

ROYAUME DU MAROC  
-----  
OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE (19)  
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE  
-----



المملكة المغربية  
-----  
المكتب المغربي  
للملكية الصناعية والتجارية  
-----

## (12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication : **MA 41668 A1**  
(51) Cl. internationale : **A61K 38/10; A61K 38/16;  
G01N 33/68; A61P 3/10;  
A61K 38/28**  
(43) Date de publication : **30.03.2018**

---

(21) N° Dépôt : **41668**  
(22) Date de Dépôt : **10.06.2016**  
(30) Données de Priorité : **10.06.2015 GB 1510056.3**  
(86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT:  
**PCT/GB2016/051726 10.06.2016**  
(71) Demandeur(s) : **KING'S COLLEGE LONDON, Strand London Greater London WC2R 2LS (GB)**  
(72) Inventeur(s) : **PEAKMAN, MARK**  
(74) Mandataire : **SABA & CO**

---

(54) Titre : **COMPOSITION MULTI-PEPTIDIQUE**

(57) Abrégé : L'invention concerne une combinaison peptidique spécifique. La combinaison peptidique peut être présente dans une composition pharmaceutiquement acceptable. La combinaison peptidique peut être utilisée dans la thérapie ou la prévention du diabète type 1 (DID). L'invention concerne également une méthode de diagnostic ou de détermination de l'efficacité d'un traitement, la méthode faisant appel à la combinaison peptidique spécifique.

المخلص

يتعلق الاختراع الحالي بتوليفة ببتيد خاصة. يمكن أن توجد توليفة الببتيد في تركيبة مقبولة صيدلياً. يمكن استخدام توليفة الببتيد في العلاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D). كما يتعلق الاختراع بطريقة لتشخيص أو تحديد فعالية العلاج، وتستخدم الطريقة توليفة الببتيد الخاصة.

### المجال التقني للاختراع

يتعلق الاختراع الحالي بتوليفة ببتيد يمكن استخدامها في العلاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D).

5

### الخلفية التقنية للاختراع

إن مرض السكري من النوع 1 (T1D) هو مرض مناعة ذاتية يتميز بخلل التأييض، وبصورة أكثر ملاحظة اضطرابات تأييض الجلوكوز، تصحبها مضاعفات وعائية وعصبية طويلة المدى مميزة. إن T1D هو أحد أمراض المناعة الذاتية الأكثر شيوعًا، وتؤثر على واحد بين 250 فرد في الولايات المتحدة حيث أن هناك حوالي 10000 إلى 15000 حالة جديدة يتم تقريرها كل عام، مع تزايد مستمر. ويوجد أكثر انتشار لـ T1D في شمال أوروبا.

يتميز T1D بقصور مطلق للأنسولين، مما يجعل المرضى يعتمدوا على أنسولين خارجي للبقاء على قيد الحياة. قبل الظهور الإكلينيكي الحاد لـ T1D مع أعراض ارتفاع نسبة السكر في الدم، هناك فترة إكلينيكية سابقة بدون أعراض، وفي هذه الأثناء تتلف خلايا بيتا المنتجة للأنسولين بصورة متطورة.

15

تم توضيح أن مولدات الضد التلقائية للخلية بيتا، والخلايا الملتزمة الكبيرة، والخلايا الشجرية، والخلايا اللمفاوية البائية، والخلايا اللمفاوية التائية، تساهم في الأمراض بمرض السكري ذاتي المناعة. من المعتقد أنه يتم تحرير مولدات الضد الذاتية للخلية بيتا من خلايا بيتا وتتم معالجتها وتقديمها إلى الخلايا المساعدة التائية (الخلايا CD4+) بواسطة خلايا تقدم مولد الضد. يمكن تنشيط خلايا CD4+ التائية الأصلية بواسطة إنترليوكين IL-12 من خلايا تقدم مولد الضد. يتم تنشيط الخلايا التائية CD8+ النوعية لمولد ضد خلية بيتا بواسطة IL-2 المنتج بواسطة خلايا CD4+ التائية المنشّطة، وتمايزها إلى خلايا تائية سامة للخلايا ويتم استخدامها في جزر البنكرياس. تساهم خلايا TH1 CD4+ التائية المنشّطة تلك والخلايا التائية السامة للخلايا CD8+ في إتلاف خلايا بيتا. كما ينشّط IL-2 الخلايا اللمفاوية لإفراز الأجسام المضادة الذاتية لخلية الجزيرة.

في السنوات الأخيرة، تم تعريف عدة مولدات ضد ذاتية يتم توجيه الأجسام المضادة الذاتية لخلية جزيرة تجاهها. وهي تتضمن مولد ضد جزيرة متعلق بفوسفاتاز تيروسين 2 (IA-2)، وأنسولين، وطلبيعة الأنسولين (PI) وسلف طلبيعة الأنسولين.

25

متى تم البدء في العلاج بحقن الأنسولين التخليقي، فإنه يصبح مطلوبًا الالتزام به مدى الحياة لأن خلايا بيتا لا تتجدد. حين يتحقق ذلك، يعد مرض السكري عبئًا على المريض، وعلى

عائلة المريض، والمجتمع. بالرغم من أن الجرعات، والمستحضرات وأنظمة التوصيل الحديثة  
للأنسولين يمكنها الحفاظ على جلوكوز الدم ضمن حدود معقوفة، غير أنه خلال سنوات عديدة  
تحدث مضاعفات للمرض بصورة حتمية. المضاعفات الحادة الأكثر شيوعاً لمرض السكري هي  
الفشل الكلوي، العمى، وفقد الوظائف العصبية. ينخفض العمر المتوقع لمريض السكر بمتوسط 10  
سنوات. على ضوء هذه الخلفية، من الهام اعتبار وسائل جديدة لعلاج أو منع T1D. تم تعريف  
5 القمم اللاصقة IA-2 للخلية التائية في Honeyman M, et al. (Honeyman M, et al. Molecular Medicine 1998; 4: 231-239), Lohmann T, et al. (Lohmann T, et al. Exp Clin Endocrinol Diabetes 1999; 107 (3): 166-71), McLaughlin KA, Weenink و et al. (McLaughlin KA, et al. J Immunol 2014; 193: 4448-56)  
10 الكشف SM, et al. (Weenink SM, et al., J Autoimmun 2009; 33:147-54. كما تم الكشف  
عن ببتيدات PI و/ أو IA-2 في براءة الاختراع الأمريكية US7049292، والطلبات الدولية  
WO2005/073248، و WO00/63702، و WO2009/004315. ومع ذلك، يستخدم الاختراع  
الحالي توليفة جديدة من القمم اللاصقة الرئيسية من كل من PI و IA-2، و/ أو نظام إعطاء خاص،  
وهو يوضح أداء متفوق للعلاج المناعي النوعي لمولد الضد للحد من المناعة الذاتية لـ PI/IA-2  
15 المميزة لـ T1D.

### الكشف عن الاختراع

في جانب أول للاختراع، تم توفير توليفة ببتيد تشتمل على:  
ببتيد له متواليات الحمض الأميني للمتواليات رقم: 1؛  
20 ببتيد له متواليات الحمض الأميني للمتواليات رقم: 2؛  
ببتيد له متواليات الحمض الأميني للمتواليات رقم: 3؛  
ببتيد له متواليات الحمض الأميني للمتواليات رقم: 4؛  
ببتيد له متواليات الحمض الأميني للمتواليات رقم: 5؛ و  
ببتيد له متواليات الحمض الأميني للمتواليات رقم: 6.  
25 متواليات رقم: 1 تكون شظية من IA-2، تشتمل على الوحدات البنائية 736-718.  
متواليات رقم: 2 تكون شظية من IA-2، تشتمل على الوحدات البنائية 775-752.  
متواليات رقم: 3 تكون شظية من IA-2، تشتمل على الوحدات البنائية 867-855.  
متواليات رقم: 4 تكون شظية من PI، تشتمل على الوحدات البنائية C13-C32.  
متواليات رقم: 5 تكون شظية من PI، تشتمل على الوحدات البنائية C19-A3.

- متوالية رقم: 6 تكون شظية من PI، تشتمل على الوحدات البنائية C22-A5.
- اكتشف المخترع على نحو مثير للدهشة أن توليفة الببتيد تمتاز بالحد من المناعة الذاتية ضد PI و ضد IA-2 مقارنة بأعداد أصغر من الببتيدات وتوليفات ببتيد البديلة. على نحو مثير للدهشة، تم أيضًا توضيح أن التوليفات المختلفة من ببتيدات IA-2 تعرض تأثيرات مختلفة في الحد من المناعة الذاتية لـ PI. يكون لتوليفة الببتيد المطلوب حمايتها في الوقت الحالي أداء متفوق مقارنة 5 بتوليفات الببتيد الأخرى. على وجه الخصوص، تبدي توليفة الببتيد بالاختراع الحالي كبت مرتبط عبر مولد الضد يمكن أن يكون ذي فائدة معقولة للمرضى عند الاستخدام علاجيًا. وهو يسمح باستخدام عدد محدود من الببتيدات، من عدد محدود من مولدات الضد الذاتية، لاستهداف استجابات المناعة الذاتية المختلفة المتعددة التي تلعب دورًا في T1D.
- 10 كما تم الوصف هنا يشير التعبير "ببتيد" إلى أي ببتيد يشتمل على أحماض أمينية مرتبطة ببعضها البعض بواسطة روابط ببتيد أو روابط ببتيد معدلة، أي تماثلات تجاسمية لببتيد. يحتوي الببتيد بصورة عامة على أحماض أمينية طبيعية الحدوث ولكن قد تتضمن متواليات حمض أميني معدلة إما بواسطة عمليات طبيعية، مثل معالجة ما بعد الترجمة، أو بواسطة تقنيات تعديل كيميائي معروفة جيدًا في المجال. تم وصف تلك التعديلات بصورة جيدة في النصوص الأساسية. يمكن أن تحدث تعديلات في أي موضع في ببتيد، وتتضمن السلسلة الرئيسية للببتيد، والسلاسل الجانبية 15 للحمض الأميني والنهايات الأمينية أو كربوكسيل. يمكن إدراك أن نفس نوع التعديل قد يوجد بنفس الدرجات أو درجات متغيرة عند مواضع متعددة في ببتيد محدد. علاوة على ذلك، يمكن أن يحتوي ببتيد محدد على عدة أنواع من التعديلات.
- في تجسيد مفضل، لا تشتمل توليفة الببتيد على ببتيدات أخرى من IA-2 أو PI.
- 20 على نحو مفضل، تشتمل توليفة الببتيد المطلوب حمايتها، على المتواليات الفعلية بالاختراع الحالي وليس شظايا أطول من، أو الطول الكامل لـ IA-2 أو PI.
- سوف يتضح لأصحاب المهارة في المجال أن توليفة الببتيد بالاختراع الحالي قد تشتمل على مكونات غير ببتيدية، مثل سواغات كما سيناقش بصورة أكبر فيما يلي، ولكن قد لا تشتمل على أي ببتيدات إضافية، وبخاصة ببتيدات من IA-2 أو PI.
- 25 على نحو مفضل، تكون الببتيدات التي تكوّن توليفة الببتيد هي ببتيدات معزولة. يعني التعبير "معزولة" أن الببتيد تتم إزالته من البيئة الأصلية له. على سبيل المثال، لا يكون ببتيد موجود في كائن حي معزول، ولكن نفس الببتيد، أو شظية من هذا الببتيد، منفصلة عن بعض أو كل المواد الموجودة في نفس الوقت في النظام الطبيعي يكون معزول. يمكن أن تكون تلك الببتيدات جزء من

ناقل و/ أو يمكن أن تكون الببتيدات جزء من تركيبية، وما تزال معزولة من حيث أن هذا الناقل أو التركيبية لا يكونا جزءًا من البيئة الطبيعية لها.

