

## ÖZET

### ALERJİ AŞISI OLARAK PEPTİT TAŞIYICI FÜZYON PROTEİNLERİ

- 5 Buluş, alerjilerin tedavisinde yararlı olan, viral protein alerjen protein fragmanlarının füzyonuna ilişkindir.

## İSTEMLER

1. En azından bir vahşi tip alerjene karşı IgG tepkileri üretebilen ve IL-10 ile IFN-gamma üretimini indükleyebilen polipeptit olup; burada bu şekilde üretilen IgG, vahşi tip alerjenin IgE epitoplarına odaklanmıştır ve söz konusu vahşi tip alerjene IgE bağlanmasını bloke edebilir, söz konusu polipeptit, taşıyıcı olarak hareket eden Hepatit B PreS proteininin (SEK. ID No. 21) N-ve C-terminaline kaynaşmış, en az bir vahşi tip alerjenin 20 ila 50 ardışık amino asit tortusundan oluşan en azından 4 ve en fazla 6 hipoalerjenik peptit fragmanı içerir; burada, burada en az dört peptit fragmanı, vahşi tip alerjen ile karşılaştırıldığında IgE bağlayıcı özellik göstermez ya da bu özellik azaltılmıştır, B hücreleri bağlayıcı peptitlerdir ve T hücreleri reaktivitesi göstermezler, burada Hepatit B PreS proteini, N terminaline kaynaşmış en az bir vahşi tip alerjenden türetilmiş en az iki peptit fragmanı ve C-terminaline kaynaşmış en az bir vahşi tip alerjenden türetilmiş en az iki peptit fragmanı içerir.
2. İstem 1'e göre polipeptit olup, **karakteristik özelliği**, vahşi tip alerjenin, ana huş ağacı polen alerjenlerinden, özellikle Bet v 1, başlıca çayır kelp kuyruğu poleni alerjenlerinden, tercihen Phl p 1, Phl p2, Phl p 5, Phl p 6 ve Phl p7, başlıca ev tozu akar alerjenlerinden, tercihen Der p 1 Der p 2 ve Der p 23, başlıca kedi alerjeni Fel d 1 ve Fel d 2, başlıca arı alerjenleri, başlıca yaban arısı alerjenleri, profilinler, özellikle Phl p 12, zeytin alerjenleri, tercihen Ole e 1, Parietaria judaica alerjenleri, tercihen Par j 2, Ragweed alerjenleri, tercihen Amb a 1, misk otu polen alerjenleri, tercihen Art v 1 ve Japon sedir poleni alerjeni, tercihen Cry j 1 veya Cry j 2'den oluşan gruptan seçilmesidir.
3. İstem 1 ya da 2'ye göre polipeptit olup, **karakteristik özelliği**, peptit fragmanının, Phlp 1 amino asitleri 151 ila 177, 87 ila 117, 1 ila 30, 43 ila70 ila212 ila 241, Phl p 2 amino asitleri 1 ila 33, 8 ila 39, 34 ila 65 ila 66 ila 96, Phl p 5 amino asitleri 93 ila 128, 98 ila 128, 26 ila 53, 26 ila 58, 132 ila 162, 217 ila 246, 252 ila 283 veya 176 ila 212, Phl p 6 amino asitleri 23 ila 54, 56 ila 90, 73 ila 114 ya da 95 ila 127, Fel d 1 zincir 1 amino asitleri 1 ila 34 veya

35 ila 70, Fel d 1 zincir 2 amino asitleri 1 ila 34, 35 ila 63 ya da 64 ila 92, Bet v 1 amino asitleri 30 ila 59, 50 ila 79, 75 ila 104, 30 ila 74 veya 60 ila 104, Der p 1 amino asileri 1 ila 30, 52 ila 84 ya da 188 ila 222, Der p 2 amino asitleri 1 ila 33, 21 ila 51, 42 ila 73, 62 ila 103 veya 98 ila 129, Der p 7 amino asitleri 1 ila 30, 20 ila 50, 50 ila 80, 90 ila 125, 125 ila 155 ya da 165 ila 198, Der p 10 amino asitleri 1-35, 36-70, 71-110, 111-145, 140-170, 175-205, 210-250 veya 250-284, Der p 21 amino asitleri 1 ila 35, 35 ila 72, 70 ila 100 ya da 90 ila 122, Der p 23 amino asitleri 1 ila 32, 15 ila 48 veya 32 ila 70, 32 ila 60, 52 ila 84, 32 ila 70 (Cys->Ser), Alt a 1 amino asitleri 19 ila 58, 59 ila 95, 91 ila 120 veya 121 ila 157, Par j 2 amino asitleri 31 ila 60, 45 ila 80, 60 ila 96 veya 97 ila 133, Ole e 1 amino asitleri 1 ila 40, 36 ila 66, 63 ila 99, 86 ila 120 veya 107 ila 145, Fel d 2 amino asitleri 25 ila 58, 99 ila 133, 154 ila 183, 277 ila 307, 334 ila 363, 373 ila 402, 544 ila 573, 579 ila 608, 58 ila 99, 125 ila 165, 183 ila 224, 224 ila 261, 252 ila 289, 303 ila 340, 416 ila 457, 460 ila 500 ya da 501 ila 542, Can f 2 amino asitleri 19 ila 58, 52 ila 91, 82 ila 119, 106 ila 144 veya 139 ila 180, Can f 1 amino asitleri 19 ila 56, 51 ila 90, 78 ila 118, 106 ila 145 veya 135-174, Art v1 amino asitleri 27 ila 70, 70 ila 100 veya 92 ila 132, Amb a 1 amino asitleri 31 ila 70, 80 ila 120, 125 ila 155, 160 ila 200, 225 ila 263, 264 ila 300 305 ila 350 veya 356 ila 396, Alt a 6 amino asitleri 1 ila 34, 35 ila 74, 74 ila 115, 125 ila 165, 174 ila 213, 241 ila 280, 294 ila 333, 361 ila 400 veya 401 ila 438, Alt a 2 amino asitleri 1 ila 40, 41 ila 80, 81 ila 120, 121 ila 160 ya da bunların fragman ya da sekans varyantlarını içerir veya bunlardan oluşur.

- 5
4. İstemler 1 ila 3'e göre polipeptit olup **karakteristik özelliği**, polipeptitin SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 16, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 18, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 20, SEQ ID No. 149, SEQ ID No. 150, SEQ ID No. 151 ve SEQ ID No. 152'den oluşan gruptan seçilen bir amino asit sekansına sahip olmasıdır.
5. Bir insan veya hayvanda bir alerjinin tedavisinde veya önlenmesinde kullanım için istem 1 ila 4'ten herhangi birine göre polipeptittir.
- 10
6. İstemler 1 ila 4'den herhangi birine göre bir polipeptidi kodlayan nükleik asit molekülüdür.
7. İstem 6'ya göre bir nükleik asit molekülü içeren vektördür.
- 15
8. İstem 6'ya göre bir nükleik asit molekülü veya istem 7'ye göre bir vektör içeren konaktır.
9. İstem 1 ila 4'ten herhangi birine göre en az bir polipeptit içeren aşı formülasyonudur.
- 20
10. İstem 9'a göre, çim polen alerjenlerinden türetilmiş bir hipoalerjenik polipeptit karışımı içeren çim polen alerjisinin tedavisinde veya önlenmesinde kullanım aşı formülasyonu olup **karakteristik özelliği** polipeptitlerin en az birinin SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 16 ve SEQ ID No. 17'den seçilmesidir.
- 25
11. İstem 9'a göre, huş ağacı poleni alerjisinin tedavi ya da önlenmesinde kullanılmak üzere aşı formülasyonu olup, en az bir hipoalerjenik polipeptit, SEQ ID No. 18 ve SEQ ID No. 19'dan seçilir:
- 30
12. İstem 9'a göre, ev tozu akarı alerjenlerinden türetilen en az bir polipeptit içeren ev tozu akarı alerjisinin tedavisinde veya önlenmesinde kullanım için aşı formülasyonu olup **karakteristik özelliği**, SEQ ID No. 149, SEQ ID No.

150, SEQ ID No. 151 ve SEQ ID No. 152'den en azından bir polipeptit içermesidir.

5

10

15

20

25

30

## TARİFNAME

### ALERJİ AŞISI OLARAK PEPTİT TAŞIYICI FÜZYON PROTEİNLERİ

#### 5 **TEKNİK ALAN**

Bu buluş, alerjilerin tedavisinde yararlı olan, viral protein alerjen protein fragmanlarının füzyonuna ilişkindir.

#### **TEKNİĞİN BİLİNEN DURUMU**

10 Tip I alerji, nüfusun neredeyse %25'ini etkileyen IgE-aracılı hipersensitive hastalığıdır. Zararsız hava yoluyla taşınan, böcek, zehir, gıda alerjeni ve Spesifik immunoglobülin E tarafından polen, böcek, küf ve hayvan proteinleri gibi tek başına zararsız antijen kaynaklarından türetilen kontakt alerjenlerinin tanınmasına dayalıdır. Efektör hücre ile bağlanmış IgE antikollarının çapraz bağlanması, 15 inflamatuvar araçların (örn. histamin, lökotrienler) salınmasına ve böylelikle anlık alerji semptomlarına (örn. rinokonjonktivit, asma, dermatit, anafilaksi) yol açar. IgE'ye bağlı ve IgE'den bağımsız mekanizmalar aracılığıyla T hücresi aktivasyonu, kronik alerjik inflamasyona katkıda bulunur.

Alerji tedavisinin muhtemelen sadece nedensel şekli, çoğu kaynak için alerjen 20 ekstraktlarının artan miktarlarının tekrarlı uygulanmasına dayanan alerjen spesifik immunoterapidir. Sayısız klinik çalışmada, enjeksiyon immunoterapinin klinik etkinliği belgelenmiş olup bu tedaviyi vurgulayan birçok immunolojik mekanizma mevcuttur. Bazı alerjen kaynakları için yüksek kaliteli alerjen ekstraktının hazırlanmasının zorluğu ve alerjenlerin hastalara uygulanmasının birçok yan 25 etkiye yol açmasından dolayı, alerjen-spesifik immunoterapi sadece belirli hasta grupları ile hastalık belirtisi için tavsiye edilebilir. Farklı alerjen kaynaklarına eş hassasiyeti olan hastalar ile alerjik astım gibi ciddi hastalık belirtilerinden muzdarip hastaları tedavi etmek özellikle zordur. Alerjik astım, günlük yaşam kalitesini ciddi seviyede etkilediği, yüksek hastaneye yatış oranlarına neden olduğu ve yaşamı 30 tehdit eden formları, hastaya yoğun bakım gerektirdiği için alerjinin en kuvvetli belirtilerinden biridir.

Doğal alerjen kaynaklarından hazırlanan alerjen ekstraktları, doğada ham haldedir ve teknik araçlarla bu tür preparatlardaki tekil alerjenlerin kalite ve miktarını

etkilemek mümkün değildir. Ayrıca çok sayıda tanımlanmamış alerjik olmayan bileşen içerirler ve son zamanlarda yapılmış olan araştırmalardan bazıları, bu ekstraktların kalitesinin düşük olduğunu belirtir ve bunların heterojenliklerinin yüksek olduğunu kanıtlar.

5 Son on yılda, rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak moleküler alerjen karakterizasyonu alanında büyük bir ilerleme kaydedilmiştir. Hastalığı ortaya çıkaran en önemli alerjenlerin büyük bir kısmı moleküler seviyeye kadar karakterize edilmiştir ve doğal alerjen ekstraktlarının epitop karmaşıklığını taklit eden rekombinant alerjenler üretilmiştir. Ayrıca, birkaç araştırma grubu, 10 tanımlanmış yeni alerji aşıları geliştirmek için alerjen yapılarına ilişkin bilgi birikimini kullanmıştır. Genetik mühendislik, sentetik peptit kimyası ve alerjenlerin immunostimülatör DNA sekansları ile birleşmesi, yeni aşıların alerjenik aktivitesini ve dolayısıyla tedaviye bağlı yan etkilerin oranını azaltmada kullanılmıştır. İlk umut veren klinik çalışmalar bu alerjen türevleriyle gerçekleştirilmiştir. İlginç bir şekilde, 15 genetik yapısı değiştirilmiş rekombinant alerjenlerin ve alerjen türevli sentetik T hücreleri epitopu içeren peptitlerin IgE reaktivitesinin büyük oranda azaltılabilmesine veya hatta tamamen ortadan kaldırılabilmesine rağmen, bu türevlerin enjeksiyondan birkaç saat sonra ortaya çıkan sistemik yan etkileri indükleyebildiği ortaya çıktı. Örneğin, ana kedi alerjisi Feld 1'in T hücreleri epitop peptitlerinin, intrakütanöz enjeksiyondan birkaç saat sonra astım ve bronşial 20 hiperreaktiviteyi indüklediği ve bu etkinin T hücreleri aracılı ve MHC kısıtlı olduğuna dair güçlü kanıtlar bulunduğu bildirilmiştir.

Bu sonuçlar, IgE reaktivitesinin kaldırılmasının, bu immünoterapi çalışmaları sırasında herhangi bir ani reaksiyon kaydedilmediğinden IgE aracılı yan etkileri 25 azalttığını gösterir. Ancak, rekombinant alerjen türevlerinin yanı sıra peptit karışımlarında korunan alerjene özgü T-hücreleri epitopları, geç yan etkilerden (örneğin, sorunlu veya atopik dermatit, kronik T hücreleri aracılı alerjik deri bulguları) sorumludur. Rekombinant alerjen türevleri durumunda ortaya çıkan yan etkiler göreceli olarak hafifti ve T hücreleri peptiti aşıları durumunda, yeterli 30 dozlama ile aşılabılır. Bu nedenle, iki yeni yaklaşım da, alerjik rinokonjonktivitinin immünoterapisine ilişkin çok umut verici görünmektedir, ancak, akciğerde geç yan etkilerin indüklenmesinin çok sorunlu olabileceği ciddi alerjik astım biçimlerinin tedavisi konusunda kısıtlamalar olabilir.

- Peptit, polipeptit ve proteinlere karşı etkili bir bağışıklık tepkisi vermek ve dolayısıyla başlatmak için adjuvanlar ve/veya taşıyıcılar düzenli olarak kullanılır. Örneğin, Komple Freund adjuvanı (CFA), mevcut olan en güçlü adjuvanlardan biridir. Alerjenlerden ve tabii ki Komple Freund adjuvanı kullanılarak veya
- 5 kullanılmadan diğer antijenlerden türetilen peptit ve polipeptitlere karşı güçlü bağışıklık tepkilerini indükleyebilen aşı kompozisyonlarına ihtiyaç vardır. Ayrıca, hayvan modellerinde başarılı bir şekilde bir taşıyıcı olarak kullanılmasına rağmen, BSA'nın, prion hastalığı bulaştırma riski (varyant Creutzfeldt-Jakob hastalığı) gibi olumsuz reaksiyon riski nedeniyle, insan aşı kompozisyonlarında kullanımı uygun
- 10 olmayabilir. Alerjenlere karşı etkili bir aşı geliştirilmesinde yaşanan bir başka zorluk da, bir bireyde ya da hayvanda alerjenleri hızlı bir şekilde azaltabilen bir bağışıklık tepkisine ihtiyaç duyulmasıdır. Bu nedenle, ağırlıklı olarak IgG alt tipinden olan kanda yüksek konsantrasyonlarda alerjene özgü antikorlar gereklidir. Mukozal yüzeylerde IgA antikorları da önemlidir.
- 15 Teknikte bilinen bir taşıyıcı protein olan kolera toksini de, adjuvan olarak sürekli kullanılır. Ancak, kolera toksini toplam ve spesifik IgE antikor seviyelerini artırır ve IgE ile ilişkili inflamatuvar reaksiyonlara yol açar.
- Aşılamada kullanılan çoğu taşıyıcı proteinin yol açtığı yan etkiler nedeniyle, toksik adjuvanlar kullanmadan, düşük tolere edilmiş taşıyıcı proteinler kullanmadan ve
- 20 baz durumlarda potansiyel olarak patolojik bağışıklık tepkilerinin stimülasyonu olmadan alerjenlere veya diğer antijenlere karşı bağışıklık tepkilerini uyaran taşıyıcı sistemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu özellikleri karşılayan yeni taşıyıcı sistemler, alerjik hastalıklar gibi hastalıkların tedavisi ya da önlenmesine uygun yeni konjugat ve kompozisyonları oluşturmaya yönelik olarak kullanılabilir.
- 25 Bohle B. v.d. (J. Immunol. 172 (11) (2004): 6642-6648) tarafından hazırlanan makalede, bir S tabakası protein parçası ve Bet v 1 parçasından oluşan rekombinant füzyon proteini tarif edilmektedir. Bu molekül, Bet v 1'e özgü T hücreleri epitoplarını içeren doğal Bet v 1 alerjeni içerir.
- WO 2004/004761 sayılı belge, bir immünojene kaynaşmış ve bağışıklığı artırma
- 30 için kullanılacak virüs benzeri partiküller ile ilgilidir.
- WO 2004/003143 sayılı belgede, aşılamaya için immünojen olarak bir virüs benzeri partikül ve bir alerjenik molekül içeren füzyon proteinlerinin kullanımı tarif edilir.



WO 2007/140505 sayılı belge ve Edlmayr v.d. tarafından hazırlanan makalede (J. Immunol. 182 (10) (2009) 6298-6306), alerjene özgü IgG antikorlarını indüklemek için alerjenden türetilmiş peptitlere kaynaşmış çeşitli taşıyıcı moleküller içeren füzyon proteinlerinin kullanımı tarif edilmiştir, ancak bu yapılar, IL-10 veya Th1

5 bağışıklığının indüke edilmesi gibi alerjik hastalar için avantajlı olarak kabul edilebilecek immünomodülatör bir etki göstermez. Edlmayr ve diğerlerine ait Şekil 4, KLH ile kaynaşmış peptitlerin, Th2 sitokin IL-5'i indüklediğini ve VP1 füzyon proteinlerinin, IL-10 veya IFN-gamayı indüklediğini gösterir.

Niespodziana v.d. tarafından hazırlanan makalede (J. Allergy Clin. Immunol. 127

10 (6) (2011) 1562-1570), alerjene özgü IgG antikorlarını indüklemek için her birinde Hepatit B'den türetilmiş PreS ve ana kedi alerjeni Fel d 1'den türetilmiş iki peptiy içeren füzyon proteinlerinin kullanımı tarif edilmiştir. Ancak, insanların aşılması için uygun hiçbir rejim tarif edilmemiş ve peptitler, alerjene özgü T hücresi epitopları içermektedir.

15

### **BULUŞUN TANIMI**

Bu buluşun bir amacı, yukarıda belirtilen dezavantajların üstesinden gelen ve azaltılmış yan etkileri olan bir alerjen aşılması sağlayan ilaç ve taşıyıcılar sağlamaktır.

20 Bu nedenle mevcut buluş, en azından bir vahşi tip alerjene karşı IgG tepkileri üretebilen bir polipeptit ile ilgilidir, burada, bu şekilde üretilen IgG, IgE'nin söz konusu vahşi tip alerjene bağlanmasını bloke edebilir ve IL-10 ve IFN-gama üretimini indükleyebilir; söz konusu polipeptit, taşıyıcı protein Hepatit B PreS proteininin (SEK. ID No. 21) N- ve C-terminaline kaynaşmış, en az bir vahşi tip

25 alerjenin 20 ila 50 ardışık amino asit tortusundan oluşan en azından 4 ve en fazla 6 hipoalerjenik peptit fragmanı içerir; burada, söz konusu fragman, hepadnaviridae familyasına ait bir virüsün yüzey polipeptitidir veya söz konusu yüzey polipeptirinin en az bir fragmanıdır; burada en az dört peptit fragmanı, vahşi tip alerjen ile karşılaştırıldığında IgE bağlayıcı özellik göstermez ya da bu özellik

30 azaltılmıştır, , B hücresi bağlayıcı peptitlerdir ve T hücresi reaktivitesi göstermezler, burada Hepatit B PreS proteini, N terminaline kaynaşmış en az bir vahşi tip alerjenden türetilmiş en az iki peptit fragmanı ve C-terminaline kaynamış en az bir vahşi tip alerjenden türetilmiş en az iki peptit fragmanı içerir.

Bir moleküle karşı, özellikle mevcut buluşa göre bir alerjenik veya hipoalerjenik moleküle karşı geliştirilmiş bir bağışıklık tepkisini tetiklemek için, en azından bir vahşi tip alerjenden türetilmiş en az dört peptit fragmanı, bir Hepatit B PreS polipeptidine kaynaştırılır (genetik mühendisliği ile). Şaşırtıcı olarak, hepnaviridae familyasından bir virüsünün bir yüzey polipeptiti olan KLH (Keyhole limpet hemosiyanin) gibi geleneksel ve düzenli olarak kullanılan taşıyıcı proteinlerin aksine, bir Hepatit B PreS polipeptidinin, bir bunlara bağlı olan peptitlere yönelik antikörlerin gelişmiş bir oluşumuna yol açtığı ortaya çıktı.

Hepatit B PreS polipeptidine kaynaşmış düzgün seçilmiş üçten fazla alerjen türevi peptit fragmanı ile immünizasyonla indüklenen alerjene özgü IgG antikörlerinin, alerjenin IgE epitoplarına daha iyi odaklanırken vahşi tip alerjen ile immünizasyonun, IgE reaktif olmayanlar da dahil olmak üzere alerjenin tüm parçalarına yönelik olan IgG'ye yol açtığı ortaya çıktı. IgG titreleri için normalize edilmiş bir deneyde bu, vahşi tip alerjen ile indüklenene kıyasla PreS/peptit indükeli IgG'nin daha iyi bir bloke etme kapasitesine yol açar (Şekil 12).

Aynı zamanda, çok şaşırtıcı bir şekilde, insan periferik mononükleer kan hücrelerinin kültürlerinde, Hepatit B PreS polipeptidine alerjen türevli peptit fragmanlarının füzyon proteinlerinin sitokinler IL-10 ve IFN gamma'yı güçlü bir şekilde indüğe ettiği ortaya çıkmış ve bunun da başarılı bir alerji immünoterapisinin pozitif göstergeleri olduğu belirtilmiştir. Buna karşılık, IL-10 ve IFN-gama indüksiyonu, vahşi tip alerjen, tek başına alerjen türevli peptit fragmanları veya tek başına PreS ile anlamlı şekilde daha düşüktü (Şekil 10).

Burada kullanılan şekliyle "N- ve C-terminaline kaynaşmış" ifadesi, bir Hepatit B PreS proteininin N-terminaline en az iki peptidin kaynaşmış olduğu ve bir Hepatit B PreS proteininin C-terminaline en az iki peptidin kaynaşmış olduğu anlamına gelir. Örnek vermek gerekirse, en temel yapı içinde, bir Hepatit B PreS proteini, N-terminalinde iki peptit ve C-terminalinde iki peptit içerebilir.

Bu buluşun polipeptiti, en az dört ve en fazla altı peptit fragmanı, bir alerjenden türetilen B hücresi bağlayıcı peptitleri içerir, burada en tercih edilen dört peptit içermesidir.

Mevcut buluşa göre taşıyıcı protein, aşağıdaki amino asit dizisine sahip (SEK. ID No. 21) Hepatit B PreS polipeptitidir:

GGWS SKPRKGMGTNI. SVPNPI.GFFPDHQL.DPAFGANSNNPDWDFNPI  
 KDHWPAANQVGVGAFGPGGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQ S  
 GRQPTPI SPPLRD SHPQAMQWNSTAFHQAL QDPRVRGLYFPAGGS S SGTVN  
 PAPNIASHIS S I SARTGDPVTN

Bu tarifnamede kullanıldığı haliyle "hipoalerjenik" terimi, alerjik potansiyeli (yani, teknikte bilinen IgE bağlanma tahlilleri ile belirlenen IgE reaktivitesi) azaltılmış olan ya da hiç olmayan molekülleri ifade etmektedir. Bu moleküllerin bir bireyde alerjik reaksiyonları tetikleme kapasitesi, bu moleküllerin türetildiği vahşi tip proteine kıyasla daha azdır.

Bir Hepatit B PreS proteininin N- ve C-terminaline kaynaşmış en az dört ve en fazla altı peptit fragmanı, 20 ila 50 ardışık amino asit ile en az bir yabancı tip alerjenden oluşur ve peptit fragmanlarının türetildiği doğal tipte alerjene kıyasla düşük IgE reaktivitesi sergiler. Bu peptit fragmanları tercihen, T hücresi aracılı yan etkilere neden olabilecek alerjene özgü T hücresi epitoplarını dışlamak için tasarlanmıştır. T hücresi epitopları ve düşük T hücresi tepkisi sergileyen moleküller, teknikte uzman kişilerce bilinen yöntemlerle belirlenebilir ve tanımlanabilir (örn., Bercovici N. v.d. Clin Diagn Lab Immunol. (2000) 7:859-864).

En az bir vahşi tip alerjenin 20 ila 50 ardışık amino asitinden oluşan en az dört ve en fazla altı peptit fragmanı bir ve aynı alerjenden türetilebilir. Aynı alerjenden iki veya daha fazla fragmanın türetilmesi halinde, bu iki veya daha fazla fragman, vahşi tip alerjene bitişik olarak yerleştirilmez ve/veya mevcut buluşa ait polipeptitte, vahşi tipte alerjendeki sıraya uymayan bir sıraya sahiptir.

Burada kullanıldığı şekliyle "peptit fragmanı" terimi, vahşi tip bir alerjenin birincil yapısından türetilen ve bu vahşi tip alerjenin 20 ila 50 ardışık amino asitinden oluşan buluşa ait bir hipoalerjenik polipeptit veya füzyon proteininin bir parçası/fragmanı anlamına gelir.

