالية في المواد المسوغة وتقيم من أجل جرعة 40 ميكروجرام/ مليلتر من صياغة GBS6: (1) 7 % (وزن/ حجم) sucrose، (2) 2 % (وزن/ حجم) sucrose

و4% (وزن/ حجم) mannitol، (3) 3% (وزن/ حجم) sucrose و3% (وزن/ حجم) mannitol،
 (4) 2% (وزن/ حجم) sucrose و4% (وزن/ حجم) glycine، أو (5) 3% (وزن/ حجم)
 sucrose و3% (وزن/ حجم) glycine. يكون الأس الهيدروجيني والرطوبة لجميع الصياغات
 الخمسة مستقرة بعد 3 شهور عند 5° مئوية، 3 شهور عند 25° مئوية، و3 شهور عند 37° مئوية،
 5 وشهر واحد عند 50° مئوية (بيانات غير ظاهرة). بالإضافة إلى ذلك، تختبر النسبة المئوية
 لاستعادة الاستضداد لكل نمط مصلي لجميع الصياغات بعد 1، 3، و7 شهور عند كل من 52-
 8° مئوية، 25° مئوية، و37° مئوية وبعد 1، 2 و4 أسابيع عند 50° مئوية. تظهر النتائج في
 الأشكال 21-25.

تختبر النسبة المئوية لمولد الضد المرتبط مع مادة مساعدة فوسفات الألومنيوم من أجل
 10 لقاح GBS6 في الصياغة المجفدة معادة التشكيل والصياغة السائلة باستخدام قياس التعكر.
 تحضر كل من الصياغات السائلة والمجفدة المحتوية على 20 مللي جزيئي جرامي histidine،
 0.02% PS80، 7% (وزن/ حجم) sucrose، و500 ميكروجرام/ مليلتر ألومنيوم كفسفات
 ألومنيوم بجرعات عالية (50 ميكروجرام/ مليلتر) ومنخفضة (10 ميكروجرام/ مليلتر). تختبر
 أيضا تركيزات متنوعة من كلوريد الصوديوم (sodium chloride) (NaCl) لتحديد التأثير على
 15 ارتباط مولد الضد. تظهر في الجداول 35 و36، على التوالي نتائج للصياغات المجفدة
 والصياغات السائلة. يكون لصياغات الجرعة المنخفضة لكل من التركيبات المجفدة والسائلة نتائج
 قابلة للمقارنة عندما يتم استخدام تركيزات NaCl من حوالي 150 مللي جزيئي جرامي أو أعلى.

جدول 35: النسبة المئوية لمولد ضد مرتبط مع فوسفات ألومنيوم في صياغات مجفدة معادة

التشكيل مع مستويات متنوعة من NaCl

						NaCl	
		III	II (%)	Ib (%)	Ia (%)	(مللي جزيئي جرامي)	
V (%)	IV (%)	(%)					

39	38	34	31	36	40	حوالي 23	10 ميكروجرام/ مليلتر لكل مقارن وزن / 7% sucrose
44	44	40	37	45	46	حوالي 80	
84	82	62	63	69	78	حوالي 150	
86	79	60	63	64	77	حوالي 300	
24	27	18	24	23	21	حوالي 23	50 ميكروجرام/ مليلتر لكل مقارن وزن / 7% sucrose
40	27	21	23	23	24	حوالي 34	
67	65	46	52	58	66	حوالي 150	
64	66	48	50	56	65	حوالي 300	

جدول 36: النسبة المئوية لمولد ضد مرتبط مع فوسفات ألومنيوم في صياغات سائلة مع مستويات متنوعة من NaCl

NaCl (مللي جزيئي جرامي)	Ia (%)	Ib (%)	II (%)	III (%)	IV (%)	V (%)	
40	78.4	72.4	62.9	73.3	70.9	70.8	10 ميكروجرام/ مليلتر لكل مقارن
100	61	63.3	52.3	51.9	49.8	53.9	
150	72.7	77	68.1	67.1	64	71	
200	67.7	73	58.6	52.3	51.9	60.1	

74.1	58	57.1	71.1	79.2	78.3	300	
37.9	51.7	52.8	49	38.3	50.5	100	50 ميكروجرام/ مليلتر لكل مقارن
38.7	50.9	50.8	49	37.6	49.8	150	
34.7	44	47.4	45.3	35.9	40.1	200	
37.5	43.5	42.2	50.9	41.9	40.3	300	

جوانب من الاختراع

البنود التالية تصف تجسيديات إضافية من الاختراع:

C1: مقارن عديد سكاريد - بروتين مولد للمناعة يشمل عديد سكاريد كبسولي من المكورة العقدية (GBS) من المجموعة (ب) وبروتين حامل، حيث يكون لعديد السكاريد الكبسولي مستوى sialic acid أكبر من حوالي 60%. 5

C2: المقارن المولد للمناعة من C1، حيث ينتقى عديد السكاريد الكبسولي من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، وIX.

C3: المقارن المولد للمناعة من C2، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي هو النمط المصلي Ia.

C4: المقارن المولد للمناعة من C2، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي هو النمط المصلي Ib. 10

C5: المقارن المولد للمناعة من C2، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي هو النمط المصلي II.

C6: المقارن المولد للمناعة من C2، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي هو النمط المصلي III. 15

C7: المتقارن المولد للمناعة من C2، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي هو النمط المصلي IV.

C8: المتقارن المولد للمناعة من C2، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي هو النمط المصلي V.

5 C9: المتقارن المولد للمناعة من C2، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي هو النمط المصلي VI.

C10: المتقارن المولد للمناعة من C2، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي هو النمط المصلي VII.

10 C11: المتقارن المولد للمناعة من C2، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي هو النمط المصلي VIII.

C12: المتقارن المولد للمناعة من C2، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي هو النمط المصلي IX.

C13: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C12، حيث يكون لعديد السكاريد الكبسولي مستوى sialic acid أكبر من حوالي 95%.

15 C14: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C13، حيث يكون لعديد السكاريد الكبسولي مستوى sialic acid أكبر من حوالي 100%.

C15: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C14، حيث يكون لعديد السكاريدات الكبسولية على الأقل حوالي 0.6 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد.

20 C16: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C15، حيث يكون لعديد السكاريدات الكبسولية على الأقل حوالي 0.65 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد.

- C17: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C16، حيث يكون لعدد السكاريدات الكبسولية على الأقل حوالي 0.7 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد.
- 5 C18: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C17، حيث يكون لعدد السكاريدات الكبسولية على الأقل حوالي 0.75 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد.
- C19: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C18، حيث يكون لعدد السكاريدات الكبسولية على الأقل حوالي 0.8 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد.
- 10 C20: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C19، حيث يكون لعدد السكاريدات الكبسولية على الأقل حوالي 0.85 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد.
- C21: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C20، حيث يكون لعدد السكاريدات الكبسولية على الأقل حوالي 0.9 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد.
- 15 C22: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C21، حيث يكون لعدد السكاريدات الكبسولية على الأقل حوالي 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد سكاريد.
- C23: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C22، حيث يكون لعدد السكاريدات الكبسولي وزن جزيئي بين حوالي 5 كيلودالتون وحوالي 1000 كيلودالتون.
- 20 C24: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C23، حيث يكون لعدد السكاريدات الكبسولي وزن جزيئي بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 750 كيلودالتون.

- C25: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C24، حيث يكون لعديد السكاريد الكبسولي وزن جزيئي بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون.
- C26: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C25، حيث يكون لعديد السكاريد الكبسولي وزن جزيئي بين حوالي 25 كيلودالتون وحوالي 200 كيلودالتون.
- 5 C27: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C25، حيث يكون لعديد السكاريد الكبسولي وزن جزيئي بين حوالي 100 كيلودالتون وحوالي 400 كيلودالتون.
- C28: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C27، حيث يكون الوزن الجزيئي للمتقارن بين حوالي 300 كيلودالتون وحوالي 20000 كيلودالتون.
- 10 C29: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C28، حيث يكون الوزن الجزيئي للمتقارن بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 15000 كيلودالتون.
- C30: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C29، حيث يكون الوزن الجزيئي للمتقارن بين حوالي 1000 كيلودالتون وحوالي 10000 كيلودالتون.
- C31: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C30، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي بين حوالي صفر % وحوالي 40 % O-acetylated.
- 15 C32: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C31، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي أقل من حوالي 5 % O-acetylated.
- C33: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C32، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي أقل من حوالي 4 % O-acetylated.
- 20 C34: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C33، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي أقل من حوالي 3 % O-acetylated.
- C35: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C34، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي أقل من حوالي 2 % O-acetylated.

C36: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C35، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي أقل من حوالي 1% O-acetylated.

C37: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C36، حيث يشتمل عديد السكاريد الكبسولي على الأقل على حوالي 0.1 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد. 5

C38: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C37، حيث يشتمل عديد السكاريد الكبسولي على الأقل على حوالي 0.2 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد.

C39: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C38، حيث يشتمل عديد السكاريد الكبسولي على الأقل على حوالي 0.3 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد. 10

C40: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C39، حيث يشتمل عديد السكاريد الكبسولي على الأقل على حوالي 0.35 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد.

C41: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C40، حيث يشتمل عديد السكاريد الكبسولي على حوالي 0.4 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد. 15

C42: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C41، حيث يشتمل عديد السكاريد الكبسولي على أقل من حوالي 0.01 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد. 20

C43: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C42، حيث يشتمل عديد السكاريد الكبسولي على أقل من حوالي 0.05 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد.

C44: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C43، حيث يشتمل عديد السكاريد الكبسولي على أقل من حوالي 0.04 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد.

C45: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C44، حيث يشتمل عديد السكاريد الكبسولي على أقل من حوالي 0.03 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد.

C46: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C45، حيث يشتمل عديد السكاريد الكبسولي على أقل من حوالي 0.02 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد.

C47: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C46، حيث تقترن بصورة فردية كل عديد السكاريدات مع البروتين الحامل.

C48: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C47، حيث يكون البروتين الحامل عبارة عن CRM197 أو ذوفان الكزاز (tetanus toxoid).

C49: المتقارن المولد للمناعة من أي واحد من C1-C48، حيث يكون البروتين الحامل عبارة عن CRM197.

C50: طريقة لعزل عديد سكاريد كبسولي يشمل تفاعل عامل كاشف عضوي مع حساء خلية يشمل عديد سكاريد كبسولي ينتج بكتيريا.

C51: الطريقة من C50، حيث تكون البكتيريا غير محللة.

C52: الطريقة من C50 أو C51، حيث يتم قتل البكتيريا بالحرارة.

C53: الطريقة من أي واحد من C50-C52، حيث تشتمل الطريقة إضافيا على خطوة طرد مركزي لتوفير معجون خلية.

C54: الطريقة من أي واحد من C53-C50، حيث تشتمل الطريقة إضافيا على خطوة ترشيح.

C55: الطريقة من C54، حيث تكون خطوة الترشيح المذكورة هي ترشيح ثنائي.

C56: الطريقة من أي واحد من C56-C50، حيث ينتقى عديد السكاريد الكبسولي الذي

- 5 ينتج البكتيريا من المجموعة المتكونة من العقديّة اللبنيّة (*Streptococcus agalactiae*)،
العقدية الرئوية (*Streptococcus pneumoniae*)، العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*)،
النيسرية السحائية (*Neisseria meningitidis*)، الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)،
السلمونيلا التيفية (*Salmonella typhi*)، المستدمية النزلية (*Haemophilus influenzae*)،
الكلبسيلا الرئوية (*Klebsiella pneumoniae*)، التكور المعوي البرازي (*Enterococcus faecium*)،
والمكورة المعوية البرازية (*Enterococcus faecalis*)

C57: الطريقة من C56، حيث تكون البكتيريا هي العقديّة اللبنيّة.

C58: الطريقة من أي واحد من C57-C50، حيث تكون العوامل الكاشفة العضوية المذكورة هي مركبات hydroxyl amine مشتقة.

- 15 C59: الطريقة من أي واحد من C58-C50، حيث يكون hydroxyl amine هو أي hydroxyl amine مذكور في جدول 2 لمثال 2.

C60: الطريقة من أي واحد من C59-C50، حيث ينتقى hydroxyl amine من المجموعة المتكونة من diethyl hydroxylamine؛ dibenzyl hydroxylamine؛ hydroxylamine؛ ethylenediamine؛ triethylenetetramine؛ 1,1,4,7,10,10 hexamethyl triethylene tetramine؛ و 2,6,10,Trimethyl 2,6,10 triazaundecane.

C61: الطريقة من أي واحد من C60-C50، حيث يكون تركيز hydroxyl amine حوالي 5 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 200 مللي جزيئي جرامي.

C62: الطريقة من أي واحد من C50-C61، حيث يكون الأس الهيدروجيني الخاص بالتفاعل حوالي 5.5 إلى حوالي 9.5.

C63: الطريقة من أي واحد من C50-C62، حيث يحدث التفاعل عند درجة حرارة حوالي 20° مئوية إلى حوالي 85° مئوية.

5 C64: الطريقة من أي واحد من C50-C63، حيث يكون زمن التفاعل حوالي 10 ساعات إلى حوالي 90 ساعة.

C65: طريقة لصنع متقارن عديد السكاريد - البروتين المولد للمناعة من أي واحد من C1-C49، حيث يعزل عديد السكاريد الكبسولي طبقا للطريقة من أي واحد من C50-C64.

10 C66: متقارن عديد سكاريد - بروتين مولد للمناعة مشتمل على عديد سكاريد كبسولي محضر طبقا للطريقة من أي واحد من C50-C64.

C67: تركيبة مولدة للمناعة مشتملة على متقارن عديد السكاريد - البروتين المولد للمناعة من أي واحد من C1-C49 أو C66.

15 C68: تركيبة مولدة للمناعة مشتملة على مقارنات عديد السكاريد - البروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من نمط مصلي IV من المكورة العقدية من المجموعة (ب) (GBS) ونمط مصلي إضافي واحد على الأقل منتقى من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، V، VI، VII، VIII، و IX.

C69: التركيبة المولدة للمناعة من C68، حيث يكون نمط مصلي إضافي واحد على الأقل هو Ia.

20 C70: التركيبة المولدة للمناعة من C69، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي Ib من GBS.

C71: التركيبة المولدة للمناعة من C69 أو C70، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي II من GBS.

- C72: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C69-C71، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي III من GBS.
- C73: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C69-C72، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي V من GBS.
- 5 C74: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C69-C73، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VI من GBS.
- C75: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C69-C74، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VII من GBS.
- 10 C76: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C69-C75، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VIII من GBS.
- C77: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C69-C76، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي IX من GBS.
- C78: التركيبة المولدة للمناعة من C68، حيث يكون النمط المصلي الإضافي الواحد
على الأقل هو lb.
- 15 C79: التركيبة المولدة للمناعة من C78، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على متقارن
مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي II من GBS.
- C80: التركيبة المولدة للمناعة من C78 أو C79، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على
متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي III من GBS.
- C81: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C78-C80، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي V من GBS.
- 20 C82: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C78-C81، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VI من GBS.