في تجسيد مفضل، تتكون توليفة الببتيد من:

- 5 ببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 1؛  
 ببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 2؛  
 ببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 3؛  
 ببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 4؛  
 ببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 5؛ و  
 ببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 6.

10 في هذا التجسيد المفضل، تشتمل توليفة الببتيد فقط على الببتيدات المذكورة ذات المتواليات المحددة المذكورة.

يتعلق جانب ثانٍ للاختراع بتركيبية مقبولة صيدليًا تشتمل على توليفة الببتيد بالاختراع الحالي وواحد أو أكثر من السواغات المقبولة صيدليًا.

15 ويفضل التركيبية الصيدلية المشتملة على سيستين. يثبت وجود السيستين الحر داخل التركيبية أي ميل للببتيدات بتوليفة الببتيد لتكوين روابط ثنائي سلفيد داخل السلسلة وبالتالي راسب. يمكن أن تشتمل التركيبية الصيدلية على 1 إلى 5 مجم من L- سيستين لكل 2 مجم من توليفة الببتيد، ويفضل 2 إلى 4 مجم من L- سيستين لكل 2 مجم من توليفة الببتيد والأكثر تفضيلاً، 2.5 مجم من L- سيستين لكل 2 مجم من توليفة الببتيد.

20 يمكن أن تكون التركيبية الصيدلية للاستخدام البشري أو الحيواني في الطب البشري أو البيطري وتشتمل نمطيًا على واحد أو أكثر من السواغات الملائمة. تكون السواغات المقبولة للاستخدام العلاجي معروفة جيدًا في المجال الصيدلي، وتم وصفها على سبيل المثال، في

A. R.) Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (Gennaro edit. 1985). يمكن اختيار السواغ الصيدلي فيما يتعلق بالنمط المرجو للإعطاء والإجراء الصيدلي المعياري. يمكن أن تشتمل التركيبات الصيدلية، باعتبارها السواغ، أو بالإضافة إليه، على أي مادة رابطة، أو مادة تزليق، أو عامل تعليق، أو عامل تغليف أو عامل إذابة ملائم.

25 يمكن التزويد بمواد حافظة، ومواد مثبتة وأصبغ في التركيبية الصيدلية. تتضمن أمثلة المواد الحافظة، بنزوات الصوديوم، وحمض سوربيك، وإسترات من حمض p- هيدروكسي بنزويك. يمكن أيضًا استخدام مضادات أكسدة وعوامل تعليق.

- قد تكون هناك متطلبات تركيبية/ صيغة مختلفة بالاعتماد على أنظمة التوصيل المختلفة.
- على سبيل المثال، يمكن صياغة التركيبة الصيدلانية بالاختراع الحالي بحيث يتم توصيلها عن طريق غير معوي وتصاغ فيه التركيبة في صورة قابلة للحقن، للتوصيل على سبيل المثال، بواسطة نمط الإعطاء عبر الوريد، عبر الجلد، داخل العضل، تحت الجلد أو داخل البريتون. للإعطاء عن طريق غير معوي، يمكن استخدام التركيبات بأفضل طريقة ممكنة في صورة محلول مائي معقم قد يحتوي 5 على مواد أخرى، على سبيل المثال، أملاح كافية أو سكاريدات أحادية لجعل المحلول متساوي التوتر مع الدم. يمكن أيضًا صياغة التركيبة بحيث تُعطى عن طريق الفم أو بطريقة موضعية، بما في ذلك عن طريق الأنف، أو عن طريق الفم أو على سطح الجلد. يفضل صياغة التركيبة لتوصيلها عن طريق الجلد.
- 10 تتضمن طرق الإعطاء داخل الجلد أي وسيلة تصل للجلد، على سبيل المثال، باستخدام حقن أساسها إبرة دقيقة وأنظمة تسريب (أو وسائل أخرى لاستهداف دقيق للحيز عبر الجلد، وحقن عبر الجلد من نوع Mantoux، وإرحال أيوني محسّن من خلال أجهزة دقيقة، وترسيب مباشر للمانع، أو المواد الصلبة، أو صور جرعات أخرى إلى البشرة، وتتضمن استخدام رقعات لترسيب التركيبة على البشرة.
- 15 نمطيًا، يحدد الطبيب المعالج الجرعة الفعلية الأكثر ملاءمة للخاضع للعلاج على نحو فردي وتختلف باختلاف المرض، والعمر، ووزن واستجابة المريض الخاص. يمكن أن تتحدد الجرعة الملائمة للبشر بواسطة صاحب المهارة في المجال، على سبيل المثال باستخدام معايرة المساحة السطحية للجسم (BSA). على سبيل المثال، يمكن أن تشمل التركيبة الصيدلانية على حوالي 0.1 ميكرو جرام إلى 15 مجم من إجمالي البيبتيد لكل جرعة واحدة، ويفضل 1 ميكرو جرام إلى 12 20 مجم إجمالي البيبتيد لكل جرعة واحدة. في أحد التجسيديت المفضلة، يتم إعطاء 240 ميكرو جرام (1 ميكرو جرام جرعة BSA معايرة لإنسان بالغ وزنه 60 كيلو جرام) لإجمالي بيبتيد للجرعة الواحدة، مع البيبتيدات الموجودة بنسبة متساوية مولاريًا. في تجسيد مفضل آخر، يتم إعطاء 12 مجم من إجمالي البيبتيد لكل جرعة واحدة مع البيبتيدات الموجودة بنسبة متساوية مولاريًا.
- في تجسيد مفضل، يتم إعطاء التركيبة المشتملة على توليفة البيبتيد بالاختراع الحالي مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة كل 1 إلى 4 أسابيع حتى أربع مرات إعطاء.
- 25 في أحد التجسيديت، يتم إعطاء التركيبة المشتملة على توليفة البيبتيد بالاختراع الحالي مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة كل 2 إلى 4 أسابيع حتى أربع مرات إعطاء.
- في تجسيد آخر، تشمل التركيبة على توليفة البيبتيد بالاختراع الحالي تُعطى مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة في الأسبوع لمدة أربعة أسابيع.

- يمكن أن تشمل التركيبة الصيدلانية أيضًا على مواد مضافة تعزز التحمل و/ أو خلايا تعزز التحمل. تتضمن المواد المضافة المعززة للتحمل IL-10، ذيفان الكوليرا الناتج من عودة الاتحاد الجيني الوحدة الفرعية - B (rCTB)، مركبات ترابطية لمستقبل بروتيني لتنشيط المناعة 2، إلى جانب مواد حيوية وأجسام مضادة وحيدة النسيلة تعدل الاستجابات المناعية، مثل حاجبات مضاد CD3 والتنبية المشترك، والتي يمكن إعطاؤها على نحو مشترك مع توليفة البيبتيد. تتضمن خلايا 5 تعزيز التحمل خلايا شجرية غير ناضجة وخلايا شجرية معالجة بفيتامين D3، (1 ألفا، 25- داي هيدروكسي فيتامين D3) أو نظائرها. يفضل أن يترافق واحد أو أكثر من بيتيدات توليفة البيبتيد بالاختراع الحالي مع سطح خلية شجرية معالجة بفيتامين D3 أو نظائره. يفضل أن تترافق كل بيتيدات توليفة البيبتيد بالاختراع الحالي مع سطح خلية شجرية معالجة بفيتامين D3 أو نظائرها.
- 10 يتعلق جانب ثالث للاختراع بتركيبة مقبولة صيدليًا بالاختراع الحالي للاستخدام في العلاج. يتعلق جانب رابع للاختراع بالتركيبة المقبولة صيدليًا بالاختراع الحالي للاستخدام في علاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D).
- عندما يكون T1D "معالج"، فإن ذلك يعني أنه يتم تخفيف واحد أو أكثر من الأعراض الإكلينيكية لـ T1D. وذلك لا يعني أنه يتم تخفيف أعراض T1D بالكامل بحيث لا تصبح موجودة بعد ذلك في المريض، بالرغم من أنه في بعض الطرق، قد يكون الأمر كذلك. يؤدي "العلاج" إلى 15 أن يكون واحد أو أكثر من أعراض T1D أقل حدة مما كانت عليه قبل العلاج.
- يتعلق جانب خامس للاختراع بالتركيبة المقبولة صيدليًا بالاختراع الحالي للاستخدام في تصنيع دواء لعلاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D).
- يتعلق جانب سادس للاختراع بطريقة علاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D) وفيه يتم إعطاء التركيبة المقبولة صيدليًا بالاختراع الحالي إلى مريض مصاب بـ T1D أو فرد غير مصاب بالسكري تم تعريف أنه يواجه خطر كبير بالإصابة بـ T1D. 20 يفضل إعطاء التركيبة المقبولة صيدليًا بالاختراع الحالي إلى مريض لديه كتلة خلية بيتا متبقية.
- يتعلق جانب سابع للاختراع بطرق لعلاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D) ويشتمل على توليفة البيبتيد وفقًا للاختراع الحالي. 25
- يتعلق جانب ثامن للاختراع بطريقة تشخيص أو تحديد فعالية العلاج وتشتمل على: (أ) توفير خلايا لمفاوية CD4 من فرد مشتبه في إصابته أو معرض للإصابة بـ T1D؛ (ب) توفير قطاع من خلايا عرض مولد الضد (APCs) التي تحمل على سطحها جزيء MHC الفئة II لأليل مطابق لما تم التعبير عنه بواسطة الفرد المذكور، قطاع APCs يكون قد تلامس مع توليفة البيبتيد



تتضمن الاختراع الحالي وجزء MHC الفئة II المرتبط بواحد أو أكثر من ببتيدات توليفة الببتيد بالاختراع الحالي؛ أو (ج) توفير مادة كاشفة متعددة الوحدات لببتيد HLA قابل للذوبان تشتمل على جزيئات MHC من الفئة II لأليل مطابق لما تم التعبير عنه بواسطة الفرد المذكور، جزيئات MHC تكون قد ارتبطت بواحد أو أكثر من ببتيدات توليفة الببتيد بالاختراع الحالي؛ (د) ملامسة قطاع APCs من (ب) أو عديد وحدات HLA للببتيد من (ج) مع الخلايا للمفاوية CD4 من (أ)؛ و 5 (هـ) تحديد ما إذا كانت الخلايا للمفاوية CD4 تتعرف على الببتيد المرتبط ب MHC من الفئة II، كدلالة على أن الفرد مصاب، أو معرض للإصابة ب T1D.