Bu tarifnamede kullanıldığı haliyle, "bir alerjenden türetilmiş" ve "en az bir vahşi tip alerjenden türetilmiş" ifadeleri, bu buluşun amaçları doğrultusundaki peptit fragmanlarının, doğrudan fragmantasyon veya kesme yoluyla bir alerjenden elde edildiği anlamına gelmektedir. Bu peptit fragmanlarının amino asit sekansı, peptit fragmanlarının türetildiği vahşi tip alerjenin amino sekansı uzantısına en az %80 özdeş, daha tercihen en az %90 özdeş, en çok tercihen en az %95 özdeş ve özellikle %100 özdeştir. Ancak, vahşi tip alerjen fragmanlarına %100 özdeş

olmayan peptitler, bir antikor veya antikorlara, tercihen söz konusu vahşi tip alerjen fragmanlarına yönelik olan IgG antikorlarına en az %60, tercihen en az %70, daha tercihen en az %80, en çok tercihen en az %90 kuvvetle bağlanabilmelidir. "En az bir vahşi tip alerjen" ifadesi, mevcut buluşun polipeptitinin, birden fazla, tercihen iki, daha fazla tercihen üç farklı vahşi tip alerjenin (yani kaynaklar) B hücresi bağlayıcı peptitlerini içerebileceği anlamına gelir (örn., Bet v 1'den türetilmiş bir peptit, Amb a 1'den türetilmiş ve Phl p 1'den türetilmiş veya biri Bet v 1 ve biri Amb a 1'den türetilmiş iki peptit).

Bir birinci amino asit sekansının bir ikinci amino aside özdeşlik derecesi, bazı algoritmalar kullanılarak her iki amino asit sekansı arasındaki doğrudan bir karşılaştırma ile belirlenebilir. Bu tür algoritmalar, örneğin, çeşitli bilgisayar programlarında mevcuttur (örn., "BLAST 2 SEQUENCES (blastp)") (Tatusova v.d. (1999) FEMS Microbiol. Lett. 174:247-25; Corpet F, Nucl. Acids Res. (1988) 16:10881-10890).

Bu buluşun polipeptitleri, rekombinant yöntemler veya kimyasal sentez ile elde edilebilir. Alternatif olarak, tabii ki, vahşi tip alerjenin enzimatik veya kimyasal bölünmesi ya da ilgilenilen molekülü barındıran bir polipeptit/protein ile de moleküllerin elde edilmesi mümkündür.

Şaşırtıcı bir şekilde, geliştirilmiş özelliklere sahip peptit taşıyıcı füzyon proteinlerinin, insan hepatit B virüsünden yüzey proteinleri kullanılarak elde edilebildiği bulunmuştur. Dört ila altı hipoalerjenik peptit fragmanı, bir Hepatit B PreS proteininin C-terminaline ve N-terminaline kaynaşabilir. Bu nedenle mevcut buluş, insan hepatit B virüsünün yüzey antijenlerinden türetilmiş bir taşıyıcı protein içeren en az 4 ila en fazla 6 hipoalerjenik peptit fragmanından oluşan füzyon proteinleri ile ilgilidir. Bu füzyon proteinleri, taşıyıcı olarak PreS proteinini kullanır. Bu buluşun en çok tercih edilen bir uygulaması, preS taşıyıcı proteine 4 hipoalerjenik peptit fragmanının kaynaştığı füzyon proteinleridir. (Hipoalerjenik) Peptit fragmanları, aynı veya farklı olabilir ve bir veya birkaç alerjenik proteinden türetilbilir ve füzyon proteini içindeki peptitlerin konumu, taşıyıcı proteinin C-terminali ve N-terminalidir. Her C-terminaline ve N-terminaline bir ila üç (hipoalerjenik) peptit fragmanı, (hipoalerjenik) peptit fragmanlarının toplamı, örneğin, üç veya dört ila altı olacak şekilde kaynaştırılabilir. "Kaynaşmış" veya "füzyon proteini" terimleri, buluşun tercih edilen bir uygulamasına, yani alerjik

olmayan taşıyıcı proteinin ve taşıyıcının C- ve N-terminalindeki (hipoalerjenik) peptit fragmanlarının, tekil rekombinant polipeptit zinciri olarak eksprese edilip hazırlanmasına atıfta bulunur.

Mevcut buluşun en çok tercih edilen bir uygulaması, bir veya iki, tercihen iki peptit fragmanının her birinin taşıyıcının C-terminaline ve N-terminaline kaynaşık olacak şekilde belirli bir alerjenden türetilen (hipoalerjenik) peptit fragmanlarını taşıyan hepatit B virüsü preS proteininin füzyon proteinleridir. Örnek verirsek, mevcut buluşun tercih edilen polipeptitleri, aşağıdaki jenerik yapılar ile temsil edilen genel moleküler yapıya sahip olabilir:

10 Yapı 1 Tercih edilen uygulamaların genel yapı prensibi

|          |          |      |          |          |
|----------|----------|------|----------|----------|
| Peptit A | Peptit B | PreS | Peptit C | Peptit D |
|----------|----------|------|----------|----------|

A, B, C ve D peptitlerinin aynı veya farklı olabileceği ve her tekil füzyon proteini için aynı alerjenden türetililebileceği ya da farklı alerjenlerden türetililebileceği anlaşılmalıdır.

Hepadnaviridae familyasının bir virüsünün yüzey polipeptitinin N- ve C-terminaline veya söz konusu yüzey polipeptitinin en az bir fragmanına, tercihen preS proteinine veya bunun bir fragmanına kaynaşacak (hipoalerjenik) peptitler tercihen, ana huş polen alerjenlerinden, özellikle Bet v 1 ve Bet v 4'ten, ana çayırotu polen alerjenlerinden, özellikle Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5, Phl p 6 ve Phl p 7'den, ana ev tozu akarı alerjenlerinden, özellikle Der p 1, Der p 2, Der p 5, Der p 7, Der p 21 ve Der p 23'den, ana kedi alerjeni Fel d 1'den, ana kaynarotu alerjeni Amb a 1'den, ana Japon sedir alerjenleri Cry j 1 ve Cry j2'den, ana arı alerjenlerinden, ana eşekarısı alerjenlerinden, profilinlerden, özellikle Phl p 7, Phl p 12'den oluşan gruptan seçilir.

Mevcut buluşa göre kullanılacak diğer uygun alerjenler, söz konusu tablo ile sınırlandırılmaksızın aşağıdaki tablo 2'den elde edilebilir.

Tablo 2 Hipoalerjenik peptitlerin kaynakları

30

Tür Adı

Alerjen Biochem.ID MW cDNA Referans Ace.

| Adı   | ya da<br>Kullanılmayan<br>adı |       | (C) ya<br>da<br>protein<br>(P) | No.      |
|---|-------------------------------|-------|--------------------------------|----------|
| <b>Ambrosia<br/>artemisiifolia Arsız<br/>Zaylan</b> |                               |       |                                |          |
| Amb a<br>1  | antijen E                     | 8     | C                              | 8.20     |
| Amb a<br>2  | antijen K                     | 38    | C                              | 8.21     |
| Amb a<br>3  | Ra3                           | 11    | C                              | 22       |
| Amb a<br>5  | Ra5                           | 5     | C                              | 11.23    |
| Amb a<br>6  | Ra6                           | 10    | C                              | 24.25    |
| Amb a<br>7  | Ra7                           | 12    | P                              | 26       |
| <b>Ambrosia trifida</b>                             |                               |       |                                |          |
| Amb t<br>5  | Ra5G                          | 4.4   | C                              | 9, 10,27 |
| <b>Artemisia vulgaris<br/>misk otu</b>              |                               |       |                                |          |
| Art v 1   |                               | 27-29 | C                              | 28       |
| Art v 2   |                               | 35    | P                              | 28A      |
| Art v 3   | Lipit transfer<br>proteini    | 12    | P                              | 53       |
| Art v 4   | profilin                      | 14    | C                              | 29       |
| <b>Helianthus annuus<br/>ayçiçeği</b>               |                               |       |                                |          |
| Hel a 1   |                               | 34    |                                | 29A      |
| Hel a 2   | profilin                      | 15.7  | C                              | Y15210   |

## Mercurialis annua

|       |          |       |   |        |
|-------|----------|-------|---|--------|
| Me ra | profilin | 14-15 | C | Y13271 |
| 1     |          |       |   |        |

## Caryophyllales

## Chenopodium

## kazayağı,

|       |  |    |   |              |
|-------|--|----|---|--------------|
| Che a |  | 17 | C | 29B,AY049012 |
| 1     |  |    |   |              |

## Ok Başı Sarmaşığı

|       |          |    |   |          |
|-------|----------|----|---|----------|
| Che a | profilin | 14 | C | AY082337 |
| 2     |          |    |   |          |

|       |           |    |   |          |
|-------|-----------|----|---|----------|
| Che a | Polcalcin | 10 | C | AY082338 |
| 3     |           |    |   |          |

## Salsola kali Salsola

## Tür Adı

|         |               |    |          |          |
|---------|---------------|----|----------|----------|
| Alerjen | Biochem.ID    | MW | cDNA (C) | Referans |
| Adı     | ya da         |    | ya da    | Ace. No. |
|         | Kullanılmayan |    | protein  |          |
|         | adı           |    | (P)      |          |
|         | Sal k 1       | 43 | P        | 29C      |

## Rosales

## Humulus japonicus

## Humulus japonicus

|          |  |  |   |          |
|----------|--|--|---|----------|
| Hum j 4w |  |  | C | AY335187 |
|----------|--|--|---|----------|

## Parietaria judaica

|         |                |    |   |            |
|---------|----------------|----|---|------------|
| Par j 1 | lipit transfer | 15 | C | izoalerjen |
|         | proteini 1     |    |   | listesine  |
|         |                |    |   | bakınız    |

|         |                |  |   |            |
|---------|----------------|--|---|------------|
| Par j 2 | lipit transfer |  | C | izoalerjen |
|         | fer proteini 2 |  |   | listesine  |
|         |                |  |   | bakınız    |

|         |          |  |   |            |
|---------|----------|--|---|------------|
| Par j 3 | profilin |  | C | izoalerjen |
|---------|----------|--|---|------------|

|                        |           |                             |      |   | listesine<br>bakınız |
|------------------------|-----------|-----------------------------|------|---|----------------------|
| Parietaria officinalis |           |                             |      |   |                      |
|                        | Par o 1   | lipit transfer fer proteini | 15   |   | 29D                  |
| B. Grasses Poales      |           |                             |      |   |                      |
| Cynodon dactylon       |           |                             |      |   |                      |
| Köpek Dişi Ayırığı     |           |                             |      |   |                      |
|                        | Cyn d 1   |                             | 32   | C | 30, S83343           |
|                        | Cyn d 7   |                             |      | C | 31, X91256           |
|                        | Cyn d 12  | profilin                    | 14   | C | 31a, Y08390          |
|                        | Cyn d 15  |                             | 9    | C | AF517686             |
|                        | Cyn d 22w | Enolaz                      | veri |   | bekleniyor           |
|                        | Cyn d 23  | Cyn d 14                    | 9    | C | AF517685             |
|                        |           | Patogenez ile ilgili        |      |   |                      |
|                        | Cyn d 24  | s.                          | 21   | P | bekleniyor           |
| Dactylis glomerata     |           |                             |      |   |                      |
| Domuz Ayırığı          |           |                             |      |   |                      |
|                        | Dac g 1   | AgDg1                       | 32   | P | 32                   |
|                        | Dac g 2   |                             | 11   | C | 33, S45354           |
|                        | Dac g 3   |                             |      | C | 33A, U25343          |



|                                       |                |   |       |  |                      |
|---------------------------------------|----------------|---|-------|--|----------------------|
|                                       | Dac g<br>5     |   | 31    | P                                      | 34                   |
| Festuca pratensis<br>çayır yumağı     |                |   |       |  |                      |
|                                       | Fes p<br>4w    |   | 60    | -                                      |                      |
| Holcus lanatus<br>Tüylü Balotu        |                |   |       |  |                      |
|                                       | Hol 11         |   |       | C                                      | Z27084               |
| Lolium perenne süt<br>otu             |                |   |       |  |                      |
|                                       | Lol p 1        | grup I                                      | 27    | C                                      | 35, 36               |
|                                       | Lol p 2        | grup II                                     | 11    | P                                      | 37, 37A,<br>X73363   |
|                                       | Lol p 3        | grup III                                    | 11    | P                                      | 38                   |
|                                       | Lol p 5        | Lol p IX, Lol p<br>Ib                       | 31/35 | C                                      | 34.39                |
|                                       | Lol p<br>11    | Hom: tripsin<br>inhibitörü                  | 16    |  | 39A                  |
| Phalaris aquatica<br>Kuş Yemi         |                |   |       |  |                      |
| Tür Adı                               |                |   |       |  |                      |
|                                       | Alerjen<br>Adı | Biochem.ID ya<br>da<br>Kullanılmayan<br>adı | MW    | cDNA<br>(C) ya<br>da<br>protein<br>(P) | Referans<br>Ace. No. |
|                                       | Pha a 1        |   |       | C                                      | 40,S80654            |
| Phleum pratense<br>Çayır Kelp Kuyruğu |                |   |       |  |                      |
|                                       | Phl p 1        |   | 27    | C                                      | X78813               |
|                                       | Phl p 2        |   |       | C                                      | X75925,41            |

|   |                               |                            |       |   |                                    |
|---|-------------------------------|----------------------------|-------|---|------------------------------------|
|   | Phl p 4                       |                            |       | P | 41A                                |
|   | Phl p 5                       | Ag25                       | 32    | C | 42                                 |
|   | Phl p 6                       |                            |       | C | Z27082,43                          |
|   | Phl p 11                      | Tripsin inhibitörü<br>hom. | 20    | C | AF521563,<br>43A                   |
|   | Phl p 12                      | profilin                   |       | C | X77583,<br>44                      |
|   | Phl p 13                      | Poligalakturonaz           | 55-60 | C | AJ238848                           |
| Poa pratensis Çayır<br>Salkım Otu                 |                               |                            |       |   |                                    |
|   | Poa p 1                       | grup I                     | 33    | P | 46                                 |
|   | Poa p 5                       |                            | 31/34 | C | 34.47                              |
| Sorghum halepense<br>Kanyaş                       |                               |                            |       |   |                                    |
|   | Sor h 1                       |                            |       | C | 48                                 |
| C. Trees<br>Arecales Phoenix<br>dactylifera hurma |                               |                            |       |   |                                    |
|   | Pho d 2                       | profilin                   | 14.3  | C | Asturias<br>p.c.                   |
| Fagales<br>Alnus glutinosa<br>Kızılağaç           |                               |                            |       |   |                                    |
|   | g 1                           |                            | 17    | C | S50892                             |
|   | Betula verrucosa<br>huş ağacı | Bet v 1                    | 17    | C | izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
|   |                               | Bet v 2                    | 15    | C | M65179                             |
|   |                               | Bet v 3                    |       | C | X79267                             |
|   |                               | Bet v 4                    | 8     | C | X87153,<br>S54819                  |

|                         |             |   |      |                |                              |
|-------------------------|-------------|---|------|----------------|------------------------------|
|                         | Bet v 6     | İzoflavon                                       | 33.5 | C              | izoalerjen listesine bakınız |
|                         | h:          | redüktaz  |      |                |                              |
|                         | Bet v 7     | siklofilin                                      | 18   | P              | P81531                       |
| <b>Carpinus betulus</b> |             |   |      |                |                              |
| <b>Gürgen</b>           |             |   |      |                |                              |
|                         | Carb 1      |   | 17   | C              | izoalerjen listesine bakınız |
| <b>Castanea sativa</b>  |             |   |      |                |                              |
| <b>kestane</b>          |             |   |      |                |                              |
|                         | Cas s 1     |   | 22   | P              | 52                           |
|                         | Cas s 5     | çitinaz   |      |                |                              |
|                         | Cas s 8     | lipit transfer proteini                         | 9.7  | P              | 53                           |
| <b>Corylus avellana</b> |             |   |      |                |                              |
| <b>fındık ağacı</b>     |             |   |      |                |                              |
|                         | Cor a 1     |   | 17   | C              | izoalerjen listesine bakınız |
|                         | Cor a 2     | profilin  | 14   | C              |                              |
|                         | Cor a 8     | lipit transfer proteini<br>11S globulin benzeri |      |                |                              |
|                         | Cor a 9     | Protein   | 40/? | C              | Beyer p.c.                   |
|                         | Cor a 10    | lümen bağlayıcı prot.                           | 70   | C              | AJ295617                     |
| <b>Tür Adı</b>          |             |   |      |                |                              |
|                         | Alerjen Adı | Biochem.ID ya da Kullanılmayan                  | MW   | cDNA (C) ya da | Referans Ace. No.            |

|                                    | adı         |   | protein<br>(P) |                    |
|------------------------------------|-------------|---|----------------|--------------------|
| Quercus alba Beyaz<br>meşe         | Cor a<br>11 | 7S visilin<br>benzeri prot.                   | 48             | C AF441864         |
|                                    | Que a 1     |   | 17             | P 54               |
| Lamiales                           |             |   |                |                    |
| Oleaceae                           |             |   |                |                    |
| Fraxinus excelsior Adi<br>dişbudak | Fra e 1     |   | 20             | P 58A,<br>AF526295 |
| Ligustrum vulgare<br>kurtbağrı     | Lig v 1     |   | 20             | P 58A              |
| Olea europea zeytin                | Ole e 1     |   | 16             | C 59.60            |
|                                    | Ole e 2     | Profilin                                      | 15-18          | C 60A              |
|                                    | Ole e 3     |   | 9.2            | 60B                |
|                                    | Ole e 4     |   | 32             | P P80741           |
|                                    | Ole e 5     | Superoksit<br>dismutaz                        | 16             | P P80740           |
|                                    | Ole e 6     |   | 10             | C 60C,<br>U86342   |
|                                    | Ole e 7     |   | ?              | P 60D,<br>P81430   |
|                                    | Ole e 8     | Ca <sup>2+</sup> -<br>bağlayıcı<br>protein    | 21             | C 60E,<br>AF078679 |
|                                    | Ole e 9     | beta-1,3-<br>glukanaz<br>glikosil<br>hidrolaz | 46             | C AF249675         |
|                                    | Ole e<br>10 | hom.  | 11             | C 60F,<br>AY082335 |

|  |              |       |   |                                    |
|--|--------------|-------|---|------------------------------------|
| Syringa vulgaris leylak<br>Plantaginaceae      | Syr v 1      | 20    | P | 58A                                |
| Plantago lanceolata<br>Dar yapraklı sinirli ot | Pla 11       | 18    | P | P842242                            |
| Pinales  |              |       |   |                                    |
| Cryptomeria japonica<br>sugi                   | Cry j 1      | 41-45 | C | 55.56                              |
|  | Cry j 2      |       | C | 57,<br>D29772                      |
| Cupressus arisonica<br>cypress                 | Cup a 1      | 43    | C | A1243570                           |
| Cupressus<br>sempervirens<br>common cypress    |              |       |   |                                    |
|  | Cup s 1      | 43    | C | izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
|  | Cup s<br>3w  | 34    | C | ref<br>bekleniyor                  |
| Juniperus ashei Ashe<br>juniper                |              |       |   |                                    |
|  | Jun a 1      | 43    | P | P81294                             |
|  | Jun a 2      |       | C | 57A,<br>AJ404653                   |
|  | Jun a 3      | 30    | P | 57B,<br>P81295                     |
| Juniperus oxycedrus<br>Katran Ardıcı           |              |       |   |                                    |
|  | Jun o 4 hom: | 29    | C | 57C,                               |

kalmodulin

AF031471

Juniperus sabinooides

Tür Adı

| Alerjen<br>Adı                                  | Biochem.ID<br>ya da<br>Kullanılmay<br>an adı | MW | cDNA<br>(C) ya<br>da<br>protein<br>(P) | Referans<br>Ace. No.                       |
|---|--|----|--|--|
| Jun s 1   |  | 50 | P                                      | 58   |
| Juniperus virginiana<br>eastern Mızı            |  |    |  |  |
| Jun v 1   |  | 43 | P                                      | P81825,<br>58B                             |
| Platanaceae Platanus<br>acerifolia Londra ınarı |  |    |  |  |
| Pla a 1   |  | 18 | P                                      | P82817                                     |
| Pla a 2   |  | 43 | P                                      | P82967                                     |
| Pla a 3   | lipit transfer<br>proteini                   | 10 | P                                      | Iris p.c.                                  |
| Glycyphagus<br>domesticus depo akarı            |  |    |  |  |
| Gly d 2   |  |    | C                                      | 72B,<br>izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
| D. Mites  |  |    |  |  |
|   | Ekleme<br>bacaklı yağ<br>asitdi              |    |  |  |

|   |             |                                 |     |   |  |
|---|-------------|---------------------------------|-----|---|--|
| Acarus siro akarı                                     | Aca s<br>13 | Bağlayıcı<br>prot.              | 14* | C | AJ006774                                       |
| Blomia tropicalis akar                                | Blo t 1     | Sistein<br>proteazı             | 39  | C | AF277840                                       |
|   | Blo t 3     | tripsin                         | 24* | C | Cheong<br>p.c.                                 |
|   | Blo t 4     | alfa amilaz                     | 56  | C | Cheong<br>p.c.                                 |
|   | Blot 5      |                                 |     |   | U59102   |
|   | Blo t 6     | kimotripsin                     | 25  | C | Cheong<br>p.c.                                 |
|   | Blot 10     | tropomiyosi<br>n                | 33  | C | 61   |
|   | Blot 11     | paramiyosin                     | 110 | C | AF525465,<br>61A                               |
|   | Blot 12     | Btlla<br>Bt6, yağ<br>asidi bağı |     | C | U27479   |
|   | Blot 13     | prot.<br>anti-miktobik<br>pep.  |     | C | U58106   |
| Dermatophagoidesfari<br>nae American ev tozu<br>akarı | Blot 19     | hom.                            | 7.2 | C | Cheong<br>p.c.                                 |
|   | Der f 1     | sistein<br>proteazı             | 25  | C | 69   |
|   | Der f 2     |                                 | 14  | C | 70, 70A,<br>izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |

|   |   |       |  |                      |
|---|---|-------|--|----------------------|
| Der f 3   | tripsin                                     | 30    | C                                      | 63                   |
| Der f 7   |   | 24-31 | C                                      | SW:Q2645<br>6,71     |
| Der f 10  | tropomiyosi<br>n                            |       | C                                      | 72                   |
| Der f 11  | paramiyosin                                 | 98    | C                                      | 72A                  |
| Der f 14  | mag3,<br>apolipoforin                       |       | C                                      | D17686               |
| Der f 15  | 98k çitinaz                                 | 98    | C                                      | AF178772             |
| Der f 16  | Gelsolin/villi<br>n                         | 53    | C                                      | 71A                  |
| Der f 17  | Ca bağlayıcı<br>EF proteini                 | 53    | C                                      | 71A                  |
| Der f<br>18w  | 60k çitinaz                                 | 60    | C                                      | Weber p.c.           |
| Dermatophagoides<br>microceras ev tozu<br>akarı         |   |       |  |                      |
| Der m 1   | Sistein<br>proteazı                         | 25    | P                                      | 68                   |
| Tür Adı   |   |       |  |                      |
| Alerjen<br>Adı  | Biochem.ID ya<br>da<br>Kullanılmayan<br>adı | MW    | cDNA<br>(C) ya<br>da<br>protein<br>(P) | Referans<br>Ace. No. |
| Dermatophagoides<br>pteronysnus<br>Avrupa ev tozu akarı |   |       |  |                      |
| Der p 1   | antijen P1,<br>sistein proteazı             | 25    | C                                      | 62,<br>izoalerjen    |



|  |             |                              |       |   |  |
|--|-------------|------------------------------|-------|---|--|
|  |             |                              |       |   | listesine<br>bakınız<br>62A-C,<br>izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
|  | Der p 2     |                              | 14    | C |  |
|  | Der p 3     | Tripsin                      | 28/30 | C | 63   |
|  | Der p 4     | Amilaz                       | 60    | P | 64   |
|  | Der p 5     |                              | 14    | C | 65   |
|  | Der p 6     | kimotripsin                  | 25    | P | 66   |
|  | Der p 7     |                              | 22/28 | C | 67   |
|  |             | glutasyon                    |       |   |  |
|  | Der p 8     | transferaz<br>kollajenolitik |       | C | 67A  |
|  | Der p 9     | serin pro..                  |       | P | 67B  |
|  | Der p<br>10 | tropomiyosin                 | 36    | C | Y14906   |
|  |             | apolipoforin                 |       |   |  |
|  | Der p<br>14 | benzeri<br>prot.             |       | C | Epton p.c.   |
|  |             |                              |       |   | izoalerjen<br>listesine<br>bakınız                                   |
| Euroglyphus maynei<br>mite             | Eur m<br>2  |                              |       | C |  |
|  | Eur m<br>14 | apolipoforin                 | 177   | C | AF149827   |
| Cavia porcellus<br>kobay faresi        |             |                              |       |   |  |
|  | Cav p 1     | lipocalin<br>homologue       | 20    | P | SW:P83507,<br>80   |
| Lepidoglyphus<br>destructor depo akarı |             |                              |       |   | 73, 74, 74A,   |

|                                     |          |              |    |   |                              |
|-------------------------------------|----------|--------------|----|---|------------------------------|
|                                     | Lep d 2  | Lep d 1      | 15 | C | izoalerjen listesine bakınız |
|                                     | Lep d 5  |              |    | C | 75, AJ250278                 |
|                                     | Lep d 7  |              |    | C | 75, AJ271058                 |
|                                     | Lep d 10 | tropomiyosin |    | C | 75A, AJ25096                 |
|                                     | Lep d 13 |              |    | C | 75, AJ250279                 |
| Tyrophagus putrescentiae depo akarı |          |              |    |   |                              |
|                                     | Tyr p 2  |              |    | C | 75B, Y12690                  |

## E. Hayvanlar

Bos domesticus evcil sığır

|  |         |                |    |   |                                  |
|--|---------|----------------|----|---|----------------------------------|
|  | Bos d 2 | Ag3, lipokalin | 20 | C | 76, izoalerjen listesine bakınız |
|--|---------|----------------|----|---|----------------------------------|