- C83: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C78-C82، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VII من GBS.
- C84: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C78-C83، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VIII من GBS.
- 5 C85: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C78-C84، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي IX من GBS.
- C86: التركيبة المولدة للمناعة من C68، حيث يكون النمط المصلي الإضافي الواحد
على الأقل هو II.
- C87: التركيبة المولدة للمناعة من C86، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على متقارن
10 مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي III من GBS.
- C88: التركيبة المولدة للمناعة من C86 أو C87، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على
متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي V من GBS.
- C89: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C86-C88، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VI من GBS.
- 15 C90: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C86-C89، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VII من GBS.
- C91: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C86-C90، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VIII من GBS.
- C92: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C86-C91، حيث تشتمل التركيبة
20 إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي IX من GBS.
- C93: التركيبة المولدة للمناعة من C68، حيث يكون النمط المصلي الإضافي الواحد
على الأقل هو III.

C94: التركيبة المولدة للمناعة من C93، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على مقارن
مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي V من GBS.

C95: التركيبة المولدة للمناعة من C93 أو C94، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على
مقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VI من GBS.

5 C96: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C93-C95، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على مقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VII من GBS.

C97: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C93-C96، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على مقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VIII من GBS.

10 C98: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C93-C97، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على مقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي IX من GBS.

C99: التركيبة المولدة للمناعة من C68، حيث يكون النمط المصلي الإضافي الواحد
على الأقل هو V.

C100: التركيبة المولدة للمناعة من C99، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على مقارن
مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VI من GBS.

15 C101: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C99 أو C100، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على مقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VII من GBS.

C102: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C99-C101، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على مقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VIII من GBS.

20 C103: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C99-C102، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على مقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي IX من GBS.

C104: التركيبة المولدة للمناعة من C68، حيث يكون النمط المصلي الإضافي الواحد
على الأقل هو VI.

- C105: التركيبة المولدة للمناعة من C104، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على متقارن
مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VII من GBS.
- C106: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C104 أو C105، حيث تشتمل
التركيبة إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VIII من GBS.
- 5 C107: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C104-C106، حيث تشتمل التركيبة
إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي IX من GBS.
- C108: التركيبة المولدة للمناعة من C68، حيث يكون النمط المصلي الإضافي الواحد
على الأقل هو VII.
- C109: التركيبة المولدة للمناعة من C108، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على متقارن
10 مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي VIII من GBS.
- C110: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C108 أو C109، حيث تشتمل
التركيبة إضافيا على متقارن مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي IX من GBS.
- C111: التركيبة المولدة للمناعة من C68، حيث يكون النمط المصلي الإضافي الواحد
على الأقل هو VIII.
- 15 C112: التركيبة المولدة للمناعة من C111، حيث تشتمل التركيبة إضافيا على متقارن
مشتمل على عديد سكاريد كبسولي من نمط مصلي IX من GBS.
- C113: التركيبة المولدة للمناعة من C112، حيث يكون النمط المصلي الإضافي الواحد
على الأقل هو IX.
- C114: التركيبة المولدة للمناعة مشتملة على مقارنات عديد سكاريد - بروتين، حيث
20 تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، و V من
GBS.

C115: تركيبة مولدة للمناعة مشتملة على مقارنات عديد سكاريد - بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، و V من GBS.

C116: تركيبة مولدة للمناعة مشتملة على مقارنات عديد سكاريد - بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من الأنماط المصلية Ia، Ib، II، III، IV، و V من GBS. 5

C117: تركيبة مولدة للمناعة مشتملة على مقارنات عديد سكاريد - بروتين مشتملة على أربعة أنماط مصلية لعديد سكاريد كبسولي GBS على الأقل منتقاة من المجموعة المتكونة من Ia، Ib، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، و IX.

C118: التركيبة المولدة للمناعة من C117، حيث تشتمل التركيبة على خمسة أنماط مصلية لعديد سكاريد كبسولي GBS على الأقل. 10

C119: التركيبة المولدة للمناعة من C117 أو C118، حيث تشتمل التركيبة على ستة أنماط مصلية لعديد سكاريد كبسولي GBS على الأقل.

C120: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C117-C119، حيث تشتمل التركيبة على سبعة أنماط مصلية لعديد سكاريد كبسولي GBS على الأقل.

C121: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C117-C120، حيث تشتمل التركيبة على ثمانية أنماط مصلية لعديد سكاريد كبسولي GBS على الأقل. 15

C122: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C117-C121، حيث تشتمل التركيبة على تسعة أنماط مصلية لعديد سكاريد كبسولي GBS على الأقل.

C123: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C117-C122، حيث تشتمل التركيبة على نمط مصلي V لعديد سكاريد كبسولي GBS. 20

C124: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C117-C123، حيث لا تحتوي التركيبة على تداخل مناعي.

C125: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C124، حيث تشتمل التركيبة
إضافياً على مادة مسوغة، مثبت أس هيدروجيني، مادة مثبتة، مادة مساعدة، واق من البرد، ملح،
كاتيون ثنائي التكافؤ، مادة منظفة غير أيونية، مثبت أكسدة شقية حرة، مادة حاملة مقبولين دوائياً أو
خليط من ذلك.

5 C126: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C125، حيث تشتمل التركيبة
إضافياً على مثبت أس هيدروجيني.

C127: التركيبة المولدة للمناعة من C126، حيث ينتقى مثبت الأس الهيدروجيني من
المجموعة المتكونة من MES، PIPES، HEPES، Tris (trimethamine)، فوسفات،
acetate، borate، citrate، glycine، histidine أو succinate.

10 C128: التركيبة المولدة للمناعة من C127، يكون مثبت الأس الهيدروجيني هو
histidine.

C129: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C128، حيث تشتمل التركيبة
إضافياً على منشط سطح.

15 C130: التركيبة المولدة للمناعة من C129، حيث ينتقى منشط السطح من المجموعة
المتكونة من esters حمض دهني polyoxyethylene sorbitan، polysorbate-80،
polysorbate-60، polysorbate-40، polysorbate-20، و polyoxyethylene alkyl
ethers.

C131: التركيبة المولدة للمناعة من C130، حيث يكون منشط السطح هو
polysorbate-80.

20 C132: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C131، حيث تشتمل التركيبة
إضافياً على مادة مسوغة.

C133: التركيبة المولدة للمناعة من C132، حيث تنتقى المادة المسوغة من المجموعة
المتكونة من النشا، جلوكوز، لاكتوز، sucrose، trehalose، raffinose، stachyose،

، melezitose ، dextran ، mannitol ، lactitol ، palatinit ، جيلاتين ، malt ، أرز ، دقيق ،
طباشير ، هلام السليكا ، sodium stearate ، glycerol monostearate ، تالك ، glycine ،
lysine ، arginine ، كلوريد الصوديوم (NaCl) ، حليب مقشود مجفف ، glycerol ، propylene
glycol ، ماء ، و ethanol

5 C134: التركيبة المولدة للمناعة من C133، حيث تكون المادة المسوغة هي كلوريد
الصوديوم.

C135: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C134، حيث تشتمل التركيبة
إضافياً على مادة مساعدة.

10 C136: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C135، حيث تكون المادة المساعدة
المهتمة على الألومنيوم هي مادة مساعدة معتمدة على ألومنيوم أو QS-21.

C137: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C136، حيث تنتقى المادة المساعدة
من المجموعة المتكونة من فوسفات الألومنيوم، aluminum hydroxyl phosphate،
و aluminum hydroxide.

15 C138: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C137، حيث تكون المادة المساعدة
هي فوسفات الألومنيوم.

C139: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C138، حيث تكون المادة المساعدة
هي aluminum hydroxyl phosphate.

20 C140: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C139، حيث تشتمل التركيبة
على مثبت أس هيدروجيني، منشط سطح، مادة مسوغة، واختيارياً مادة مساعدة، حيث يتم عزل
التركيبة إلى أس هيدروجيني حوالي 6 إلى حوالي 7.

C141: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C140، حيث تشتمل التركيبة
على histidine ، polysorbate-80 ، كلوريد صوديوم، واختيارياً فوسفات الألومنيوم، حيث تعزل
التركيبة إلى أس هيدروجيني حوالي 6 إلى حوالي 7.

C142: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C141، حيث تشتمل التركيبة على حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 25 مللي جزيئي جرامي من histidine، حوالي 0.01% إلى حوالي 0.03% (حجم/ وزن) من polysorbate-80، حوالي 10 مللي جزيئي جرامي إلى حوالي 250 مللي جزيئي جرامي من كلوريد الصوديوم، واختيارياً حوالي 0.25 مجم/ مليلتر إلى حوالي 0.75 مجم/ مليلتر من الألومنيوم مثل فوسفات الألومنيوم. 5

C143: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C142، حيث تشتمل التركيبة على جرعة بمقدار حوالي 5 ميكروجرام/ مليلتر إلى حوالي 50 ميكروجرام/ مليلتر.

C144: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C143، حيث تكون التركيبة مجفدة، اختيارياً في وجود مادة مسوغة واحدة على الأقل.

C145: التركيبة المولدة للمناعة من C144، حيث تتنقى المادة المسوغة الواحدة على الأقل من المجموعة المتكونة من النشا، جلوكوز، لاکتوز، sucrose، trehalose، raffinose، malt، palatinit، lactitol، mannitol، dextran، melezitose، stachyose، أرز، دقيق، طباشير، هلام السليكا، sodium stearate، glycerol monostearate، تالك، glycine، arginine، lysine، كلوريد الصوديوم (NaCl)، حليب مقشود مجفف، glycerol، propylene glycol، ماء، و ethanol. 10 15

C146: التركيبة المولدة للمناعة من C145، تكون المادة المسوغة الواحدة على الأقل هي sucrose.

C147: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C144-C146، حيث تشتمل التركيبة على حوالي 1% (وزن/ حجم) إلى حوالي 10% (وزن/ حجم) من المادة المسوغة الواحدة على الأقل. 20

C148: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C144-C147، حيث تشتمل التركيبة على مادة مسوغة إضافية.

C149: التركيبة المولدة للمناعة من C148، حيث تكون المادة المسوغة الإضافية هي mannitol أو glycine.

C150: التركيبة المولدة للمناعة من C148 أو C149، حيث تشتمل التركيبة على حوالي 1% (وزن/ حجم) إلى حوالي 10% (وزن/ حجم) من المادة المسوغة الإضافية.

5 C151: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C143-C150، حيث تتم إعادة تشكيل التركيبة مع الماء، الماء للحقن (water for injection) (WFI)، معلق مساعد، أو محلول ملحي.

C152: تركيبة مولدة للمناعة من أي واحد من C67-C151، للاستخدام كدواء.

10 C153: تركيبة مولدة للمناعة من أي واحد من C67-C152 للاستخدام في طريقة لحث استجابة مناعية مقابل GBS في كائن.

C154: التركيبة المولدة للمناعة من C153، حيث يكون الكائن هو أنثى تخطط للحمل أو أنثى حامل.

C155: التركيبة المولدة للمناعة من C154، حيث تكون الأنثى الحامل في النصف الثاني من حملها.

15 C156: التركيبة المولدة للمناعة من C155، حيث تكون الأنثى الحامل في 20 أسبوع على الأقل من فترة الحمل.

C157: التركيبة المولدة للمناعة من C156، حيث تكون الأنثى الحامل في 27 أسبوع أو 36 أسبوع من فترة الحمل.

20 C158: التركيبة المولدة للمناعة من C157، حيث الكائن هو شخص بالغ يبلغ من العمر 50 عام أو أكبر.

C159: التركيبة المولدة للمناعة من C158، حيث الكائن هو شخص بالغ يبلغ من العمر 65 عام أو أكبر.

C160: التركيبة المولدة للمناعة من C159، حيث الكائن هو شخص بالغ يبلغ من العمر 85 عام أو أكبر.

C161: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C153-C160، حيث يكون الكائن منقوص المناعة.

5 C162: التركيبة المولدة للمناعة من C161، حيث يكون للكائن ظروف طبية منتقاة من المجموعة المتكونة من البدانة، مرض السكري، الإصابة بعدوى HIV، السرطان، مرض وعائي قلبي، أو مرض كبدي.

C163: التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C153-C162، حيث تكون المكورة العقدية من المجموعة (ب) هي العقدية اللبينية.

10 C164: طريقة لحث استجابة مناعية ضد مكورة عقدية من المجموعة (ب) تشمل إعطاء كائن كمية فعالة من التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C150-C67.

C165: طريقة لمنع أو الحد من مرض أو حالة تصاحب مكورة عقدية من المجموعة (ب) في كائن تشمل إعطاء كمية فعالة لكائن من التركيبة المولدة للمناعة من C151-C67.

15 C166: الطريقة من C164 أو C165، حيث يكون الكائن هو أنثى تخطط للحمل أو أنثى حامل.

C167: الطريقة من C166، حيث تكون الأنثى الحامل في النصف الثاني من حملها.

C168: الطريقة من C166 أو C167، حيث تكون الأنثى الحامل في 20 أسبوع على الأقل من فترة الحمل.

20 C169: الطريقة من أي واحد من C166-C168، حيث تكون الأنثى الحامل في 27 أسبوع إلى 36 أسبوع من فترة الحمل

C170: الطريقة من C164 أو C165، حيث الكائن هو شخص بالغ يبلغ من العمر 50 عام أو أكبر.

C171: الطريقة من C170، حيث الكائن هو شخص بالغ يبلغ من العمر 65 عام أو أكبر.

C172: الطريقة من C170 أو C171، حيث الكائن هو شخص بالغ يبلغ من العمر 85 عام أو أكبر.

5 C173: الطريقة من أي واحد من C164-C172، حيث يكون الكائن منقوص المناعة.

C174: الطريقة من C173، حيث يكون للكائن ظروف طبية منتقاة من المجموعة المتكونة من البدانة، مرض السكري، الإصابة بعدوى HIV، السرطان، مرض وعائي قلبي، أو مرض كبد.

10 C175: الطريقة من أي واحد من C164-C174، حيث تكون المكورة العقدية من المجموعة (ب) هي العقدية اللبينية.

C176: جسم مضاد يرتبط مع عديد سكاريد كبسولي في التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C1-C49 أو C66.

C177: تشمل التركيبة جسم مضاد من C176.

15 C178: طريقة لإنتاج جسم مضاد مشتمل على إعطاء التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C151 إلى كائن.

C179: جسم مضاد منتج بواسطة الطريقة من C178.

C180: طريقة منح مناعة سلبية لكائن تشمل الخطوات:

(أ) توليد مستحضر جسم مضاد باستخدام التركيبة المولدة للمناعة من أي واحد من C67-C151؛ و

20 (ب) إعطاء مستحضر الجسم المضاد للكائن لمنح المناعة السلبية.