يمكن أن يكون APC هذا هو الخلايا للمفاوية البائية، خلايا أحادية النواة، وخلايا ملتهمة كبيرة، أو خلايا شجرية، أو خلايا الدم الطرفي الكامل أحادية النواة (PBMC). كما يمكن أن يكون APC هو سلالات خلية تبقى حية مشتقة من الخلايا للمفاوية البائية، والخلايا أحادية النواة، أو 10 الخلايا الملتهمة الكبيرة، أو الخلايا الشجرية. عندما يكون الأفراد من البشر، يمكن أن يكون APC أيضًا هو الخلايا التائية طالما أن الخلايا التائية البشرية يمكن أن تعبر وراثيًا عن جزيئات MHC الفئة II. كما تشتمل الطريقة على إعطاء توليفة الببتيد بالاختراع الحالي إلى الفرد إذا ما تعرفت الخلايا للمفاوية CD4 على ببتيد مرتبط ب MHC من الفئة II.

15 يتعلق جانب ناسع للاختراع بتوليفة ببتيد تشتمل على:  
ببتيد له متواليات الحمض الأميني للمتواليات رقم: 4؛  
ببتيد له متواليات الحمض الأميني للمتواليات رقم: 5؛ و  
ببتيد له متواليات الحمض الأميني للمتواليات رقم: 6

للاستخدام في علاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D) حيث تكون التوليفة للإعطاء مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة واحدة كل 1 إلى 4 أسابيع حتى أربع مرات 20 إعطاء.

في أحد التجسيدات، تشتمل التركيبة على توليفة الببتيد بالاختراع الحالي تُعطى مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة واحدة كل 2 إلى 4 أسابيع حتى أربع مرات إعطاء.  
في تجسيد آخر، تشتمل التركيبة على توليفة الببتيد بالاختراع الحالي تُعطى مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة في الأسبوع لمدة أربعة أسابيع. 25

"حيث تكون التركيبة للإعطاء" تعني أنه يتم إعطاء التوليفة. يفضل أن تكون توليفة الببتيد للإعطاء بجرعة 240 ميكرو جرام أو 12 مجم من إجمالي الببتيد مع الببتيدات الموجودة بنسبة متساوية مولاريًا.

- ويفضل صياغة توليفة الببتيد على هيئة تركيبة مقبولة صيدليًا وتتضمن واحدًا أو أكثر من السواغات المقبولة صيدليًا. ويفضل صياغة التركيبة كي يتم توصيلها عن طريق غير معوي، أو عن طريق الأنف، أو موضعيًا، بما في ذلك عبر الوريد، عبر الجلد، داخل العضل، تحت الجلد، داخل البريتون، داخل الأنف، عن طريق الفم أو على سطح الجلد ويفضل أكثر، تتم صياغة التركيبة كي يتم توصيلها عن طريق الجلد.
- 5 يتعلق جانب عاشر للاختراع بطريقة لعلاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D) وفيه توليفة ببتيدي تشتمل على:
- ببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 4؛  
ببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 5؛ و  
ببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 6
- 10 تُعطى إلى مريض مصاب بـ T1D أو فرد غير مصاب بالسكر تم تعريفه بأنه يواجه خطر كبير بالإصابة بـ T1D مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة واحدة كل 1 إلى 4 أسابيع حتى أربع مرات إعطاء.
- في أحد التجسيدات، تشتمل التركيبة على توليفة الببتيد بالاختراع الحالي تُعطى مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة واحدة كل 2 إلى 4 أسابيع حتى أربع مرات إعطاء.
- 15 في تجسيد آخر، تشتمل التركيبة على توليفة الببتيد بالاختراع الحالي تُعطى مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة في الأسبوع لمدة أربعة أسابيع.
- ويفضل التوليفة تُعطى بجرعة 240 ميكرو جرام أو 12 مجم إجمالي الببتيد مع الببتيدات الموجودة بنسبة متساوية مولاريًا.
- 20 ويفضل توليفة الببتيد تتم صياغتها على هيئة تركيبة مقبولة صيدليًا وتتضمن واحد أو أكثر من السواغات المقبولة صيدليًا. ويفضل تتم صياغة التركيبة كي يتم توصيلها بواسطة أنماط عن طريق غير معوي، أو عن طريق الأنف، أو موضعيًا، وتتضمن عبر الوريد، عبر الجلد، داخل العضل، تحت الجلد، داخل البريتون، داخل الأنف، عن طريق الفم أو على سطح الجلد ويفضل أكثر، تتم صياغة التركيبة كي يتم توصيلها عن طريق الجلد.
- 25 يدرك صاحب المهارة في المجال أن كل جوانب الاختراع، سواء تتعلق على سبيل المثال بتركيبة الببتيد، أو استخدامها، أو التركيبة المقبولة صيدليًا أو طريقة للعلاج، يمكن تطبيقها بالمثل على كل الجوانب الأخرى للاختراع. على وجه الخصوص، يمكن أن يكون قد تم وصف جوانب توليفة الببتيد على سبيل المثال، بمزيد من التفاصيل عن الجوانب الأخرى للاختراع، على سبيل المثال، استخدام توليفة الببتيد. مع ذلك، سوف يدرك صاحب المهارة في المجال متى تم ذكر

المعلومات الأكثر تفصيلاً لجانب خاص للاختراع، أنه يمكن تطبيق تلك المعلومات بصورة مساوية بشكل عام على الجوانب الأخرى من الاختراع.

### الوصف التفصيلي للاختراع

- 5 مع ذلك، سوف يدرك صاحب المهارة في المجال متى تم إعطاء معلومات أكثر تفصيلاً لجانب خاص للاختراع، أنه يمكن تطبيق تلك المعلومات بصورة مساوية بشكل عام على الجوانب الأخرى من الاختراع.
- يوضح الشكل 1 نتائج 3 متواليات أصلية موضحة مع خطوط تظليل عكسية، ومقارنة بببتيدات المتواليات المتداخلة الأقصر لتوضيح النسبة المئوية لمرضى T1D المستجيبين، باستخدام إنتاج إنترفيرون -  $\gamma$  كقراءة، تم الكشف عنها بواسطة لوحة مناعية مرتبطة بإنزيم.
- 10 يوضح الشكل 2 نتائج تكاثر الخلية التائية كقراءة للمناعة الذاتية نوعية PI و IA-2 بعد التحصين بتركيبات متعددة الببتيد لاشتقاق نموذج إكلينيكي سابق من المناعة الذاتية المرتبطة بمرض السكري.
- يوضح الشكل 3 نتائج تكاثر الخلية التائية كقراءة للمناعة الذاتية لـ PI و IA-2 بعد العلاج باستخدام فئران HLA-DR4 Tg بها مناعة ذاتية باستخدام تركيبات متعددة الببتيد.
- 15 يوضح الشكل 4 أن علاج الفئران بتوليفة من 3 بببتيدات PI يكون أكثر فعالية من العلاج باستخدام ببتيدي PI واحد. باختصار، تم خرق تحمل طليعة الأنسولين في الفئران بواسطة التحصين تحت الجلد باستخدام 100 ميكرو جرام من بروتين طليعة الأنسولين تم استحلابه في CFA والمعالجة باستخدام ذيفان السعال الديكي داخل البريتون مباشرة بعد يوم واحد من التحصين. تلقت الفئران بعد ذلك 4 علاجات عبر الجلد أسبوعياً من 10 ميكرو جرام من PI المقارن أو طليعة
- 20 أنسولين أحادي/ متعدد PI (C13-32) (متوالية رقم: 4)؛ (C19-A3) (متوالية رقم: 5)؛ (C22-A5) (متوالية رقم: 6))، قبل التحصين تحت الجلد باستخدام 100 ميكرو جرام من بروتين طليعة أنسولين تم استحلابه في IFA لتعزيز استجابة المناعة الذاتية المتطورة (A). تم تجميع العقد اللمفاوية (LNs) بعد 7 أيام وتم استزراع معلقات خلية LN مع أو بدون بروتين طليعة الأنسولين أو ببتيدي (C13-32؛ C19-A3؛ C22-A5) لمدة 48 ساعة في المختبر. تم تحليل تكاثر خلايا
- 25  $CD4^+$  التائية وإنتاج  $IFN-\gamma$  بواسطة تخفيف CFSE بعد 96 ساعة (ب) و ELISA بعد 48 ساعة (ج) ردًا على المحاكاة في المختبر باستخدام 50 ميكرو جرام/ مليلتر بروتين طليعة أنسولين و 10 ميكرو جرام/ مليلتر بببتيدات (C13-32؛ C19-A3؛ C22-A5). تم قياس مستويات المصل لـ IgG1 نوعي لطليعة الأنسولين في اليوم 42 (د). تم قياس النسب المئوية لتكاثر

CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>FoxP3<sup>+</sup> Tregs بواسطة عد تدفق الخلايا في مزارع LN في اليوم 42. (هـ). تعبر البيانات عن ثلاث تجارب منفصلة. \*  $p > 0.05$ ، \*\*  $p > 0.01$ ، \*\*\*  $p > 0.001$ ؛ وتم تحديد الأهمية الإحصائية بواسطة ANOVA أحادي الاتجاه أو اختبار ستودنت t. 15 فأر في المجموعة في ب وج؛ و5 فئران في المجموعة د- و.

- 5 يوضح الشكل 5 أن التردد المتزايد لجرعة منخفضة من متعدد PI هي أكثر فعالية من جرعة أعلى أو علاجات أقل عند عكس بداية التحمل لطليعة الأنسولين بالكامل. تم خرق تحمل طليعة الأنسولين في الفئران بواسطة التحصين تحت الجلد باستخدام 100 ميكرو جرام من بروتين طليعة الأنسولين تم استحلابه في CFA والمعالجة باستخدام ذيفان السعال الديكي داخل البريتون مباشرة بعد يوم واحد من التحصين. تلقت الفئران بعد ذلك 4 علاجات أو علاجين عبر الجلد أسبوعيًا من 10 ميكرو جرام أو 1 ميكرو جرام PI من 3 ببتيديات طليعة أنسولين (C13-32؛ C19-A3؛ C22-A5)، أو ببتيدي المقارنة HA، قبل التحصين تحت الجلد باستخدام 100 ميكرو جرام من بروتين طليعة أنسولين تم استحلابه في IFA لتعزيز استجابة المناعة الذاتية المتطورة (A). تم تجميع العقد اللمفاوية (LNs) في اليوم 42 وتم استزراع خلايا LN مع أو بدون بروتين طليعة الأنسولين أو ببتيدي (C13-32؛ C19-A3؛ C22-A5) لمدة 48 ساعة في المختبر. تم تحليل تكاثر وإنتاج سيتوكين بواسطة تضمين ثيميدين و ELISA ومتوسط التكاثر SEM ± استجابة لـ 15 50 ميكرو جرام/ مليلتر بروتين طليعة أنسولين (ب) وتم توضيح إنتاج IFN- $\gamma$  استجابة لـ 50 ميكرو جرام/ مليلتر طليعة أنسولين (ج) أو 10 ميكرو جرام/ مليلتر ببتيديات طليعة الأنسولين، في مزارع DLN. تم قياس النسب المئوية لتكاثر CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>FoxP3<sup>+</sup> Tregs بواسطة عد تدفق الخلايا في مزارع LN في اليوم 42 (هـ). تم قياس مستويات المصل لـ IgG1 نوعي لطليعة الأنسولين في اليوم 42 (و). تعبر البيانات على الأقل عن تجربتين منفصلتين. \*  $p > 0.05$ ، \*\*  $p > 0.01$ ، \*\*\*  $p > 0.001$ ؛ وتم تحديد الأهمية الإحصائية بواسطة ANOVA أحادي الاتجاه أو اختبار ستودنت t. 6 فئران في المجموعة.