(gıdalara da bakınız)

|  |         |                |      |   |        |
|--|---------|----------------|------|---|--------|
|  |         | Ca-bağlayıcı   |      |   |        |
|  | Bos d 3 | S100 hom.      | 11   | C | L39834 |
|  | Bos d 4 | Alpha-sütyuvar | 14.2 | C | M18780 |
|  | Bos d 5 | beta-sütyuvar  | 18.3 | C | X14712 |
|  | Bos d 6 | serum albumin  | 67   | C | M73993 |
|  | Bos d 7 | İmmünoglobulin | 160  |   | 77     |

| Tür Adı                                | Alerjen Adı | Biochem.ID ya da Kullanılmayan adı | MW    | cDNA (C) ya da protein (P) | Referans Ace. No. |
|--|-------------|------------------------------------|-------|----------------------------|-------------------|
|  | Bos d 8     | Kaseinler                          | 20-30 |                            | 77                |
| Canis familiaris<br>(Canis domesticus) |             |                                    |       |                            |                   |
| dog                                    | Can f 1     |                                    | 25    | C                          | 78.79             |
|  | Can f 2     |                                    | 27    | C                          | 78.79             |
|  | Can f 3     | Albumin                            |       | C                          | S72946            |
|  | Can f 4     |                                    | 18    | P                          | A59491            |
| Equus caballus<br>evcil at             |             |                                    |       |                            |                   |
|  | Equ c 1     | lipokalin                          | 25    | C                          | U70823            |
|  | Equ c 2     | lipokalin                          | 18.5  | P                          | 79A, 79B          |
|  | Equ c 3     | Ag3 – albumin                      | 67    | C                          | 79C,<br>X74045    |
|  | Equ c 4     |                                    | 17    | P                          | 79D<br>Goubran    |
|  | Equ c 5     | AgX                                | 17    | P                          | Botros p.c.       |
| Felis domesticus<br>kedi (salya)       |             |                                    |       |                            |                   |
|  | Fel d 1     | cat-1                              | 38    | C                          | 15                |
|  | Fel d 2     | Albumin                            |       | C                          | 79E,<br>X84842    |
|  | Fel d 3     | sistatin                           | 11    | C                          | 79F,<br>AF238996  |
|  | Fel d 4     | lipokalin                          | 22    | C                          | AY497902          |
|  | Fel d       | immunoglobulin A                   | 400   |                            | Adedoyin          |

|                                       |              |                           |      |   |                   |
|---------------------------------------|--------------|---------------------------|------|---|-------------------|
|                                       | 5w           |                           |      |   | p.c.              |
|                                       | Fel d        | immunoglobulin M          | 800- |   | Adedoyin          |
|                                       | 6w           |                           | 1000 |   | p.c.              |
|                                       | Fel d        | immunoglobulin G          | 150  |   | Adedoyin          |
|                                       | 7w           |                           |      |   | p.c.              |
|                                       | Cav p 2      |                           | 17   | P | SW:P83508         |
| <b>Mus musculus fare (ürin)</b>       |              |                           |      |   |                   |
|                                       | Mus m1       | MUP                       | 19   | C | 81, 81A           |
| <b>Rattus norvegicus sıçan (ürin)</b> |              |                           |      |   |                   |
|                                       | Rat n 1      |                           | 17   | C | 82, 83            |
| <b>F. Fungi (küfler)</b>              |              |                           |      |   |                   |
| 1. Ascomycota                         |              |                           |      |   |                   |
| 1.1 Dothideales                       |              |                           |      |   |                   |
| <b>Alternaria alternata</b>           |              |                           |      |   |                   |
|                                       | Alt a 1      |                           | 28   | C | U82633            |
|                                       | Alt a 2      |                           | 25   | C | 83A,<br>U62442    |
|                                       | Alt a 3      | Isı şok prot.<br>prot.    | 70   | C | U87807,<br>U87808 |
|                                       | Alt a 4      | disulfideisomerase        | 57   | C | X84217            |
|                                       | Alt a 6<br>a | cid ribozomal prot.<br>P2 | 11   | C | X78222,<br>U87806 |
|                                       | Alt a 7      | YCP4 protein<br>aldehit   | 22   | C | X78225            |
|                                       | Alt a 10     | dehidrojenaz              | 53   | C | X78227,<br>P42041 |
|                                       | Alt a 11     | enolaz                    | 45   | C | U82437            |

## Tür Adı

| Alerjen Adı           | Biochem.ID ya da Kullanılmayan adı | MW  | cDNA (C) ya da protein (P) | Referans Ace. No. |          |
|-----------------------|------------------------------------|---|----------------------------|-------------------|----------|
| Cladosporium herbarum | Alt a 12                           | P1  | 11                         | C                 | X84216   |
|                       | Cla h 1                            |   | 13                         |                   | 83B, 83C |
|                       | Cla h 2                            |   | 23                         |                   | 83B, 83C |
|                       | Cla h 3                            | aldehit dehidrojenaz asit ribozomal prot. | 53                         | C                 | X78228   |
|                       | Cla h 4                            | P2  | 11                         | C                 | X78223   |
|                       | Cla h 5                            | YCP4 proteini                             | 22                         | C                 | X78224   |
|                       | Cla h 6                            | enolaz asit ribozomal prot.               | 46                         | C                 | X78226   |
|                       | Cla h 12                           | P1  | 11                         | C                 | X85180   |
|                       | 1.2 Eurotiales                     |   |                            |                   |          |
|                       | Aspergillus flavus                 |   |                            |                   |          |
|                       | Asp fl 13                          | Alkalın serin proteaz                     | 34                         |                   | 84       |
|                       | Aspergillus fumigatus              |   |                            |                   |          |
| Asp f 1               |                                    | 18  | C                          | M83781, S39330    |          |

|              |  |      |   |                  |
|--------------|--|------|---|------------------|
| Asp f 2      |  | 37   | C | U56938           |
| Asp f 3      | peroxisomal<br>protein                 | 19   | C | U20722           |
| Asp f 4      |  | 30   | C | AJ001732         |
| Asp f 5      | metaloproteaz<br>Mn                    | 40   | C | Z30424           |
| Asp f 6      | süperoksit<br>dismut.                  | 26.5 | C | U53561           |
| Asp f 7      |  | 12   | C | AJ223315         |
| Asp f 8      | ribozomal<br>prot. P2                  | 11   | C | AJ224333         |
| Asp f 9      |  | 34   | C | AJ223327         |
| Asp f 10     | aspartik<br>proteaz<br>peptitil-prolil | 34   | C | X85092           |
| Asp f 11     | izomeraz<br>ısı şok prot.<br>P90       | 24   |   | 84A              |
| Asp f 12     | 90<br>Alkalin serin                    |      | C | 85               |
| Asp f 13     | proteaz                                | 34   |   | 84B              |
| Asp f 15     |  | 16   | C | AJ002026         |
| Asp f 16     |  | 43   | C | g3643813         |
| Asp f 17     |  |      | C | AJ224865         |
|              | boşlukşlu<br>serin                     |      |   |                  |
| Asp f 18     | proteaz                                | 34   |   | 84C              |
| Asp f<br>22w | Enolaz                                 | 46   | C | AF284645         |
| Asp f 23     | L3 ribozomal<br>protein                | 44   | C | 85A,<br>AF464911 |

*Aspergillus niger*

|  |                |   |        |  |                      |
|--|----------------|---|--------|--|----------------------|
|  | Asp n<br>14    | beta-<br>ksilosidaz<br>boşluklu serin       | 105    | C                                      | AF108944             |
|  | Asp n<br>18    | proteaz                                     | 34     | C                                      | 84B                  |
| Tür Adı  |                |   |        |  |                      |
|  | Alerjen<br>Adı | Biochem.ID ya<br>da<br>Kullanılmayan<br>adı | MW     | cDNA<br>(C) ya<br>da<br>protein<br>(P) | Referans<br>Ace. No. |
|  | Asp n<br>25    | 3-fitaz-B                                   | 66-100 | C                                      | 85B,<br>P34754       |
|  | Asp n ?        |   | 85     | C                                      | Z84377               |
| Aspergillus oryzae                               |                | alkalin serin                               |        |  |                      |
|  | Asp 0<br>13    | proteaz                                     | 34     | C                                      | X17561               |
|  | Asp 0<br>21    | TAKA-amilaz A                               | 53     | C                                      | D00434,<br>M33218    |
| Penicillium<br>brevicompactum                    |                | alkalin serin                               |        |  |                      |
|  | Pen b<br>13    | proteaz                                     | 33     |  | 86A                  |
| Penicillium<br>chrysogenum (önce:<br>P. notatum) |                | alkalin serin                               |        |  |                      |
|  | Pen ch<br>13   | proteaz                                     | 34     |  | 87                   |

|                      |  |                              |     |   |          |
|----------------------|--|------------------------------|-----|---|----------|
|                      |  | boşluklu serin               |     |   |          |
| Pen ch<br>18         |  | proteinaz                    | 32  |   | 87       |
|                      |  | N-asetil                     |     |   |          |
| Pen ch<br>20         |  | glukosaminidaz               | 68  |   | 87A      |
| Penicillium citrinum |  |                              |     |   |          |
|                      |  | Peroksisomal                 |     |   |          |
| Pen c 3              |  | mem. prot.                   | 18  |   | 86B      |
|                      |  | alkalin serin                |     |   |          |
| Pen c<br>13          |  | proteaz                      | 33  |   | 86A      |
| Pen c<br>19          |  | Isı şok prot.<br>P70         | 70  | C | U64207   |
| Pen c<br>22w         |  | enolaz                       | 46  | C | AF254643 |
|                      |  | uzatma faktörü               |     |   |          |
| Pen c<br>24          |  | 1 beta                       |     | C | AY363911 |
| Penicillium oxalicum |  |                              |     |   |          |
|                      |  | boşluklu serin               |     |   |          |
| Pen o<br>18          |  | proteinaz                    | 34  |   | 87B      |
| 1.3 Hypocreales      |  |                              |     |   |          |
| Fusarium culmorum    |  |                              |     |   |          |
| Fus c 1              |  | ribozomal prot.<br>P2        | 11* | C | AY077706 |
| Fus c 2              |  | Tioredoksin<br>benzeri prot. | 13* | C | AY077707 |



## 1.4 Onygenales

## Trichophyton rubrum

|         |                 |  |  |   |    |
|---------|-----------------|--|--|---|----|
| Tri r 2 |                 |  |  | C | 88 |
| Tri r 4 | serin proteinaz |  |  | C | 88 |

## Trichophyton

## tonsurans

|         |         |               |    |   |     |
|---------|---------|---------------|----|---|-----|
| Tri t 1 | Tri t 1 |               | 30 | P | 88A |
| Tri t 4 | Tri t 4 | Serin proteaz | 83 | C | 88  |

## 1.5

## Saccharomycetales

## Tür Adı

| Alerjen Adı      | Biochem.ID ya da Kullanılmayan adı | MW | cDNA (C) ya da protein (P) | Referans Ace. No. |
|------------------|------------------------------------|----|----------------------------|-------------------|
| Candida albicans |                                    |    |                            |                   |
| Cand a 1         |                                    | 40 | C                          | 89                |
| Cand a 3         | peroxisomal protein                | 29 | C                          | AY136739          |
| Candida boidinii |                                    |    |                            |                   |
| Cand b 2         |                                    | 20 | C                          | J04984, J04985    |

## 2. Basidiomycotina

## 2.1 Himenomiset

## Psilocybe cubensis

Psi c 1

|                                     |         |                           |    |   |          |
|-------------------------------------|---------|---------------------------|----|---|----------|
| Coprinus comatus<br>pösteki mantarı | Psi c 2 | siklofilin                | 16 |   | 89A      |
|                                     | Cop c 1 | Leucine<br>zipper protein | 11 | C | AJ132235 |
|                                     | Cop c 2 |                           |    |   | AJ242791 |
|                                     | Cop c 3 |                           |    |   | AJ242792 |
|                                     | Cop c 5 |                           |    |   | AJ242793 |
|                                     | Cop c 7 |                           |    |   | AJ242794 |

## 2.2

### Urediniomycetes

#### Phodotorula mucilaginosa

|            |                             |    |   |          |
|------------|-----------------------------|----|---|----------|
| Rho m<br>1 | enolaz                      | 47 | C | 89B      |
| Rho m<br>2 | boşluklu serin<br>proteinaz | 31 | C | AY547285 |

## 2.3

### Ustilaginomycetes

#### Malassezia furfur

|          |   |    |   |                  |
|----------|---|----|---|------------------|
| Mala f 2 | MF1,<br>peroksisomal<br>membran<br>proteini | 21 | C | AB0 11804,<br>90 |
| Mala f 3 | MF2,<br>peroksisomal<br>membran<br>proteini | 20 | C | ABO11805,90      |
| Mala f 4 | Mitokondrial<br>malat                       |    |   |                  |

|                           |              |                          |   |                  |
|---------------------------|--------------|--------------------------|---|------------------|
|                           | dehidrojenaz | 35                       | C | AF084828,<br>90A |
| Malassezia<br>sympodialis |              |                          |   |                  |
|                           | Mala s<br>1  |                          | C | X96486, 91       |
|                           | Mala s<br>5  | 18*                      | C | AJ011955         |
|                           | Mala s<br>6  | 17*                      | C | AJ011956         |
|                           | Mala s<br>7  |                          | C | AJ011957,91A     |
|                           | Mala s<br>7  | 19*                      | C | AJ011958,91A     |
|                           | Mala s<br>9  | 37*                      | C | AJ011959.91A     |
|                           | Mala s<br>10 | ısı şok prot.<br>70      | C | AJ428052         |
|                           | Mala s<br>11 | Mn süperoksit<br>dismut. | C | AJ548421         |

### 3. Deteromykotina

#### 3.1 Tuberculariales

## Tür Adı

| Tür Adı                                     | Alerjen Adı | Biochem.ID ya da Kullanılmayan adı | MW  | cDNA (C) ya da protein (P) | Referans Ace. No. |
|---|-------------|------------------------------------|-----|----------------------------|-------------------|
| Epicoccum purpurascens<br>(önce: E. nigrum) | Epi p 1     | serin proteinaz                    | 30  | P                          | SW:P83340, 91B    |
| G. Böcekler                                 |             |                                    |     |                            |                   |
| Aedes aegyptii<br>sivrisinek                | Aed a 1     | apyrase                            | 68  | C                          | L12389            |
|   | Aed a 2     |                                    | 37  | C                          | M33157            |
| Apis mellifera bal arısı                    |             |                                    |     |                            |                   |
|   | Api m 1     | fosfolipaz A2                      | 16  | C                          | 92                |
|   | Api m 2     | hiyalüronidaz                      | 44  | C                          | 93                |
|   | Api m 4     | melittin                           | 3   | C                          | 94                |
|   | Api m 6     |                                    | 7-8 | P                          | Kettner p.c.      |
|   | Api m 7     | CUM serin proteinaz                | 39  | C                          | AY127579          |
| Bombus pennsylvanicus<br>bombus arısı       |             |                                    |     |                            |                   |
|   | Bom p 1     | Fosfolipaz                         | 16  | P                          | 95                |
|   | Bom p 4     | Proteaz                            |     | P                          | 95                |
| Blattella germanica<br>German hamam         |             |                                    |     |                            |                   |

## böceği

|         |               |    |   |    |
|---------|---------------|----|---|----|
| Bla g 1 | Bd90k         |    | C |    |
| Bla g 2 | aspaktik      | 36 | C | 96 |
|         | proteaz       |    |   |    |
| Bla g 4 | kalisin       | 21 | C | 97 |
|         | glutasyon     |    |   |    |
| Bla g 5 | transferaz 22 | C  |   | 98 |
| Bla g 6 | troponin C    | 27 | C | 98 |

## Periplaneta

## americana

## Amerikan hamam

## böceği

|         |              |       |   |        |
|---------|--------------|-------|---|--------|
| Per a 1 | Cr-P1I       |       | C |        |
| Per a 3 | Cr-P1        | 72-78 | C | 98A    |
| Per a 7 | tropomiyosin | 37    | C | Y14854 |

Chironomus kiiensis  
midge

|          |              |       |   |          |
|----------|--------------|-------|---|----------|
| Chi k 10 | tropomiyosin | 32,5* | C | AJ012184 |
|----------|--------------|-------|---|----------|

Chironomus thummi  
thummi midge

|           |                 |    |   |        |
|-----------|-----------------|----|---|--------|
| Chi t 1-9 | hemoglobin      | 16 | C | 99     |
| Chi t     | bileşen III     | 16 | C | P02229 |
| 1.01      |                 |    |   |        |
| Chi t     | bileşen IV      | 16 | C | P02230 |
| 1.02      |                 |    |   |        |
| Chi t     | bileşen I       | 16 | C | P02221 |
| 2.0101    |                 |    |   |        |
| Chi t     | bileşen IA      | 16 | C | P02221 |
| 2.0102    |                 |    |   |        |
| Chi t 3   | bileşen II-beta | 16 | C | P02222 |
| Chi t 4   | bileşen IIIA    | 16 | C | P02231 |
| Chi t 5   | bileşen VI      | 16 | C | P02224 |
| Chi t     | bileşen VIIA    | 16 | C | P02226 |
| 6.01      |                 |    |   |        |

|            |              |    |   |        |
|------------|--------------|----|---|--------|
| Chi t 6.02 | bileşen IX   | 16 | C | P02223 |
| Chi t 7    | bileşen VIIB | 16 | C | P02225 |
| Chi t 8    | bileşen VIII | 16 | C | P02227 |
| Chi t 9    | bileşen X    | 16 | C | P02228 |

## Tür Adı

| Alerjen Adı | Biochem.ID ya da Kullanılmayan adı | MW | cDNA (C) ya da protein (P) | Referans Ace. No. |
|-------------|------------------------------------|----|----------------------------|-------------------|
|-------------|------------------------------------|----|----------------------------|-------------------|

*Ctenocephalides felis*  
felis  
kedi piresi

|         |     |    |   |          |
|---------|-----|----|---|----------|
| Cte f 1 |     |    |   |          |
| Cfe f2  | M1b | 27 | C | AF231352 |
| Cte f3  |     | 25 | C |          |

*Thaumetopoea pityocampa* Çam  
keseböceği

|         |  |    |   |                 |
|---------|--|----|---|-----------------|
| Tha p 1 |  | 15 | P | PIR:A59396, 93A |
|---------|--|----|---|-----------------|

*Lepisma saccharina*  
gümüşçün

|         |              |    |   |          |
|---------|--------------|----|---|----------|
| Lep s 1 | tropomiyosin | 36 | C | AJ309202 |
|---------|--------------|----|---|----------|

*Dolichovespula maculate*

|         |               |    |   |     |
|---------|---------------|----|---|-----|
| Dol m 1 | fosfolipaz A1 | 35 | C | 100 |
| Dol m 2 | hiyalüronidaz | 44 | C | 101 |

|   |             |                    |       |   |              |
|---|-------------|--------------------|-------|---|--------------|
|   | Dol m 5     | antijen 5          | 23    | C | 102, 103     |
| Dolichovespula arenaria sarı<br>ceket arısı                               |             |                    |       |   |              |
|   | Dol a 5     | antijen 5          | 23    | C | 104          |
| Polistes annularis  | Pol a 1     | fosfolipaz A1      | 35    | P | 105          |
| eşek arısı  |             |                    |       |   |              |
|   | Pol a 2     | hiyalüronidaz      | 44    | P | 105          |
|   | Pol a 5     | antijen 5          | 23    | C | 104          |
| Polistes dominulus<br>Mediterranean paper<br>wasp<br>Pol d 1 Hoffman p.c. |             |                    |       |   |              |
|   | Pol d 4     | serin<br>proteinaz | 32-34 | C | Hoffman p.c. |
|   | Pol d 5     |                    |       |   | P81656       |
| Polistes exclamans  | Pol e 1     | fosfolipaz A1      | 34    | P | 107          |
| eşek arısı  |             |                    |       |   |              |
|   | Pol e 5     | antijen 5          | 23    | C | 104          |
| Polistes fuscatus eşek<br>arısı   | Pol f 5     | antijen 5          | 23    | C | 106          |
| Polistes gallicus eşek<br>arısı   | Pol g 5     | antijen 5          | 24    | C | P83377       |
| Polistes metricus<br>eşek arısı   | Pol m 5     | antijen 5          | 23    | C | 106          |
| Vespa crabo sarıca  |             |                    |       |   |              |
|   | Vesp c 1    | fosfolipaz         | 34    | P | 107          |
|   | Vesp c 5    | antijen 5          | 23    | C | 106          |
| Asya dev eşek arısı   |             |                    |       |   |              |
|   | Vesp m<br>1 |                    |       |   | Hoffman p.c. |
|   | Vesp m<br>5 |                    |       |   | P81657       |
| Vespula flavopilosa   |             |                    |       |   |              |

|                                   |         |               |      |   |     |
|-----------------------------------|---------|---------------|------|---|-----|
| Sarı ceket<br>Vespula germanica   | Ves f 5 | antijen 5     | 23   | C | 106 |
| Sarı ceket<br>Vespula maculifrons | Ves g 5 | antijen 5     | 23   | C | 106 |
| Sarı ceket                        | Ves m 1 | fosfolipaz A1 | 33.5 | C | 108 |
|                                   | Ves m 2 | hiyalüronidaz | 44   | P | 109 |

## Tür Adı

|  | Alerjen<br>Adı | Biochem.ID ya<br>da<br>Kullanılmayan<br>adı | MW | cDNA<br>(C) ya<br>da<br>protein<br>(P) | Referans<br>Ace. No. |
|--|----------------|---|----|--|----------------------|
|  | Ves m 5        | antijen 5                                   | 23 | C                                      | 104                  |
| Vespula<br>pennsylvanica<br>sarı ceket             | Ves p 5        | antijen 5                                   | 23 | C                                      | 106                  |
| Vespula squamosa<br>sarı ceket                     | Ves s 5        | antijen 5                                   | 23 | C                                      | 106                  |
| Vespula vidua eşek<br>arısı                        | Ves vi 5       | antijen 5                                   | 23 | C                                      | 106                  |
| Vespula vulgaris<br>sarı ceket                     | Ves v 1        | fosfolipaz A1                               | 35 | C                                      | 105A                 |
|  | Ves v 2        | hiyalüronidaz                               | 44 | P                                      | 105A                 |
|  | Ves v 5        | antijen 5                                   | 23 | C                                      | 104                  |
| Myrmecia pilosula<br>Avusturya zıplayan<br>karınca |                |   |    |  |                      |



|  |          |             |    |   |                    |
|--|----------|-------------|----|---|--------------------|
|  | Myr p 1  |             |    | C | X70256             |
|  | Myr p 2  |             |    | C | S81785             |
| Solenopsis geminata<br>tropikal ateş<br>karıncası      | Sol g 2  |             |    |   | Hoffman<br>p.c.    |
|  | Sol g 4  |             |    |   | Hoffman<br>p.c.    |
| Solenopsis invicta<br>ateş karıncası                   | Sol i 2  |             | 13 | C | 110, 111           |
|  | Sol i 3  |             | 24 | C | 110                |
|  | Sol i 4  |             | 13 | C | 110                |
| Solenopsis<br>saevissima<br>Brezilya ateş<br>karıncası | Sol s 2  |             |    |   | Hoffman<br>p.c.    |
| Triatoma protracta<br>California öpücük<br>böceği      | Tria p 1 | Prokalin    | 20 | C | AF179004,<br>111A. |
| H. Gıdalar<br>Gadus callarias<br>morina balığı         | Gad c 1  | allerjen M  | 12 | C | 112, 113           |
| Salmo salar Atlantik<br>somonu                         | Sals 1   | parvalbumin | 12 | C | X97824             |
| Bos domesticus evcil                                   |          |             |    |   |                    |

sığır

|                           |         |                |       |   |        |
|---------------------------|---------|----------------|-------|---|--------|
|                           | Bos d 4 | Alpha-sütyuvar | 14.2  | C | M18780 |
| (süt)                     | Bos d 5 | Beta-sütyuvar  | 18.3  | C | X14712 |
| Ayrıca hayvanlara bakınız |         |                |       |   |        |
|                           | Bos d 6 | serum albumin  | 67    | C | M73993 |
|                           | Bos d 7 | Immunoglobulin | 160   |   | 77     |
|                           | Bos d 8 | Kaseinler      | 20-30 |   | 77     |