C181: طرق لصنع مقارنات عديد سكاريد - بروتين مولدة للمناعة من أي واحد من C1-C49 أو C66 تشمل الخطوات:

- (أ) تفاعل عديد سكاريد كبسولي GBS مع عامل مؤكسد ينتج عديد سكاريد منشط؛ و
(ب) تفاعل عديد السكاريد المنشط مع البروتين الحامل الذي يؤدي إلى مقارن عديد سكاريد - بروتين. 5

C182: الطريقة من C181، حيث تُجرى الخطوة (ب) في مذيب لا بروتوني قطبي.

C183: الطريقة من C182، ينتقى المذيب من المجموعة المتكونة من dimethylformamide (DMF)، sulfolane، dimethylsulfoxide (DMSO)، و hexamethylphosphoramide (HMPA).

C184: الطريقة من C183، حيث يكون المذيب هو dimethylsulfoxide (DMSO). 10

C185: الطريقة من أي واحد من C181-C184، حيث يتفاعل عديد السكاريد مع 0.01 إلى 10 مكافئات جزيئية جرامية من العامل المؤكسد.

C186: الطريقة من أي واحد من C181-C185، حيث يكون العامل المؤكسد هو periodate.

C187: الطريقة من C186، حيث يكون periodate هو sodium periodate. 15

C188: الطريقة من أي واحد من C181-C187، حيث يكون تفاعل الأكسدة للخطوة (أ) بين ساعة و50 ساعة.

C189: الطريقة من أي واحد من C181-C188، حيث تظل درجة حرارة تفاعل الأكسدة بين حوالي 2° مئوية وحوالي 25° مئوية

C190: الطريقة من أي واحد من C181-C189، حيث يُجرى تفاعل الأكسدة في مثبت أس هيدروجيني منتقى من المجموعة المتكونة من فوسفات الصوديوم، فوسفات البوتاسيوم، -2 (N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES)، و Bis-Tris. 20

C191: الطريقة من C190، حيث يكون لمثبت الأس الهيدروجيني تركيز بين حوالي 1 مللي جزئي جرامي وحوالي 500 مللي جزئي جرامي.

C192: الطريقة من أي واحد من C181-C191، حيث يُجرى تفاعل الأكسدة عند أس هيدروجيني بين حوالي 4 وحوالي 8.

5 C193: الطريقة من C181، حيث يكون العامل المؤكسد هو 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (TEMPO).

C194: الطريقة من C193، حيث يكون N-chlorosuccinimide (NCS) مؤكسد تساهمي.

10 C195: الطريقة من أي واحد من C181-C194، حيث تشتمل إضافيا الخطوة (أ) على إخماد تفاعل الأكسدة بإضافة عامل إخماد.

C196: الطريقة من أي واحد من C182-C195، حيث يكون تركيز عديد السكاريد بين حوالي 0.1 مجم/ مليلتر وحوالي 10 مجم/ مليلتر.

C197: الطريقة من أي واحد من C181-C196، حيث تكون درجة أكسدة عديد السكاريد المنشط بين 5 و25.

15 C198: الطريقة من أي واحد من C181-C197، حيث تشتمل الطريقة إضافياً على خطوة تجفيد عديد السكاريد المنشط.

C199: الطريقة من C188، حيث يتم تجفيد عديد السكاريد المنشط في وجود سكاريد مننقى من المجموعة المتكونة من sucrose، trehalose، raffinose، stachyose، lactitol، mannitol، dextran، melezitose و palatinit.

20 C200: الطريقة من أي واحد من C181-C199، حيث تشتمل الخطوة (ب) على:

(1) تركيب عديد السكاريد المنشط مع بروتين حامل، و

(2) تفاعل عديد السكاريد المنشط المركب والبروتين الحامل مع عامل اختزال لتشكيل متقارن عديد سكاريد- بروتين حامل كبسولي GBS.

C201: الطريقة C200، حيث يكون تركيز عديد السكاريد المنشط في الخطوة (2) بين حوالي 0.1 مجم/ مليلتر وحوالي 10 مجم/ مليلتر.

5 C202: الطريقة من C200 أو C201، حيث تكون النسبة المبدئية (الوزن بالوزن) لعدد السكاريد المنشط إلى البروتين الحامل بين 1:5 و 1:0.1.

C203: الطريقة من أي واحد من C200-C202، حيث ينتقى عامل الاختزال من المجموعة المتكونة من sodium triacetoxymborohydride، sodium cyanoborohydride، sodium borohydride أو zinc borohydride في وجود Lewis أو Bronsted acids أو 2,6-diborane-methanol، 2-picoline borane، pyridine borane، acids 10 dimethylamine-borane، t-BuMeiPrN-BH3، benzylamine-BH3 أو 5-ethyl- 2-methylpyridine borane (PEMB).

C204: الطريقة من C203، حيث يكون عامل الاختزال هو sodium cyanoborohydride.

15 C205: الطريقة من أي واحد من C200-C204، حيث تكون كمية عامل الاختزال بين حوالي 0.1 وحوالي 10 مكافئات جزيئية جرامية.

C206: الطريقة من أي واحد من C200-C205، حيث تكون مدة تفاعل الاختزال من الخطوة (2) بين ساعة و 60 ساعة.

C207: الطريقة من أي واحد من C200-C206، حيث تظل درجة حرارة تفاعل الاختزال بين 10° مئوية و 40° مئوية. 20

C208: الطريقة من أي واحد من C181-C207، حيث تشتمل الطريقة إضافيا على خطوة (الخطوة ج)) تغطية aldehyde غير متفاعل بإضافة borohydride.

C209: الطريقة من C208، حيث تكون كمية borohydride بين حوالي 0.1 وحوالي 10 مكافئات جزيئية جرامية.

C210: الطريقة من C208، حيث ينتقى borohydride من المجموعة المتكونة من lithium، sodium cyanoborohydride، sodium borohydride (NaBH₄)، tetraethylammonium borohydride، potassium borohydride، borohydride 5، calcium borohydride و magnesium borohydride.

C211: الطريقة من C292، حيث يكون borohydride هو sodium borohydride (NaBH₄).

C212: الطريقة من أي واحد من C207-C211، حيث تكون مدة خطوة التغطية بين 0.1 ساعة و 10 ساعات. 10

C213: الطريقة من أي واحد من C207-C212، حيث تظل درجة حرارة خطوة التغطية بين حوالي 15° مئوية وحوالي 45° مئوية.

C214: الطريقة من أي واحد من C181-C213، حيث تشتمل الطريقة إضافياً على خطوة تنقية متقارن عديد سكاريد - بروتين.

C215: الطريقة من أي واحد من C181-C214، حيث يشتمل متقارن عديد سكاريد - بروتين على أقل من حوالي 40% من عديد سكاريد حر بالمقارنة مع إجمالي كمية عديد السكاريد. 15

C216: الطريقة من أي واحد من C181-C215، حيث تكون نسبة (الوزن بالوزن) عديد السكاريد إلى البروتين الحامل في المتقارن بين حوالي 0.5 وحوالي 3.

C217: الطريقة من أي واحد من C181-C216، حيث تكون درجة تقارن المتقارن بين 2 و 15. 20

C218: طريقة لصنع متقارن عديد سكاريد - بروتين تشمل الخطوات:

(أ) تفاعل عديد سكاريد كبسولي GBS مع عامل مؤكسد؛

(ب) إخماد تفاعل الأكسدة من الخطوة (أ) بإضافة عامل إخماد مما يؤدي إلى إنتاج عديد سكاريد كبسولي GBS منشط؛

(ج) تركيب عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط مع بروتين حامل،

(د) تفاعل عديد السكاريد الكبسولي GBS المنشط المركب والبروتين الحامل مع عامل

5 اختزال لتشكيل متقارن عديد سكاريد- بروتين حامل كبسولي GBS، و

(هـ) تغطية aldehyde غير المتفاعل بإضافة sodium borohydride (NaBH_4).

حيث تُجرى الخطوات (ج) و(د) في DMSO.

عناصر الحماية

1- تركيبة مولدة للمناعة مشتملة على مقارنات عديد سكاريد- بروتين حيث تشمل المقارنات عديد سكاريد كبسولي من أنماط مصلية la، lb، II، III، IV و V من مكورات عقدية من مجموعة ب (group B streptococcus) (GBS)، حيث البروتين الحامل هو CRM197، وحيث يكون لكل من عديد السكاريدات الكبسولية مستوى sialic acid أكبر من 60%.

5

2- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث يكون لعديد السكاريدات الكبسولية على الأقل 0.6، 0.65، 0.7، 0.75، 0.8، 0.85، 0.9، أو 0.95 مللي جزيئي جرامي من sialic acid لكل مللي جزيئي جرامي من عديد السكاريد.

10 3- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث يكون لعديد السكاريدات الكبسولية وزن جزيئي بين 5 كيلودالتون و 1,000 كيلودالتون، بين 25 كيلودالتون و 750 كيلودالتون، بين 25 كيلودالتون و 400 كيلودالتون، بين 25 كيلودالتون و 200 كيلودالتون، أو بين 100 كيلودالتون و 400 كيلودالتون.

15 4- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث يكون الوزن الجزيئي للمقارنات بين 300 كيلودالتون و 20,000 كيلودالتون، بين 1,000 كيلودالتون و 15,000 كيلودالتون، أو بين 1,000 كيلودالتون و 10,000 كيلودالتون.

20 5- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي بين صفر % و 40% O-acetylated.

6- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث يكون عديد السكاريد الكبسولي أقل من 5%، أقل من 4%، أقل من 3%، أقل من 2%، أو أقل من 1% O-acetylated.

25 7- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث يكون لعديد السكاريد الكبسولي على الأقل

0.1، 0.2، 0.3، 0.35 أو 0.4 مللي جزيئي جرامي O-acetate لكل مللي جزيئي جرامي من وحدة تكرار سكاريد.

8- تركيبة مولدة للمناعة تشمل مقارنات عديد سكاريد- بروتين، حيث تشتمل المقارنات على عديد سكاريدات كبسولية من نمط مصلي IV من المكورة العقدية من المجموعة ب (group B streptococcus) (GBS) وخمس أنماط مصلية إضافية على الأقل منتقاة من المجموعة المتكونة من الأنماط المصلية la، lb، II، III، IV و V حيث البروتين الحامل هو CRM197، وحيث لكل من من عديد السكاريدات الكبسولية مستوى sialic acid أكبر من 60%.

10 9- تركيبة مولدة للمناعة مشتملة على ستة مقارنات عديد سكاريد- بروتين المتميزة حيث: (1) يكون عديد السكاريد في كل من المقارنات الستة عبارة عن عديد سكاريد كبسولي منتقى من المجموعة المتكونة من أنماط مصلية la، lb، II، III، IV و V من مكورات عقدية من مجموعة ب (group B streptococcus) (GBS)؛ (2) يكون البروتين في كل مقارن عبارة عن CRM197؛ و (3) يحتوي عديد السكاريد الكبسولي في كل مقارن على مستوى sialic acid أكبر من 60%.

10- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث تشتمل التركيبة إضافياً على مادة مسوغة، مثبت أس هيدروجيني، مادة مثبتة، مادة مساعدة، واق من البرد، ملح، كاتيون ثنائي التكافؤ، مادة منظفة غير أيونية، مثبت أكسدة شق حر، مادة حاملة مقبولين دوائياً أو خليط من ذلك.

11- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 10، حيث تشتمل التركيبة إضافياً على مثبت أس هيدروجيني.

12- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 11، حيث يُنتقى مثبت الأس الهيدروجيني من المجموعة المتكونة من HEPES، PIPES، MES، Tris (trimethamine)، فوسفات، succinate، histidine، glycine، citrate، borate، acetate.

13- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث تشتمل التركيبة إضافياً على منشط سطح.

14- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 13، حيث يُنتقى منشط السطح من المجموعة المتكونة من esters حمض دهني polyoxyethylene sorbitan، polysorbate-80، polysorbate-60، polysorbate-40، polysorbate-20، و polyoxyethylene alkyl ethers.

15- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث تشتمل التركيبة إضافياً على مادة مسوغة.

10

16- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 15، حيث تنتقى المادة المسوغة من المجموعة المتكونة من النشا، جلوكوز، لاكتوز، sucrose، trehalose، raffinose، stachyose، melezitose، dextran، mannitol، lactitol، palatinin، جيلاتين، malt، أرز، دقيق، طباشير، هلام السليكا، sodium stearate، glycerol monostearate، تالك، glycine، lysine، arginine، كلوريد الصوديوم (NaCl)، حليب مقشود مجفف، glycerol، propylene glycol، ماء، و ethanol.

15

17- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث تشتمل التركيبة إضافياً على مادة مساعدة.

18- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 17، حيث تكون المادة المساعدة هي مادة مساعدة تعتمد على ألومنيوم أو QS-21.

20

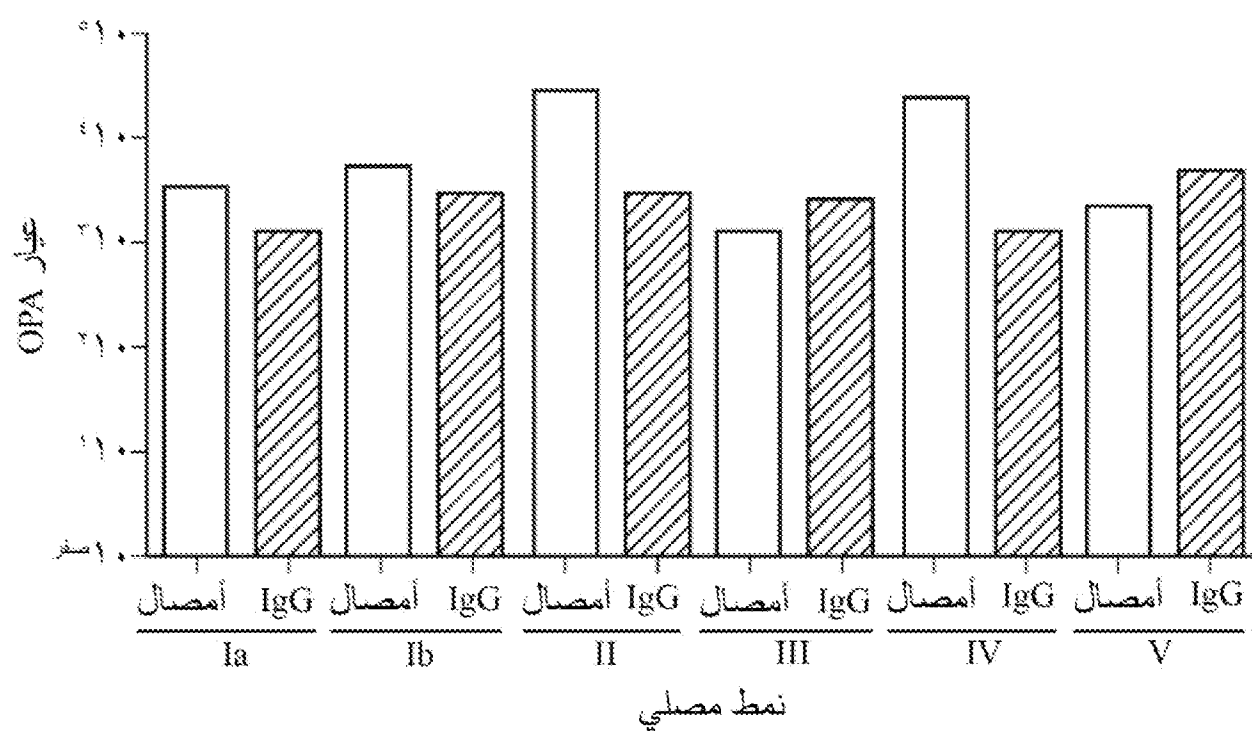
19- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث تشتمل التركيبة على مثبت أس