- يوضح الشكل 6 أن العلاج باستخدام 3 ببتيديات PI يعزز التنظيم النوعي لمولد الضد. عززت الخلايا التائية المنظمة (Tregs) من الفئران المعالجة بطليعة الأنسولين متعدد PI، نشاط كبت نوعي لطليعة الأنسولين مقارنة بفئران معالجة PI مقارنة. تم خرق تحمل طليعة الأنسولين في 25 الفئران بواسطة التحصين تحت الجلد باستخدام 100 ميكرو جرام من بروتين طليعة الأنسولين تم استحلابه في CFA والمعالجة باستخدام ذيفان pertussis داخل البريتون مباشرة بعد يوم واحد من التحصين. تلقت الفئران بعد ذلك 4 علاجات عبر الجلد أسبوعيًا من 1 ميكرو جرام PI يتكون من 3 ببتيديات طليعة أنسولين (C13-32؛ C19-A3؛ C22-A5)، أو ببتيدي المقارنة HA، قبل التحصين

- تحت الجلد باستخدام 1:100 ميكرو جرام من بروتين طليعة أنسولين تم استحلابه في IFA لتعزيز استجابة المناعة الذاتية المتطورة (A). تم تجميع LNs في اليوم 42 وتم عزل  $CD4^+CD25^{high}$  Tregs وزراعتها معاً، بتركيزات متنوعة، مع خلايا تائية مستجيبة معلّمة بـ CFSE من فئران محصنة باستخدام طليعة أنسولين / CFA. تم استزراع الخلايا بصورة مشتركة في وجود خرزات  $\alpha CD3\alpha CD28$  dyna (ب) أو بروتين طليعة الأنسولين (ج) وتم حساب تكاثر الخلايا التائية  $CD4^+$  المستجيبة بواسطة قياس تخفيف CFSE بواسطة عد تدفق الخلايا بعد 96 ساعة. متوسط التكاثر  $\pm SEM$  لخلايا مستجيبة معلّمة بـ CFSE استجابة لـ 50 ميكرو جرام/مليتر طليعة الأنسولين في وجود تركيزات منخفضة من  $CD4^+CD25^{high}$  Tregs من أي من فئران معالجة بـ HA- أو طليعة أنسولين PIT (د). تم تحديد الأهمية الإحصائية بواسطة ANOVA أحادي الاتجاه أو اختبار ستيودنت t. \*  $p > 0.05$ ، \*\*  $p > 0.01$ ، 15 فأر للمجموعة (العقد للمفاوية المجمعة).

### المثال 1

إنتاج نموذج فاري بمناعة ذاتية متعلقة بمرض السكري من خلال حث تفاعلية تلقائية نوعية لطليعة

#### الأنسولين / نوعية لـ IA-2

- تم استيراد Tg  $B6.129S2-H2-Ab1^{tm1Gru}$  (HLA-DRA/H2-Ea, HLA-) من Taconic, USA وتم استخدامها في كل التجارب. كانت كل الحيوانات خالية من مسببات الأمراض النوعية وتم إبقاؤها تحت ظروف معيارية في King's College London Biological Services Unit وفقاً للوائح Home Office Regulations.
- تم اختبار الفئران تحت الجلد عند قاعدة الذيل باستخدام 100 ميكرو جرام من بروتين طليعة أنسولين بشري ناتج من عودة الاتحاد الجيني كامل (Biommm, Brazil) و/ أو مولد ضد-2 مرتبط بالورم الجزيري البشري الناتج من عودة الاتحاد الجيني (IA-2; Proteogenix) تم استحلابه في مادة مساعدة لفرويد كاملة (CFA, Sigma-Aldrich). تمت معالجة الفئران باستخدام 200 نانو جرام من ذيفان السعال الديكي (PTX, Sigma-Aldrich) تم توصيله من خلال تجويف عبر البريتون في وقت التحسين وبعد يوم واحد. عند اختبار العلاج المناعي للبيبتيد، تم تعزيز استجابات المناعة الذاتية بصورة أكبر باستخدام 100 ميكرو جرام من مولد الضد التلقائي (طليعة الأنسولين و/ أو IA-2) تم استحلابه في مادة مضافة لفرويد غير كاملة (IFA, Sigma-Aldrich) تحت الجلد عند قاعدة الذيل بعد 7 أيام من آخر علاج ببيبتيد. تم الحصول على دليل على حث طليعة الأنسولين والمناعة الذاتية النوعية لـ IA-2 بواسطة اختبار استجابة الاستعادة لطليعة الأنسولين أو IA-2 لتوضيح تكاثر الخلية التائية وإنتاج سيتوكين الالتهابي للخلية التائية.

توضح الرسوم البيانية بالشكل 2 إنتاج سيتوكين معزز للالتهاب ضد طليعة أنسولين مولدات ضد تلقائية (PI) و IA-2 (اللوحين أ و ب، على الترتيب) وتكاثر الخلايا التائية (اللوحين ج و د، على الترتيب) بعد تحصين الفئران المتوافقة مع البشر (HLA-DR4 Tg: فئران محورة وراثيًا لجزيء يعرض الببتيد البشري HLA-DR4) مع مولدات الضد التلقائية تلك في CFA مع المادة المساعدة ذيفان pertussis (PTX). من المتوقع جيدًا أن تكاثر وإنتاج السيتوكين المعزز للالتهاب بواسطة الخلايا التائية استجابة لمولدات الضد التلقائية تلك يميز مرض السكري من النوع 1 البشري. لهذا، توضح تلك البيانات أن فأر HLA-DR4 Tg المستخدم كما هو موضح يمكنه تلخيص صفات المناعة الذاتية للمرض البشري.

## المثال 2

- 10 قياس طليعة الأنسولين وتكاثر الخلايا التائية النوعية لـ IA-2، وإنتاج السيتوكين المعزز للالتهاب وحث تكاثر الخلايا التائية المنظمة (Treg) في الفئران
- تمت مجانسة العقد للمفاوية المجففة (DLNs) باستخدام وحدة شد خلية BD (70 ميكرو متر). تم غسل الخلايا في RPMI وأعيد تعليقها عند  $2.5 \times 10^6$  خلية / مليلتر في RPMI يحتوي على 0.5% مصّل فأر ذاتي المنشأ. تمت إضافة  $2.5 \times 10^5$  خلية لكل عين من لوح ذي قاع على شكل حرف U. أعيد تنبيه الخلايا باستخدام الوسط فقط، وخرزات  $\alpha$  - CD28/CD3 (Invitrogen) dyna كمنبه مقارنة إيجابي أو مع بروتين طليعة أنسولين أو IA-2. بعد 48 ساعة، تمت إزالة المواد الطافية لتحليل سيتوكين وتمت إضافة 0.5 مللي كوري/ العين من ثيميدين معالج بالترينيتيوم [ $^3\text{H}$ ]. تم تجميع الخلايا بعد 18 ساعة باستخدام ماكينة MicroBeta Trilux (Perkin Elmer). تم قياس مستويات IFN- $\gamma$  و IL-10 في مواد مزرعة طافية مأخوذة بعد 48 ساعة باستخدام طقم SET-Go جاهز (ebiosciences) وفقًا لتوجيهات المصنّع.
- 20 تم إجراء عد تدفق الخلايا وفقًا للبروتوكول المعياري. تمت إضافة الأجسام المضادة (Abs) (مضاد CD4-PerCP، مضاد FoxP3-APC، مضاد CD3-PE، مضاد CD25-FITC، مضاد ki67-Pacific Blue (كلها من eBioscience, UK)، ومضاد CD11c-PE، مضاد Cy7، ومضاد PDL1-PE، ومضاد CD86-FITC، ومضاد HLA-APC (كلها BD bioscience)، إلى كل عينة بتخفيف 1:100. تم إجراء التلطّيح داخل الخلية باستخدام طقم معياري ووفقًا لتوجيهات المصنّع (Biolegend). تم تحليل العينات باستخدام مقياس تدفق خلايا FACSCanto III مزود بليزر 405 نانو متر أشعة فوق بنفسجية، وليزر أرجون 488 نانو متر وليزر صمام ثنائي أحمر 635 نانو متر (BD Bioscience) وبرمجيات FlowJo. تم تعريف الخلايا للمفاوية أولاً ووفقًا للحجم والتحبب باستخدام متغيرات التشتت الأمامية والجانبية. بعد ذلك تم
- 25

تعريف خلايا  $CD4^+$  التائية على أساس التعبير الوراثي عن  $CD3$  و  $CD4$ . تم تمييز الخلايا التائية التنظيمية على أساس التعبير الوراثي العالي عن  $CD25$  والتعبير الوراثي عن  $FoxP3$ . أخيراً، تم تعريف الخلايا التائية  $CD3^+CD4^+FoxP3^+CD25^{high}$  التنظيمية المتكاثرة على أساس الزيادة المتحكم فيها للبروتين النووي،  $Ki67$ .

5

## المثال 3

التنظيم النوعي لطليعة الأنسولين

تم خرق تحمل طليعة الأنسولين في الفئران كما تم الوصف سابقاً. تلقت الفئران بعد ذلك 4 علاجات عبر الجلد أسبوعياً من 1 ميكرو جرام من PI المقارنة أو طليعة الأنسولين متعدد PI (ويشتمل على كميات متساوية مولارياً من C13-22، C19-A3، C22-A5) قبل تعزيز استجابة 10 المناعة الذاتية المستمرة لطليعة الأنسولين بواسطة الحقن تحت الجلد لطليعة الأنسولين/ IFA. تمت إزالة العقد اللمفاوية وتم عزل الخلايا التائية  $CD4^+$  بواسطة الاختيار السلبي باستخدام طقم عزل الخلية التائية  $CD4$  (Miltenyi Biotec, Germany). بعد ذلك تم تلوخيخ الخلايا باستخدام مضاد  $CD25-FITC$  (ebioscience) وتم عزل خلايا تائية كابثة  $CD4^+CD25^{high}$  بواسطة فرز الخلية المنشط بالفلورية (FACS) باستخدام BD FACSAria. تم تعليم الخلايا مستجيبة من فئران محسنة بطليعة الأنسولين/ CFA باستخدام CFSE كما تم الوصف سابقاً وتتم زراعتها 15 بصورة مشتركة مع خلايا  $CD4^+CD25^{high}$  تائية لمدة 96 ساعة مع الوسط بمفرده، خزرات  $\alpha$ - $CD3$  أو بروتين طليعة أنسولين. تم قياس تكاثر الخلايا المستجيبة (بما يناظر فقد CFSE) بواسطة عد تدفق الخلايا. تم حساب نسبة الكبت % بواسطة:

$$\text{تخفيف CFSE} \downarrow \text{Tresp} - \text{تخفيف CFSE} \downarrow \text{Treg} : 100 \times$$

20

$$\text{تخفيف CFSE} \downarrow \text{Tresp}$$

## المثال 4

تعريف متواليات IA-2 المثالية في مرضى T1D البشري

تم إجراء الكشف عن إنترفيرون  $\gamma$ -(IFN) بواسطة خلايا  $CD4^+$  التائية استجابة لتنبیه الببتيد باستخدام تجربة لطفة مناعية مرتبطة بإنزيم (ELISPOT) ذات قدرة تمييز واضحة لمرض السكري من النوع 1 في اختبار متقدم محجوب، كما تم الوصف سابقاً (Arif, S. et al. J Clin Invest 2004; 113: 451-463 and Herold, K. C. et al. Diabetes 2009; 58: 2588-2595). تم التعبير عن البيانات باعتبارها متوسط عدد اللطحات لكل مجموعة ثلاثية ومقارنتها بمتوسط عدد اللطفة في وجود المادة المخففة وحدها (مؤشر التنبیه؛ SI). تعتبر الاستجابة موجبة عندما يكون  $SI \leq 3$  باستخدام المقطعات المحددة باستخدام مخططات تمييز

المستقبل- المشغل كما تم الوصف سابقًا (-Arif, S. et al. J Clin Invest 2004; 113: 451-). (463)

يوضح الشكل 1 نسبة (%) من مرضى مرض السكري من النوع 1 المستجيبين للقمم اللاصقة المتداخلة داخل سلاسل ببتيد نوعية قمنا بتعريفها بواسطة التصفية التتابعية (انظر 5 متواليات أصلية (مظلمة عكسيًا)، وتتم مقارنتها مع ببتيديات المتواليات المتداخلة الأقصر. تعبر الاستجابات عن إنتاج IFN- $\gamma$  بواسطة الخلايا أحادية النواة في الدم الطرفي المستزرعة مع كل ببتيد، كما تم الكشف باستخدام تجربة لطفة مناعية مرتبطة بإنزيم.