Cyprinus carpio pullu sazan

Tür Adı

|                           | Alerjen Adı | Biochem.ID ya da Kullanılmayan adı | MW | cDNA (C) ya da protein (P) | Referans Ace. No. |
|---------------------------|-------------|------------------------------------|----|----------------------------|-------------------|
|                           | Cyp c 1     | parvalbumin                        | 12 | C                          | 129               |
| Gallus domesticus tavuk   |             |                                    |    |                            |                   |
|                           | Gal d 1     | Ovomucoid                          | 28 | C                          | 114, 115          |
|                           | Gal d 2     | Ovalbumin                          | 44 | C                          | 114, 115          |
|                           | Gal d 3     | Ag22, konalbumin                   | 78 | C                          | 114, 115          |
|                           | Gal d 4     | lizozim                            | 14 | C                          | 114, 115          |
|                           | Gal d 5     | serum albumin                      | 69 | C                          | C60688            |
| Metapenaeus ensis karides | Met e 1     | tropomiyosin                       |    | C                          | U08008            |
| Penaeus aztecus karides   | Pen a 1     | tropomiyosin                       | 36 | P                          | 116               |

|   |          |                     |       |   |                  |
|---|----------|---------------------|-------|---|------------------|
| Penaeus indicus ©<br>Penaeus monodon<br>dev kaplan karidesi                               | Pen l 1  | tropomiyosin        | 34    | C | 116A             |
|   | Pen m 1  | tropomiyosin        | 38    | C |                  |
|   | Pen m 2  | arginin kinazı      | 40    | C | AF479772,<br>117 |
| Todarodes pacificus<br>mürekkap balığı<br>Helix aspersa<br>kahverengi bahçe<br>salyangozu | Tod p 1  | tropomiyosin        | 38    | P | 117A             |
|   | Hel as 1 | tropomiyosin        | 36    | C | Y14855,<br>117B  |
| Haliotis midae<br>istiridye   | Hal m 1  |                     | 49    |   | 117C             |
| Rana esculenta<br>yenebilir kaplumbağa  | Ran e 1  | parvalbumin<br>alfa | 11,9* | C | AJ315959         |
|   | Ran e 2  | parvalbumin<br>beta | 11,7* | C | AJ414730         |
| Brassica juncea şark<br>hardalı   | Bra j 1  | 2S albumin          | 14    | C | 118              |
| Brassica napus kolza<br>tohumu  | Bra n 1  | 2S albumin          | 15    | P | 118A,<br>P80208  |
| Brassica rapa turp  | Bra r 2  | hom:prohevein       | 25    |   | P81729           |
| Hordeum vulgare<br>arpa   | Hor v 15 | BMAI-1              | 15    | C | 119              |
|   | Hor v 16 | alfa-amilaz         |       |   |                  |

|                             |                |   |       |  |   |  |
|-----------------------------|----------------|---|-------|--|---|--|
|                             | Hor v 17       | beta-amilaz                                 |       |  |   |  |
|                             | Hor v 21       | gamma-3<br>hordein                          | 34    | C                                      | 119A,                                       |  |
| SW: P80198                  |                |   |       |  |   |  |
| Secale cereal çim           | Sec c 20       | secalin                                     |       |  | see isoall.<br>Liste                        |  |
| Triticum aestivum<br>buğday | Tri a 18       | agglutinin                                  |       |  |   |  |
|                             | Tri a 19       | omega-5<br>gliadin                          | 65    | P                                      | PIR:A59156                                  |  |
| Zea mays maise,<br>mısır    |                |   |       |  |   |  |
|                             | 14Zea m<br>14  | Lipit transfer<br>prot.                     | 9     | P                                      | P19656                                      |  |
| Oryza sativa piringç        | Ory s 1        |   |       | C                                      | 119B,<br>U31771                             |  |
| Apium graveolens<br>kereviz | Api g 1        | hom: Bet v 1                                | 16*   | C                                      | Z48967                                      |  |
|                             | Api g 4        | profilin                                    |       |  | AF129423                                    |  |
|                             | Api g 5        |   | 55/58 | P                                      | P81943                                      |  |
| Tür Adı                     |                |   |       |  |   |  |
|                             | Alerjen<br>Adı | Biochem.ID<br>ya da<br>Kullanılmayan<br>adı | MW    | cDNA<br>(C) ya<br>da<br>protein<br>(P) | Referans<br>Ace. No.                        |  |
| Daucus carota havuç         | Dau c 1        | hom: Bet v 1                                | 16    | C                                      | 117D,<br>izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |  |

|                             |               |                            |       |   |                                    |
|-----------------------------|---------------|----------------------------|-------|---|------------------------------------|
|                             | Dau c 4       | Profilin                   |       | C | AF456482                           |
| Corylus avellana<br>findık  |               |                            |       |   | izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
|                             | Cor a<br>1,04 | hom: Bet v 1               | 17    | C | AF327622                           |
|                             | Cor a 2       | profilin                   | 14    | C | AF329829                           |
|                             | Cor a 8       | lipit transfer<br>proteini | 9     | C | AF329829                           |
| Malus domestica<br>elma     |               |                            |       |   | izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
|                             | Mal d 1       | hom: Bet v 1               |       | C | AJ243427                           |
|                             | Mal d 2       | hom:<br>taumatin           |       | C | Pastorello<br>p.c.                 |
|                             | Mal d 3       | lipit transfer<br>proteini | 9     | C | izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
|                             | Maid 4        | profilin                   | 14,4* | C | AF05730                            |
| Pyrus communis<br>armut     |               |                            |       |   | AF129424                           |
|                             | Pyr c 1       | hom: Bet v 1               | 18    | C | AF071477                           |
|                             | Pyr c 4       | profilin                   | 14    | C | AF071477                           |
|                             | Pyr c 5       | izoflavon<br>redüktansı    | 33.5  | C | Z78202                             |
| Persea americana<br>avokado | Pers a 1      | endochitinase              | 32    | C | Z78202                             |
| Prunus armeniaca<br>kayısı  |               |                            |       |   | U93165                             |
|                             | Pru ar 1      | hom: Bet v 1               |       | C | U93165                             |
|                             | Pru ar 3      | lipit transfer<br>proteini | 9     | P |                                    |

Sinapis alba sarı  
hardal

Sin a 1 2S albumin 14 C 120

Prunus avium kiraz  
ağacı

Pru av 1 hom: Bet v 1 C U66076

Pru av 2 hom: C U32440

taumatin

Pru av 3 lipit transfer 10 C AF221501

proteini

Pru av 4 profilin 15 C AF129425

Prunus domestica  
Avrupa eriği

Pru d 3 lipit transfer 9 P 119C

proteini

Prunus persica şeftali

Pru p 3 lipit transfer 10 P P81402

proteini

Pru p 4 profilin 14 C İzoalerjen

listesine

bakınız

Asparagus officinalis  
Kuşkonmaz

Aspa o 1 lipit transfer 9 P 119D

proteini

Crocus sativus  
sarıçiğdem

Cro s 1 21

Varasteh A-  
R p.c.

Lactuca sativa marul

Lac s 1 lipit transfer 9 Vieths p.c.

proteini

Vitis vinifera üzüm

Vit v 1 lipit transfer 9 P P80274

proteini

Musa x paradisiaca  
muz

Mus xp 1 profilin 15 C AF377948

Ananas comosus  
ananas

Tür Adı

|                                    | Alerjen Adı | Biochem.ID ya da Kullanılmayan adı | MW    | cDNA (C) ya da protein (P) | Referans Ace. No.            |
|------------------------------------|-------------|------------------------------------|-------|----------------------------|------------------------------|
|                                    | Ana c 1     | profilin                           | 15    | C                          | AF377949                     |
|                                    | Ana c 2     | bromelayin                         | 22,8* | C                          | 119E-G,<br>D14059            |
| Citrus limon limon                 | Cit 13      | lipit transfer proteini            | 9     | P                          | Torrejon p.c.                |
| Citrus sinensis tatlı portakal     | Cit s 1     | Germin benzeri protein             | 23    | P                          | Torrejon p.c.                |
|                                    | Cit s 2     | profilin                           | 14    | P                          | Torrejon p.c.                |
|                                    | Cit s 3     | lipit transfer proteini            | 9     | P                          | Torrejon p.c.                |
| Litchi chinensis çin ağacı meyvesi | Lit c 1     | profilin                           | 15    | C                          | AY049013                     |
| Juglans regia İngiliz cevizi       | Jug r 1     | 2S albumin                         |       | C                          | U66866                       |
| Glycine max soya fasülyesi         | Gly m 1     | HPS                                | 7     | P                          | 120A                         |
|                                    | Gly m 2     |                                    | 8     | P                          | A57106                       |
|                                    | Gly m 3     | profilin                           | 14    | C                          | İzoalerjen listesine bakınız |

|                                |             |                                 |      |   |                                    |
|--------------------------------|-------------|---------------------------------|------|---|------------------------------------|
|                                | Gly m 4     | (SAM22) PR-10<br>prot.          | 17   | C | X60043,<br>120B                    |
| Vigna radiate maş<br>fasulyesi | Vig r 1     | PR-10 proteini                  | 15   | C | AY792956                           |
| Arachis hypogaea<br>fıstık     | Ara h 1     | visilin                         | 63.5 | C | L34402                             |
|                                | Ara h 2     | conglutin                       | 17   | C | L77197                             |
|                                | Ara h 3     | glisinin                        | 60   | C | AF093541                           |
|                                | Ara h 4     | glisinin                        | 37   | C | AF086821                           |
|                                | Ara h 5     | orofilin                        | 15   | C | AF059616                           |
|                                | Ara h 6     | hom: conglutin                  | 15   | C | AF092846                           |
|                                | Ara h 7     | hom: conglutin                  | 15   | C | AD091737                           |
|                                | Ara h 8     | PR-10 proteini                  | 17   | C | AY328088                           |
| Lens culinaris<br>mercimek     | Len c 1     | visilin                         | 47   | C | izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
|                                | Len c 2     | Tohum<br>biyotinlenmiş<br>prot. | 66   | P | 120C                               |
| Pisum savitum<br>bezelye       | Pis s 1     | visilin                         | 44   | C | izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
|                                | Pis s 2     | konvisilin                      | 63   | C | Bekleniyor                         |
| Actinidia chinensis<br>kivi    | Act c 1     | sistein proteazı                | 30   | P | P00785                             |
|                                | Act c 2     | taumatin benzeri<br>protein     | 24   | P | SW:P81370,<br>121                  |
| Capsicum annuum<br>dolma biber | Cap a<br>1w | osmotin benzeri<br>protein      | 23   | C | AJ297410                           |
|                                | Cap a 2     | profilin                        | 14   | C | AJ417552                           |



|                                       |          |  |    |   |                                    |
|---------------------------------------|----------|--|----|---|------------------------------------|
| Lycopersicon<br>esculentum<br>domates | Lyc e 1  | profilin                                     | 14 | C | AJ417553                           |
|                                       | Lyc e 2  | b-<br>fruktofuranosidaz                      | 50 | C | İzoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
|                                       | Lyc e 3  | lipit transfer prot.                         | 6  | C | U81996                             |
| Solanum tuberosum<br>patates          | Sola t 1 | patatin                                      | 43 | P | P15476                             |
|                                       | Sola t 2 | katepsin D<br>inhibitörü sistein<br>proteazı | 21 | P | P16348                             |
|                                       | Sola t 3 | inhibitör                                    | 21 | P | P20347                             |

## Tür Adı

|   | Alerjen<br>Adı | Biochem.ID<br>ya da<br>Kullanılmayan<br>adı    | MW   | cDNA<br>(C) ya<br>da<br>protein<br>(P) | Referans<br>Ace. No. |
|---|----------------|--|------|--|----------------------|
| Bertholletia excels<br>Brezilya fıncığı | Sola t 4       | aspartik<br>proteaz<br>inhibitör               | 16+4 | P                                      | P30941               |
|   | Ber e 1        | 2S albumin                                     | 9    | C                                      | P04403,<br>M17146    |
|   | Ber e 2        | 11S globulin<br>tohumu<br>depolama<br>proteini | 29   | C                                      | AY221641             |

Juglans nigra siyah  
ceviz

|         |                            |     |   |            |
|---------|----------------------------|-----|---|------------|
| Jug n 1 | 2S albumin                 | 19* | C | AY102930   |
| Jug n 2 | visilin benzeri<br>prot.   | 56* | C | AY102931   |
| Jug r 2 | visilin                    | 44  | C | AF066055   |
| Jug r 3 | lipit transfer<br>proteini | 9   | P | Pastorello |

Anacardium  
occidentale

Kaşu

|         |                               |    |   |                                    |
|---------|-------------------------------|----|---|------------------------------------|
| Ana o 1 | visilin benzeri<br>protein    | 50 | C | izoalerjen<br>listesine<br>bakınız |
| Ana o 2 | Legumin<br>benzeri<br>protein | 55 | C | AF453947                           |
| Ana o 3 | 2S albumin                    | 14 | C | AY081853                           |

Ricinus communis Hint  
fasulyesi

|         |            |  |   |        |
|---------|------------|--|---|--------|
| Ric c 1 | 2S albumin |  | C | P01089 |
|---------|------------|--|---|--------|

Sesamum indicum  
susam

|         |                                   |    |   |                   |
|---------|-----------------------------------|----|---|-------------------|
| Ses i 1 | 2S albumin                        | 9  | C | 121A,<br>AF240005 |
| Ses i 2 | 2S albumin                        | 7  | C | AF091841          |
| Ses i 3 | 7S visilin<br>benzeri<br>globulin | 45 | C | AF240006          |
| Ses i 4 | oleosin                           | 17 | C | AAG23840          |
| Ses i 5 | oleosin                           | 15 | C | AAD42942          |

Cucumis melo kavun

|         |                    |    |   |        |
|---------|--------------------|----|---|--------|
| Cue m 1 | serin<br>proteinaz | 66 | C | D32206 |
|---------|--------------------|----|---|--------|

|                      |          |               |       |        |                 |
|----------------------|----------|---------------|-------|--------|-----------------|
|                      | Cuc m 2  | profilin      | 14    | C      | AY271295        |
|                      |          | Patogenez-rel |       |        |                 |
|                      |          | p.            |       |        |                 |
|                      | Cuc m 3  | PR-1          | 16*   | P      | P83834          |
| I. Diğer             |          |               |       |        |                 |
| Anisakis simplex     |          |               |       |        |                 |
| nematode             |          |               |       |        |                 |
|                      | Ani s 1  |               | 24    | P      | 121B,<br>A59069 |
|                      | Ani s 2  | paramiyosin   | 97    | C      | AF173004        |
|                      | Ani s 3  | tropomiyosin  | 41    | C      | 121C,<br>Y19221 |
|                      | Ani s 4  |               | 9     | P      | P83885          |
| Argas reflexus       |          |               |       |        |                 |
| güvercin kenesi      |          |               |       |        |                 |
|                      | Arg r 1  |               | 17    | C      | AJ697694        |
| Ascaris suum solucan | Asc s 1  |               | 10    | P      | 122             |
| Carica papaya papaya | Car p 3w | Papain        | 23,4* | C      | 122A,<br>M15203 |
| Dendronephthya       |          |               |       |        |                 |
| nipponica yumuşak    |          |               |       |        |                 |
| mercan               |          |               |       |        |                 |
|                      | Den n 1  |               | 53    | P      | 122B            |
| Hevea brasiliensis   |          |               |       |        |                 |
| kauçuk               |          |               |       |        |                 |
| (lateks              |          |               |       |        |                 |
| Tür Adı              |          |               |       |        |                 |
|                      | Alerjen  | Biochem.ID    | MW    | cDNA   | Referans        |
|                      | Adı      | ya da         |       | (C) ya | Ace. No.        |
|                      |          | Kullanılmayan |       | da     |                 |

|            | adı                            |         | protein<br>(P) |                              |
|------------|--------------------------------|---------|----------------|------------------------------|
| Hev b 1    | Uzatma faktörü                 | 58      | P              | 123, 124                     |
| Hev b 2    | 1,3-glukanaz                   | 34/36   | C              | 125                          |
| Hev b 3    |                                | 24      | P              | 126, 127                     |
| Hev b 4    | mikroheliks kompleksi bileşeni | 100-115 | P              | 128                          |
| Hev b 5    |                                | 16      | C              | U42640                       |
| Hev b 6,01 | hevein öncüsü                  | 20      | C              | M36986, p02877               |
| Hev b 6,02 | hevein                         | 5       | C              | M36986, p02877               |
| Hev b 6,03 | C-terminali fragmanı           | 14      | C              | M36986, p02877               |
| Hev b 7,01 | hom: B-serumdan patatin        | 42      | C              | U80598                       |
| Hev b 7,02 | hom: C-serumdan patatin        | 44      | C              | AJ223038                     |
| Hev b 8    | profilin                       | 14      | C              | İzoalerjen listesine bakınız |
| Hev b 9    | enolaz                         | 51      | C              | AJ132580                     |
| Hev b 10   | Mn süperoksit dismut.          | 26      | C              | İzoalerjen listesine bakınız |
| Hev b 11   | Sınıf 1 çitinaz                |         | C              | İzoalerjen listesine bakınız |

|                                    |          |                         |       |   |              |
|------------------------------------|----------|-------------------------|-------|---|--------------|
|                                    | Hev b 12 | Lipit transfer proteini | 9.3   | C | AY057860     |
|                                    | Hev b 13 | Esteraz                 | 42    | P | P83269       |
| Homo sapiens İnsan otoalerjenleri  |          |                         |       |   |              |
|                                    | Hom s 1  |                         | 73*   | C | Y14314       |
|                                    | Hom s 2  |                         | 10,3* | C | X80909       |
|                                    | Hom s 3  |                         | 20,1* | C | X89985       |
|                                    | Hom s 4  |                         | 36*   | C | Y17711       |
|                                    | Hom s 5  |                         | 42,6* | C | P02538       |
| Triplochiton scleroxylon paşaağacı |          |                         |       |   |              |
|                                    | Trip s 1 | Sınıf 1 çitinaz         | 38.5  | P | Kespohl p.c. |

#### Kaynakça

- 1 Marsh, D.G. ve L.R. Freidhoff. 1992. ALBE, an allergen database. IUIS, Baltimore, MD, Baskı 1.0.
- 2 Marsh, D. G. v.d. 1986. Allergen nomenclature. Bull WHO 64:767-770.
- 5 3 King, T.P. v.d. 1964. Biochemistry 3:458-468.
- 4 Lowenstein, H. 1980. Allergy 35:188-191.
- 5 Aukrust, L. 1980. Allergy 35:206-207.
- 6 Demerec, M. v.d. 1966. Genetics 54:61-75.
- 7 Bodmer, J. G. v.d. 1991. Immunogenetics 33:301-309.
- 10 8 Griffith, I.J. v.d. 1991. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 96:296-304.
- 9 Roebber, M. v.d. 1985. J. Immunol. 134:3062-3069.
- 10 Metzler, W. J. v.d. 1992. Biochemistry 31:5117-5127.
- 11 Metzler, W. J. v.d. 1992. Biochemistry 31:8697-8705.

- 12 Goodfriend, L v.d. 1979. Fed. Proc. 38:1415.
- 13 Ekramoddoullah, A. K. M. v.d. 1982. Mol. Immunol. 19:1527-1534.
- 14 Ansari, A. A. v.d. 1987. J. Allergy Clin. Immunol. 80:229-235.
- 15 Morgenstern, J.P. v.d. 1991. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9690-9694.
- 5 16 Griffith, I.J. v.d. 1992. Gene 113:263-268.
- 17 Weber, A. v.d. 1986. Biochem. Physiol. 83B:321-324.
- 18 Weber, A. v.d. 1987. Allergy 42:464-470.
- 19 Stanworth, D. R. v.d. 1990. Bulletin WHO 68:109-111.
- 20 Rafnar, T. v.d. 1991. J. Biol. Chem. 266: 1229-1236.
- 10 21 Rogers, B.L v.d. 1991. J. Immunol. 147:2547-2552.
- 22 Klapper, D.G. v.d. 1980. Biochemistry 19:5729-5734.
- 23 Ghosh, B. v.d. 1993. J. Immunol. 150:5391-5399.
- 24 Roebber, M. v.d. 1983. J. Immunol. 131:706-711.
- 25 Lubahn, B. ve D.G. Klapper. 1993. J. Allergy Clin. Immunol. 91:338.
- 15 26 Roebber, M. ve D.G. Marsh. 1991. J. Allergy Clin. Immunol. 87:324.
- 27 Goodfriend L v.d. Mol Immunol 22: 899-906, 1985.
- 28 Himly M. v.d. FASEB J 17: 106-108, 2003.
- 28A Nilsen, B. M. v.d. 1991. J. Biol. Chem. 266:2660-2668.
- 29 Wopfner N. v.d. Biol Chem 383: 1779-1789, 2002.
- 20 29A Jimenez A. v.d. 1994. Int Arch Allergy Immunol 105:297-307.
- 29B Barderas R. v.d. Int Arch Allergy Immunol 127: 47-54, 2002. 29C Carnes J. v.d. Allergy 56, Supplement 68: 274, 2001.
- 29D Giuliani A. v.d Allergy 42: 434-440, 1987.
- 30 Smith,P.M. v.d. 1996. J. Allergy Clin. Immunol. 98:331-343.
- 25 31 Suphioglu,C. v.d. 1997. FEBS Lett. 402:167-172.
- 31a Asturias J.A. v.d. 1997. Clin Exp Allergy 27:1307-1313.
- 32 Mecheri, S. v.d. 1985. Allergy Appl. Immunol. 78:283-289.
- 33 Roberts, A.M. v.d. 1993. Allergy48:615-623.
- 33a Guerin-Marchand.C. v.d. 1996. Mol. Immunol. 33:797-806.
- 30 34 Klysner, S. v.d. 1992. Clin. Exp. Allergy 22: 491-497.
- 35 Perez, M. v.d. 1990. J. Biol. Chem. 265:16210-16215.
- 36 Griffith, I. J. v.d. 1991. FEBS Letters 279:210-215.

- 37** Ansari, A. A. v.d. 1989. *J. Biol. Chem.* 264:11181-11185. **37a** Sidoli, A. v.d. 1993. *J. Biol. Chem.* 268:21819-21825.
- 38** Ansari, A. A. v.d. 1989. *Biochemistry* 28:8665-8670.
- 39** Singh, M. B. v.d. 1991. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88:1384-1388.
- 5 **39a** van Ree R. v.d. 1995. *J Allergy Clin Immunol* 95:970-978.
- 40** Suphioglu.C. ve Singh,M.B. 1995. *Clin. Exp. Allergy* 25:853-865.
- 41** Dolecek.C. v.d. 1993. *FEBS Lett.* 335:299-304.
- 41A** Fischer S. v.d. 1996. *J Allergy Clin Immunol* 98:189-198.
- 42** Matthiesen, F. ve H. Lowenstein. 1991. *Clin. Exp. Allergy* 21:297-307.
- 10 **43** Petersen, A. v.d. 1995. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 108:55-59.
- 43A** Marknell DeWitt A. v.d. *Clin Exp Allergy* 32: 1329-1340, 2002.
- 44** Valenta,R. v.d. 1994. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 199:106-118.
- 46** Esch, R. E. ve D. G. Klapper. 1989. *Mol. Immunol.* 26:557-561.
- 47** Olsen, E. v.d. 1991. *J. Immunol.* 147:205-211.
- 15 **48** Avjoglu, A. v.d. 1993. *J. Allergy Clin. Immunol.* 91:340.
- 52** Kos T. v.d. 1993. *Biochem Biophys Res Commun* 196:1086-92.
- 53** Diaz-Perales A. v.d. 2000. *Clin Exp Allergy* 30:1403-1410.
- 54** Ipsen, H. ve O.C. Hansen. 1991. *Mol. Immunol.* 28: 1279-1288.
- 55** Taniai, M. v.d. 1988. *FEBS Lett.* 239:329-332.
- 20 **56** Griffith, I.J. v.d. 1993. *J. Allergy Clin. Immunol.* 91:339.
- 57** Sakaguchi, M. v.d. *Allergy* 45: 309-312, 1990.
- 57A** Yokoyama M. v.d. *Biochem Biophys Res Commun* 275: 195-202, 2000.
- 57B** Midoro-Horiuti T. v.d. *J Immunol* 164: 2188-2192, 2000.
- 57C** TinghinoR. v.d. *J. Allergy Clin. Immunol.* 101: 772-777, 1998.
- 25 **58** Gross GN v.d. *Scand J Immunol* 8: 437-441, 1978.
- 58A** Obispo TM v.d. *Clin Exp Allergy* 23: 311-316, 1993.
- 58B** Midoro-Horiuti T. v.d. *Clin Exp Allergy* 31: 771-778, 2001.
- 59** Lombardero M. v.d. *Clin. Exp. Allergy* 24: 765-770, 1994.
- 60** Villalba, M. v.d. *Eur. J. Biochem.* 216: 863-869, 1993.
- 30 **60A** Asturias JA v.d. *J Allergy Clin Immunol* 100: 365-372, 1997.
- 60B** Batanero E. v.d. *Eur J Biochem* 241: 772-778, 1996.
- 60C** Batanero E. v.d. *FEBS Lett.* 410: 293-296, 1997.
- 60D** Tejera ML v.d. *J Allergy Clin Immunol* 104: 797-802, 1999.

- 60E** Ledesma A. v.d. FEBS Lett 466: 192-196, 2000.
- 60F** Barral P. v.d. J Immunol 172: 3644-3651, 2004.
- 61** Yi FC v.d. Clin Exp Allergy 32: 1203-1210, 2002.
- 61A** Ramos JD v.d. Int Arch Allergy Immunol 126: 286-293, 2001.
- 5 **62** Chua, K. Y. v.d. J. Exp. Med. 167: 175-182, 1988.
- 62A** Chua, K. Y. v.d. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 91: 118-123, 1990.
- 62B** Smith AM v.d. Int Arch Allergy Immunol 124: 61-63, 2001.
- 62C** Smith AM v.d. J Allergy Clin Immunol 107: 977-984, 2001.
- 63** Smith WA, Thomas WR. Int Arch Allergy Immunol 109: 133-140, 1996.
- 10 **64** Lake, F.R. v.d. J. Allergy Clin. Immunol. 87: 1035-1042, 1991.
- 65** Tovey, E. R. v.d. J. Exp. Med. 170: 1457-1462, 1989.
- 66** Yasueda, H., T. Shida, T. Ando, S. Sugiyama ve H. Yamakawa. 1991.  
Allergenic and proteolytic properties of fourth allergens from Dermatophagoides  
mites. Yayınlandığı yer: "Dust Mite Allergens and Asthma. Report of the 2nd  
15 international workshop" A. Todt, Ed., UCB Institute of Allergy, Brüksel, Belçika, sf.  
63-64.
- 67** Shen, H.-D. v.d. Clin. Exp. Allergy 23: 934-940, 1993.
- 67A** O'Neil GM v.d. Biochim Biophys Acta, 1219: 521-528, 1994.
- 67B** King C. v.d. J Allergy Clin Immunol 98: 739-747, 1996.
- 20 **68** Lind P. v.d. J. Immunol. 140: 4256-4262, 1988.
- 69** Dilworth, R. J. v.d. Clin. Exp. Allergy 21: 25-32, 1991.
- 70** Nishiyama, C. v.d. Int. Arch. Allergy Immunol. 101: 159-166, 1993.
- 70A** Trudinger, M. v.d. Clin. Exp. Allergy 21: 33-38, 1991.
- 71** Shen HD v.d. Clin Exp Allergy 25: 1000-1006, 1995.
- 25 **71A** Tategaki A. v.d. ACI International suppl. 1: 74-76, 2000.
- 72** Aki T. v.d. J Allergy Clin Immunol 96: 74-83, 1995.
- 72A** Tsai L v.d. Clin Exp Allergy 29: 1606-1613, 1999.
- 72B** Gafvelin G. v.d. J Allergy Clin Immunol 107: 511-518, 2001.
- 73** van Hage-Hamsten. v.d. J. Allergy Clin. Immunol. 91:353, 1993.
- 30 **74** Varela J. v.d. Eur J Biochem 225: 93-98, 1994.
- 74A** Schmidt M. v.d. FEBS Lett 370: 11-14, 1995.
- 75** Eriksson TLJ v.d. Eur. J. Biochem. 268: 287-294, 2001.
- 75A** Saarne T. v.d. Int Arch Allergy Immunol 130: 258-265, 2003.