هيدروجيني، منشط سطح، مادة مسوغة، واختيارياً مادة مساعدة، حيث يتم تثبيت الأس الهيدروجيني

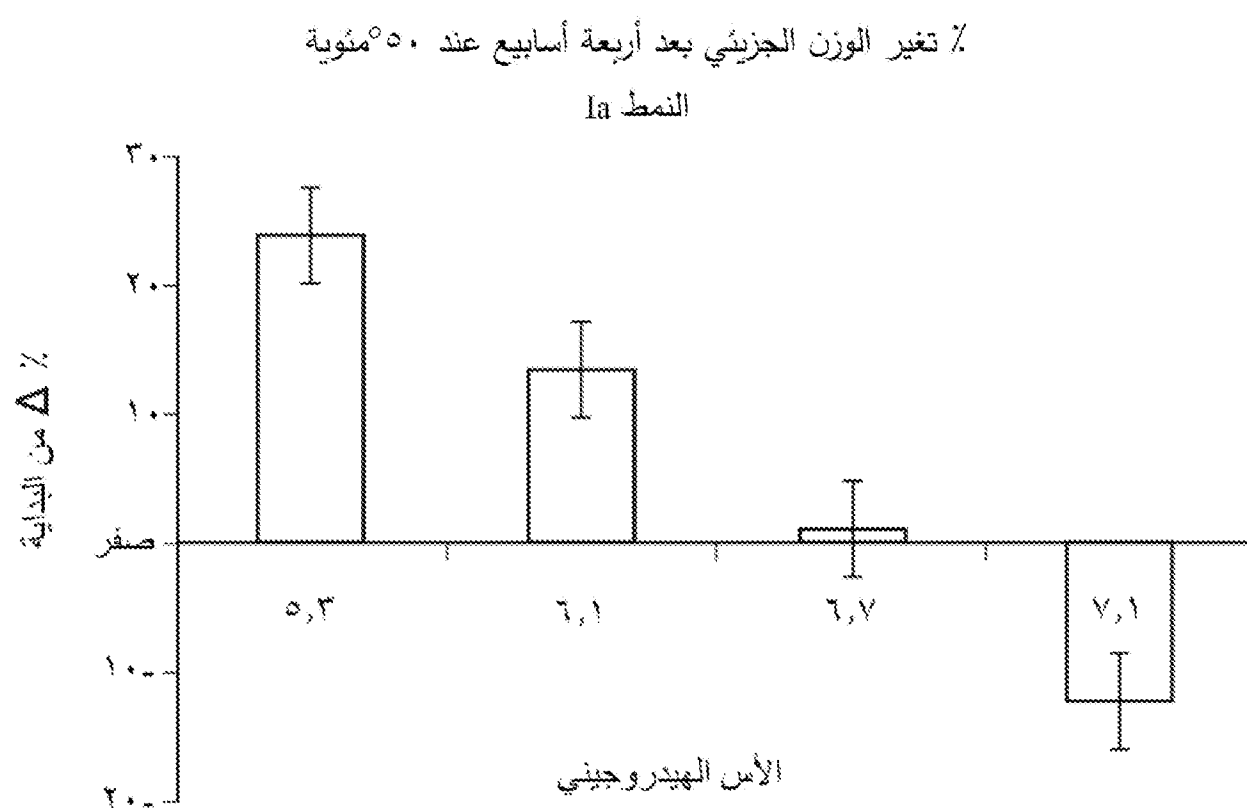
للتريكة إلى أس هيدروجيني من 6.0 إلى 7.0.

25

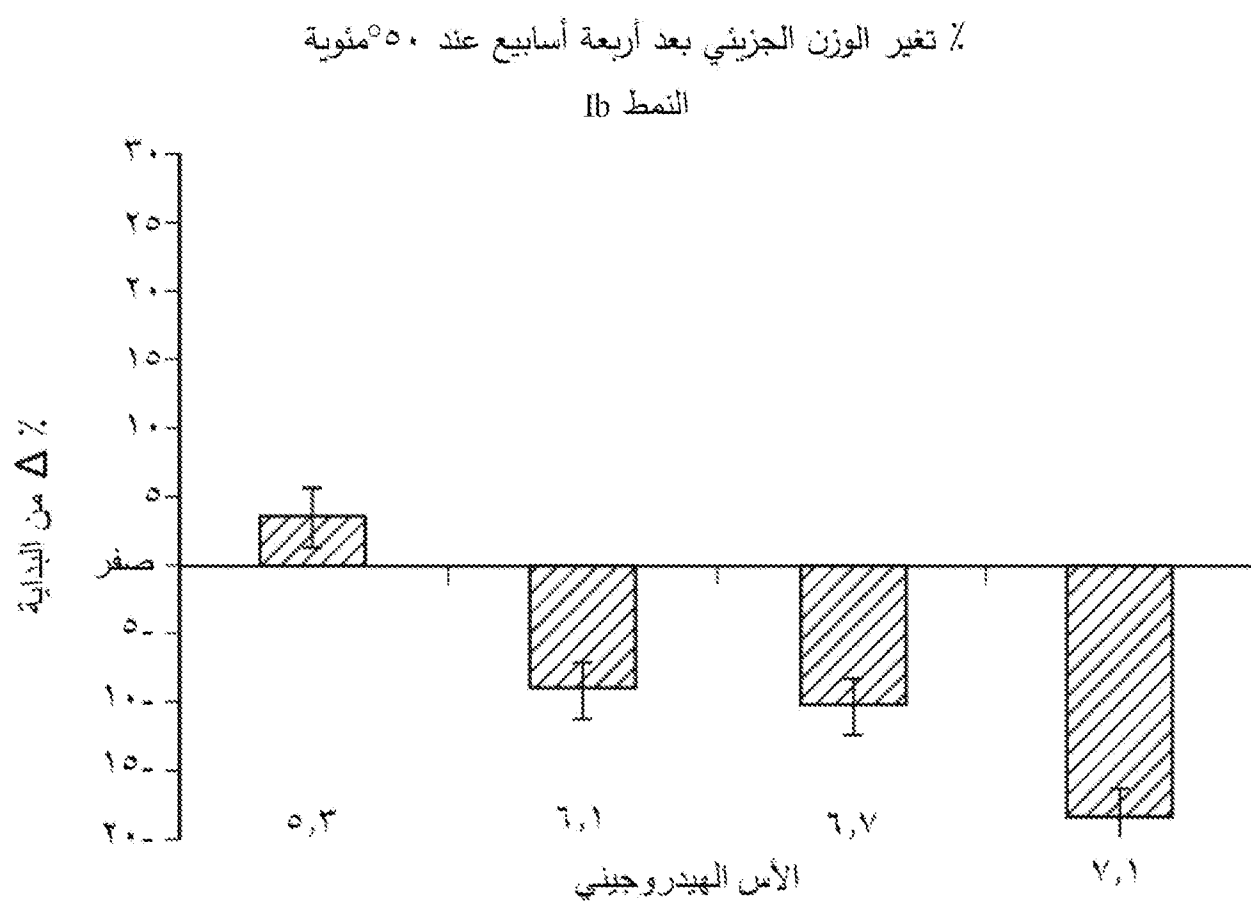
- 20- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث تشتمل التركيبة على جرعة بمقدار 5 ميكروجرام/ مليلتر إلى 50 ميكروجرام/ مليلتر من عديد سكاريد كبسولي لكل نمط مصلي.
- 21- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 1، حيث تكون التركيبة مجفدة، اختياريًا في وجود مادة مسوغة واحدة على الأقل. 5
- 22- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 21، حيث تنتقى المادة المسوغة الواحدة على الأقل من المجموعة المتكونة من النشا، جلوكوز، لاكتوز، sucrose، trehalose، raffinose، stachyose، melezitose، dextran، mannitol، lactitol، palatinit، جيلاتين، malt، أرز، دقيق، طباشير، هلام السليكا، sodium stearate، glycerol monostearate، تالك، glycine، lysine، arginine، كلوريد الصوديوم (NaCl)، حليب مقشود مجفف، glycerol، propylene glycol، ماء، و ethanol. 10
- 23- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 22، حيث تكون المادة المسوغة الواحدة على الأقل هي sucrose. 15
- 24- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 28، حيث تشتمل التركيبة على مادة مسوغة إضافية.
- 25- التركيبة المولدة للمناعة من عنصر الحماية 24، حيث تكون المادة المسوغة الإضافية mannitol أو glycine. 20