يوضح الشكل 1 المتواليات المفضلة ضمن 709 سلسلة (718-36) و853 سلسلة (855-67). لا يكون أي من الببتيديات المتداخلة لعدد 752 سلسلة متفوق بصورة واضحة. (67)

#### المثال 5

#### توليفات الببتيد

تم اختيار عدة توليفات لطليعة الأنسولين (PI) وببتيد IA-2 للتقييم على أنها مثالية في حث التنظيم المناعي. انظر الجدول 1 فيما يلي.

15 الجدول 1- خلايا الببتيد المستخدمة في علاج مناعي من ببتيد

المجموعة 4	المجموعة 3	المجموعة 2	المجموعة 1	عينة المقارنة
IA2 709-36 (متوالية رقم: 11)	IA2 709-32 (متوالية رقم: 9)	IA2 718-30 (متوالية رقم: 7)	IA2 718-36 (متوالية رقم: 1)	ماء معقم مرشح
IA2 752-75	IA2 752-75	IA2 752-75	IA2 752-75 (متوالية رقم: 2)	
IA2 853-72 (متوالية رقم: 12)	IA2 856-70 (متوالية رقم: 10)	IA2 855-69 (متوالية رقم: 8)	IA2 855-67 (متوالية رقم: 3)	
PI C13-32	PI C13-32	PI C13-32	PI C13-32 (متوالية رقم: 4)	
PI C19-A3	PI C19-A3	PI C19-A3	PI C19-A3 (متوالية رقم: 5)	
PI C22-A5	PI C22-A5	PI C22-A5	PI C22-A5 (متوالية رقم: 6)	

متوالية رقم: 7 تكون شظية من IA-2، تشتمل على الوحدات البنائية 730-718.

متوالية رقم: 8 تكون شظية من IA-2، تشتمل على الوحدات البنائية 869-855.

متوالية رقم: 9 تكون شظية من IA-2، تشتمل على الوحدات البنائية 732-709.



- متوالية رقم: 10 تكون شظية من IA-2، تشتمل على الوحدات البنائية 870-856.  
متوالية رقم: 11 تكون شظية من IA-2، تشتمل على الوحدات البنائية 736-709.  
متوالية رقم: 12 تكون شظية من IA-2، تشتمل على الوحدات البنائية 872-853.

### المثال 6

- 5 تكون توليفة من ست ببتيدات نوعية أكثر فعالية في الحد من المناعة الذاتية لطليعة الأنسولين و-IA  
2 عن عدة توليفات أخرى تم تجربتها

يتم جعل فنران محورة وراثيًا HLA-DR4 (متوافقة مع البشر) "ذاتية المناعة"، بواسطة التحصين باستخدام مواد مساعدة قوية و PI/IA-2، لحث استجابة التهابية ل-PI و IA-2 كما تم الوصف أعلاه. تتضمن الاستجابة الالتهابية تكاثر الخلية التائية وإنتاج سيتوكين التهابي، وهي علامات مميزة رئيسية لمرض السكري ذاتي المناعة (النوع 1) في الإنسان. تم تعيين الفنران لعدد 5 مجموعات علاج مع خلاص الببتيد أو المقارنة كما هو موضح في الجدول 1.

- 10 تم حث استجابات المناعة الذاتية ضد PI و IA-2 في فنران B6.129S2-H2- HLA-) 1Kito (HLA-DRA/H2-Ea,HLA-DRB1\*0401/H2-Eb) *Ab1<sup>tm1Gru</sup>* Tg (DR4-Tg) كما تم الوصف في المثال 1 أعلاه. لفحص تأثيرات التوليفات المختلفة من الببتيدات المعطاة كعلاج مناعي لببتيد على استجابة المناعة الذاتية المستحثة، تم توصيل توليفات الببتيد الموضحة في الجدول 1 أو المقارنة (الماء للحقن) في 100 ميكرو لتر PBS معقم بواسطة حقن داخل الجلد (10 ميكرو جرام إجمالي محتوى الببتيد لكل حقن، وتكون الببتيدات بنسبة متساوية مولارياً) على البطن، مرة أسبوعياً لمدة 4 أسابيع. تم اختبار استجابات المناعة الذاتية ل-PI و IA-2 بعد 7 أيام بفحص التكاثر وإنتاج سيتوكين لخلايا العقدة اللمفاوية ضد PI و IA-2 كما تم الوصف في المثال 2.

- 20 يكون للفنران المعالجة بعينة المقارنة تكاثر خلية تائية واستجابات سيتوكين التهابية قوية. عندما يكون العلاج فعال، تنخفض تلك الاستجابات بصورة كبيرة.

- يتم التعبير عن النتائج بمتوسط  $\pm$  الخطأ المعياري للمتوسط (SEM). تم تأكيد التوزيع الجاوسي بواسطة اختبار الاستواء بمجلد D'Agostino & Pearson قبل تحديد الأهمية بواسطة ANOVA أحادي الاتجاه أو اختبار ستودنت t. تعتبر قيمة  $p > 0.05$  دالة إحصائياً.

- 25 يوضح الشكل 3 استجابات تكاثر الاستعادة ل-PI (اللوحة أ) و IA-2 (اللوحة ب) في المختبر لخلايا العقدة اللمفاوية التي تم الحصول عليها من فنران HLA-DR4 Tg التي تم جعلها ذاتية المناعة ضد PI و IA-2 بواسطة التحصين. بعد ذلك تمت معالجة الفنران بعينة المقارنة أو

واحدة من توليفات الببتيد المحددة في الجدول 1. تم توضيح البيانات في الشكل 3: كمبتوسطات (SEM) من  $n = 8$  لكل مجموعة.

يوضح الشكل 3 أن توليفة المجموعة 1 هي الخليط الوحيد الذي يوفر انخفاضًا دال إحصائيًا في المناعة الذاتية لـ PI مقارنة بعينة المقارنة. تكون توليفة المجموعة 1 أفضل بصورة كبيرة من النسخة البديلة الأقرب لها في خفض المناعة الذاتية. لا تقلل المجموعتين 3 و 4 من 5 المناعة الذاتية بصورة كبيرة.

يوضح الشكل 3ب أن توليفة المجموعة 1 هي الخليط الوحيد الذي يوفر انخفاضًا دال إحصائيًا في المناعة الذاتية لـ IA-2 مقارنة بعينة المقارنة. تكون توليفة المجموعة 1 أفضل بصورة كبيرة من النسخة البديلة الأقرب لها في خفض المناعة الذاتية. لا تقلل المجموعتين 3 و 4 من 10 المناعة الذاتية بصورة كبيرة.

يُحقق خفض كبير في التكاثر (أي التحكم في المناعة الذاتية لـ PI و IA-2) بواسطة ببتيديات المجموعة 1، ومن ثم فيه تُظهر أفضل أداء كمولدات تحمل. الجدير بالذكر أن ببتيديات المجموعة 1-4 تختلف فقط بالتركيبية IA-2. تكون ببتيديات PI مماثلة في كل المجموعات، بينما تتفوق توليفة ببتيدي المجموعة 1 أيضًا في الحد من المناعة الذاتية النوعية لـ PI. يقترح ذلك ظاهرة 15 كبت مرتبط عبر مولد ضد.

توضح النتائج التي تم وصفها أعلاه أن توليفة الببتيد الحديثة المطلوب حمايتها تتفوق في الحد من المناعة الذاتية ضد PI والمناعة الذاتية ضد IA-2 مقارنة بتوليفات ببتيدي البديلة. على نحو مثير للدهشة، تم توضيح أن توليفات مختلفة من ببتيديات IA-2 تعرض تأثيرات مختلفة في الحد من المناعة الذاتية لـ PI. ويوضح ذلك كبت مرتبط عبر مولد الضد يمكن أن يكون ذي فائدة علاجية معقولة للمرضى. يمكن أيضًا استخدام عدد محدود من الببتيديات، من عدد محدود من مولدات الضد 20 التلقائية لاستهداف عدة مولدات ضد تلقائية مختلفة تلعب دورًا في T1D.

### المثال 7

تكون توليفة نوعية ثلاثية الببتيد PI أكثر فعالية في الحد من المناعة الذاتية لطليعة الأنسولين عن كل ببتيدي PI بمفرده

25 تم حث استجابات المناعة الذاتية ضد PI في فئران  $B6.129S2-H2-Ab1^{tm1Gru}$  Tg (HLA-DR4-Tg) 1Kito (HLA-DRA/H2-Ea, HLA-DRB1\*0401/H2-Eb) الوصف في المثال 1 أعلاه.

تم استخدام نموذج المناعة الذاتية لـ PI المذكور لتقييم قدرة ببتيديات طليعة الأنسولين الأحادية والعديدة على تعديل استجابة مناعة ذاتية متحققة لطليعة الأنسولين. تم فحص القدرة المولدة

- للتحمل لكل بيتيد طليعة أنسولين محصور HLA-DR4 بواسطة علاج فنران HLA-DR4-Tg باستخدام 4 حقن داخل الجلد أسبوعياً من PI أحادي أو PI متعدد (خليط متساوي مولارياً من كل 3 بيتيدات طليعة أنسولين). تم تحليل استجابات الاستعادة في المختبر، بعد اختبار ثانوي مع IFA طليعة أنسولين كامل لتعزيز استجابة المناعة الذاتية المتطورة (الشكل 4أ). قلل PI المتعدد بصورة كبيرة ومنظمة من قدرة التكاثر النوعية لمولد الضد لمزارع عقد لمفوية مجففة (DLN) استجابة 5 لطليعة الأنسولين وبيتيدات طليعة الأنسولين، ولكن ليس ألبومين البيض (OVA) (الشكل 4ب). بالإضافة إلى ذلك، قلل PI المتعدد بصورة كبيرة من تخليق الوسائط الالتهابية  $IFN-\gamma$ ، (الشكل 4ج)، IL-17 و IL-13 (لم يتم توضيح البيانات). على نحو مثير للدهشة، لم يلاحظ حث نوعي لمولد الضد لـ IL-10 (الشكل 4د). كما كان PI المتعدد فعالاً في التقليل المنظم للاستجابة تجاه بروتين طليعة الأنسولين في الخلية الحية، كما هو موضح في مستويات المصل المنخفضة من IgG 10 نوعي طليعة الأنسولين (الشكل 4هـ). على العكس، أبدى PI الأحادي مع بيتيدات C13-32، C19-A3 أو C22-A5 المفردة مستويات أقل من القدرة العلاجية (الشكل 4هـ - و).