- 75B** Eriksson TL v.d. Eur. J. Biochem. 251 (1-2), 443-447, 1998.
- 76** Rautiainen J, Rytönen M, Pelkonen J, Pentikainen J, Perola O, Virtanen T, Zeiler T, Mantylarvi R. BDA20, a major bovine dander allergen characterised at the sequence level is Bos d 2. Submitted.
- 5 **77** Gjesing B, Lowenstein H. Ann Allergy 53:602, 1984.
- 78** deGroot, H. v.d. J. Allergy Clin. Immunol. 87:1056-1065, 1991.
- 79** Konieczny, A. Personal communication; Immunologic Pharmaceutical Corp.
- 79A** Bulone, V. Eur J Biochem 253: 202-211, 1998.
- 79B** Swiss-Prot ace. P81216, P81217.
- 10 **79C** Dandeu J. P. v.d. (1993). J. Chromatogr. 621:23-31.
- 79D** Goubran Botros H. v.d. 1998. J. Chromatogr. B 710:57-65.
- 79E** Hilger C. v.d. Allergy 52: 179-187; ve Hilger C. v.d. Gene 169:295-296, 1996.
- 79F** Ichikawa K. v.d. Clin Exp Allergy, In Press 2001.
- 80** Fahlbusch B. v.d. Allergy 57: 417-422, 2002.
- 15 **81** McDonald, B. v.d. 1988. J. Allergy Clin. Immunol. 83:251.
- 81A** Clarke, A. J. v.d. 1984. EMBO J 3:1045-1052.
- 82** Longbottom, J. L. 1983. Characterisation of allergens from the urines of experimental animals. McMillan Press, Londra, sf. 525-529.
- 83** Laperche, Y. v.d. 1983. Cell 32:453-460.
- 20 **83A** Bush RK v.d. 1999. J Allergy Clin Immunol 104:665-671.
- 83B** Aukrust L, Borch SM. 1979. Int Arch Allergy Appl Immunol 60:68-79.
- 83C** Sward-Nordmo M. v.d. 1988. Int Arch Allergy Appl Immunol 85:288-294.
- 84** Shen, v.d. J. Allergy Clin. Immunol. 103:S157, 1999.
- 84A** Cramer R. Epidemiology and molecular basis of the involvement of
- 25 *Aspergillus fumigatus* in allergic diseases.  
Contrib. Microbiol. Cilt 2, Karger, Basel (baskıda).
- 84B** Shen, v.d. (makale gönderildi), 1999
- 84C** Shen HD v.d. Vacuolar serine proteinase: A major allergen of *Aspergillus fumigatus*. 10th International Congress of Immunology, Abstract, 1998.
- 30 **85** Kumar A. v.d. 1993. J. Allergy Clin. Immunol. 91:1024-1030.
- 85A** Saxena S. v.d. 2003. Clin Exp Immunol 134:86-91.
- 85B** Baur X. v.d. Allergy 57: 943-945, 2002.
- 86A** Shen HD v.d. 1996. Clin Exp Allergy 26:444-451.

- 86B** Shen, v.d. Abstract; The XVIII Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology, Brüksel, Belçika, 3-7 Temmuz 1999.
- 87** Shen HD v.d. Clin Exp Allergy 29: 642-651, 1999.
- 5 **87A** Shen HD v.d. Clin Exp Allergy 25: 350-356, 1995.
- 87B** Shen HD v.d. J Lab Clin Med 137: 115-124, 2001.
- 88** Woodfolk JA v.d. 1998. J Biol Chem 273:29489-96. 88A Deuell, B. v.d. 1991. J. Immunol. 147:96-101.
- 89** Shen, H.D. v.d. 1991. Clin. Exp. Allergy 21:675-681.
- 10 **89A** Horner WE v.d. 1995. Int Arch Allergy Immunol 107:298-300.
- 89B** Chang CY v.d. J Biomed Sci 9: 645-655, 2002.
- 90** Yasueda H. v.d. Biochem Biophys Res Commun 248: 240-244, 1998.  
NB: strain TIMM2782 (Teikyo University Institute for Medical Mycology) equal to strain CBS1878 (Central Bureau von Schimmelkulturen).
- 15 **90A** Onishi Y. v.d. Eur J Biochem 261:148-154, 1999. NB: strain TIMM2782 (Teikyo University Institute for Medical Mycology) equal to strain CBS1878 (Central Bureau von Schimmelkulturen).
- 91** Schmidt M. v.d. Eur J Biochem 246:181-185, 1997. NB: suş ATCC no. 42132 (Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu).
- 20 **91A** Rasool O. v.d. Eur J Biochem 267: 4355-4361, 2000. NB: suş ATCC no. 42132 (Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu).
- 91B** NB: ; suş 4625 (Hindistan Tarımsal Araştırma Enstitüsü - Agricultural Research Institute, PUSA; Yeni Delhi, Hindistan).
- 92** Kuchler, K. v.d. 1989. Eur. J. Biochem. 184:249-254.
- 25 **93** Gmachl, M. ve G. Kreil. 1993. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:3569-3573. 93A Hoffman DR. 1977. J Allergy Clin. Immunol. 59:364-366.
- 94** Habermann, E. 1972. Science 177:314-322.
- 95** Hoffman DR, Jacobson RS. 1996. J. Allergy Clin. Immunol. 97:812-821.
- 95A** Hoffman DR, El-Choufani AE, Smith MM, deGroot H. 2001. Occupational  
30 allergy to bumblebee venom: Allergens of *Bombus terrestris*. J Allergy Clin Immunol Baskıda.
- 95B** Helm R. v.d. 1996. J Allerg Clin Immunol 98:172-180.
- 95C** Pomes A. v.d. 1998. J Biol Chem 273:30801-30807.

- 96** Arruda LK v.d. J Biol Chem 270:19563-19568, 1995.
- 97** Arruda LK v.d. J Biol Chem 270:31196-31201, 1995.
- 98** Arruda LK v.d. Int Arch Allergy Immunol 107:295-297, 1995. **98A** Wu CH v.d. 1998. J Allergy Clin Immunol 101:832-840.
- 5 **98B** Melen E. v.d. 1999. J Allergy Clin Immunol 103:859-64.
- 98C** Wu CH v.d. J Biol Chem 271:17937-17943, 1996.
- 98D** Wu CH v.d. Molecular Immunol 34:1-8, 1997. **98E** Santos ABR v.d. 1999. J Allergy Clin Immunol 104:329-337. **98F** Asturias JA v.d. 1999. J Immunol 162:4342-4348.
- 10 **99** Mazur, G. v.d. 1990. Monog. Allergy 28:121-137.
- 99A** Moneo I. v.d. Allergy 58: 34-37, 2003.
- 100** Soldatova, L. v.d. 1993. FEBS Letters 320:145-149.
- 101** Lu, G. v.d. 1994. J. Allergy Clin. Immunol. 93:224.
- 102** Fang, K. S. F. v.d. 1988. Proc. Natl. Acad. Sci., USA 85:895-899.
- 15 **103** King, T. P. v.d. 1990. Prot. Sek. Veri Anal. 3:263-266.
- 104** Lu, G. v.d. 1993. J. Immunol. 150: 2823-2830.
- 105** King, T. P. ve Lu, G. 1997. Yayınlanmamış veri.
- 105A** King TP v.d. 1996. J. Allergy Clin. Immunol. 98:588-600.
- 106** Hoffman, D.R. 1993. J. Allergy Clin. Immunol. 92:707-716
- 20 **107** Hoffman DR. 1992. Yayınlanmamış veri.
- 108** Hoffman DR. J. Allergy Clin. Immunol. 91:187, 1993.
- 109** Jacobson RS v.d. J. Allergy Clin. Immunol. 89:292, 1992.
- 110** Hoffman DR. J. Allergy Clin. Immunol 91: 71-78, 1993.
- 111** Schmidt M. v.d. FEBS Letters 319: 138-140, 1993.
- 25 **111A** Paddock CD v.d. J Immunol 167: 2694-2699, 2001.
- 112** Elsayed S, Bennich H. Scand J Immunol 3: 683-686, 1974.
- 113** Elsayed S. v.d. Immunochemistry 9: 647-661, 1972.
- 114** Hoffman, D. R. 1983. J. Allergy Clin. Immunol. 71: 481-486.
- 115** Langeland, T. 1983. Allergy 38:493-500.
- 30 **116** DaulCB, Slattery M, Morgan JE, LehrerSB. 1993. Common Crustacea allergens: identification of B cell epitopes with the shrimp specific monoclonal antibodies. Yayınlandığı yer: "Molecular Biology and Immunology of Allergens" (D. Kraft ve A. Sehon, eds.). CRC Press, Boca Raton, sf. 291-293.

- 116A** ShantiKN v.d. *J. Immunol.* 151:5354-5363, 1993.
- 117** YuCJ v.d. *J Immunol* 170:445-453,2003.
- 117A** Miyazawa M v.d. *J. Allergy Clin. Immunol.* 98: 948-953, 1996.
- 117B** Asturias JA v.d. *Int Arch Allergy Immunol* 128: 90-96,2002.
- 5 **117C** LopataAL v.d. *J. Allergy Clin. Immunol.* 100:642-648, 1997.
- 117D** Hoffmann-SommergruberK. v.d. *Clin. Exp. Allergy* 29: 840-847, 1999.
- 118** MonsalveRI v.d. *Biochem. J.* 293: 625-632 1993.
- 118A** Monsalve RI v.d. 1997. *Clin Exp Allergy* 27:833-841.
- 119** Mena, M. v.d. *Plant Molec. Biol.* 20: 451-458, 1992.
- 10 **119A** Palosuo K. v.d. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108:634-638,2001.
- 119B** Xu H. v.d. *Gene* 164: 255-259, 1995.
- 119C** Pastorello EA v.d. *J. Allergy Clin. Immunol.* 94: 699-707, 1994.
- 119D** Diaz-Perales A. v.d. *J Allergy Clin Immunol* 110: 790-796,2002.
- 119E** Galleguillos F, Rodriguez JC. *Clin Allergy* 8: 21-24, 1978.
- 15 **119F** BaurX. *Clin Allergy* 9: 451-457, 1979.
- 119G** Gailhofer G. v.d. *Clin Allergy* 18: 445-450, 1988.
- 120** Menendez-Arias, L. v.d. 1988. *Eur. J. Biochem.* 177:159-166.
- 120A** Gonzalez R. v.d. *Lancet* 346:48-49, 1995.
- 120B** Kleine-Tebbe J. v.d. *J Allergy Clin Immunol* 110: 797-804, 2002.
- 20 **120C** Sanchez-MongeR. v.d. *J. Allergy Clin. Immunol.* 106: 955-961,2000.
- 121** Gavrovic-Jankulovic M. v.d. *J Allergy Clin Immun ol* 110: 805-810, 2002.
- 121A** Pastorello EA v.d. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 756: 85-93, 2001.
- 121B** Moneo I. v.d. *J. Allergy Clin. Immunol.* 106: 177-182, 2000. **121C** Asturias JA v.d. 2000. *Allergy* 55:898-890.
- 25 **122** Christie, J. F. v.d. 1990. *Immunology* 69:596-602.
- 122A** Baur X. v.d. *Clin Allergy* 12: 9-17, 1982.
- 122B** OnisukaR. v.d. *Int Arch Allergy Immunol* 125: 135-143,2001.
- 123** Czuppon AB v.d. *J Allergy Clin Immunol* 92:690-697, 1993.
- 124** Attanayaka DPSTG v.d. 1991. *Plant Mol Biol* 16:1079-1081.
- 30 **125** Chye ML, Cheung KY. 1995. *Plant Mol Biol* 26:397-402.
- 126** AleniusH. v.d. 1993. *Int Arch Allergy Immunol* 102:61-66.
- 127** Yeang HY, Cheong KF, Sunderasan E, Hamzah S, Chew NP, Hamid S, Hamilton RG, Cardosa MJ. 1996. The 14.6kD (REF, Hevb 1) and 24 kD(Hevb 3)

rubber particle proteins are recognised by IgE from Spina Bifida patients with Latex allergy. J Allerg Clin Immunol baskıda.

**128** Sunderasan E. v.d. 1995. J nat Rubb Res 10:82-99.

**129** Swoboda I. v.d. 2002. J Immunol. 168:4576-84.

5 **130** Vrtala v.d., 2007. J Immunol. 179:1731-1739.

**131** Valenta ve Niederberger, 2007. J Allergy Clin Immunol. 119(4):826-830.

**132** Niespodziana (13.3.2011); J. Allergy & Clin. Immunol. 127(6):1562-1570

Mevcut buluşa göre, en az bir vahşi tip alerjenden türetilmiş en az dört ve en fazla  
10 altı peptit, B hücresi bağlayıcı peptitlerdir.

Buluşa göre alerji aşılması için kullanılacak "B hücresi bağlama peptitleri" terimi, alerjenlerin IgE bağlanma bölgelerinden türetilir veya bunlara yakındır, ancak kendi başlarına vahşi tip alerjene kıyasla IgE reaktivitesi göstermez ya da gösterdikleri IgE reaktivitesi minimum düzeydedir (Focke M v.d. Clinical &  
15 Experimental Allergy 40(2010):385-397).

Üretim ve seçilmelerine ilişkin gereksinimler, alerjenin birincil sekansı ve IgE bağlanma bölgeleri hakkındaki bilgidir. İmmünizasyonun ardından, uygun bir immünojenik taşıyıcıya kaynaşmış B hücresi bağlayıcı peptitler, IgE'nin alerjene bağlanmasını bloke edebilen alerjene özgü IgG üretimini indükleyebilir. Füzyon  
20 proteini ile indüklenen IgG'nin alerjeni tanıyıp tanımayacağı, örneğin, IgG'nin tam alerjenle reaktivite açısından test edilmesiyle belirlenebilir. Uygun yöntemler arasında ELISA, nokta-leke veya Westernblot tahlilleri bulunur. Hastaların alerjene IgE bağlarını bloke eden IgG'yi indükleyen peptitler tercih edilir.

Mevcut buluş, uygun B hücresi bağlayıcı peptitlerin, özellikle dört veya daha  
25 fazlasının mevcut buluşa göre uygun bir taşıyıcıya kaynaşması durumunda kullanılmasının, tam bir alerjenle bile immünizasyon yoluyla indüklenenlere kıyasla IgE epitoplarına daha iyi odaklanmış IgG tepkilerinin indüklenmesini sağladığını gösterir. Ayrıca buluş, uygun peptitlerin kombinasyonunun ve bunların uygun bir taşıyıcı sayısının, alerjene özgü bağışıklık tepkisini, uygun bir anti alerjik  
30 immün tepkisine doğru yönlendirebileceğini göstermektedir (IgE tepkilerinin ile tolerojenik (IL-10) ve Th1 (İnterferon gama) sitokin tepkilerinin değil, tercihen alerjene özgü IgG'nin indüklenmesi ile karakterize edilir).

Üstelik, alerjene özgü T hücresi epitoplari bulunmamasina rağmen şaşırtıcı bir şekilde, immünojenik bir taşıyıcıya kaynaşmış 4 veya daha fazla B hücresi bağlama peptiti içeren buluşa göre olan polipeptitlerin, alerjene özgü T hücresi reaksiyonlarını azaltabildiği ortaya çıkmıştır. Bu, mevcut buluşun hipoalerjenik polipeptitleriyle terapötik aşılama ile indüklenen alerjene özgü IgG'nin varlığının, 5 aşıllanmış insan alerjik bireylerinde periferik mononükleer kan hücrelerinde IgE ile kolaylaştırılmış antijen sunumunun neden olduğu alerjene özgü T-hücre aktivasyonunu azalttığı gerçeğiyle gösterilmiştir. (Şekil 16).

Söz konusu en az dört ve en fazla altı peptit, vahşi tip alerjene kıyasla hiç IgE bağlama kapasitesi sergilemez ya da çok düşük bir kapasite gösterir ve söz konusu en az dört ve en fazla altı B-hücresi bağlama peptiti, hiç ya da büyük oranda hiç T hücresi reaktivitesi göstermez.

Alerjene özgü T hücresi epitoplalarının olması, istenmeyen T hücresi aracılı yan etkilere yol açabilir. Bu nedenle, mevcut buluşun polipeptitlerini elde etmek için hiç veya büyük ölçüde hiç T hücresi reaktivitesi sergilemeyen peptitler kullanılır. 15

Burada kullanılan şekliyle "düşük IgE bağlama kapasitesinin sergilenmesi", mevcut buluşa göre moleküllerin önemli ölçüde düşük IgE bağlama kapasitesi veya aktivitesi gösterdiği (vahşi tipte alerjene kıyasla en az %50 daha az, tercihen en az %70 daha az, daha çok tercihen en az %80 daha az, daha da tercihen en az %90 daha az, en çok tercihen en az %95 daha az bağlanma kapasitesi) veya hatta hiç IgE bağlaması olmaz. 20

Peptitler ve Proteinler gibi moleküllerin IgE bağlama aktivitesi/kapasitesi, örneğin, daha önce vahşi tip alerjene maruz kalmış olan bir denekten (yani bir alerjik denek) elde edilen serumlar kullanılarak örneğin immünosorbent deneyi (ELISA) ile belirlenebilir. Kısaca, test edilecek bir peptit bir mikrotitre plakasının oyukları 25 üzerine kaplanır. Kuyuların yıkanması ve bloke edilmesinden sonra, test edilen peptite veya türetildiği proteine maruz bırakılmış bir alerjik deneğin plazmasından oluşan bir antikor solüsyonu, kuyularda inkübe edilir. Etiketlenmiş bir ikincil antikor, kuyulara eklenir ve inkübe edilir. Daha sonra IgE bağlanma miktarı ölçülür ve saflaştırılmış bir vahşi tip alerjen tarafından bağlanan IgE miktarıyla karşılaştırılır. 30

Alternatif olarak, bir peptitin bağlanma aktivitesi Westernblot analizi ile de belirlenebilir. Örneğin, test edilecek bir peptitin testi, SDS-PAGE kullanılarak bir

poliakrilamid jel üzerinde gerçekleştirilir. Peptit daha sonra nitroselüloza aktarılır ve daha sonra alerjik bir denekten serum ile inkübe edilir. Etiketli sekonder antikorla inkübasyondan sonra, bağlı IgE miktarı belirlenir ve ölçülür.

- 5 Bir peptitin IgE bağlama aktivitesini belirlemek için kullanılabilecek başka bir tahlil, bir rekabet ELISA tahlilidir. Kısaca, bir IgE antikoruna havuzu, doğrudan ELISA ile vahşi tip alerjen ile IgE reaktif olduğu gösterilen alerjik deneklerden alınan plazmayı birleştirerek oluşturulur. Bu havuz, test edilen peptitle vahşi tip alerjene IgE bağlanmasını karşılaştırma amaçlı ELISA rekabet tahlillerinde kullanılır. Vahşi tip alerjen ve test edilen peptite IgE bağlanması belirlenir ve ölçülür.
- 10 "T hücresi epitopu" ifadesi, bir T-hücresinin bir antijene özgü bir bağlanma yerine sahip olduğu ve söz konusu bağlanma yerine bağlanma sonucu T hücresinin aktive edildiği bir protein, peptit veya polipeptit (örn., alerjen) veya bunun bir fragmanı anlamına gelir. Bu tarifnamede kullanıldığı haliyle, "düşük T hücresi reaktivitesi sergilemek" terimi, teknikte bilinen standart tahlillerde eşmolar
- 15 miktarlar kullanılarak hipoalerjenik molekülün türetildiği vahşi tip alerjen tarafından indüklenen stimülasyona kıyasla, önemli ölçüde azalmış bir T hücresi reaktivitesi sergileyen molekülleri ifade etmektedir (düşük T hücresi reaktivitesi, eşmolar miktardaki vahşi tip alerjene kıyasla, hipoalerjenik moleküllerin en az %30, tercihen en az %50, daha tercihen en az %70, en çok tercihen en az %90, daha
- 20 az uyarılması anlamına gelir). Bu buluşun belirli bir tercih edilen uygulamasında, moleküller T hücre epitoplarından "yoksun" olabilir ve bu nedenle molekül, tedavi edilecek olan bireylerde (yani, epitop sunan bir değerlik platformu molekülü alacak olan) düşük T hücresi reaktivitesi gösterir. Örneğin, alerjenden türetilmiş bir molekülün, bir bireye veya bir gruba göre bir T-hücresi epitopu/epitopları
- 25 içermemesi ancak başka bireye/bireylere göre R hücresi epitopu/epitopları içermesi muhtemeldir. Bir T hücresi epitopunun varlığını saptama yöntemleri teknikte bilinmekle birlikte T hücresi proliferasyonunu (örneğin, timidin birleşmesi gibi) tespit eden analizleri içerir. Arkaplan üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde timidin dahil edilmesini indükleyemeyen immünojenlerin (yani, standart
- 30 istatistiksel yöntemler kullanılarak 0.05'ten az p) genellikle, T hücreli epitoplar içermediği kabul edilir, ancak, timidin birleşmesinin niceliksel miktarının, test edilen immünojene bağlı olarak değişebileceği takdir edilecektir (bkz. örn., Zhen L. v.d. (Infect Immun. (2003) 71:3920-3926)).

- Genel olarak, yaklaşık 2-3'ün altındaki, daha tercihen yaklaşık 1'in altındaki bir stimülasyon indeksi, T hücresi reaktivitesinin ve epitoplarnn olmadığını gösterir. T hücresi epitoplarnn olmasđ, standart yöntemlerine göre T hücresinde türetilen lenfokinlerin salgılanmasđnđn ölçülmesiyle de belirlenebilir. Stimülasyon endeksi (SI), stimüle edilmiş hücrelerin proliferasyon hızının (Timidin alımı), sadece ortamdaki stimüle edilmemiş hücrelerin proliferasyon hızına bölünmesi ile hesaplanabilir. SI=1, stimülasyonun olmadığı anlamına gelirken SI>1, hücrelerin stimülasyonunu gösterir. Varsa, T hücresi epitoplarnn yeri ve içeriği deneysel olarak belirlenebilir.
- 10 Sitokin salgılanmasđ, T hücrelerinin stimülasyonuna ek olarak belirlenebilir. Örneğin, düzenleyici T hücrelerinin artan etkinliği için biyobelirteçler olarak IFN-gama ve IL-10, başarılı bir alerji immünoterapisine eşlik eden sitokinler olarak kabul edilmiştir.
- Mevcut buluşun peptit parçaları, tercihen Phlp 1 amino asitleri 151 ila 177, 87  
 15 i117, 1 ila 30, 43 ila 70 ya da 212 ila 241, Phl p 2 amino asitleri 1 ila 33, 8 ila 39, 34 ila 65 or 66 ila 96, Phl p 5 amino asitleri 93 ila 128, 98 ila 128, 26 ila 53, 26 ila 58, 132 ila 162, 217 ila 246, 252 ila 283 veya 176 ila 212, Phl p 6 amino asitleri 23 ila 54, 56 ila 90, 73 ila 114 ya da 95 ila 127, Fel d 1 zincir 1 amino asitleri 1 ila 34 veya 35 ila 70, Fel d 1 zincir 2 amino asitleri 1 ila 34, 35 ila 63 ya da 64 ila 92, Bet  
 20 v 1 amino asitleri 30 ila 59, 50 ila 79, 75 ila 104, 30 ila 74 veya 60 ila 104, Der p 1 amino asileri 1 ila 30, 52 ila 84 ya da 188 ila 222, Der p 2 amino asitleri 1 ila 33, 21 ila 51, 42 ila 73, 62 ila 103 veya 98 ila 129, Der p 7 amino asitleri 1 ila 30, 20 ila 50, 50 ila 80, 90 ila 125, 125 ila 155 ya da 165 ila 198, Der p 10 amino asitleri  
 25 amino asitleri 1 ila 35, 35 ila 72, 70 ila 100 ya da 90 ila 122, Der p 23 amino asitleri 1 ila 32, 15 ila 48 veya 32 ila 70, 32 ila 60, 52 ila 84, 32 ila 70 (Cys->Ser), Alt a 1 amino asitleri 19 ila 58, 59 ila 95, 91 ila 120 veya 121 ila 157, Par j 2 amino asitleri 31 ila 60, 45 ila 80, 60 ila 96 veya 97 ila 133, Ole e 1 amino asitleri 1 ila 40, 36 ila 66, 63 ila 99, 86 ila 120 veya 107 ila 145, Fel d 2 amino asitleri 25 ila 58, 99  
 30 ila 133, 154 ila 183, 277 ila 307, 334 ila 363, 373 ila 402, 544 ila 573, 579 ila 608, 58 ila 99, 125 ila 165, 183 ila 224, 224 ila 261, 252 ila 289, 303 ila 340, 416 ila 457, 460 ila 500 ya da 501 ila 542, Can f 2 amino asitleri 19 ila 58, 52 ila 91, 82 ila 119, 106 ila 144 veya 139 ila 180, Can f 1 amino asitleri 19 ila 56, 51 ila 90, 78 ila



118,106 ila 145 veya 135-174, Art v1 amino asitleri 27 ila 70, 70 ila 100 veya 92 ila 132, Amb a 1 amino asitleri 31 ila 70, 80 ila 120, 125 ila 155, 160 ila 200, 225 ila 263, 264 ila 300 305 ila 350 veya 356 ila 396, Alt a 6 amino asitleri 1 ila 34, 35 ila 74, 74 ila 115, 125 ila 165, 174 ila 213, 241 ila 280, 294 ila 333, 361 ila 400  
5 veya 401 ila 438, Alt a 2 amino asitleri 1 ila 40,41 ila 80, 81 ila 120,121 ila 160 ya da bunların fragman ya da sekans varyantlarını içerir veya bunlardan oluşur.