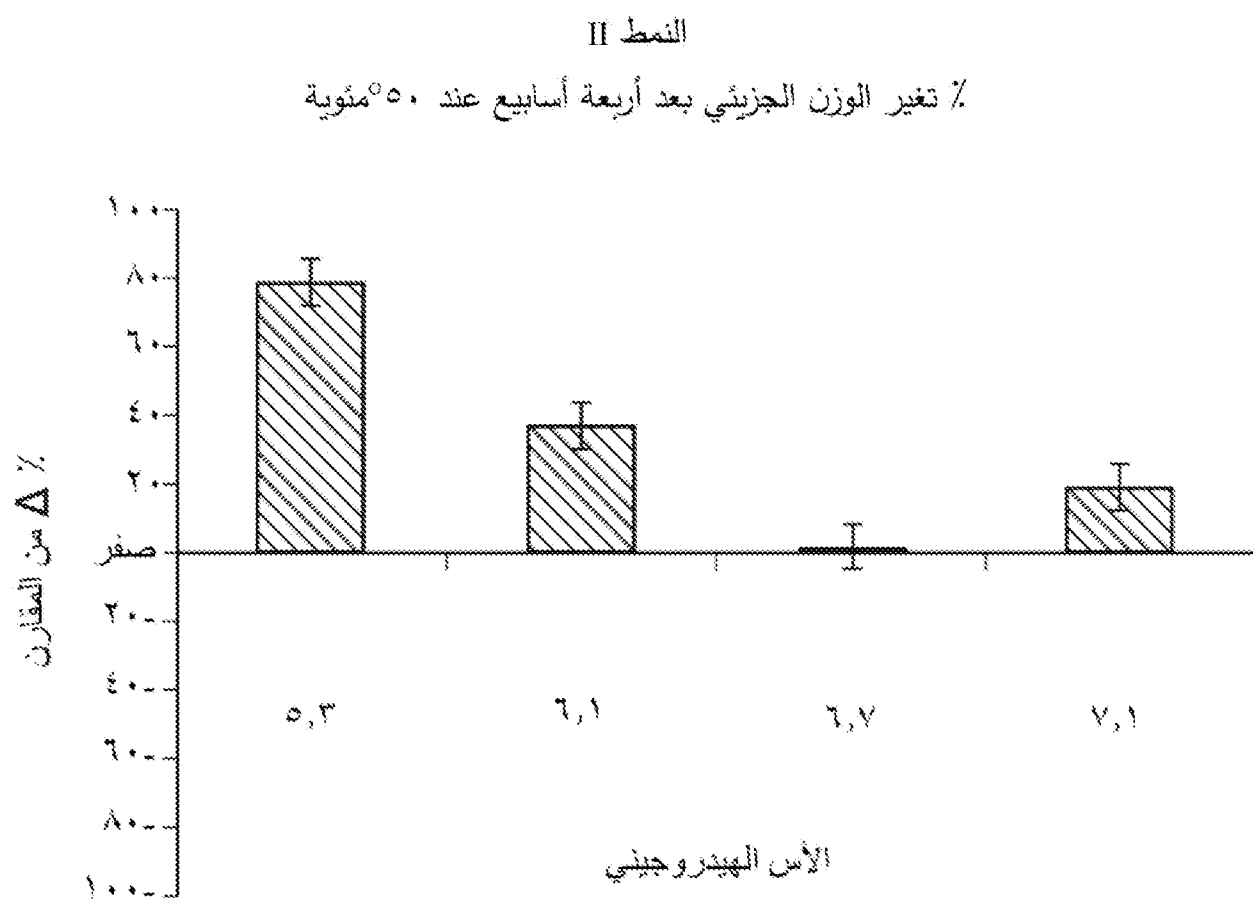
شكل ١



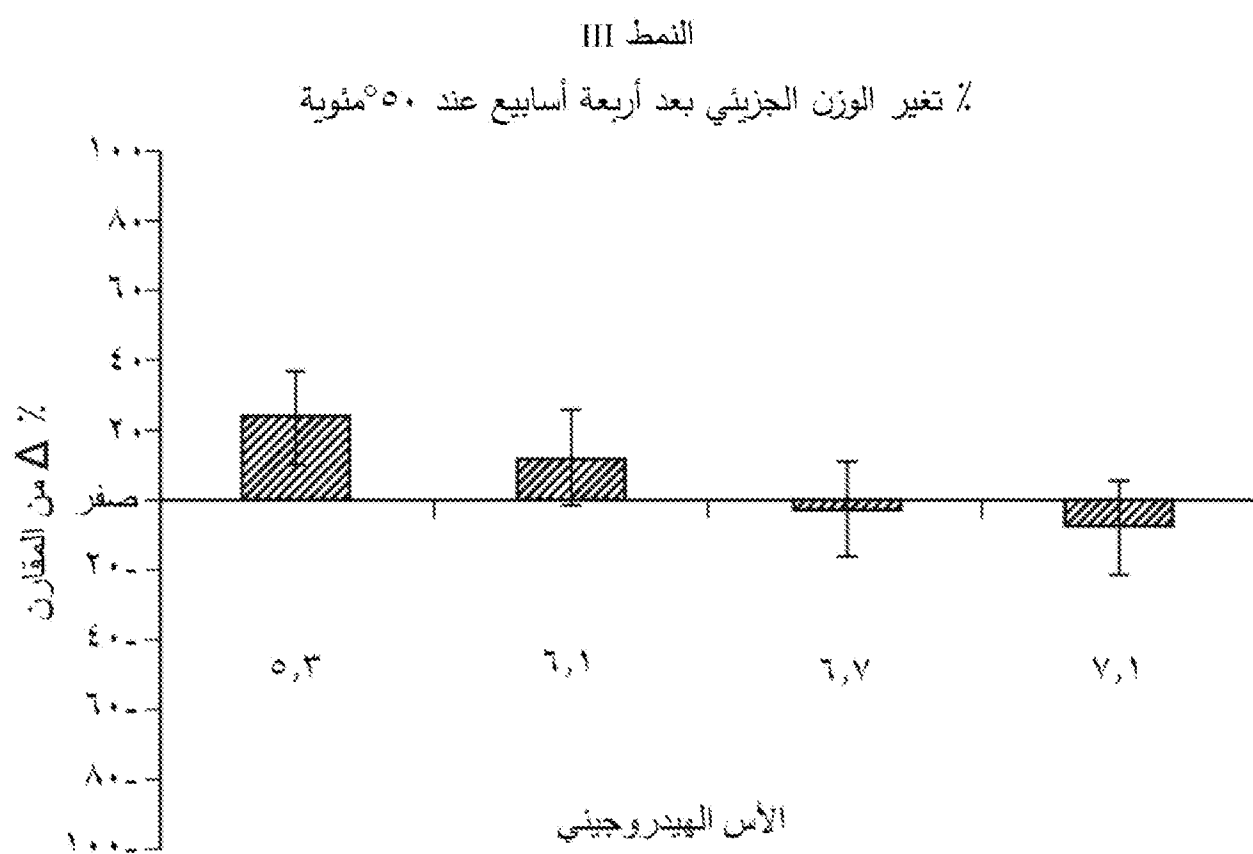
شكل ٢



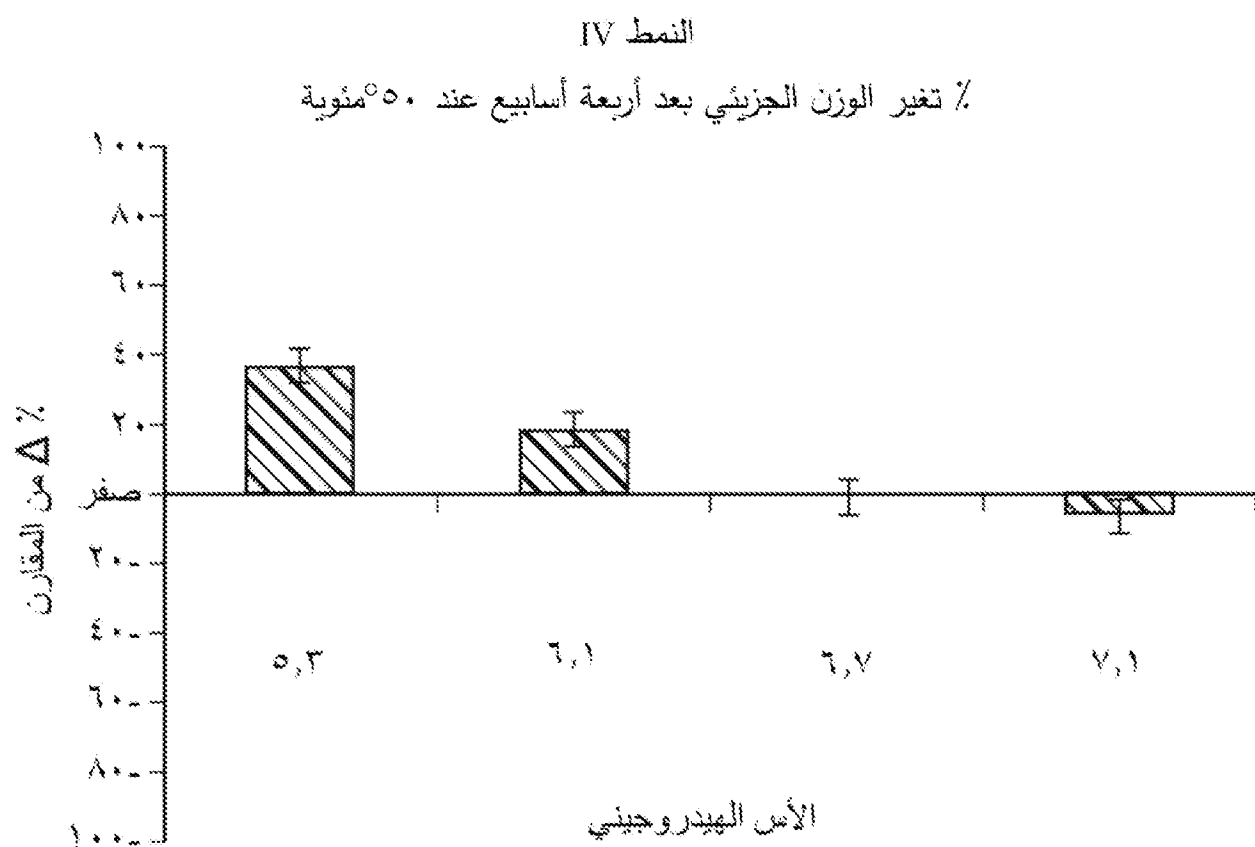
شكل ٣



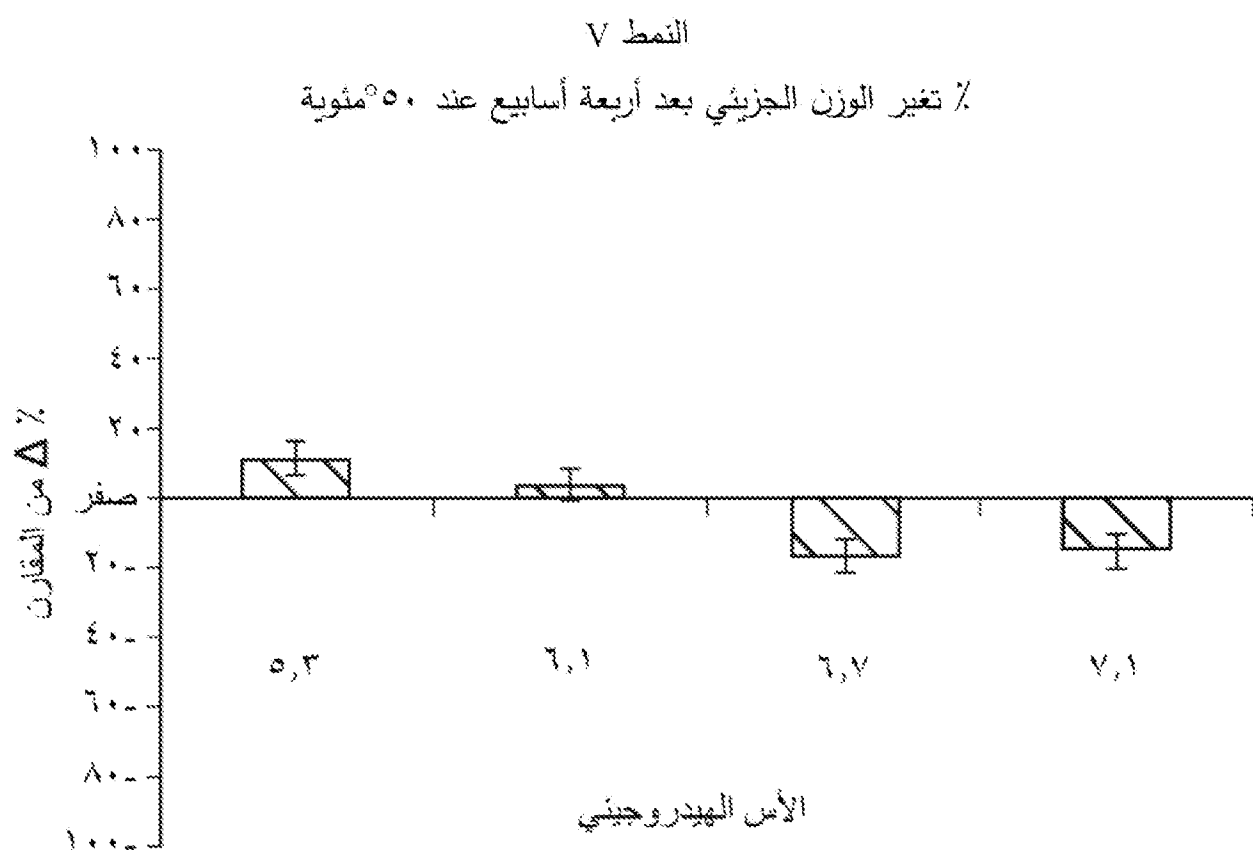
شكل ٤



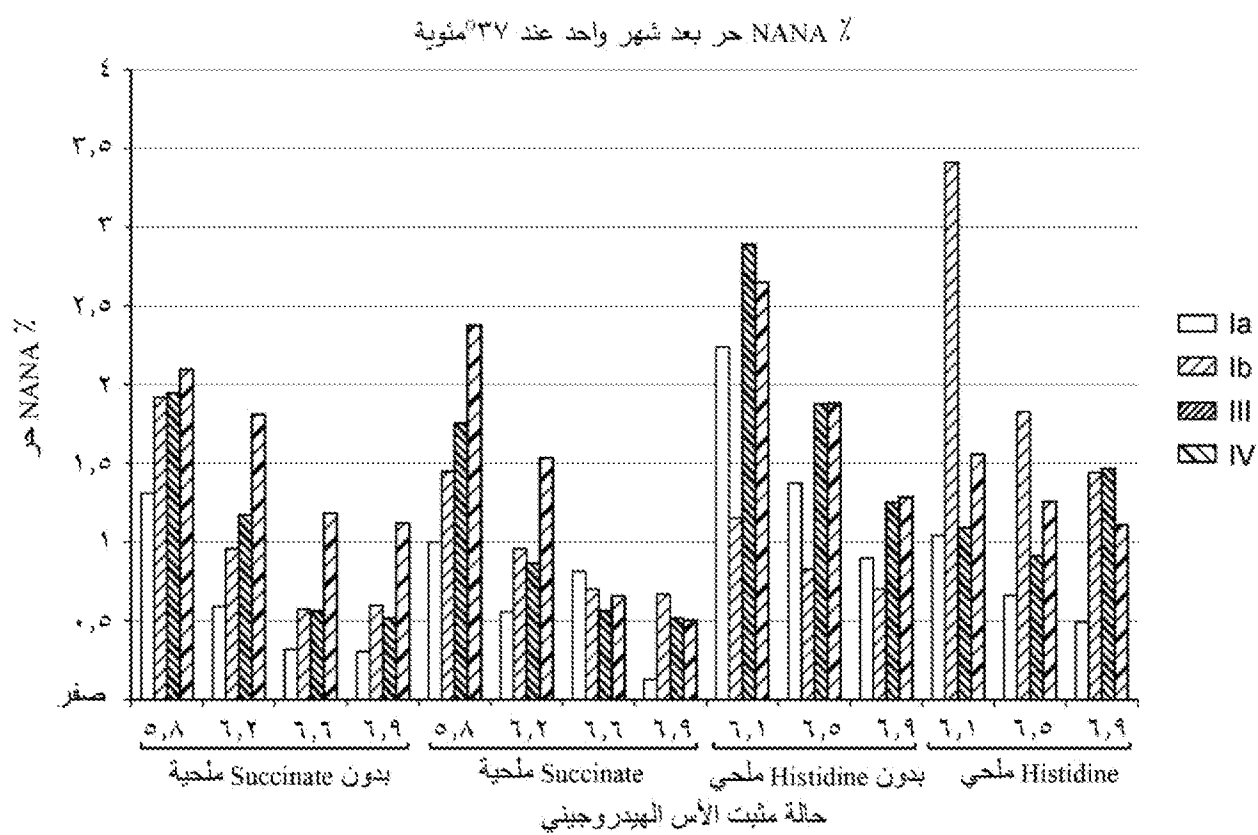
شكل ٥



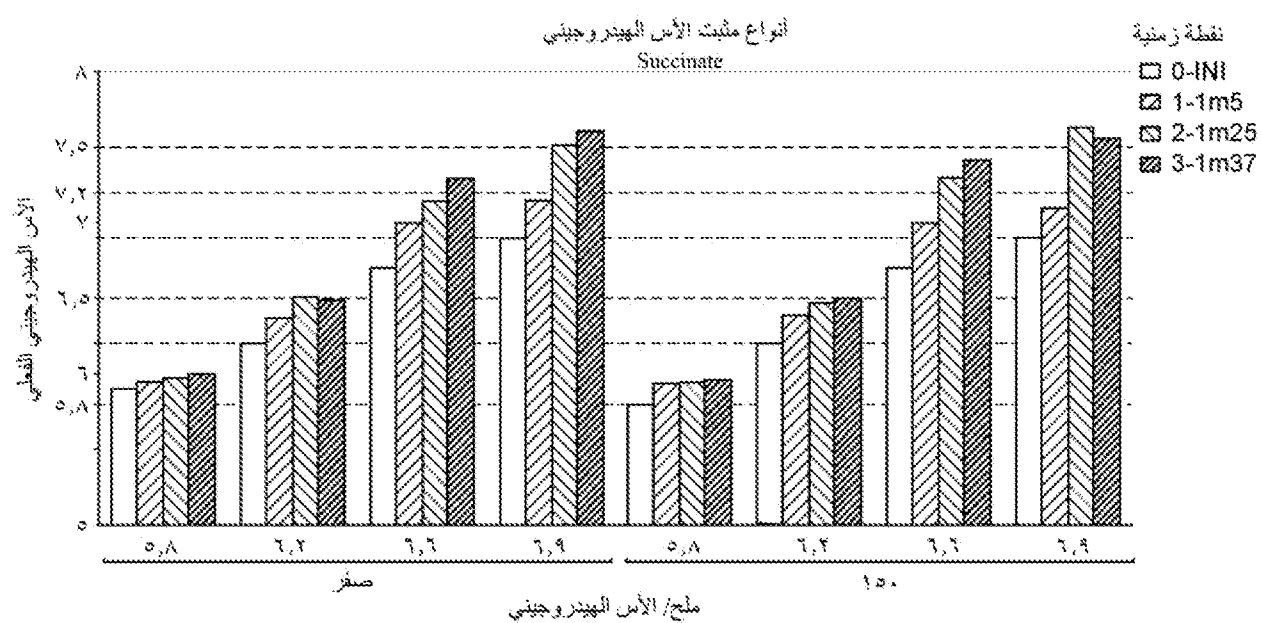
شكل ٦



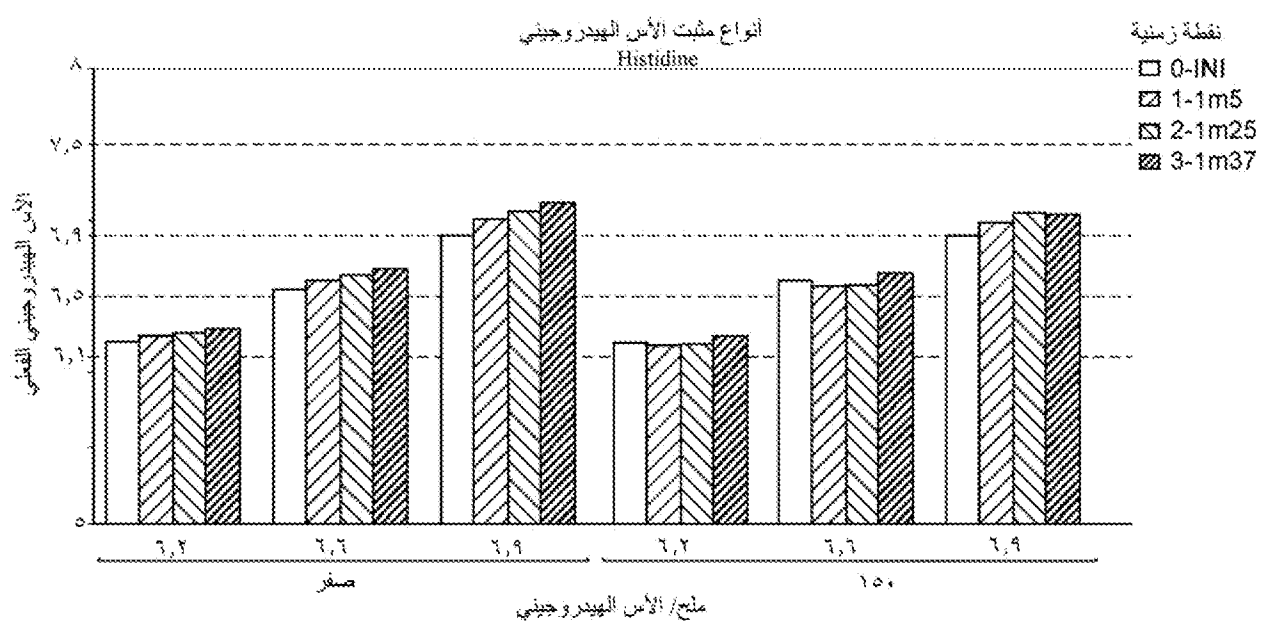
شكل ٧



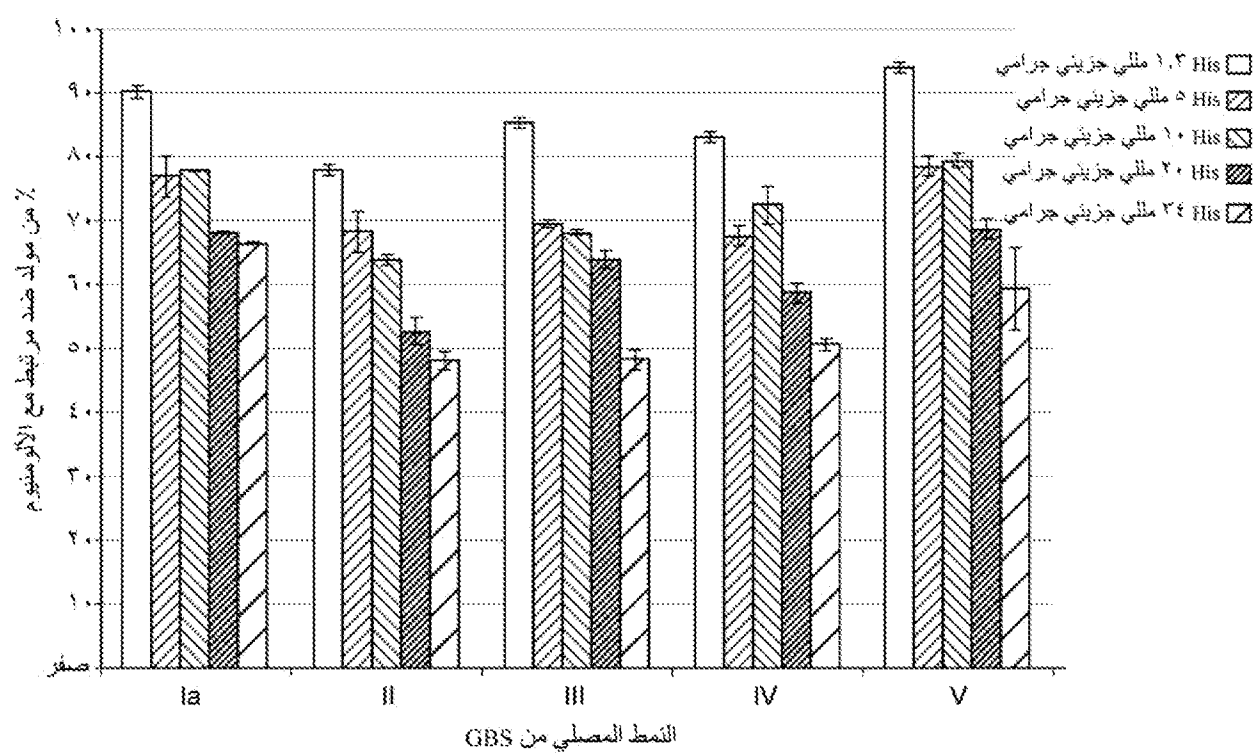