فيما يتعلق بألية هذه التأثيرات، أوضح تحليل DLNs بواسطة عد تدفق الخلايا، زيادة نسبة

- Tregs المتكاثرة في العقد اللمفاوية بعد PI المتعدد، بصورة كبيرة مقارنة بفنران معالجة بـ PI 15 المقارنة (الشكل 2و). مرة أخرى، كانت توليفة 3 بيتيدات طليعة أنسولين أكثر فعالية من PI الأحادي في حث تكاثر Treg، مما يقترح أن عدة بيتيدات PI تكون أكثر فعالية من بيتيدات PI الأحادية في تنظيم استجابة مناعة ذاتية متحققة.

### المثال 8

#### تحسين جرعة البيتيد وإعطائه

- 20 تمت معالجة الفنران بأي من 1 أو 10 ميكرو جرام من PI متعدد، في أي من حالتين أو 4 حالات، (الشكل 15أ). لتحقيق تأثير التكرار المنخفض و/ أو جرعة PI متعدد، تم تحليل استجابات الاستعادة في المختبر، بواسطة قياس تكاثر وإنتاج السيتوكين لمعلقات خلية DLN لبروتين طليعة الأنسولين وبيتيدات طليعة الأنسولين (الشكل 5ب-د). أدى خفض عدد علاجات PI المتعدد من 4 إلى 2 إلى فقد كبير في القوة العلاجية. على العكس، كانت 4 علاجات من PI متعدد فعالة في التقليل المنظم للاستجابة تجاه طليعة الأنسولين وبدأت جرعة منخفضة من 1 ميكرو جرام فعالة مثل 10 25 ميكرو جرام من PI متعدد (الشكل 5ب-د). كشف تحليل تركيبية DLN بواسطة عد تدفق الخلايا، بعد 7 أيام من التحصين الثانوي، عن مستوى متزايد من تكاثر الخلية التائية التنظيمي في الفنران التي تلقت PI متعدد مقارنة بفنران تلقت PI المقارنة، دون فارق واضح ملحوظ بين مجموعتي العلاج (الشكل 5هـ). تم تنظيم مستويات IgG المصل النوعية لطليعة الأنسولين بواسطة PI متعدد

وانخفضت بصورة كبيرة في الفئران التي تلقت 4 علاجات من 10 ميكرو جرام من PI متعدد ببتيدات (الشكل 5).

### المثال 9

العلاج باستخدام ثلاث ببتيدات PI يعزز من تنظيم نوعي لمولد الضد

- 5 تم تقييم تأثير PI المتعدد على وظائف Treg بواسطة قياس نشاط كبت نوعي لطليعة الأنسولين في حجرة Treg لفئران معالجة باستخدام PI المقارنة، مقارنة بتلك التي تتلقى معالجة نشطة. تم عزل خلايا تائية منظمة  $CD4^+CD25^{high}$  عن الفئران المعالجة بـ PI المقارنة أو PI متعدد طليعة الأنسولين وتم استزراعها بصورة مشتركة، عند تركيبات متنوعة، مع خلايا تائية مستجيبة معلمة بـ CFSE من فئران محصنة باستخدام طليعة أنسولين/ CFA (الشكل 6أ). تم استزراع الخلايا بصورة مشتركة في وجود خرزات مناعية مغناطيسية لمضاد CD3 / مضاد 10- CD3 لقياس قدرة Tregs، PIT المقارنة و PIT المتعدد على كبت استجابة عديدة النسيلة. أوضحت Tregs المنتجة تحت نوعي ظروف المعالجة، قدرة كبت مكافئة (الشكل 6ب). مع ذلك، في المزارع المشتركة التي يتم تنبيهها ببروتين طليعة الأنسولين، كان هناك سعة كبت مرتبطة بالعلاج مميزة (الشكل 6ج). قامت Tregs من فئران معالجة بـ PI متعدد بكبت استجابات نوعية لطليعة الأنسولين إلى درجة أكبر بصورة كبيرة من Tregs من فئران معالجة بـ PI المقارنة (الشكل 6د).

تم تضمين كل مراجع براءات الاختراع والمنشورات المذكورة في المواصفة الحالية كمرجع في مجملها.

عناصر الحماية

- 1- توليفة ببتيدي تشتمل على:
- ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 1؛
- ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 2؛
- 5 ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 3؛
- ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 4؛
- ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 5؛ و
- ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 6.
- 2- توليفة ببتيدي وفقاً لعنصر الحماية 1، تتكون من:
- 10 ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 1؛
- ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 2؛
- ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 3؛
- ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 4؛
- ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 5؛ و
- 15 ببتيدي له متواليية الحمض الأميني للمتواليية رقم: 6.
- 3- تركيبة مقبولة صيدلياً تشتمل على توليفة الببتيدي وفقاً لعنصر الحماية 1 أو عنصر الحماية 2 وواحد أو أكثر من السواغات المقبولة صيدلياً.
- 4- التركيبة المقبولة صيدلياً وفقاً لعنصر الحماية 3، حيث تشتمل أيضاً على سيستين.
- 5- التركيبة المقبولة صيدلياً وفقاً لعنصر الحماية 3 أو 4 للاستخدام في العلاج.
- 20 6- التركيبة المقبولة صيدلياً وفقاً لعنصر الحماية 5 للاستخدام في علاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D).
- 7- التركيبة المقبولة صيدلياً وفقاً لعنصر الحماية 5 للاستخدام في تصنيع دواء لعلاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D).
- 8- التركيبة المقبولة صيدلياً وفقاً لأي من عناصر الحماية 3 إلى 7 حيث تتم صياغة التركيبة كي يتم توصيلها عن طريق غير معوي، أو عن طريق الأنف، أو موضعياً، بما في ذلك عبر الوريد، عبر الجلد، داخل العضل، تحت الجلد، داخل البريتون، داخل الأنف، عن طريق الفم أو على سطح الجلد.
- 25 9- التركيبة المقبولة صيدلياً وفقاً لعنصر الحماية 8 حيث تتم صياغة التركيبة كي يتم توصيلها عن طريق الجلد.

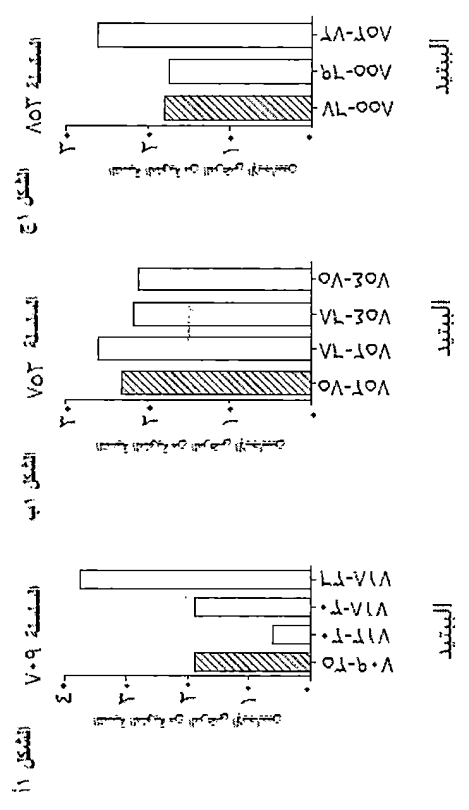
- 10- عملية لعلاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D) وفيه التركيبة المقبولة صيدلياً وفقاً لعنصر الحماية 3 أو 4 تُعطى إلى مريض مصاب ب T1D أو فرد غير مصاب بالسكري تم تحديد أنه يواجه خطر كبير للإصابة ب T1D.
- 11- عملية العلاج أو المنع وفقاً لعنصر الحماية 10 حيث التركيبة المقبولة صيدلياً بالاختراع الحالي تُعطى إلى مريض لدية كتلة خلية بيتا متبقية.
- 5 12- العملية وفقاً لعنصر الحماية 10 أو 11 حيث تُعطى التركيبة المقبولة صيدلياً عن طريق غير معوي، أو عن طريق الأنف، أو موضعياً، وتتضمن عبر الوريد، عبر الجلد، داخل العضل، تحت الجلد، داخل البريتون، داخل الأنف، عن طريق الفم أو على سطح الجلد.
- 13- العملية وفقاً لعنصر الحماية 12 حيث تُعطى التركيبة المقبولة صيدلياً عن طريق الجلد.
- 10 14- طقم لعلاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D) يشتمل على توليفة البيبتيد وفقاً لعنصر الحماية 1 أو عنصر الحماية 2.
- 15- عملية لتشخيص أو تحديد فعالية العلاج تشتمل على:
- (أ) توفير خلايا لمفاوية CD4 من فرد مشتبه في إصابته أو معرض للإصابة ب T1D؛
- (ب) توفير قطاع من خلايا عرض مولد الضد (APCs) التي تحمل على سطحها جزيء MHC الفئة II لأليل مطابق لما تم التعبير عنه بواسطة الفرد المذكور، قطاع APCs يكون قد تلامس مع توليفة البيبتيد وفقاً لعنصر الحماية 1 وجزيء MHC الفئة II المرتبط بواحد أو أكثر من ببتيدات توليفة البيبتيد وفقاً لعنصر الحماية 1؛ أو
- (ج) توفير مادة كاشفة متعددة الوحدات لببتيد HLA- قابل للذوبان تشتمل على جزيئات MHC من الفئة II لأليل مطابق لما تم التعبير عنه بواسطة الفرد المذكور، جزيئات MHC تكون قد ارتبطت بواحد أو أكثر من ببتيدات توليفة البيبتيد بالاختراع الحالي؛
- (د) ملامسة قطاع APCs لـ (ب) أو عديد وحدات HLA للبيبتيد لـ (ج) مع الخلايا للمفاوية CD4 لـ (أ)؛ و
- (هـ) تحديد ما إذا كانت الخلايا للمفاوية CD4 تتعرف على البيبتيد المرتبط بـ MHC من الفئة II، كدلالة على أن الفرد مصاب، أو معرض للإصابة ب T1D.
- 25 16- عملية وفقاً لعنصر الحماية 15 حيث تشتمل أيضاً على إعطاء توليفة البيبتيد وفقاً لعنصر الحماية 1 أو عنصر الحماية 2 إلى الفرد إذا ما تعرفت الخلايا للمفاوية CD4 على البيبتيد المرتبط بـ MHC من الفئة II.
- 17- توليفة بيبتيد تشتمل على:

- بببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 4؛  
 بببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 5؛ و  
 بببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 6
- للاستخدام في علاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D) حيث تكون التوليفه  
 للإعطاء مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة واحدة كل 1 إلى 4 أسابيع حتى أربع مرات  
 إعطاء.
- 18- توليفه بببتيد وفقاً لعنصر الحماية 17 حيث تكون التوليفه للإعطاء مرة واحدة على  
 الأقل في الشهر، ويفضل مرة واحدة كل 2 إلى 4 أسابيع حتى أربع مرات إعطاء.
- 19- توليفه بببتيد وفقاً لعنصر الحماية 17 حيث تكون التوليفه للإعطاء مرة واحدة على  
 الأقل في الشهر، ويفضل مرة في الأسبوع لمدة أربعة أسابيع.
- 20- توليفه بببتيد وفقاً لأي من عناصر الحماية 17 إلى 19 حيث تكون التوليفه للإعطاء  
 عند جرعة 240 ميكرو جرام من إجمالي الببتيد.
- 21- توليفه بببتيد وفقاً لأي من عناصر الحماية 17 إلى 19 حيث تكون التوليفه للإعطاء  
 عند جرعة 12 مجم من إجمالي الببتيد.
- 22- توليفه بببتيد وفقاً لأي من عناصر الحماية 17 إلى 21 حيث يتم صياغة توليفه الببتيد  
 على هيئة تركيبه مقبولة صيدلياً وتتضمن واحد أو أكثر من السواغات المقبولة صيدلياً.
- 23- توليفه بببتيد وفقاً لعنصر الحماية 22 حيث تتم صياغة التركيبه كي يتم توصيلها عن  
 طريق غير معوي، أو عن طريق الأنف، أو موضعياً، وتتضمن عبر الوريد، عبر الجلد، داخل  
 العضل، تحت الجلد، داخل البريتون، داخل الأنف، عن طريق الفم أو على سطح الجلد.
- 24- توليفه بببتيد وفقاً لعنصر الحماية 23 حيث تتم صياغة التركيبه كي يتم توصيلها عن  
 طريق الجلد.
- 25- عملية لعلاج أو منع مرض السكري من النوع 1 (T1D) وفيه تشتمل توليفه الببتيد  
 على:
- بببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 4؛  
 بببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 5؛ و  
 بببتيد له متواليه الحمض الأميني للمتواليه رقم: 6
- تُعطى إلى مريض مصاب بـ T1D أو فرد غير مصاب بالسكري تم تحديد أنه يواجه خطر  
 كبير بالإصابة بـ T1D مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة واحدة كل 1 إلى 4 أسابيع  
 حتى أربع مرات إعطاء.

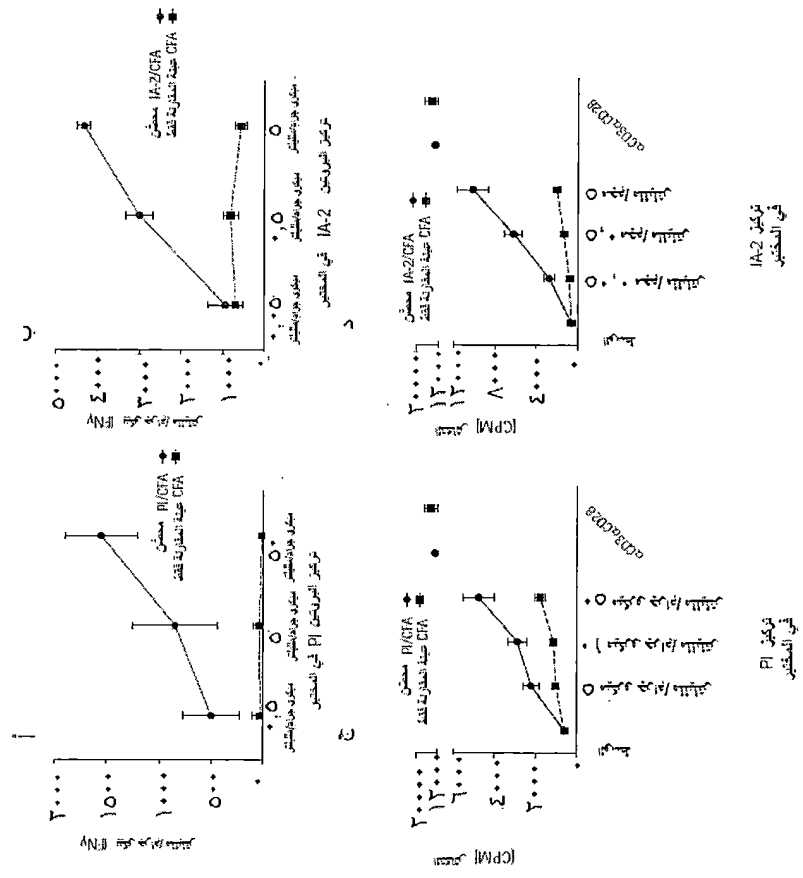
- 26- العملية وفقاً لعنصر الحماية 25 حيث تُعطى توليفة الببتيد مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة واحدة كل 2 إلى 4 أسابيع حتى أربع مرات إعطاء.
- 27- العملية وفقاً لعنصر الحماية 25 حيث تُعطى توليفة الببتيد مرة واحدة على الأقل في الشهر، ويفضل مرة في الأسبوع لمدة أربعة أسابيع.
- 5 28- العملية وفقاً لأي من عناصر الحماية 25 إلى 27 حيث تُعطى التوليفة بجرعة 240 ميكرو جرام من إجمالي الببتيد.
- 29- العملية وفقاً لأي من عناصر الحماية 25 إلى 27 حيث تُعطى التوليفة بجرعة 12 مجم من إجمالي الببتيد.
- 30- العملية وفقاً لأي من عناصر الحماية 25 إلى 29 حيث يتم صياغة توليفة الببتيد على هيئة تركيبية مقبولة صيدلياً وتتضمن واحد أو أكثر من السواغات المقبولة صيدلياً.
- 10 31- العملية وفقاً لعنصر الحماية 30 حيث تتم صياغة التركيبة كي يتم توصيلها عن طريق غير معوي، أو عن طريق الأنف، أو موضعياً، وتتضمن عبر الوريد، عبر الجلد، داخل العضل، تحت الجلد، داخل البريتون، داخل الأنف، عن طريق الفم أو على سطح الجلد.
- 32- العملية وفقاً لعنصر الحماية 31 حيث يتم صياغة التركيبة كي يتم توصيلها عن طريق الجلد.
- 15



الشكل ١

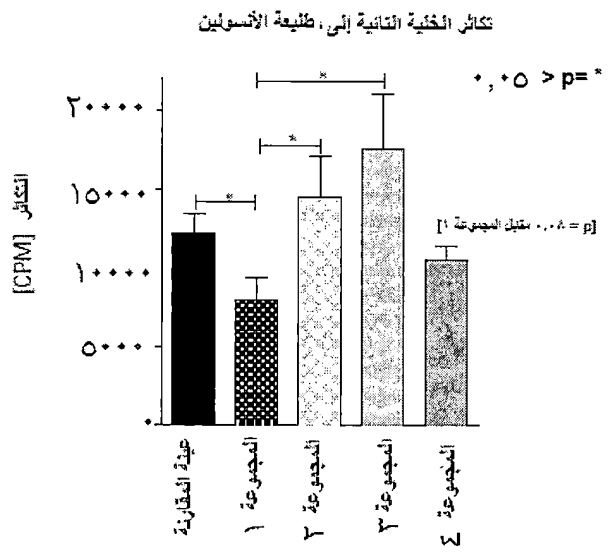


الشكل ٢

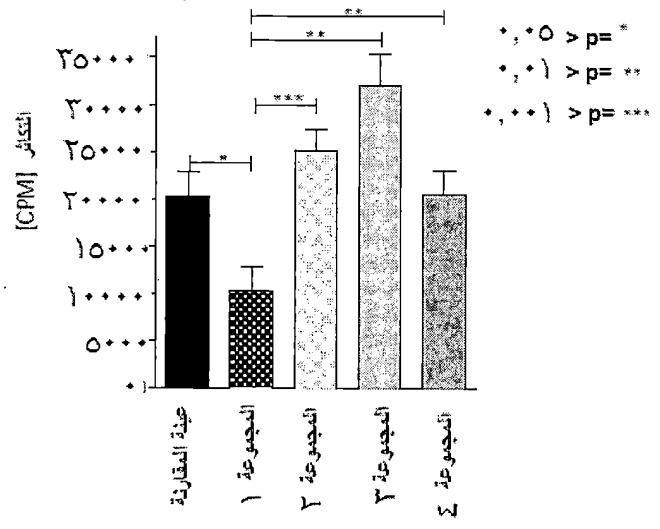


الشكل ٢

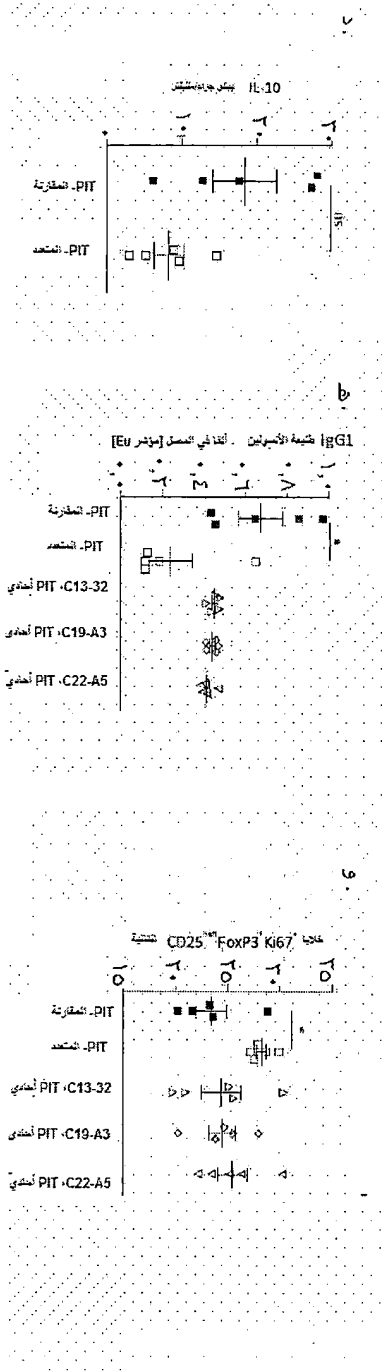
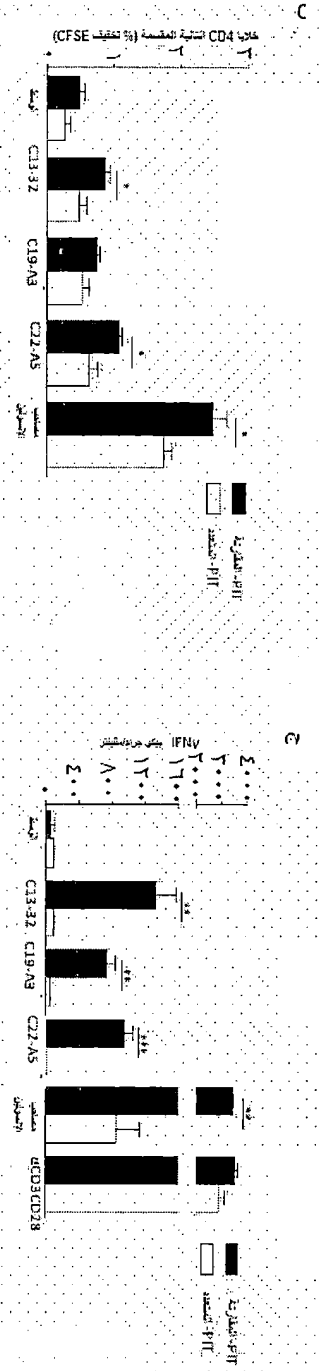
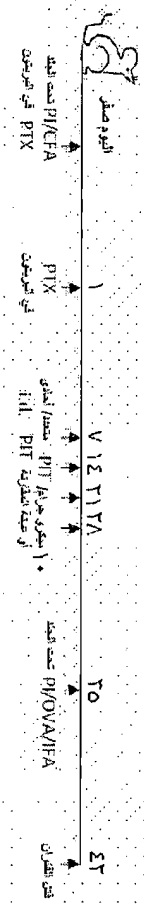
الشكل ٣