Yukarıda tanımlanan alerjen türevli moleküllerin spesifik amino asit sekansları (mevcut buluşun polipeptitinde kullanılan bir N -ve/veya C-terminal sistein tortusuna (C) sahip olan aşağıdaki tablodaki peptitler, bahsedilen sistein  
10 tortusundan yoksun olabilir)

| Peptit        | Konum   | Sekans  | DİZİ ID No. |
|---------------|---------|---|-------------|
| Pep Alt a 1.1 | 19-58   | APLESRQDTASC <sup>P</sup> VTTTEGIDYVWKISEFYGRKPEGTYYN | 23          |
|               |         | SL  |             |
| Pep Alt a 1.2 | 59-95   | GFNIKATNGGTLDFTC <sup>S</sup> AQADKLEDHKWYSCGENSFM    | 24          |
| Pep Alt a 1.3 | 91-120  | ENSFMDFSFSDRSGLLLKQKVSD <sup>D</sup> ITYVA            | 25          |
| Pep Alt a 1.4 | 121-157 | TATLPNYCRAGNGPKDFVCQGVADAYITLVTL <sup>P</sup> KSS     | 26          |
| Pep Alt a 2.1 | 1-40    | MHSSNNFFKDNIFRSLSKED <sup>P</sup> PDYSRNIEGQVIRLHWDW  | 27          |
|               |         | AQ  |             |
| Pep Alt a 2.2 | 41-80   | LLMLSAKRMKVAFKLDIEKIQRVWDRCTAD <sup>D</sup> DLKGRN    | 28          |
|               |         | GFKR  |             |
| Pep Alt a 2.3 | 81-120  | CLQFTLYRPRDLLSLLNEAFFSAFRENRETI <sup>I</sup> NTDLEYAA | 29          |
| Pep Alt a 2.4 | 121-160 | KSISMARLEDLWKEYQKIFPSIQVITSAFRSIEPELTVYT              | 30          |
| Pep Alt a 2.5 | 161-190 | CLKKIEASFELIEENGDPKITSEIQLLKAS                        | 31          |
| Pep Alt a 6.1 | 1-34    | MTITKIHARSVYDSRGNPTVEVDIVTETGLHRAI                    | 32          |
| Pep Alt a 6.2 | 35-74   | VTETGLHRAIVPSGASTGSHEACELRDGDKSKWGGKGV                | 33          |
|               |         | TK  |             |
| Pep Alt a 6.3 | 74-115  | APALIKEKLDVKDQSAVDAFLNKL <sup>D</sup> GTTNKTNLGANAI   | 34          |
|               |         | LGVS  |             |

(devam)

| <b>Peptit</b> | <b>Konum</b> | <b>Sekans</b>  | <b>Dizi ID No.</b> |
|---------------|--------------|--|--------------------|
| Pep Alt a 6.4 | 125-165      | EKGVPLYAHISDLAGT KKPVYVLPVPE<br>QNVLNGGSHAGGRLA      | 35                 |
| Pep Alt a 6.5 | 174-213      | CEAPTFSEAMRQGAEVYQKIKALAKKTYGQSAGNVGD<br>EGG         | 36                 |
| Pep Alt a 6.6 | 241-280      | IKIAMDVASSEFYKADEKKYDLDFKNPDSKSKWLTYE<br>QL          | 37                 |
| Pep Alt a 6.7 | 294-333      | VSIEDPFAEDDWEAWSYFFKTYDGQIVGDDLTVTNPEFI<br>K         | 38                 |
| Pep Alt a 6.8 | 361-400      | AKDAFGAGWGVMSHRSGETEDVTIADIVVGLRSGQIK<br>TG          | 39                 |
| Pep Alt a 6.9 | 401-438      | APARSERLAKLNQILRIEELGDNAVYAGNNFRTAVNL                | 40                 |
| Pep Amb a 1.1 | 31-70        | EILPVNETRRLTTSGLAYNIIDGCVWRGKADWAENRKALA<br>IX       | 41                 |
| Pep Amb a 1.2 | 80-120       | GGKDGDIYTVTSELDDDVANPKEGTLRFGAAQNRPLWI<br>IFE        | 42                 |
| Pep Amb a 1.3 | 125-155      | IRLDKEMVVNSDKTIDGRGAKVEIINAGFTL                      | 43                 |
| Pep Amb a 1.4 | 160-200      | NVIHNNINMHDVKVNPGGLIKSNIXGPAAPRAGSDGDAIS<br>IS       | 44                 |
| Pep Amb a 1.5 | 225-263      | GTTRLTVSNSLFTQHQFVLLFGAGDENIEDRGMILATVA<br>F         | 45                 |
| Pep Amb a 1.6 | 264-300      | NTFTDNVDQRMPCRHRHGFFQVVNNNYDKWGSYAIGGS               | 46                 |
| Pep Amb a 1.7 | 305-350      | ILSQGNRFCA PDERSKKNVLRHGEEAAAFESMKWNWRT<br>NKDVLENGA | 47                 |
| Pep Amb a 1.8 | 356-396      | GVDPVLTPEQSAGMIPAEPGESALSLSAGVLSQCQPGA<br>PC         | 48                 |
| Pep Art v 1.1 | 27-70        | SKLCEKTSKTYSGKCDNKKCDKKCIEWEKAQHGACHK<br>REAGKES     | 49                 |
| Pep Art v 1.2 | 70-100       | SCFCYFDCSKSPPGATPAPPGAAPPPAAGGS                      | 50                 |
| Pep Art v 1.3 | 92-132       | APPPAAGGSPSPPADGGSPPPPADGGSPVIXGSPPPPST<br>H         | 51                 |
| Can f 1 Pep 1 | 19-56        | QDTPALGKDTVAVSGKWYLKAMTADQEVPEKPDVSTP<br>M           | 52                 |
| Can f 1 Pep 2 | 51-90        | DSVTPMILKAQKGGNLEAKITMLTNGQCQNITVVLHKT<br>SE         | 53                 |
| Can f 1 Pep 3 | 78-118       | CQNITVVLHKTSEPGKYTAYEGQRVVFIQPSVPRDHYIL<br>YC        | 54                 |
| Can f 1 Pep 4 | 106-145      | QPSPVRDHYILYCEGELHGRQIRMAKLLGRDPEQSQEA<br>LE         | 55                 |

(devam)

| Peptit         | Konum   | Sekans  | Dizi ID No. |
|----------------|---------|---|-------------|
| Can f 1 Pep 5  | 135-174 | RDPEQSQEALDFREFSRAKGLNQEILELAQSETCSPGG<br>Q     | 56          |
| Can f 2 Pep 1  | 19-58   | QEGNHLEPQGGLEELSGRWHSVALASNKSDLIKPWGHF<br>RV    | 57          |
| Can f 2 Pep 2  | 52-91   | PWGHFRVFIHSMSAKIDGNLHGDLIPQDGGQCEKVSUTA<br>K    | 58          |
| Can f 2 Pep 3  | 82-119  | CEKVSLTAFKTATSNKFDLEYWGHNDLYLAEVDPKSYL          | 59          |
| Can f 2 Pep 4  | 106-144 | NDLYLAEVDPKSYLILYMINQYNDTSLVAHLMVRDLS<br>R      | 60          |
| Can f 2 Pep 5  | 139-180 | VRDLSRQQDFLPAFESVCEDIGLHKDQIVVLSDDDRCC<br>GSRD  | 61          |
| Fel d 2 Pep 1  | 25-58   | EAHQSEIAHRFNDLGEEHFRGLVLFVAFSQYLQQC             | 62          |
| Fel d 2 Pep 2  | 99-133  | CTVASLRDKYGE MADCCCKEKEPERNECFLOHKDDN           | 63          |
| Fel d 2 Pep 3  | 154-183 | NEQRFLGKLYEIAARRHPYFYAPELLYYAE                  | 64          |
| Fel d 2 Pep 4  | 277-307 | CADDRADLAKYICENQDSISTKLKECGGKPV                 | 65          |
| Fel d 2 Pep 5  | 334-363 | VEDKEVCKNYQEAKDVFLGTFLYEYSRRHP                  | 66          |
| Fel d 2 Pep 6  | 373-402 | LAKEYEATLEKCCATDDPPACYAHVFDEFK                  | 67          |
| Fel d 2 Pep 7  | 544-573 | EKQIKKQSALVELLKHKPKATEEQLKTVMG                  | 68          |
| Fel d 2 Pep 8  | 579-608 | VDKCCAAEDKEACFAEEGPKLVAAAQAALA                  | 69          |
| Fel d 2 Pep 9  | 58-99   | CPFEDHVKLVNEVTEFAKGCVAIDQSAANCEKSLHELLG<br>DKLC | 70          |
| Fel d 2 Pep 10 | 125-165 | CFLQHKDDNPGFGQLVTPCADAMCTAFHENEQRFLGK<br>LYLE   | 71          |

|                |         |   |    |
|----------------|---------|---|----|
| Fel d 2 Pep 11 | 183-224 | EEYKGVFTECCFAADKAACTPKVDALREKVIASSAKE<br>RLKC   | 72 |
| Fel d 2 Pep 12 | 224-261 | CASLQKFGERAFKAWSVARLSQKFPKAEFAEISKLVTD          | 73 |
| Fel d 2 Pep 13 | 252-289 | FAEISKLVTDLAKIHKECCHGDLLECADDRADLAKYIC          | 74 |
| Fel d 2 Pep 14 | 303-340 | CGKPVLEKSHCISEVERDELPAADLPPLAVDFVEDKEVC         | 75 |
| Fel d 2 Pep 15 | 416-457 | CELFEKLGGEYGFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRSL<br>GKV | 76 |
| Fel d 2 Pep 16 | 460-500 | CTHPEAERLSCAEDYLSVVI NRLCVLHEKTPVSEKVTK<br>C    | 77 |
| Fel d 2 Pep 17 | 501-542 | CTESLVNRRPCFSALQVDETYVPKEFSAETFTFHADLCT<br>LPE  | 78 |
| Pep Ole e 1.1  | 1-40    | EDIPQPPVSQFHIQQQVYCDTCRAGFITELSEFIPGASLR        | 79 |
| Pep Ole e 1.2  | 36-66   | GASLRLQCKDKENGDVTFTEVGYTRAEGLYS                 | 80 |
| Pep Ole e 1.3  | 63-99   | GLYSMLVERDHNKNEFCEITLISSGRKDCNEIPTGWA           | 81 |
| Pep Ole e 1.4  | 86-120  | GRKDCNEIPTGWAQPSLKFKLNTVNGTTRTVNPL              | 82 |
| Pep Ole e 1.5  | 107-145 | LNTVNGTTRTVNPLGFFKKEALPKCAQVYNKLGMYPP<br>NM     | 83 |
| Pep Par j 2.1  | 31-60   | GEEACGKVVQDIMPCLHFVKGEEKEPSKEC                  | 84 |
| Pep Par j 2.2  | 45-80   | CLHFVKGEEKEPSKECCSGTKKLSEEKTEQKREA              | 85 |
| Pep Par j 2.3  | 60-96   | CCSGTKKLSEEKTEQKREACKCIVRATKGISGIKN             | 86 |
| Pep Par j 2.4  | 97-133  | ELVAEVPKKCDIKTTLPPITADFDCKSIQSTIFRGGY           | 87 |

(devam)

| Peptit          | Konum   | Sekans  | Dizi ID No. |
|-----------------|---------|---|-------------|
| Der p 1 Pep 1   | 1-30    | TNACSINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGG                  | 88          |
| Der p 1 Pep 2   | 52-84   | NQSLDLAEQELVDCASQHGCHGDTIPRGIEYIQ               | 89          |
| Der p 1 Pep 3   | 85-115  | HNGVVQESYYRYVAREQSCRRPNAQRFGISN                 | 90          |
| Der p 1 Pep 4   | 99-135  | REQSCRRPNAQRFGISNYCQIYPPNVNKIREALAO TH          | 91          |
| Der p 1 Pep 5   | 145-175 | KDLDAFRHYDGR TIIQRDNGYQPNYHAVNIV                | 92          |
| Der p 1 Pep 6   | 155-187 | GRTIIQRDNGYQPNYHAVNIVGYSNAQGV DYWI              | 93          |
| Der p 1 Pep 7   | 175-208 | VGYSNAQGV DYWIVRNSWDTNWGDNGYGYFAANI             | 94          |
| Der p 1 Pep 8   | 188-222 | VRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVIL              | 95          |
| Der p 1 Pep 1.2 | 1-41    | TNACSINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGGCGSCWAFS<br>GVA  | 143         |
| Der p 1 Pep 2.2 | 42-82   | ATESAYLAYRNQSLDLAEQELVDCASQHGCHGDTIPRG<br>IEYIQ | 144         |
| Der p 1 Pep 9   | 27-57   | MQGGCGSCWAFSGVAATESAYLAYRNQSLD                  | 145         |
| Der p 2 Pep 1   | 1-33    | DQVDVKDCANHEIKKVLVPGCHGSEPCIIHRGK               | 96          |
| Der p 2 Pep 2   | 21-51   | CHGSEPCIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAK                 | 97          |
| Der p 2 Pep 3   | 42-73   | EANONSKTAKIEIKASIEGLEVDVPGIDPNAC                | 98          |
| Der p 2 Pep 4   | 62-103  | EVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGGQYDIKYTWIVPKIAP<br>KSEN  | 99          |
| Der p 2 Pep 5   | 98-129  | APKSENVVTVKVMGDNGVLACAIATHAKIRD                 | 100         |
| Der p 5 Pep 1   | 1-35    | MEDKKHDYQNEFDLLMERIHEQIKKGELALFYLQ              | 101         |
| Der p 5 Pep 2   | 25-60   | KKGELALFYLQEQINHFEEKPTKEMKDKIVAEMDTI            | 102         |
| Der p 5 Pep 3   | 65-95   | DGVRGVLDRLMQRKDL DIFEQYNLEMAKKSG                | 103         |
| Der p 5 Pep 4   | 78-114  | DL DIFEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIEV           | 104         |
| Der p 7 Pep 1   | 1-30    | DPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFD                  | 105         |
| Der p 7 Pep 2   | 20-50   | VAAIEKSETFDPMKVPDHSDKFERHIGIIDL                 | 106         |
| Der p 7 Pep 3   | 50-80   | LKGELDMRNIQVRGLKQMKRVGDANVKSE DG                | 107         |
| Der p 7 Pep 4   | 90-125  | VHDDVVSM EYDLAYKLGDLHPNTHVISDIQDFVVEL           | 108         |
| Der p 7 Pep 5   | 125-155 | LSLEVSEEGNMTLTSFEVRQFANVVNHIGGL                 | 109         |
| Der p 7 Pep 6   | 165-198 | LSDVLT AIFQDTVRAEMTKVLAPAFKKE LERNNQ            | 110         |
| Der p 10 Pep 1  | 1-35    | MEAIKKKMQAMKLEKDNAIDRAEIAEQKARDANLR             | 111         |
| Der p 10 Pep 2  | 36-70   | AEKSEEEVRALOKKIQQIENELDQVQEQLSAANTK             | 112         |
| Der p 10 Pep 3  | 71-110  | LEEKEKALQTAEGDVAALNRRIQLIEEDLERSEERLKIA<br>T    | 113         |

|                |         |  |     |
|----------------|---------|--|-----|
| Der p 10 Pep 4 | 111-145 | AKLEEASQSADESERMRKMLEHRSITDEERMEGLE    | 114 |
| Der p 10 Pep 5 | 140-170 | RMEGLENQLKEARMMMAEDADRKYDEVARKLA       | 115 |
| Der p 10 Pep 6 | 175-205 | DLERAEEAETGESKIVELEEEELRVVGNLKL        | 116 |
| Der p 10 Pep 7 | 210-250 | SEEKAQQREEAHEEQIRIMTTKLKEAEARAEFAERSVQ | 117 |
| KLQ            |         |  |     |
| Der p 10 Pep 8 | 250-284 | OKEVDRLLEDELVHEKEKYKSISDELDTFAELTGY    | 118 |
| Der p 21 Pep 1 | 1-35    | MFIVGDKKEDWRMAFDRLMMEELETKIDQVEKGL     | 119 |
| Der p 21 Pep 2 | 35-72   | LHLSEQYKELEKTKSKELKEQILRELTIGENFMK GAL | 120 |
| Der p 21 Pep 3 | 70-100  | GALKFFEMEAKRTDLNMFERYNYEFALESIK        | 121 |
| Der p 21 Pep 4 | 90-122  | YNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYY      | 122 |
| Der p 23 Pep 1 | 1-32    | MANDNDDPTTTVHPTTTEQPDDKFECPSRFG        | 123 |
| Der p 23 Pep 2 | 15-48   | PTTTEQPDDKFECPSRFGYFADPKDPHKFYICSN     | 124 |

(devam)

| Peptit                   | Konum                  | Sekans   | Dizi No. |
|--------------------------|------------------------|--|----------|
| Der p 23 Pep 3           | 32-70                  | GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEF<br>ICT        | 125      |
| Der p 23 Pep 4           | 32-60                  | GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNT                      | 146      |
| Der p 23 Pep 5           | 42-70                  | KFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEETCT                      | 147      |
| Der p 23 Pep 6           | 32-70* (Cys -<br>>Ser) | GYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETST            | 148      |
| Bet v 1 Pep 1            | 30-59                  | LFPKVAPQAISVENIEGNGGPGTIKKISF                      | 126      |
| Bet v 1 Pep 2            | 50-79                  | GPGTIKKISFPEGFPFKYVKDRVDEVDHTN                     | 127      |
| Bet v 1 Pep 3            | 75-104                 | VDHTNFKYNYSVIEGGPIGDTLEKISNEIK                     | 128      |
| Bet v 1 Pep A            | 30-74                  | LFPKVAPQAISVENIEGNGGPGTIKKISFPEGFPFKYVK<br>DRVDE   | 143      |
| Bet v 1 Pep B            | 60-104                 | PEGFPFKYVKDRVDEVDHTNFKYNYSVIEGGPIGDTLEK<br>ISNEIKI | 144      |
| Fel d 1 chain 1<br>Pep 1 | 1-34                   | EICPAVKRDVDLFLTGTPDEYVEQVAQYKALPVVC                | 129      |
| Fel d 1 chain 1<br>Pep 2 | 35-70                  | LENARILKNCVDAKMTEEDKENALSLLDKIYTSPLC               | 130      |
| Fel d 1 chain 2<br>Pep 1 | 1-34                   | VKMAITCPIFYDVFFAVANGNELLLDLSLTKVNAC                | 131      |
| Fel d 1 chain 2<br>Pep 2 | 35-63                  | TEPERTAMKKIQDCYVENGLISRVLDGLVC                     | 132      |
| Fel d 1 chain 2<br>Pep 3 | 64-92                  | CMTTISSSKDCMGEAVQNTVEDLKLNTLGR                     | 133      |

|                |         |                                       |     |
|----------------|---------|---------------------------------------|-----|
| Phl p 5 Pep 1  | 98-128  | CGAASNKAFAEGLSGEPKGAEESSKAALTSK       | 134 |
| Phl p 5 Pep 2  | 26-58   | ADLGYGPATPAAPAAGYTPATPAAPAEAPAGKC     | 135 |
| Phl p 5 Pep 3  | 132-162 | AYKLAYKTAEGATPEAKYDAYVATLSEALRIC      | 136 |
| Phl p 5 Pep 4  | 217-246 | CEAAFNDAIKASTGGAYESYKFIPALEAAVK       | 137 |
| Phl p 5 Pep 5  | 252-283 | TVATAPEVKYTVFETALKKAITAMSEAQKAAC      | 138 |
| Phl p 5 Pep 6  | 176-212 | CAEEVKVIPAGELQVIEKVDAAFKVAATAANAAPAND | 139 |
| <b>K</b>       |         |                                       |     |
| Phl p 5 Pep 1a | 93-128  | CFVATFGAASNKAFAEGLSGEPKGAEESSKAALTSK  | 141 |
| Phl p 5 Pep 2b | 26-53   | ADLGYGPATPAAPAAGYTPATPAAPAEAC         | 142 |
| Phl p 5 Pep 7  | 59-91   | ATTEEQKLIEKINAGFKAALAAAAGVQPADKYR     | 22  |
| Phl p 1 Pep 1  | 151-171 | HVEKGSNPNYLALLVKYVNGDGDVAVC           | 1   |
| Phl p 1 Pep 2  | 87-117  | EPVVVHITDDNEEPIAPYHFDLSGHAFGAMAC      | 2   |
| Phl p 1 Pep 3  | 1-30    | IPKVPPGPNITATYGDKWLDKSTWYGKPTGC       | 3   |
| Phl p 1 Pep 4  | 43-70   | GYKDVDKPPFSGMTGCGNTPIFKSGRGC          | 4   |
| Phl p 1 Pep 5  | 212-241 | CVRYTTEGGTKTEAEDVIPEGWKADTSYESK       | 5   |
| Phl p 2 Pep 1  | 1-33    | VPKVFTVEKGSNEKHLAVLVK YEGDTMAEVELC    | 6   |
| Phl p 2 Pep 2  | 28-39   | CVEKGSNEKHLAVLVK YEGDTMAEVELREHGSD    | 7   |
| Phl p 2 Pep 3  | 34-65   | REHGSDVAMTKGEGGVWTFDSEEPLQGPFC        | 8   |
| Phl p 2 Pep 4  | 66-96   | CFRFLTEKGMKNVFDVVPEKYTIGATYAPEE       | 9   |
| Phl p 6 Pep 1  | 23-54   | GKATTEEQKLIEDVNASFRAAMATTANVPPAD      | 10  |
| Ph1 p 6 Pep 2  | 56-90   | YKTFEAAFTVSSKRNLADAVSKAPQLVVKLDEVYN   | 11  |
| Ph1 p 6 Pep 3  | 95-127  | AADHAAPEDKY EAFVLHFSEALRIIAGTPEVHA    | 12  |
| Ph1 p 6 Pep 4  | 73-114  | DAVSKAPQLVVKLDEVYNAAYNAADHAAPEDKY     | 13  |

---

\* Serinler ile deđiřtirilen sisteinler (koyu olarak iřaretlenmiřtir)

"Bunların fragmanları" ve "bunların sekans varyasyonları" ifadeleri, burada tarif edilen alerjen türevli moleküllerden türetilen ve söz konusu alerjen türevli moleküllerle karşılaştırılabilir veya bunlarla aynı biyokimyasal özellikler gösteren (örneğin, IgE'nin bu moleküllerin türetildiği alerjene bağlanmasını önleme kapasitesi) peptitlere atıfta bulunur. Mevcut buluşun amaçları doğrultusunda fragmanlar, alerjen türevli molekülün ardışık 20 ila 50 amino asit tortusundan oluşur. "Sekans varyasyonu" terimi, parçalanma (yukarıya bakınız), amino asit orantıları (özellikle sistein veya metiyonin tortuları, serin, alanin veya diğer doğal veya doğal olmayan amino asitler veya amino asit türevleri ile değiştirilebilir), silmeler veya eklemeler gibi peptitlerin modifikasyonlarını içerir. "Sekans varyasyonu", yukarıdaki tablonun söz konusu alerjen türevli moleküllerine de karşılık gelir; buradaki en az 1, tercihen en az 2, daha tercihen en az 3, daha da tercihen en az 4 (5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20) amino asit tortusu, C- ve/veya N-terminallerine eklenir.

Burada "klon 30 alerjen" olarak adlandırılan alerjenin, ev tozu akarı Dermatophagoides pteronyssinus'tan türetilmiş bir alerjen olduğu ve aşağıdaki sekanstan oluştuğu belirtilmiştir: MANDNDDDPTTTVHPTTTEQPDDK-FECPSRFGYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEETCT (SEQIDNo. 140; ayrıca bkz. W02007/124524). Bu arada, klon 30 alerjenine alerjen adı olarak Der p 23 tayin edilmiştir. Bu, Der p 23 ve klon 30 alerjeninin eş anlamlı olduğu anlamına gelir.

Mevcut buluşa göre, Hepatit B PreS proteini, N- terminaline kaynaşmış en az bir vahşi tip alerjenden türetilmiş en az iki B hücresi bağlayıcı peptit fragmanı ve C terminaline kaynaşmış en az bir yabancı tip alerjenden türetilmiş en az iki B hücresi bağlayıcı peptit fragmanı içerir.

Söz konusu en az üç B hücresi bağlayıcı peptitin en az ikisi aynı olabilir.

Bu buluşun polipeptiti bir insanda veya hayvanda bir alerjinin tedavisinde veya önlenmesinde aşı olarak kullanılabilir.

Polipeptit tercihen bir kişiye kg vücut ağırlığı başına 0,01 mikrogram ila 5 mg/kg vücut ağırlığı, tercihen kg vücut ağırlığı başına 0,1 mikrogram ila kg vücut ağırlığı başına 10 mikrogram miktarında uygulanır.

Bu buluşun polipeptitleri, bir kişiye polipeptit başına en az 100 µg, tercihen en az 20 µg miktarında uygulanabilir. Uygulanacak maksimum polipeptit miktarı



değişkenlik gösterebilir, ancak polipeptit başına tercihen 100 µg'nin altında, daha tercihen 50 µg'nin altında, daha da tercihen 40 µg'nin altında veya daha azdır.

Tek bir dozaj formu üretmek için ekspiyanlarla birleştirilebilecek polipeptitlerin miktarı, tedavi edilen konağa ve belirli uygulama şekline bağlı olarak değişecektir.

- 5 Aşı dozu, bireyin hastalığın durumu, bireyin yaşı, cinsiyeti ve kilosu ile antikorun, bireyde istenen bir cevabı ortaya çıkarma kabiliyeti gibi faktörlere göre değişebilir. Dozaj rejimi, optimum terapötik tepki sağlamak için ayarlanabilir. Örneğin, birkaç bölünmüş doz günlük olarak uygulanabilir veya doz, terapötik durumun açıklıklarının gösterdiği şekilde orantılı olarak azaltılabilir. Aşı dozu, koşullara
- 10 bağlı olarak optimum önleyici doz tepkisi sağlamak için de değiştirilebilir. Örneğin, mevcut buluşun polipeptitleri ve aşısı, bireye her zaman alerjene özgü IgG indüksiyon seviyesine bağlı olarak birkaç gün, bir veya iki hafta veya hatta bir veya iki ay aralıklarla uygulanabilir.

- Polipeptit/aşı, 2 ile 10 arasında, tercihen 2 ile 7 arasında, daha da tercihen 5 keze
- 15 kadar ve en fazla tercihen 3 keze kadar uygulanabilir. Ardışık aşılama arasındaki zaman aralığı 2 hafta ile 5 yıl, tercihen 1 ay ile 3 yıl arasında, daha da tercihen 2 ay ile 1,5 yıl arasında seçilebilir. Mevcut buluşun peptidinin/aşısının tekrarlı uygulanması, terapötik bir aşılamanın nihai etkisini maksimize edebilir.

- SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 137, SEQ
- 20 ID No. 139, SEQ ID No. 142 ve SEQ ID No. 10'dan oluşan gruptan seçilen üç veya daha fazla B hücresi bağlayıcı peptit, hepadnaviridae familyasına ait virüsünün bir yüzey polipeptidine, tercihen hepatit PreS polipeptidine veya bunların fragmanlarına N- ve C-terminal olarak bağlanabilir.

- En az bir vahşi tip alerjenden türetilmiş en az üç B hücresi bağlayıcı peptiti içeren
- 25 mevcut buluşun polipeptitleri, tercihen SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 16, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 18 ve SEQ ID No. 19'dan oluşan gruptan seçilir.

Mevcut buluşun bir başka yönü, bu buluşa göre bir polipeptiti kodlayan bir nükleik asit molekülü ile ilgilidir.

- 30 Mevcut buluşun bir başka yönü, bu buluşa göre bir nükleik asit molekülü içeren bir vektör ile ilgilidir.