شكل ٨



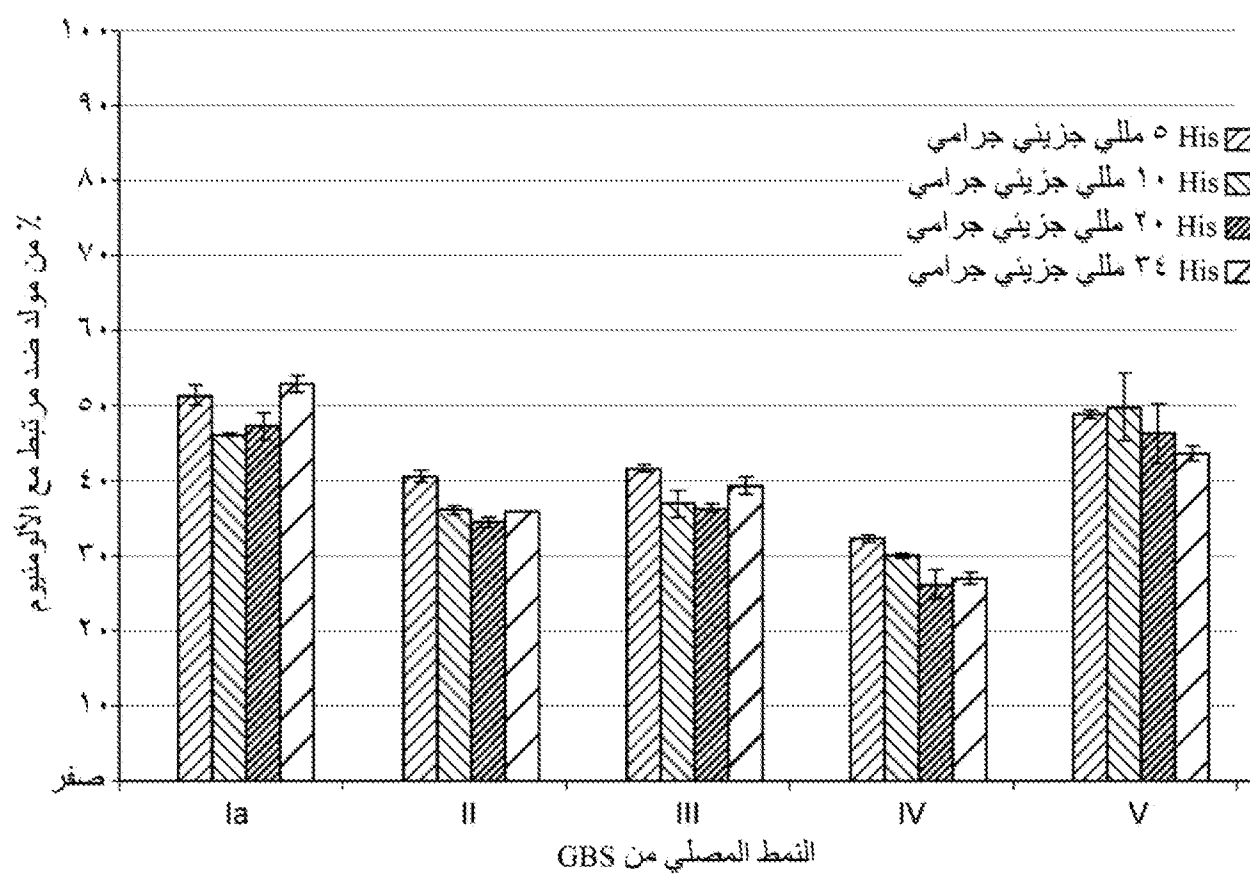
شكل ٩



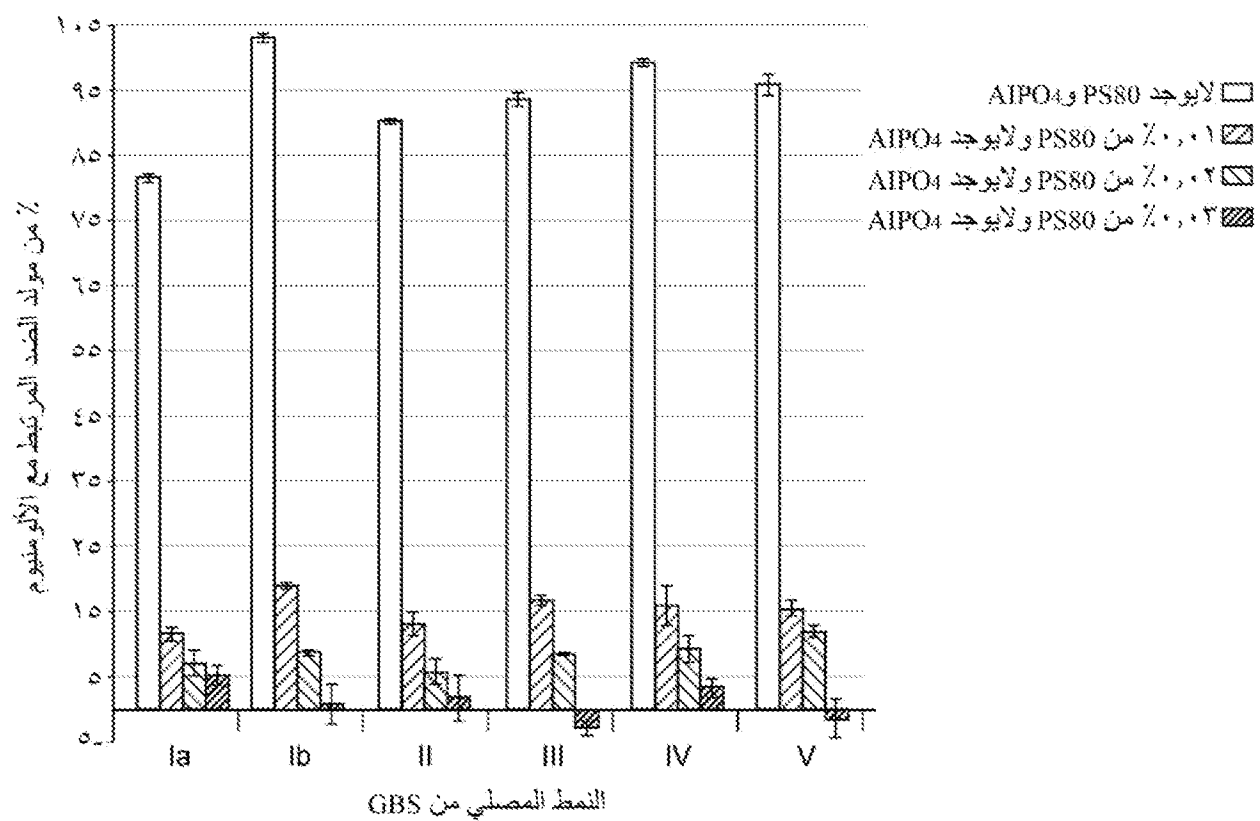
شكل ١٠



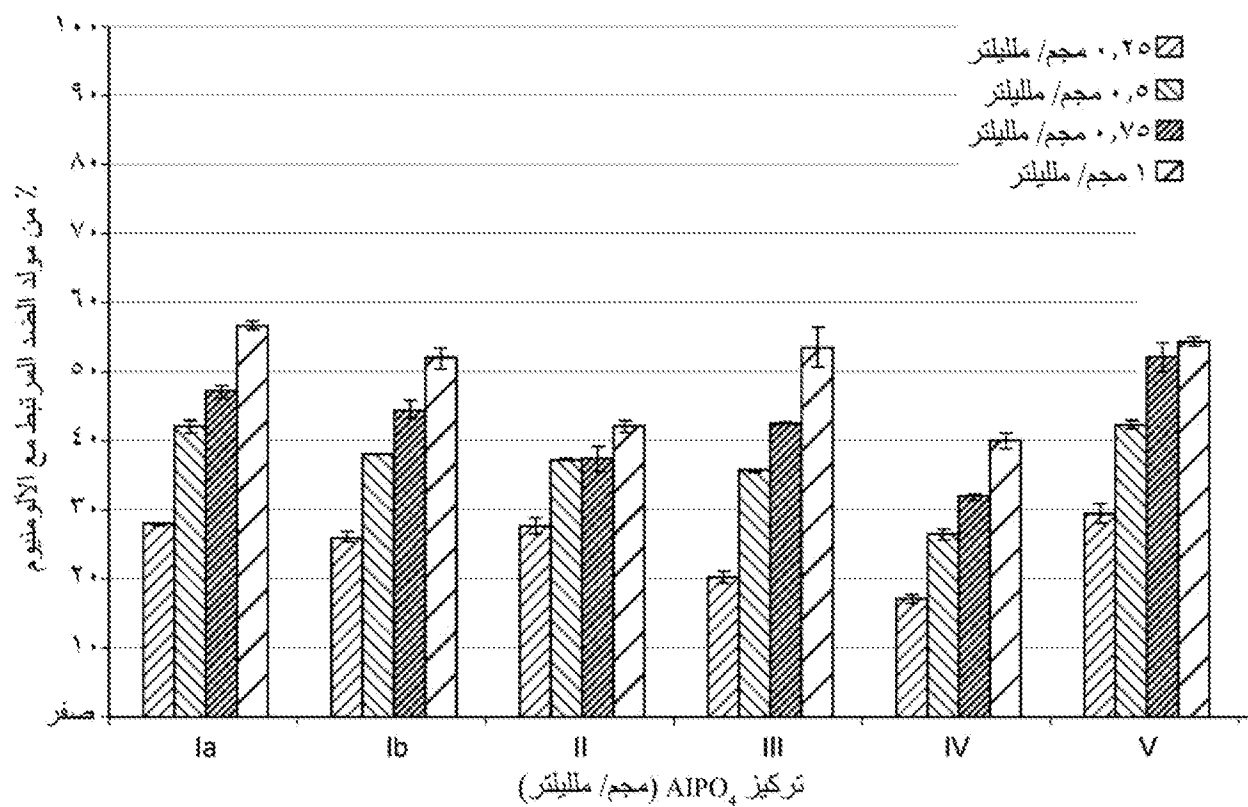
شكل ١١



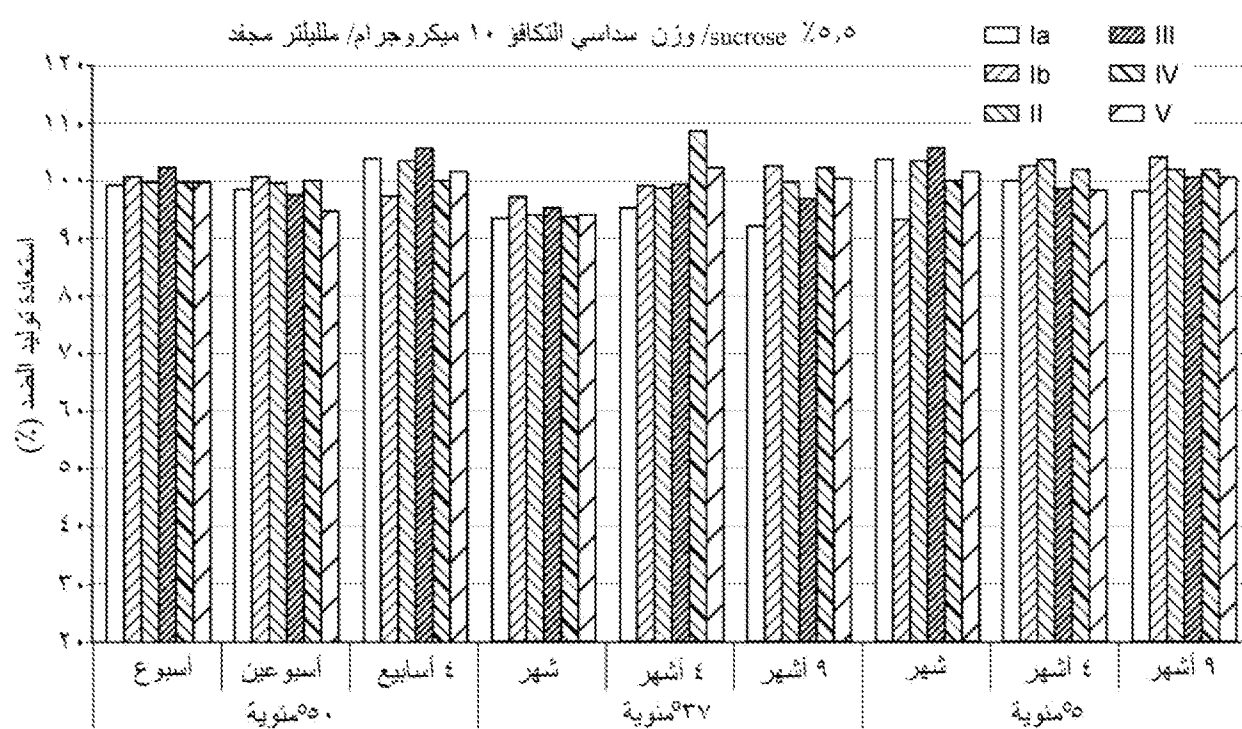
شكل ١٢



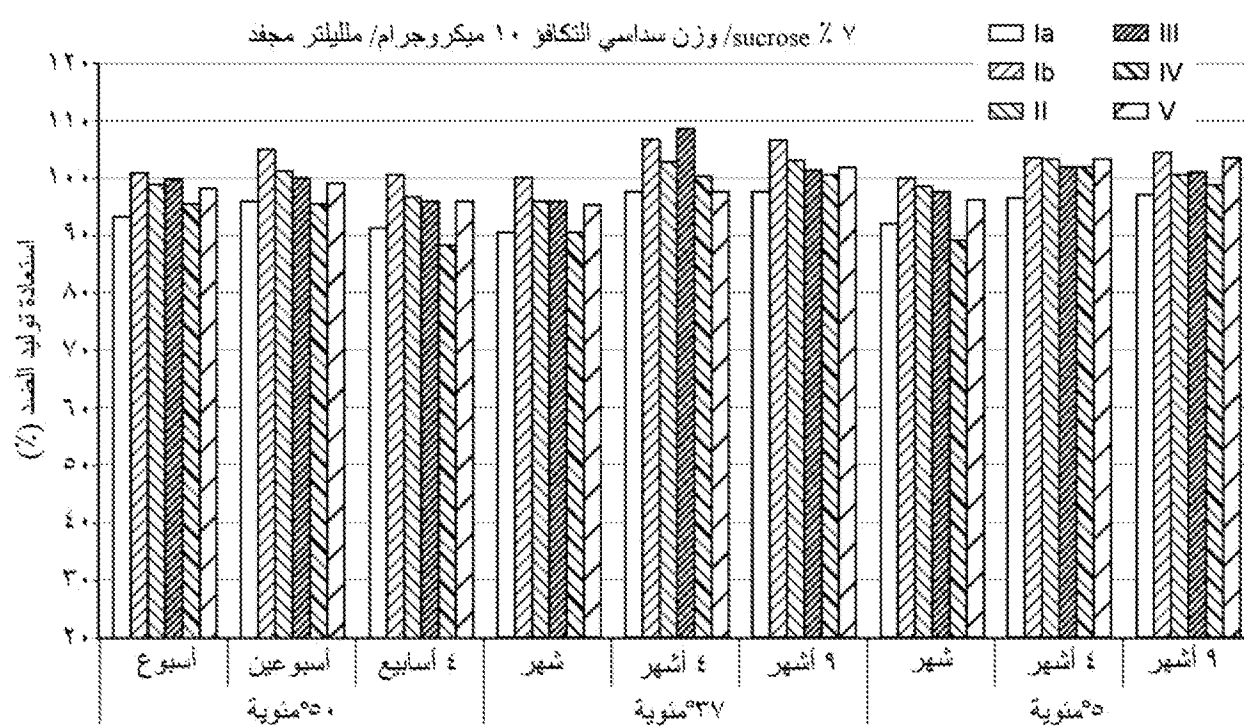
شكل ١٣



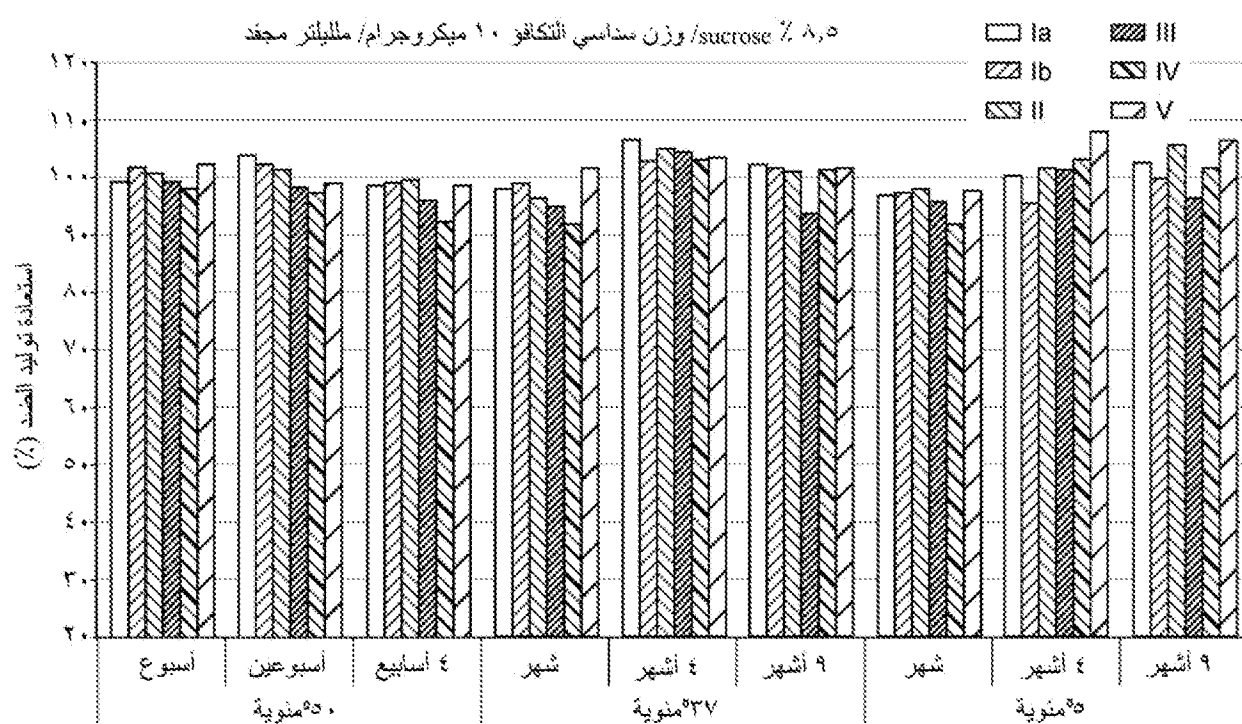
شكل ١٤



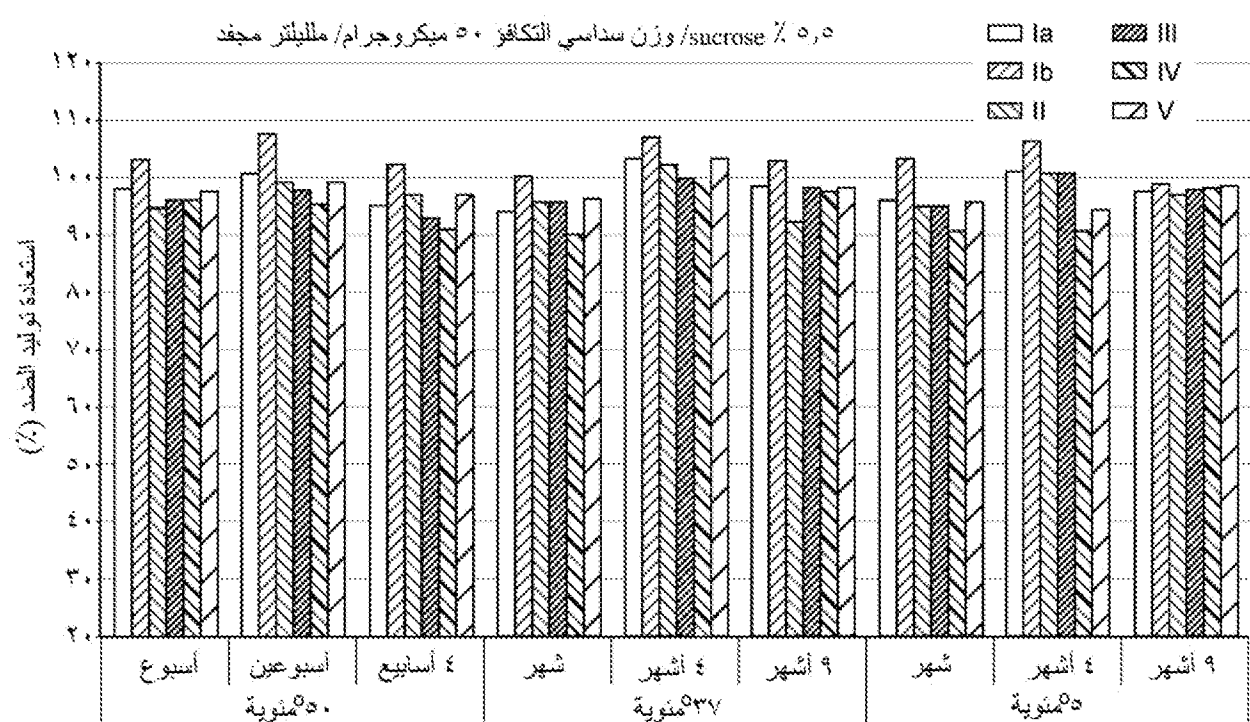
شكل ١٥