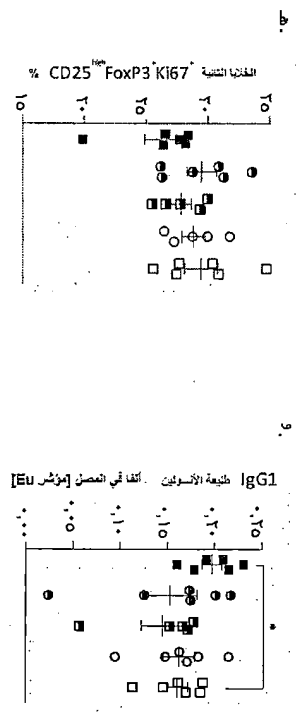
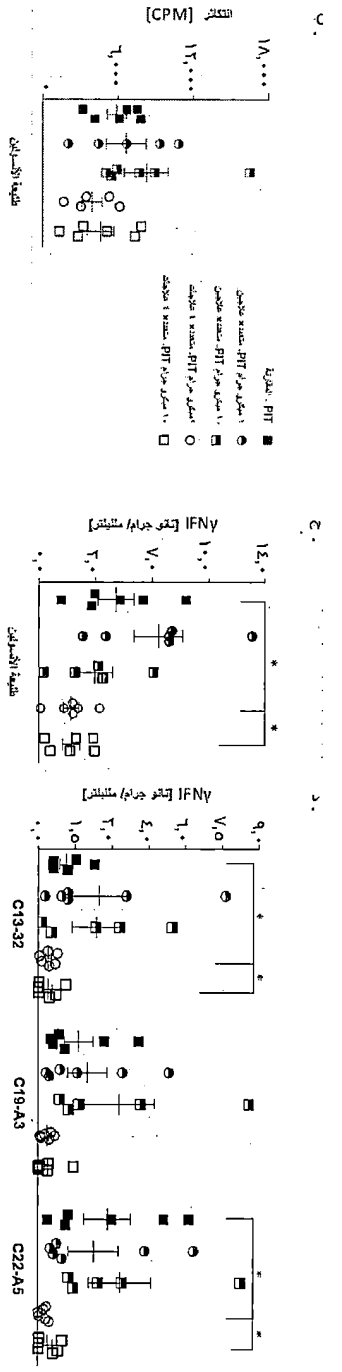
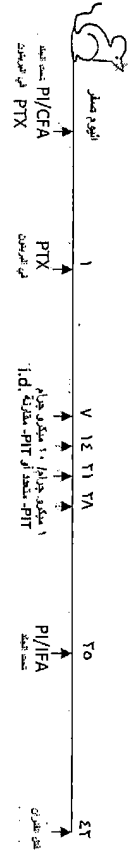


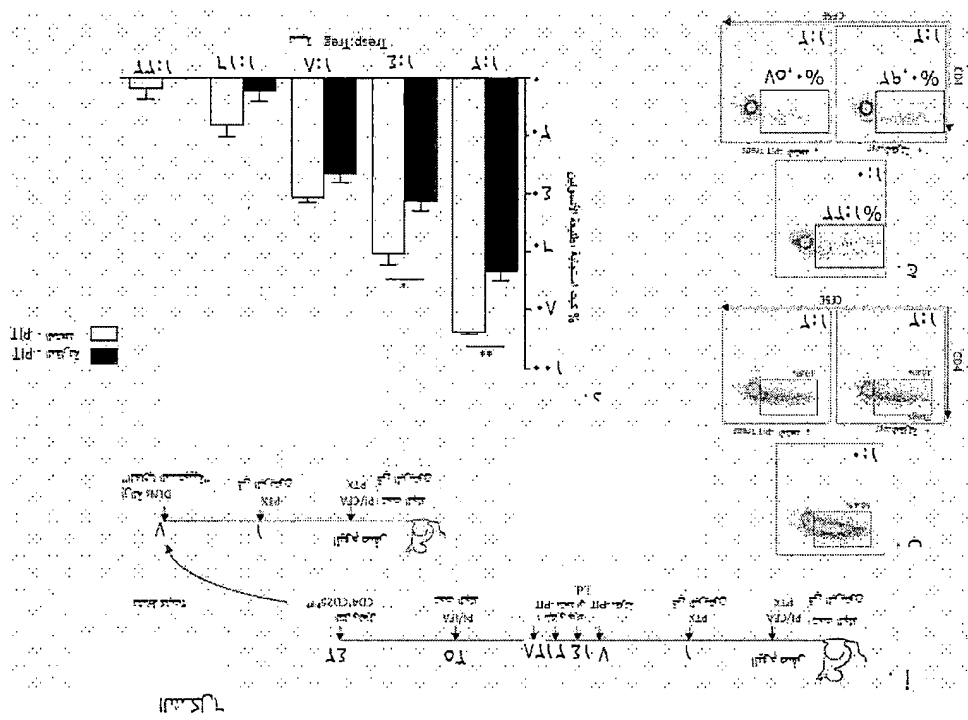
الشكل ٣ب تكاثر الخلية الثانية على IA-2



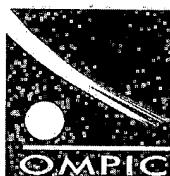
الشكل 3







ROYAUME DU MAROC  
\*\*\*\*\*  
OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE  
\*\*\*\*\*



المملكة المغربية  
-----  
المكتب المغربي  
للملكية الصناعية والتجارية  
-----

**RAPPORT DE RECHERCHE  
AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE**  
(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la  
protection de la propriété industrielle telle que modifiée et  
complétée par la loi 23-13)

<b>Renseignements relatifs à la demande</b>	
N° de la demande : 41668	Date de dépôt : 10/06/2016 Date d'entrée en phase nationale : 18/12/2017
Déposant : KING'S COLLEGE LONDON	Date de priorité: 10/06/2015
Intitulé de l'invention : COMPOSITION MULTI-PERTIDIQUE	
Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.	
Les documents brevets cités dans le rapport de recherche sont téléchargeables à partir du site <a href="http://worldwide.espacenet.com">http://worldwide.espacenet.com</a> , et les documents non brevets sont joints au présent document, s'il y en a lieu.	
Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants :	
Partie 1 : Considérations générales <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 1 : Base du présent rapport <input type="checkbox"/> Cadre 2 : Priorité <input type="checkbox"/> Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés	
Partie 2 : Rapport de recherche	
Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 4 : Remarques de clarté <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 5 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications dont aucune recherche significative n'a pu être effectuée <input type="checkbox"/> Cadre 7 : Défaut d'unité d'invention	
Examineur: A.MESLOHI	Date d'établissement du rapport: 23/02/2018
Téléphone: 212 5 22 58 64 14/00	

<b>Partie 1 : Considérations générales</b>		
<i>Cadre 1 : base du présent rapport</i>		
Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>Description</u> 18 Pages</li> <li>• <u>Revendications</u> 32</li> <li>• <u>Planches de dessin</u> 6</li> </ul>		
<b>Partie 2 : Rapport de recherche</b>		
<b>Classement de l'objet de la demande :</b>		
CIB : A61K38/10, A61K38/16, A61K38/28, A61P3/10, G01N33/68		
Bases de données électroniques consultées au cours de la recherche :		
EPOQUE, Orbit		
<b>Catégorie*</b>	<b>Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents</b>	<b>N° des revendications visées</b>
X	WO2005073248; KING'S COLLEGE LONDON; 11/08/2005	1-9,14,22-24
X	WO2002053106; JOSLIN DIABETES CENTER, INC.; 11/07/2002	1-9,14,22-24
X	WO2000063702; ZYCOS INC et al; 26/10/2000	1-9,14,22-24
<b>*Catégories spéciales de documents cités :</b>		
<p>-« X » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>-« Y » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>-« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>-« P » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs</p> <p>-« E » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté</p>		



<b>Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité</b>		
<i>Cadre 4 : Remarques de clarté</i>		
Les revendications 7-9 (type suisse) doivent être reformulées dans une forme correcte "composé pour une utilisation médicale", selon l'article 26 (alinéas 4 et 5) de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.		
<i>Cadre 5 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle</i>		
Nouveauté (N)	Revendications 1-9,14,22-24 Revendications Aucune	Oui Non
Activité inventive (AI)	Revendications Aucune Revendications 1-9,14,22-24	Oui Non
Possibilité d'application Industrielle (PAI)	Revendications 1-9,14,22-24 Revendications Aucune	Oui Non
Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure		
D1 : WO2005073248 D2 : WO2002053106 D3 : WO2000063702		
<b>1. Nouveauté (N) :</b>		
Aucun des documents cités ci-dessus ne divulgue l'ensemble des caractéristiques techniques de la revendication 1, d'où l'objet de ladite revendication est nouveau au sens de l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13. Par la suite les revendications 2-9,14,22-24 dépendantes sont aussi nouvelles.		
<b>2. Activité inventive (AI) :</b>		
Le document D1 qui est considéré comme étant l'état de la technique le plus proche de l'objet de la revendication 1 décrit des peptides utilisés pour traiter ou prévenir le diabète de type 1. La différence entre la revendication 1 et le document D1 réside dans les peptides de la combinaison.		
Le problème que la présente demande se propose de résoudre peut être considéré comme la fourniture d'autres combinaisons de peptides pour traiter ou prévenir le diabète de type 1. Sachant qu'aucun effet surprenant associé à cette différence n'a été divulgué dans la présente demande, la solution proposée n'implique pas une activité inventive. En effet, l'homme du métier peut arriver à l'objet de ladite revendication, en prenant en compte le document D1, sans faire preuve d'esprit inventif.		
Par conséquent, l'objet de la revendication 1 n'implique pas une activité inventive au sens de l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.		

Les revendications 2-9,14,22-24 n'apportent aucune caractéristique supplémentaire donnant un avantage technique à ladite invention. Par conséquent, l'objet desdites revendications n'est pas inventif au sens de l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

**3. Possibilité d'application industrielle (PAI) :**

L'objet des revendications 1-9,14,22-24 est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.

*Cadre 6: Observations à propos de certaines revendications dont aucune recherche significative n'a pu être effectuée*

Les revendications 10-13,17-21,25-32 concernent une méthode de traitement thérapeutique qui n'est pas brevetable au sens de l'article 24 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

Les revendications 15-16 concernent une méthode de diagnostic qui n'est pas brevetable au sens de l'article 24 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.