Söz konusu vektör tercihen bir ekspresyon vektörüdür.

Bu buluşun nükleik asit molekülünü barındıran vektör, klonlama amacıyla veya ekspresyon vektörlerinin üretimi için kullanılabilir. Söz konusu vektör bir plazmid, kozmid, virüs, bakteriyofaj veya genetik mühendislikte yaygın olarak kullanılan herhangi bir başka vektör olabilir ve buluşun nükleik asit molekülüne ek olarak, transkripsiyon ve/veya translasyonun başlatılması ve sonlandırılması için düzenleyici sekanslar, arttırıcılar, promotörler, sinyal sekansları ve benzerleri gibi ekspresyonun kontrolü için ökaryotik veya prokaryotik elementler içerebilir.

Vektör, bakteri, mantar, böcek, viral veya memeli bir vektör olabilir.

Mevcut buluşun vektörü tercihen bakteri, maya, filamentli mantar, memeli hücreler, böcek hücreleri, bitki hücreleri veya başka herhangi bir prokaryotik veya ökaryotik hücre gibi çeşitli konaklarda klonlama ve ekspresyon amacıyla kullanılabilir. Bu nedenle, söz konusu vektör, bu buluşa göre bir hipoalerjenik molekülü veya füzyon proteinini kodlayan bir nükleik asidin yanı sıra spesifik düzenleyici sekansları da barındırır.

Mevcut buluşun başka bir yönü, bir nükleik asit molekülü veya mevcut buluşa göre bir vektör içeren bir konak ile ilgilidir.

Nükleik asit molekülü ve bu buluşa göre vektör, uygun bir konağa sokulabilir. Söz konusu molekül, konağın genomuna dahil edilebilir. Vektör, sitoplazmada ekstrakromozomal olarak bulunabilir veya konağın kromozomuna dahil edilebilir.

Mevcut buluşun bir başka yönü, mevcut buluşa göre en az bir polipeptit içeren bir aşı formülasyonu ile ilgilidir. Örneğin, bu polipeptitten en az iki, üç ve daha çok tercihen en az dört tane içerebilir.

Aşı, SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 16, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 18, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 20, SEQ IDNo. 149, SEQ ID No. 150, SEQ ID No. 151 ve SEQ ID No. 152'den oluşan gruptan seçilen bir amino asit sekansına sahip olan en az bir, tercihen en az iki, tercihen en az üç, tercihen en az dört, tercihen en az 5 polipeptit içerebilir.

Kompozisyona ağırlı olarak, böyle bir aşı, çimen poleni alerjileri, huş poleni alerjileri, ev tozu akarı alerjileri veya bu alerjilerden muzdarip ya da muzdarip olma riski altındaki kişilerde bu alerjilerin bir kombinasyonunun tedavisinde ve/veya önlenmesinde kullanılabilir.

Bu tarifnamede kullanıldığı haliyle, "önleme" terimi, sadece risk faktörünün azaltılması gibi hastalığın ortaya çıkmasını önlemek için değil, aynı zamanda

ilerlemesini durdurmak ve tespit edildiğinde sonuçlarını azaltmak için de önlemleri kapsamaktadır. "Önleme", alerjiye maruz kalma riski olan bir kişinin hassasiyetini önlemek anlamına da gelir.

5 Burada kullanıldığı şekliyle "tedavi" terimi veya gramer olarak eşdeğerleri, hastalık semptomlarının (örneğin alerji) iyileştirilmesini ve/veya tersine çevrilmesini kapsar. Mevcut buluşun tarama yöntemlerinde kullanıldığında hastalıkla ilişkili herhangi bir Parametrede bir iyileşmeye neden olan bir bileşik, bu nedenle terapötik bir bileşik olarak tanımlanabilir. "Tedavi" terimi, hem terapötik tedaviyi hem de profilaktik veya önleyici tedbirleri belirtir.

10 Mevcut buluşun en çok tercih edilen bir uygulamasına göre, aşı, SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 16 ve SEQ ID No. 17'ye sahip amino asit sekansına sahip polipeptitleri içermektedir.

Mevcut buluşun tercih edilen başka bir uygulamasına göre, aşı, SEQ ID No. 18 ve/veya SEQ ID No. 19 amino asit sekansına sahip polipeptitleri içermektedir.

15 Bu buluşun özellikle tercih edilen bir uygulamasına göre aşı, ev tozu akarı alerjenlerinden türetilen alerjen fragmanlarını içeren bu buluşun polipeptitlerini içermektedir. Özellikle tercih edilenler Der p 2'nin amino asit kalıntıları 1 ila 33, 21 ila 51, 42 ila 73, 62 ila 103 veya 98 ila 129, Der p 7'nin amino asit kalıntıları 1 ila 30, 20 ila 50, 50 ila 80, 90 ila 125, 125 ila 155 ila 165 ila 198, Der p 21'in amino asit kalıntıları 1 ila 35, 35 ila 72, 70 ila 100 veya 90 ila 122, Der p 23 amino asitleri 20 1 ila 32, 15 ila 48 veya 32 ila 70, 32 ila 60, 52 ila 84, 32 ila 70 (Cys->Ser), Der p 1'in amino asit kalıntıları 1 ila 30, 1 ila 41, 27 ila 57, 42 ila 82, 52 ila 84, 85 ila 115, 99 ila 135'e, 145 ila 175, 155 ila 187, 175 ila 208 veya 188 ila 22'dir. En çok tercihen aşı, SEQ ID N0. 149 ila 152 olan polipeptitlerinden en az birini içerir 25 (Şekil 18A-D'de gösterilmiştir).

Mevcut buluşa ait polipeptit/aşı, 1 ila 5 yıl, tercihen 2 ila 3 yıl süren toplam tedavi süresi boyunca tedavi yılı başına 4 kez uygulanabilir. Söz konusu 4 yıllık uygulamalardan 3 tanesi, uygulama 1 ila 2 arasında 3 ila 6 hafta, tercihen 4 hafta aralık olacak şekilde 6 ila 12, tercihen 8 hafta içerisinde ve uygulama 2 ile 3, 30 arasında tekrar 3 ila 6 hafta, tercihen 4 haftayla uygulanır. Dördüncü uygulama, üçüncü uygulamadan 3 ila 7 ay sonra uygulanır. Toplam tedavi süresi 1 yıldan fazlaysa, sonraki tedavi yıllarında aynı doz rejimi uygulanır.

Mevsimsel alerjilerin tedavisi için (örneğin çimen poleni alerjisi veya huş poleni alerjisi gibi polen alerjileri) uygulama 1, 2 ve 3, tercihen alerjene maruz kalınabilecek mevsim öncesi (polen mevsimi) planlanır ve dördüncü uygulama, mevsimden sonraya planlanır.

- 5 Mevcut buluşa göre aşı formülasyonu, teknikte bilindiği gibi formüle edilebilir ve mutlaka söz konusu aşı formülasyonunun uygulama yoluna adapte edilebilir.

(Bu buluşun) Aşı formülasyonunun tercih edilen uygulama yolları arasında genel olarak aşılama ve özelde alerji immünoterapisi için tarif edilen ve önerilen tüm standart uygulama rejimleri (oral, transdermal, intravenöz, intranazal, mukoza, 10 rektal, vb.) bulunmaktadır. Ancak, bu buluşa uygun molekül ve proteinlerin deri altından veya kas içinden verilmesi özellikle tercih edilir.

Mevcut buluşa göre aşı formülasyonu, sadece hepadnaviridae cinsinin bir üyesinin viral kapsid proteini veya bunun fragmanlarını içerebilir. Söz konusu formülasyon, tercihen ayrıca en az bir adjuvan, farmasötik olarak kabul edilebilir 15 ekspiyan ve/veya koruyucu içerir.

Mevcut buluşa göre hipoalerjenik moleküllerin immunojenitesini arttırmak için, örneğin adjuvanlar, mevcut buluşa göre bir ilaçta kullanılabilir. Mevcut buluşa göre bir adjuvan, bir antijenle birlikte veya paralel olarak uygulandığında immünojenitesini artıran ve/veya bağışıklık tepkisinin kalitesini etkileyen bir 20 yardımcı ajandır.

Dolayısıyla, adjuvan, örneğin, hümmoral veya hüccresel bağışıklık tepkisi derecesini önemli ölçüde etkileyebilir. Geleneksel adjuvanlar, örneğin alüminyum bileşikler, lipit içeren bileşikler veya inaktive edilmiş mikobakterilerdir.

Genel olarak adjuvanlar, insana uygulanması için uygun olmaları koşuluyla farklı 25 formlarda olabilirler. Bu tür katkı maddelerinin diğer örnekleri, mineral veya bitkisel kökenli yağ emülsiyonları, alüminyum fosfat veya hidroksit gibi mineral bileşikler veya kalsiyum fosfat, P40 (Corynebacterium granulosum hücre çeperinden türetilmiş) gibi bakteriyel ürünler ve türevleri, monofosforil lipit A (MPL, LPS'nin türevi) ve muramil peptit türevleri ile bunların konjugatları (mikobakteri 30 bileşenlerinden türevler), alum, eksik Freund adjuvanı, liposin, saponin, skualen, ve benzerleridir (Bkz. örn., Gupta RK v.d. (Vaccine 11 :293-306 (1993)) ve Johnson A. G. (Clin. Microbiol. Rev. 7:277-289). Bu buluşun ilacı, en çok tercihen adjuvan olarak alum içerir.

Hipoalerjenik peptitler ve hepatit B pre S proteini içeren birden fazla füzyon proteininin bir kombinasyonu özellikle tercih edilir. Bu kombinasyonlar, tek bir alerjenden gelen peptitlerden veya aynı alerjen kaynağının farklı alerjenlerinden veya birkaç farklı alerjen kaynağından türetilebilir.

- 5 Özellikle tercih edilen, Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 ve Phl p 6 içeren dört füzyon proteini ile hepatit B virüsü preS proteininden hipoalerjenik peptitlerin bir karışımıdır.

Özellikle tercih edilen, Bet v 1'den bir füzyon proteini veya 2 füzyon proteini karşılı ile hepatit B virüsü PreS proteinidir.

- 10 Tercih edilen, ev tozu akarı alerjenlerinden hipoalerjenik peptitler içeren en az 2 füzyon proteininin bir karışımıdır, en tercih edilen, Der p 1, Der p 2, Der p 5, Der p 7, Der p 21 ve Der p 23 ve hepatit B virüsü PreS proteini arasından seçilir. En çok tercihen, karışım, Der p 1, Der p 2 ve Der p 23'ten türetilen hipoalerjenik peptitleri içeren 3 füzyon proteini içerir. Karışımın, SEQ ID No. 149 ila 152'de gösterilen
- 15 polipeptitlerin en az bir, tercihen en az iki, daha fazla tercihen en az üçünü içermesi özellikle tercih edilir (ayrıca bakınız Şekil 18A-D).

Genel olarak, mevcut buluşa göre spesifik aşı formülasyonları, bir alerjen kaynağının klinik olarak ilgili alerjenlerini temsil eden buluşa ait hipoalerjenik polipeptitlerin kombinasyonu ile farklı alerjilerin tedavisi veya önlenmesi için

20 hazırlanabilir. Bir alerjen kaynağının klinik olarak ilgili alerjenlerini belirleme yöntemleri, teknikte bilinmekte olup daha önce tarif edilmiştir (Valenta ve Niederberger, 2007, J Allergy Clin Immunol, 119 (4): 826-830). söz konusu spesifik aşı formülasyonunun hipoalerjenik polipeptitleri, tercihen insanda kullanılabilen bir adjuvana (örneğin alüminyum hidroksit) adsorbe edilir ve karışım,

25 doz başına aşı formülasyonunda mevcut her polipeptitin 10µg 'dan daha fazlasını uygulayarak 1-3 yıl boyunca yılda 3-4 kez uygulanır.

Söz konusu formülasyonlar, 10 ng ila 1 g, tercihen 100 ng ila 10 mg, özellikle de 0.5 µg ila 200 µg söz konusu hipoalerjenik molekül veya antikor içerebilir.

- Mevcut buluşa göre bir hipoalerjenik protein, bir insanda veya hayvanda viral bir enfeksiyonun ve/veya bir alerjinin tedavisi veya önlenmesi için bir ilacın
- 30 üretilmesinde kullanılabilir.

Söz konusu ilaç tercihen ayrıca en az bir adjuvan, farmasötik olarak kabul edilebilir ekspiyan ve/veya koruyucu içerir.

Mevcut buluşa göre olan ilaç, aktif (buluşun hipoalerjenik proteinin ve/veya moleküllerinin uygulanması) ve bunun yanı sıra pasif immünizasyon (buluşuk hipoalerjenik proteinine ve/veya moleküllerine yönelik antikolar) için kullanılabilir. Söz konusu ilaç, 10 ng ila 1 g, tercihen 100 ng ila 10 mg, özellikle 0,5 µg ila 200 µg söz konusu hipoalerjenik molekül, nükleik asit molekülü, vektör, konak veya antikor içerebilir.

İlaç, tercihen vücut ağırlığı 0.01 µg/kg vücut ağırlığı ila 5 mg/kg, tercihen 0.1 µg/kg ila 10 µg/kg olan bir bireye uygulanmaktadır.

İlaç, her biri mutlak 5 - 200 µg, daha tercihen 10 - 80 µg, en tercihen 20 ila 40 µg hipoalerjenik polipeptit içeren bir dozda uygulanabilir.

Özel dozaj rejimi, yani doz, zamanlama ve tekrarlama, belirli bireye ve o bireyin tıbbi geçmişine bağlı olacaktır. Yarı ömür gibi deneysel düşünceler genellikle dozajın belirlenmesine katkıda bulunacaktır. Uygulama sıklığı, tedavi süresince belirlenebilir ve ayarlanabilir.

En çok tercihen, ilaç için doz rejimi, toplam 2 ila 3 yıllık bir tedavi süreci boyunca bir yıllık ve aynı dozda 4 yıllık sübkutan enjeksiyonlarından oluşacaktır. Söz konusu 4 yıllık sübkutan enjeksiyonlardan 3 tanesi, enjeksiyon 1 ila 2 arasında 3 ila 6 hafta, tercihen 4 hafta aralık olacak şekilde 6 ila 12, tercihen 8 hafta içerisinde ve enjeksiyon 2 ile 3, arasında tekrar 3 ila 6 hafta, tercihen 4 haftayla uygulanır. Dördüncü enjeksiyon, üçüncü uygulamadan 4 ila 6 ay sonra uygulanır. Aynı dozaj rejimi takip eden tedavi yıllarında uygulanır.

Mevsimsel alerjilerin tedavisi için (örneğin çimen poleni alerjisi veya huş poleni alerjisi gibi polen alerjileri) uygulama 1, 2 ve 3, tercihen alerjene maruz kalınabilecek mevsim öncesi (polen mevsimi) planlanır ve dördüncü uygulama, mevsimden sonraya planlanır.

Mevcut buluşa göre ilacın uygulandığı birey tercihen alerjisi olan veya olma riski taşıyan bir birey veya hayvandır.

Alerji, alerjik durum, alerjik bozukluk veya alerjik hastalığı olan veya olma riski taşıyan denekler arasında, mevcut bir alerjik durumu olan ya da alerjik bir durumla bağlantılı veya bundan kaynaklı bir semptom geliştirmeye yönelik bilinen veya şüphelenilen bir yatkınlığı olan denekler bulunur. Böylece deneğin, aktif bir kronik alerjik durumu, rahatsızlığı veya hastalığı, akut bir alerjik atak veya gizli bir alerjik durumu, rahatsızlığı veya hastalığı olabilir. Bazı alerjik durumlar mevsimsel veya

coğrafi çevresel faktörlerle ilişkilidir. Bu nedenle, risk altındaki denekler, bireysel geçmiş veya aile geçmişine dayanan bir durumdan ve mevsim ya da fiziksel konumdan kaynaklı bir rahatsızlık riski altında olan, ancak rahatsızlık veya rahatsızlıkla ilişkili semptomun halihazırda denekte kendisini göstermeyen denekleri içerir.

Mevcut buluşa göre olan ve bu tarifnamede anlatıldığı gibi en az bir hipoalerjenik molekül içeren ilacın bir bireye uygulanması, bu bireyin hassasiyetini önleyebilir veya alerjenlere karşı uygun bir bağışıklık tepkisine neden olabilir. Mevcut buluşun ilacı, hassasiyeti önlemek için kullanılıyorsa, söz konusu alerjenle ilk temasından önce bir bireye verilmelidir. Bu nedenle, mevcut buluşa göre ilacın yenidoğanlara ve çocuklara verilmesi tercih edilir. Ayrıca, mevcut buluşa göre ilacın hamile bireylere uygulanmasının, doğmamış olan çocukta alerjenlere yönelik antikörlerin oluşumunu indükleyeceği de ortaya çıkmıştır. Alerjene özgü T hücreleri epitoplalarının bulunmamasından dolayı alerjen immünoterapisi sırasında ortaya çıkan yan etkiler önemli ölçüde azaltılabileceğinden veya tamamen önlenilebileceğinden bu buluşa uygun hipoalerjenik moleküllerin bu tür tedaviler için kullanılması özellikle yararlıdır.

Hepadnaviridae familyasının bir virüsünden olan viral kapsid proteini, ilaçlarda veya aşılarında bir taşıyıcı olarak kullanılabilir.

Böyle bir taşıyıcının avantajlarından biri, sadece üzerine kaynaşmış veya konjüge edilmiş antijenin bağışıklık sistemine maruz kalabilmesi değil, aynı zamanda bir hepadnavirüsün kapsid proteinine karşı bir bağışıklık tepkisinin indüklenmesidir. - Sonuç olarak, böyle bir aşılama, hepadnavirüslerin neden olduğu hastalıkların önlenmesi ve/veya tedavisini sağlayabilir. Virüs tercihen insan hepatit B virüsü türündendir.

Mevcut buluşun bir başka yönü, bir C- ve/veya N-terminali kesmesine sahip olan ve büyük ölçüde IgE bağlama kapasitesine sahip olmayan PhI p 5'ten (Genbank No. X7435) türetilen bir hipoalerjenik moleküle ilişkindir.

Çimen poleni, saman nezlesi ve alerjik astımdan sorumlu hava yoluyla bulaşan mevsimsel alerjenlerin en güçlü dış kaynaklarından biridir.

Alerjik bireylerin %40'ından fazlası, 11'den fazla gruba bölünmüş olan çim polen alerjenleriyle IgE reaktivitesi sergiler. Çimen poleni alerjisi olan hastaların 80'inden fazlası grup 5 alerjenleriyle reaksiyona girer.

Grup 5 alerjenleri glikosile edilmemiş, moleküler kütle aralığı 25-33kD olan yüksek oranda homolog proteinlerdir. Birkaç grup 5 alerjeni klonlanmıştır ve/veya immünolojik olarak karakterize edilmiştir.

Alerjik aktiviteyi, nokta mutasyonları, sıralı olarak birkaç amino asit mutasyonları veya silmeler yoluyla azaltma denemesi hiçbir etki göstermemiştir (Schramm G, v.d., J Immunol 1999; 162: 2406-1435). Phl p 5'in IgE-bağlama bölgeleri (Flicker S v.d. J Immunol 2000; 165: 3849-3859) daha önce tarif edilmiş ve üç boyutlu yapı çözülmüştür (Maglio O v.d. 2002. Protein Eng. 15: 635-642).

Özellikle, mevcut buluşa uygun C- ve/veya N-terminali olarak kesilmiş ve IgE bağlama kapasitesine sahip olmayan Phl p 5 peptitlerinin, bireylerin aktif aşılmasında kullanılabileceği ortaya çıktı.

Bu kesilmiş molekül, esas olarak T hücresi epitopları içermez ve bu nedenle Phl p 5'e özgü T hücresi reaktivitesinden yoksundur.

Yukarıda daha önce belirtildiği gibi, alerjen immünoterapisinin geç ortaya çıkan yan etkileri, hipoalerjenik moleküllerde esas olarak alerjene özgü T hücresi epitopları olmadığı durumlarda önemli ölçüde azaltılabilir veya hatta önlenbilir.

T hücresi epitopları içermeyen Phl p 5 molekülleri, Phl p 5'in 93 ila 128, 98 ila 128, 26 ila 53, 26 ila 58 veya 252 ila 283 amino asitlerinden veya bunların fragmanlarından ya da sekans varyasyonlarından oluşur.

Özellikle, bu kesilmiş moleküller, büyük ölçüde düşük alerjene özgü T hücresi reaktivitesi gösterirler ve buna rağmen, vahşi tip alerjene karşı yöneltilen uygun bir bağışıklık tepkisine neden olabilirler.

Hipoalerjenik kesilmiş Phl p 5, Phl p 5'in 132 ila 162, 217 ila 246 veya 176 ila 212 amino asitlerinden ya da bunların sekans varyasyonlarından oluşabilir.

Bu hipoalerjenik moleküller, bir veya daha fazla T hücresi epitopu içerir ancak, IgE bağlama kapasitesine sahip değildir.

Viral taşıyıcı proteine, tercihen Hep B pre S proteinine kaynaşmış Phl p 1'in 1 ila 30, 43 ila 70, 87 ila 117, 151 ila 171 veya 214 ila 241 amino asitlerinden veya bunların sekans varyasyonlarından oluşan T hücresi epitopu içermeyen kesilmiş Phl p 1 molekülleri tercih eder.

Viral taşıyıcı proteine, tercihen Hep B pre S proteinine kaynaşmış Phl p 2'nin 1 ila 33, 8 ila 39, 34 ila 65 veya 66 ila 96 amino asitlerinden veya bunların sekans



varyasyonlarından oluşan T hücresi epitopu içermeyen kesilmiş Phl p 2 molekülleri tercih eder.

Viral taşıyıcı proteine, tercihen Hep B pre S proteinine kaynaşmış Phl p 6'nın 23 ila 54, 90 ila 73, 73 ila 114, veya 95 ila 127 amino asitlerinden veya bunların sekans varyasyonlarından oluşan T hücresi epitopu içermeyen kesilmiş Phl p 6 molekülleri tercih eder.

Bet v 1'in 30 ila 59, 50 ila 79, 75 ila 104, 30 ila 74 veya 60 ila 104 amino asitlerinden oluşan T hücresi epitopları içermeyen kesilmiş Bet v 1 molekülleri tercih edilir.

- 10 Yukarıda açıklandığı gibi bir viral taşıyıcı proteine, tercihen Hep B pre S proteinine kaynaşmış T hücresi epitopları içermeyen kesilmiş Phleum pratense (çayır otu) moleküllerinin kombinasyonları veya karışımları tercih edilir.

Yukarıda açıklandığı gibi, kesilmiş Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 ve Phl p 6'dan bu füzyon proteinlerinden her birinden oluşan T hücresi epitopları içermeyen kesilmiş Phleum pratense (çayır otu) moleküllerinin kombinasyonları veya karışımları tercih edilir.

Fel d 1'den türetilen bir hipoalerjenik molekül (Genbank No. X62477 ve X62478), bir C- ve/veya N-terminali kesmesine ve IgE bağlama kapasitesine sahip olmayabilir.

- 20 Hayvanlara yönelik alerjiler, alerjik hastaların %40'ına kadar etkiler. Ev ortamında, en yaygın evcil hayvanlar olan kedi ve köpeklerde alerjiler özellikle yaygındır ve çok yıllık semptomlarla bağlantılıdır. Hayvan alerjenleri, dander, epitel, tükürük, serum veya idrarda bulunur. Alerjenlere maruz kalma, doğrudan deri temasıyla veya alerjenleri taşıyan partiküllerin solunmasıyla ortaya çıkabilir. Başlıca kedi ve köpek alerjenlerinin yaygın olduğu ve evcil hayvan sahibi olmayan hanelerde ve okullar gibi kamuya açık yerlerde bile tespit edilebildiği gösterilmiştir. Bu, sanayileşmiş ülkelerde evcil hayvan barındıran hanelerin yüksek ve gittikçe artan sayısı ile (yaklaşık %50) ve taşınıp dağıtılan alerjenlerin yüksek kararlılığıyla ilişkilendirilebilir.

- 30 Fel d 1, kedi alerjisi olan hastaların %90'undan fazlası tarafından tanınan ana kedi alerjeni olarak tanımlandı. Fel d 1, bilinmeyen biyolojik fonksiyona sahip 38 kDa asidik bir glikoproteini temsil eder. Yine, üç disülfid bağ ile antiparall olarak bağlanmış iki polipeptit zincirinden oluşan, aynı iki kovalent olmayan bağlı

heterodimerden oluşur. Zincir 1 ve zincir 2, her biri 3 ekzondan oluşan farklı bir gen olarak kodlanmıştır. E. coli'de zincir 2 ve zincir 1 füzyon proteini olarak eksprese edilen yeniden rekombinant Fel d 1 (rFel d 1) üretilmiştir. Bu rekombinant Fel d 1, vahşi tip alerjenin immünolojik özelliklerini tamamen taklit edebilir.

Ana kedi alerjeni Fel d 1'den türetilen ve IgE bağlama kapasitesi olmayan peptitler, örneğin immünoterapi ve profilaktik alerji aşılması için uygundur. Phl p 5 ve burada açıklanan alerjenden türetilmiş peptitler gibi Feld 1'den türetilmiş sentetik peptitler, bir IgG yanıtını, yani "bloke edici antikorlar" veya "koruyucu antikorlar" üretimini indükleyebilir. Bu antikorlar, IgE'nin alerjen Fel d 1'e bağlanmasını önler. Böylece alerjik semptomlarda önemli bir azalma sağlanabilir. Burada açıklanan kesilmiş molekül, düşük T hücresi reaktivitesi sergileyebilir. Geç ortaya çıkan yan etkilerden kaçınmak veya bunları önemli ölçüde azaltmak için Feld 1 türevli hipoalerjenik molekül, mevcut buluşta tanımlandığı gibi düşük T hücresi reaktivitesi sergiler.

Kesilmiş Fel d 1, tercihen Feld 1 zincir 1'inin amino asiti 1 ila 34 veya 35 ila 70'den, Fel d 1 zincir 2'nin amino asiti 1 ila 34, 35 ila 63 veya 64 ila 92'den veya bunların sekans varyasyonlarından oluşur.