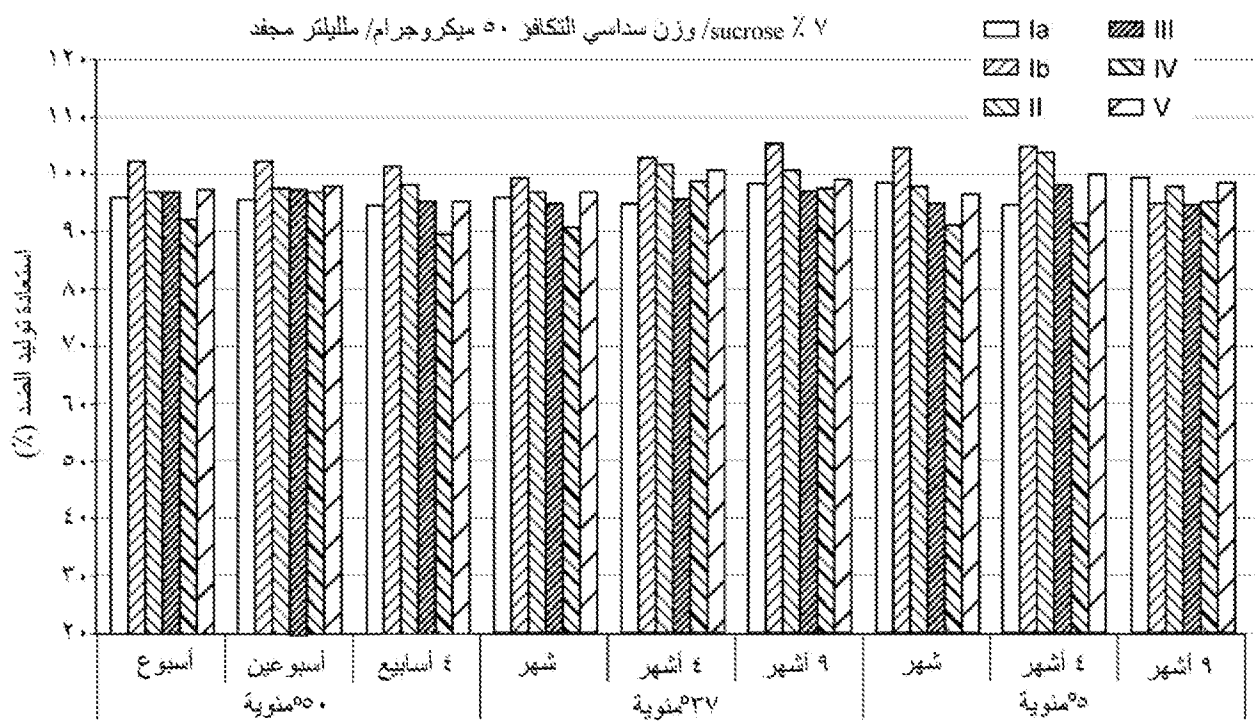
شكل ١٦



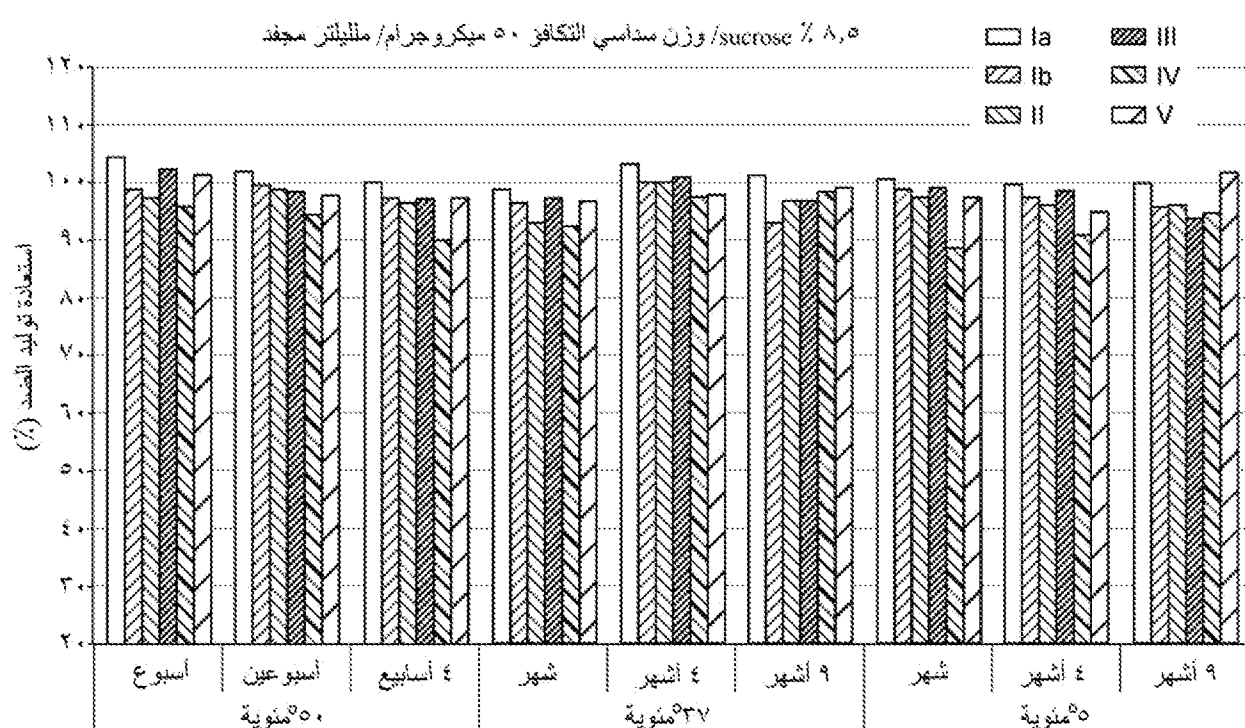
شكل ١٧



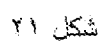
شكل ١٨

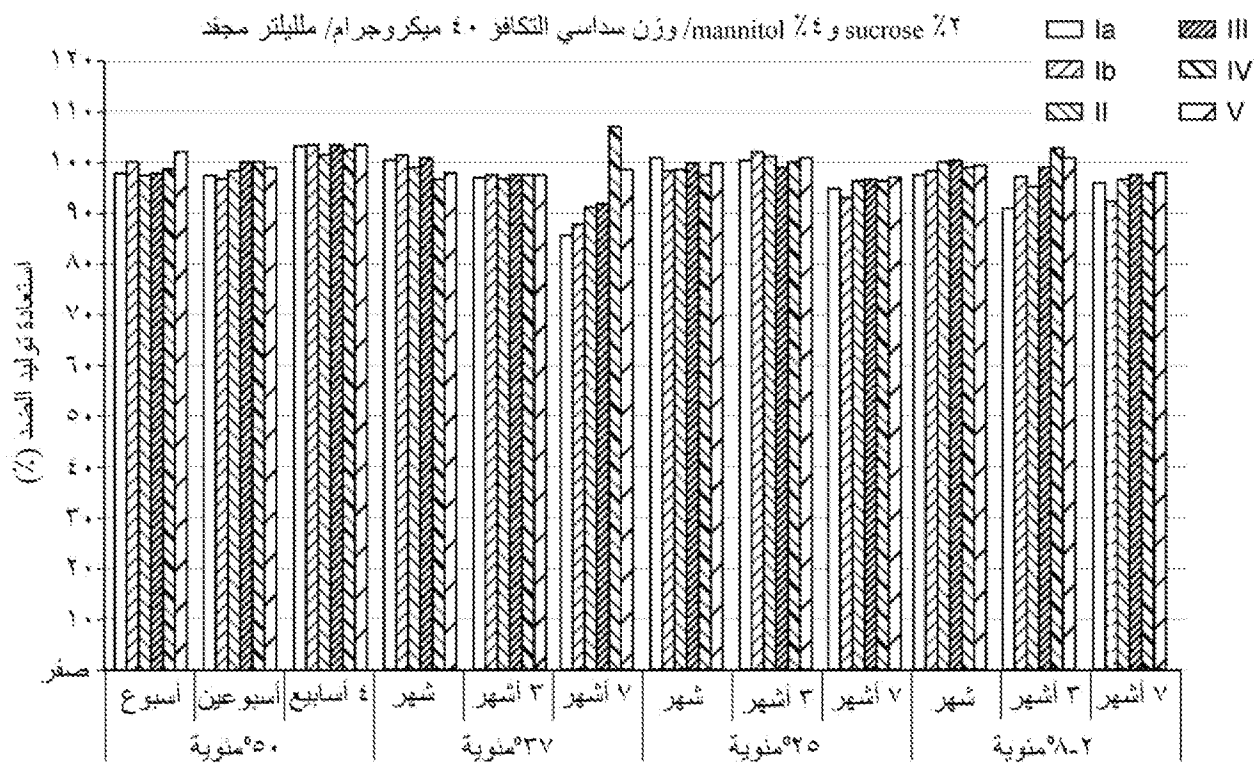


شكل ١٩

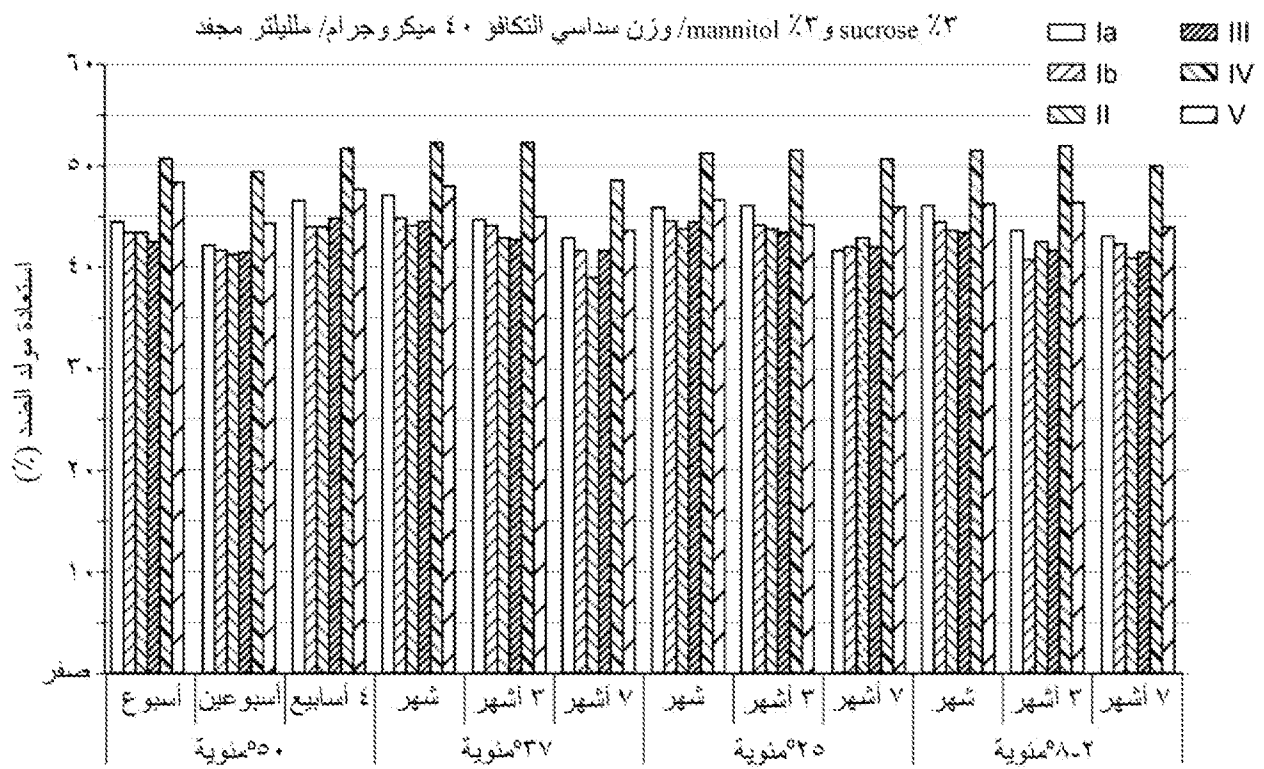


شكل ٢٠

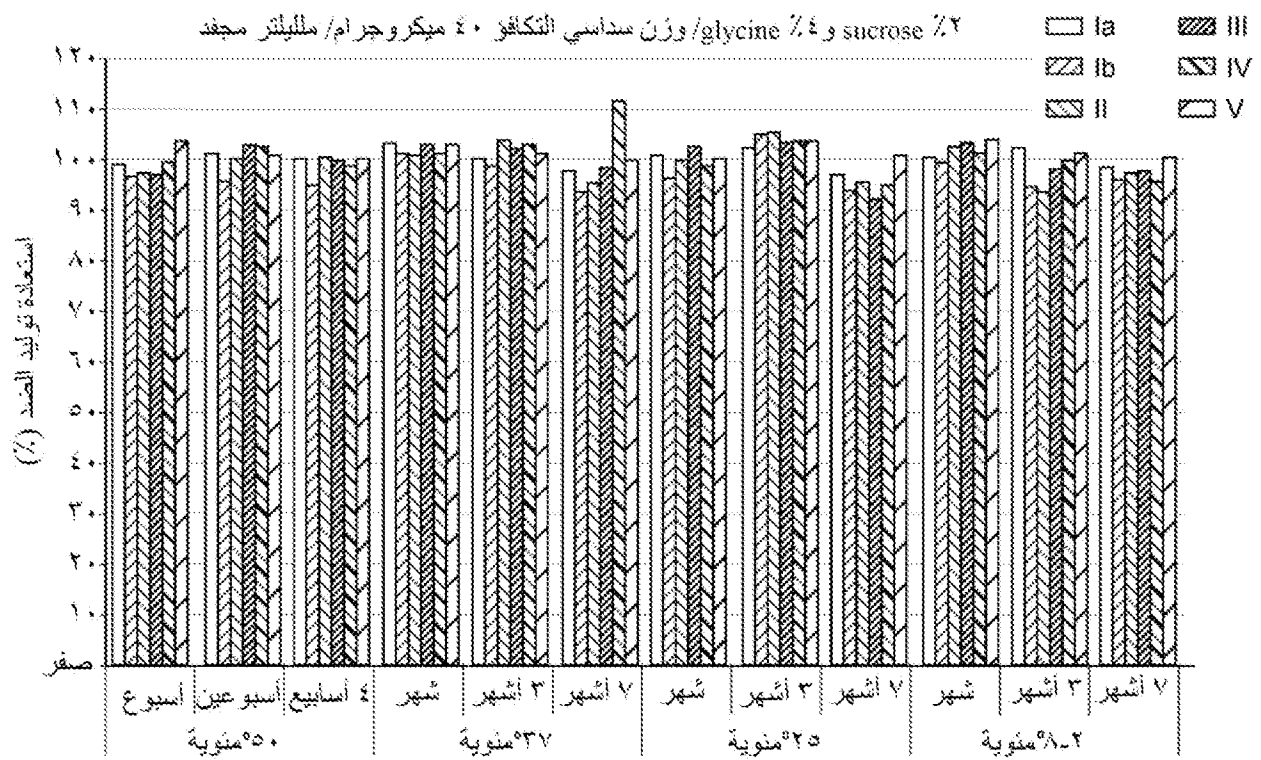




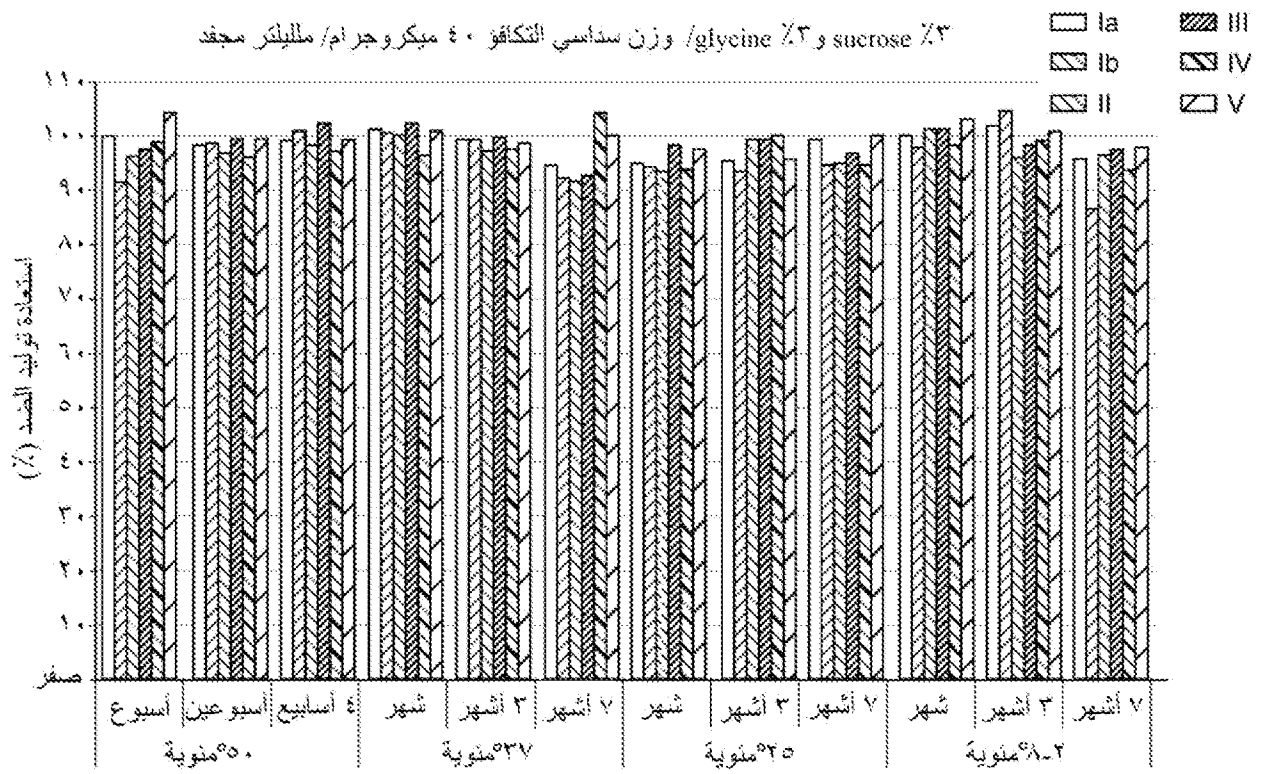
شكل ٢٢



شكل ٢٣



شكل ٢٤



شكل ٢٥



مدة سريان هذه البراءة عشرون سنة من تاريخ إيداع الطلب

وذلك بشرط تسديد المقابل المالي السنوي للبراءة وعدم بطلانها أو سقوطها لمخالفتها لأي من أحكام نظام براءات الاختراع والتصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة والأصناف النباتية والنماذج الصناعية أو لائحته التنفيذية.

صادرة عن
الهيئة السعودية للملكية الفكرية

ص ب ٦٥٣١ ، الرياض ١٣٣٢١ ، المملكة العربية السعودية

SAIP@SAIP.GOV.SA