Burada açıklananlar Mevcut buluşun peptit parçaları, Der p 2 amino asitleri 1 ila 33, 21 ila 51, 42 ila 73, 62 ila 103 ya da 98 ila 129, Derp 7 amino asitleri 1 ila 30, 20 ila 50, 50 ila 80, 90 ila 125, 125 ila 155 ya da 165 ila 198, Der p 21 amino asitleri 1 ila 35, 35 ila 72, 70 ila 100 ya da 90 ila 122, Der p 23 amino asitleri 1 ila 32, 15 ila 48 veya 32 ila 70, 32 ila 60, 52 ila 84, 32 ila 70 (Cys->Ser), Alt a 1 amino asitleri 19 ila 58, 59 ila 95, 91 ila 120 veya 121 ila 157, Par j 2 amino asitleri 31 ila 60, 45 ila 80, 60 ila 96 veya 97 ila 133, Ole e 1 amino asitleri 1 ila 40, 36 ila 66, 63 ila 99, 86 ila 120 veya 107 ila 145, Fel d 2 amino asitleri 25 ila 58, 99 ila 133, 154 ila 183, 277 ila 307, 334 ila 363, 373 ila 402, 544 ila 573, 579 ila 608, 58 ila 99, 125 ila 165, 183 ila 224, 224 ila 261, 252 ila 289, 303 ila 340, 416 ila 457, 460 ila 500 ya da 501 ila 542, Can f2 amino asitleri 19 ila 58, 52 ila 91, 82 ila 119, 106 ila 144 veya 139 ila 180, Can fl amino asitleri 19 ila 56, 51 ila 90, 78 ila 118 ila 145 veya 135-174, Art v 1 amino asitleri 27 ila 70, 70 ila 100 veya 92 ila 132, Amb a 1 amino asitleri 31 ila 70, 80 ila 120, 125 ila 155, 160 ila 200, 225 ila 263, 264 ila 300 305 ila 350 veya 356 ila 396, Alt a 6 amino asitleri 1 ila 34, 35 ila 74, 74 ila

115, 125 ila 165, 174 ila 213, 241 ila 280, 294 ila 333, 361 ila 400 veya 401 ila 438, Alt a 2 amino asitleri 1 ila 40 ila 80, 81 ila 120 ila 160 ya da bunların fragman ya da sekans varyantlarını içeren veya bunlardan oluşan hipoalerjenik moleküllerdir.

- 5 Füzyon proteinlerinin üretilmesi için yöntemler teknikte iyi bilinmekle birlikte Sambrook v.d (Molecular Cloning, 2. baskı, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) ve Ausubel v.d. (Moleküler Biyolojide Kısa Protokoller, 3. baskı; Wiley ve Sons, 1995) gibi standart moleküler biyoloji referanslarında bulunabilir. Genel olarak, bir füzyon proteini öncelikle, sonrasında host hücrelerini transfekte etmek
- 10 için kullanılan uygun bir ekspresyon vektörüne yerleştirilen bir füzyon geni oluşturularak üretilir. Genel olarak, rekombinant füzyon yapıları, bir dizi kısıtlama enzimi sindirimi ve ligasyon reaksiyonları ile üretilir; bu da istenen sekansların bir plazmid içine dahil edilmesini sağlar. Uygun kısıtlama bölgeleri yoksa, teknikte uzman kişilerce bilindiği ve yukarıdaki referanslarda anlatıldığı gibi sentetik
- 15 oligonükleotit adaptörleri veya bağlayıcıları kullanılabilir. Alerjenleri ve doğal proteinleri kodlayan polinükleotit sekansları, uygun bir vektöre yerleştirilmeden önce birleştirilebilir veya alerjeni kodlayan sekans, bir vektörde hali hazırda mevcut olan doğal bir sekansı kodlayan bir sekansa bitişik olarak yerleştirilebilir. Sekansın vektör içerisine yerleştirilmesi, sekansın bir proteine kopyalanması için
- 20 uygun olmalıdır. Teknikte sıradan uzmanlığa sahip kişilerce, kesin reaksiyon koşullarının yanı sıra gerekli olan kesin kısıtlama enzimlerinin, bağlayıcıların ve/veya adaptörlerin, kullanılan sekans ve klonlama vektörleri ile değişeceği açıkça görülecektir. Ancak, DNA yapılarının birleştirilmesi teknikte rutindir ve teknikte uzman bir kişi tarafından kolayca gerçekleştirilebilir.
- 25 Kesilmiş hipoalerjenik alerjen moleküllerinden ve insan hepatit B pre S proteininden türetilen füzyon proteinlerinin, standart ekspresyon sistemlerinde tekrarlanabilir şekilde eksprese edilebilir olması ve teknikte uzman bir kişinin bildiği standart ekspresyon sistemlerinde, özellikle de ekspresyon sistemi olarak bir Escherichia coli içinde kullanılması durumunda proseslerde yüksek verimde
- 30 üretilip yüksek üretkenliğe sahip olması özel ve beklenmeyen bir avantajdır.

- Bu üretim prosesi, tipik olarak buluşa göre olan moleküllerin, hücrelerin bir biyoreaktörde (örn. bir fermentörde, çalkalama kabında) kültivasyonu ile ekspresyonu, ardından hücre hasadı (örneğin filtrasyon, santrifüjleme, vb.) ve hücre tahribatı (örn. yüksek basınçlı homokenleştirme, sonikasyon, donma/çözülme döngüleri, enzimatik veya kimyasal hücre lizisi, vb.), moleküllerin saflaştırılması (örneğin kromatografi, filtrasyon, çökeltme, ultra/diafiltrasyon, vb.) ve nihai ürünün oluşturulmasını içerir. Buluşa göre olan moleküllerden yüksek verim elde etmek için, beslemeli-kesikli fermantasyonunun uygulanmasıyla, tercihen yüksek-hücre yoğunluklu kültivasyon prosesleri kullanılır.
- 10 Burada ayrıca, bir hipoalerjenik molekülü kodlayan bir nükleik asit molekülü ve burada tarif edildiği gibi bir füzyon proteini açıklanmaktadır.
- Bu buluşun nükleik asit molekülü, örneğin rekombinant olarak söz konusu molekülleri üretmek için kullanılabilir.
- Mevcut buluşun başka bir yönüne göre, söz konusu nükleik asit molekülü, bir vektörde yer alabilir.
- 15 Bu vektör tercihen bir ekspresyon vektörüdür.
- Bu buluş, bunlarla sınırlı olmaksızın, aşağıdaki şekil ve örneklerle daha ayrıntılı olarak tarif edilmektedir.

### **Çizimler**

- 20 Şekil 1 A, vektör HBV\_Phlp1\_4xP5'in şematik genel görünüşünü gösterir
- Şekil 1 B, vektör HBV\_Phlp2\_4xP3'ün şematik genel görünüşünü gösterir
- Şekil 1 C, vektör HBV\_Phlp5\_V2'nin şematik genel görünüşünü gösterir
- Şekil 1 D, vektör HBV\_Phlp6\_4xP1'in şematik genel görünüşünü gösterir
- Şekil 2 A, füzyon proteinin HBV\_Phlp1\_4xP5'in birincil sekansını gösterir (BM321, sekans ID Nr. 14)
- 25 Şekil 2 B, füzyon proteinin HBV\_Phlp2\_4xP3'ün birincil sekansını gösterir (BM322, sekans ID Nr. 15)
- Şekil 2 C, füzyon proteinin HBV\_Phlp5\_V2'nin birincil sekansını gösterir (BM325, sekans ID Nr. 16)
- 30 Şekil 2 D, füzyon proteinin HBV\_Phlp6\_4xP1'in birincil sekansını gösterir (B326, sekans ID Nr. 17)
- Şekil 2 E, füzyon proteinin HBV\_Betv1\_4PA'nın birincil sekansını gösterir (BM31a, sekans ID Nr. 18)

Şekil 2 F, füzyon proteinin HBV\_Betv1\_2PA2PB'nin birincil sekansını gösterir (BM31, sekans ID Nr. 19)

Şekil 2 G, füzyon proteinin HB\_Phlp5\_V1'in birincil sekansını gösterir (BM31, sekans ID Nr. 20)

5 Şekil 3 A, saflaştırılmış füzyon proteini HBV\_Phlp1\_4xP5'i içeren bir Coomassie Blue lekeli %12 SDS Page jeli gösterir

(BM 321, şerit 1 ve 10: 5 ug moleküler işaretçi, şerit 2, 3, 11 ve 12 5ug BM321, şerit 4 ve 13 2 ug BM321, şerit 5 ve 14 1 ug BM321, şerit 6 ve 15 0.5 ug BM321, şerit 7 ve 16 0.25 ug BM321, şerit 8 ve 17 0.1 ug BM 321, şerit 9 ve 18 0.05 ug  
10 BM321). Şeritler 1 ila 9, azalan ve şeritler 10-18, azalmayan koşullar altındadır.

Şekil 3 B, saflaştırılmış füzyon proteini HBV\_Phlp2\_4xP3'i içeren bir Coomassie Blue lekeli %12 SDS Page jeli gösterir (BM 322, şerit 1 ve 10: 5 ug moleküler işaretçi, şerit 2, 3, 11 ve 12 5ugBM322, şerit 4 ve 13 2ugBM322, şerit 5 ve 14 1 ug BM322, şerit 6 ve 15 0.5 ug BM322, şerit 7 ve 16 0.25 ug BM322, şerit 8 ve 17  
15 0.1 ug BM 322, şerit 9 ve 18 0.05 ug BM322). Şeritler 1 ila 9, azalan ve şeritler 10-18, azalmayan koşullar altındadır.

Şekil 3 C, saflaştırılmış füzyon proteini HBV\_Phlp5\_V2'yi içeren bir Coomassie Blue lekeli %12 SDS Page jeli gösterir (BM 325, şerit 1 ve 10: 5 ug moleküler işaretçi, şerit 2, 3, 11 ve 12 5ugBM325, şerit 4 ve 13 2ugBM325, şerit 5 ve 14 1  
20 ug BM325, şerit 6 ve 15 0.5 ug BM325, şerit 7 ve 16 0.25 ug BM325, şerit 8 ve 17 0.1 ug BM 325, şerit 9 ve 18 0.05 ug BM325). Şeritler 1 ila 9, azalan ve şeritler 10-18, azalmayan koşullar altındadır.

Şekil 3 D, saflaştırılmış füzyon proteini HBV\_Phlp6\_4xP1'i içeren bir Coomassie Blue lekeli %12 SDS Page jeli gösterir (BM 326, şerit 1 ve 10: 5 ug moleküler  
25 işaretçi, şerit 2, 3, 11 ve 12 5ug BM326, şerit 4 ve 13 2ug BM326, şerit 5 ve 14 1 ug BM326, şerit 6 ve 15 0.5 ug BM326, şerit 7 ve 16 0.25 ug BM326, şerit 8 ve 17 0.1 ug BM 326, şerit 9 ve 18 0.05 ug BM326). Şeritler 1 ila 9, azalan ve şeritler 10-18, azalmayan koşullar altındadır.

Şekil 4, çim polen alerjenlerinden türetilmiş füzyon peptitlerinin IgE reaktivitesinin  
30 olmadığını göstermektedir. Tam alerjene kıyasla füzyon proteinlerinin IgE bağlanması, IgE nokta blot analizi ile test edildi. Belirtilen çim polen alerjisi olan hastalardan elde edilen serum, noktalı proteinlerle inkübe edildi ve bağlanmış IgE, 1251 işaretli anti-insan IgE ile tespit edildi. Dört peptit taşıyıcı füzyon proteininin

- hiçbiri için IgE bağlanma tespit edilmedi, a) HBV\_Phlp1\_4XP5 (BM321) kullanılarak nokta blot analizinin sonuçlarını gösterir; b) HBV\_Phlp2\_4xP3 (BM322) kullanılarak nokta blot analizinin sonuçlarını gösterir; c) HBV\_Phlp5\_V2 (BM325) kullanılarak nokta blot analizinin sonuçlarını gösterir; d)
- 5 HBV\_Phlp6\_4xP1 (BM326) kullanılarak nokta blot analizinin sonuçlarını gösterir.
- Şekil 5, alerjik hastaların bazofillerinde CD203c ekspresyonu ile belirlenen çim polen alerjeninden türetilen füzyon proteini HBV\_Phlp1\_4xP5'in (BM321) düşük alerjenik aktivitesini göstermektedir. Çimen poleni alerjisi olan hastalardan elde edilen periferik mononükleer kan hücreleri, seri Phl p 1'in (açık gri çubuklar) veya
- 10 BM321'in (koyu gri çubuklar) seri seyreltileri ile inkübe edildi. CD203c'nin indüksiyonu, ortalama floresans yoğunluğu olarak ölçüldü ve hesaplanan stimülasyon endeksleri, y ekseninde gösterilmektedir.
- Şekil 6, alerjik hastaların bazofillerinde CD203c ekspresyonu ile belirlenen çim polen alerjeninden türetilen füzyon proteini HBV\_Phlp6\_4xP1'in (BM326) düşük
- 15 alerjenik aktivitesini göstermektedir. Çimen poleni alerjisi olan hastalardan elde edilen periferik mononükleer kan hücreleri, seri Phl p 6'in (açık gri çubuklar) veya BM326'in (koyu gri çubuklar) seri seyreltileri ile inkübe edildi. CD203c'nin indüksiyonu, ortalama floresans yoğunluğu olarak ölçüldü ve hesaplanan stimülasyon endeksleri, y ekseninde gösterilmektedir.
- 20 Şekil 7, farelerde çayır kelp kuyruğu poleni alerjenine özgü IgG1 tepkilerini göstermektedir. 4 fareden oluşan gruplar, 20 ug füzyon proteini (tek füzyon proteini ve 4 füzyon proteinin kombinasyonu) ve çalışmanın 0 ile 3. haftasında vahşi tip alerjenin her birinde 10 µg (Phl p 1 ve 5) veya her birinde 5 µg (Phl p 2 ve 6) ile immünize edildi ve çalışmanın 17. haftasında immünizasyon güçlendirildi.
- 25 Antijenler, hayvanların arka bölgesine deri altından uygulandı. Farelerinin kuyruk damarından çalışmanın 0, 3, 6, 9, 12, 17, 20 ve 22. haftalarında kan alındı. İmmünizasyonlarla çalışma haftalarında kan, immünizasyondan bir gün önce alındı. Farelerin immün serumları, ELISA ile alerjene özgü IgG1'in varlığı açısından incelendi. Birinci immünizasyondan önce pre-immün serum, bütün
- 30 hayvanlarda negatifti. Tekil füzyon proteinleri, füzyon proteinlerinin bir karışımının uygulanmasıyla karşılaştırıldı.

- a) HBV\_Phlp1\_4xP5 (tek bileşen olarak BM321), BM322, BM325 ve BM326 ile bir karışım halinde BM321 ve rPhl p 1 ile immünize edilmiş fareler için rPhl p 1 antijenine karşı bağışıklık tepkisi.
- b) HBV\_Phlp2\_4xP3 (tek bileşen olarak BM321), BM321, BM325 ve BM326 ile bir karışım halinde BM322 ve rPhlp 2 ile immünize edilmiş fareler için rPhl p 2 antijenine karşı bağışıklık tepkisi.
- c) HBV\_Phlp5\_V2 (tek bileşen olarak BM325), BM321, BM322 ve BM326 ile bir karışım halinde BM325 ve rPhl p 5 ile immünize edilmiş fareler için rPhl p 5 antijenine karşı bağışıklık tepkisi.
- d) HBV\_Phlp6\_4xP1 (tek bileşen olarak BM326), BM321, BM322 ve BM325 ile bir karışım halinde BM326 ve rPhl p 6 ile immünize edilmiş fareler için rPhl p 6 antijenine karşı bağışıklık tepkisi.

Şekil 8, rekombinant füzyon proteinlerinin moleküler ve immünolojik karakterizasyonunu gösterir. A. Bet v1'den türetilmiş peptitlere sahip dört PreS füzyon proteini gösteren Coomassie lekeli SDS-PAGE (şerit 1: 2xPA-PreS, şerit 2: 2xPB-PreS, şerit 3: 4xPA-PreS, şerit 4: 2xPA2xPB-PreS) ve taşıyıcı PreS (şerit 5). B. Nitroselüloz noktalı rekombinant füzyon proteinleri ve PreS, bir tavşan anti-PreS serumu (şerit 1), tavşan preimmün serumu (şerit 3), tavşan antikoları için tampon kontrolü (şerit 3) ve Bet v 1 türevli peptit P2' (mAb2) (şerit 4) ve P4' (mAb12) (şerit 5) karşı yönlendirilmiş monoklonal antikolar ve ve monoklonal fare antikoları (şerit 6) için tampon kontrolü ile problemler.

Şekil 9 A, rBet v 1 ve PreS'nin Bet v 1 türevli peptitlerle rekombinant füzyon proteinlerinin IgE reaktivitesini gösterir. Huş ağacı poleni alerjisi olan hastaların serumundan, sadece alerjik olmayan kontroller ve sadece tampon, nokta-lekeli rBet v1, dört rekombinant füzyon proteini (2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PA2PB-PreS) ve sadece PreS'e reaktivlikleri için test edildi. Bağlanmış insan IgE'si, 1251 etiketli anti-insan IgE antikoları ile tespit edildi. Bağlı IgE'ye karşılık gelen dakika başına sayım (cpm), bir y-sayacı ile ölçülür ve Y ekseninde gösterilir. Kutu grafikleri, 50 huş ağacı polen alerjisi hastasının sonuçlarını göstermektedir.

Şekil 9B, rBet v1 ile bazofil aktivasyonunu ve CD 203c yukarı regülasyonu ile ölçülen dört PreS füzyon proteinini gösterir. Huş ağacı poleni alerjisi olan hastaların kan örnekleri, artan konsantrasyonlarda (0.001 -1 µg/ml) antijen, anti-

IgE tampon kontrolüne (Co) maruz bırakıldı. Bir temsili hastanın sonuçları gösterilmiştir. CD 203c ekspresyonu, FACS analizi ile belirlendi ve stimülasyon indeksi (SI (y eksen) olarak görüntülenir. Üçlü ölçüm araçları gösterilir ve standart sapmalar belirtilir.

- 5 Şekil 10, huş ağacı poleni alerjisi olan hastaların periferik mononükleer kan hücrelerinin lenfoproliferatif tepkilerini ve sitokin üretimini göstermektedir. Huş ağacı poleni alerjisi olan hastaların periferik mononükleer kan hücreleri eşit miktarda rBet v 1, Bet v 1 türevli peptitler PA ve PB, sadece PreS ve PreS füzyon proteinleri (yani 2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PAPB-PreS) ile uyarıldı.
- 10 Stimülasyon endeksleri (SI) (y eksen) gösterilmektedir.

(A) 6 huş poleni alerjisi olan hastanın en yüksek konsantrasyonu (5 µg/gözlü Bet v1 ve eş molar miktarda peptit, PreS ve PreS füzyon proteinleri) için SI, değerlerin %50'sinin kutuların içinde olduğu ve uç değer olmayanların çubuklar arasında olduğu kutu blotlarında gösterilmiştir. Kutular içindeki çizgiler, medyan değerleri gösterir.

(B) Dört konsantrasyon için SI (1 = 5µg/göz, 2=2.5µg/göz, 3=1.25µg/ml, 4=0,63µg/göz rBetv1 ve peptitler, PreS ve PreS füzyon proteinlerinin eş molar miktarları) bir temsili hasta için gösterilmiştir.

20 (C) 6 huş polenli alerjisi olan hastanın periferik mononükleer kan hücrelerinin süpernatantlarında sitokin üretimi, 2.5µg/mL rBet v1 ve eş molar miktarda PA ve PB, PreS ve dört PreS füzyon proteini ile uyarıldı. Antijenlerle stimülasyonun ardından gözlemlenen konsantrasyonlar (pg/mL) (y-eksen), değerlerin%50'sinin kutular içinde ve uç olmayan maddelerin çubuklar arasında olduğu kutu blotlarında gösterilir. Kutular içindeki çizgiler, medyan değerleri gösterir.

25 Şekil 11, tavşanlarda PreS füzyon proteinleri tarafından deri altı immünizasyonundan sonra rBet v 1 ve Bet v 1 homolog alerjenlerine özgü IgG antikorlarının indüksiyonunu gösterir.

30 (A) Tavşanlar, Alumidroksit ile adsorbe edilmiş (Alum) (üstte) veya komple Freund adjuvanı (CFA) ile adsorbe edilmiş (altta) füzyon proteinleri (2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PAPB-PreS) ve rBet v 1 ile immünize edilmiştir. RBet v 1'e özgü olan Tavşan IgG'si ölçüldü ve çift ölçümler için ortalama optik yoğunluk (OD) değerleri,



tavşan anti-serumlarının (x-ekseni) farklı dilüsyonları için (y-eksenleri) gösterilmektedir.

(B1) Kızılağaç (Aln g 1), fındık ağacı (Cora 1) ve elmada (Mai d 1) Bet v 1 ve Bet v 1-homolog alerjenlerin çoklu sekans hizalaması. Aynı amino asitler nokta, boşluklar ise kısa çizgi olarak gösterilir.

Sağ tarafta Bet v 1'e karşı Bet v 1'e homolog alerjenlerin yüzde kimliği gösterilmektedir. Bet v 1 türevli peptit A (PA, kesikli çizgi) ve peptit B (PB, tam çizgi) çerçevesindedir.

(B2) rBet v 1, rAln g 1, rCor a 1 ve rMal d 1'e karşı yönlendirilen (x eksen) anti-tavşan serumlarının IgG antikorları (rab a-2PA-PreS, rab a-2PB-PreS, rab a-4PA-PreS, rab a-2PAPB-PreS) ELISA ile ölçülmüştür. İkili ölçüm yöntemleri gösterilmektedir. Tavşan serumundaki (post) alerjene özgü IgG'ye karşılık gelen optik yoğunluk (OD), karşılık gelen preimmün serum (pre) (y eksen) ile karşılaştırılarak gösterilmiştir.

(C) Altı Bet v1 türevli peptite (PV-P6') (x eksen) karşı yöneltilmiş rBet v1 ve rekombinant füzyon proteinleri (2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PAPB-PreS) ile immünize edilmiş tavşan IgG antikorları, ELISA ile ölçülmüştür. Çift ölçümler (y eksen) için optik yoğunluk değerleri (OD) görüntülenir.

Şekil 12, tam rBet v1'e karşı tavşan serumuna kıyasla Anti-2xPA2xPB-PreS tavşan serumunun, alerjik hastaların IgE'sine karşı inhibisyonunu gösterir. Anti-2xPA2xPB-PreS ve anti-rBet v 1 tavşan serumları ile elde edilen rBet v 1'e (y-eksen) IgE bağlanmasının inhibisyon yüzdesi, inhibisyon ELISA aracılığıyla belirlendi ve değerlerin %50'si kutuların içindeyken uç olmayan değerler çubuklar arasındadır. Kutular içindeki çizgiler, medyan değerleri gösterir. 21 huş poleni alerjisi olan hastanın sonuçları gösterilmiştir.

Şekil 13, bir Phl p 6 türevli peptitin 2 veya 4 kopyasını içeren PreS-füzyon proteinleri ile immünizasyondan sonra yükseltilmiş tavşan IgG'sinin bir titrasyonunu gösterir. İmmünojenite testi için tavşanlar (Yeni Zelanda Beyaz tavşanları), adjuvan olarak alüminyum hidroksit kullanılarak farklı füzyon proteinleriyle immünize edildi. Belirli antikorların indüksiyonu, ELISA analizlerinde izlendi. Sonuçlar, 4 peptit içeren füzyon proteinlerinin, 2 peptit içeren füzyon proteinlerinden daha immünojenik olduğunu göstermektedir.

Şekil 14, SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 16 ve SEQ ID NO. 17 olan 4 hipoalerjenik füzyon proteininin bir karışımını içeren bir aşı formülasyonu (BM32) ile subkutan immünizasyonun ardından insan çim polen alerjilerini takiben çim polen alerjenlerine Phl p 1 (A), Phlp 2 (B), Phlp 5 (C) ve Phl p 6 (D)'ye yönelik güçlü bir IgG tepkisinin indüklenmesini gösterir. IgG'nin belirlenmesi ELISA ile gerçekleştirildi. Tedaviden önceki IgG seviyeleri (pre), tedavi sonrası (post) IgG seviyeleri ile karşılaştırılır.

Şekil 15, SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 16 ve SEQ ID NO. 17 olan 4 hipoalerjenik füzyon proteininin bir karışımından oluşan bir aşı formülasyonu ile immünizasyondan sonra çim polen alerjisi olan bireylerden alınan T hücreleri üzerinde gerçekleştirilen T hücresi çoğalma tahlillerinin sonuçlarını göstermektedir. T hücresi reaktivitesi, çimen polenine kıyasla kuvvetli bir şekilde azaltılmıştır veya yoktur. Grafiğin y eksenini, stimülasyon endeksini yansıtır.

Şekil 16, SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 16 ve SEQ ID NO. 17 olan 4 hipoalerjenik füzyon proteininin bir karışımını içeren bir aşı formülasyonu (BM32) ile yapılan tedaviyle indüklenen IgG'nin insan periferik mononükleer kan hücrelerinde çim poleni, alerjenlerine lenfoproliferatif tepkileri azalttığını göstermektedir. (a) deneysel kurulum. (b) Tedaviyle indüklenen IgG olmadığında (+ serum öncesi) ve olduğunda (+ serum olduğunda) yapılan T hücresi proliferasyon deneylerinin sonuçları. Grafiğin y eksenini, stimülasyon endeksini yansıtır. P1-P5, farklı çalışma katılımcılarının sonuçlarını göstermektedir.

Şekil 17, SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 16 ve SEQ ID NO. 17 olan 4 hipoalerjenik füzyon proteininin bir karışımını içeren aşı formülasyonu BM32 kullanılarak 69 çim poleni alerjisi olan hasta üzerinde gerçekleştirilen klinik çalışmanın kurulumunu göstermektedir.

Şekil 18 A, füzyon proteininin **HBV Der p2-2xP2-2xP4**'ün birincil sekansını gösterir (2xP2, sekans ID Nr. 149)

Şekil 18 B, füzyon proteininin **HBV Der p2-3xP2-3xP4**'ün birincil sekansını gösterir (2xP2, sekans ID Nr. 150)

Şekil 18 C, füzyon proteininin **HBV Der p23-2xP4-2xP5**'in birincil sekansını gösterir (2xP2, sekans ID Nr. 151)

Şekil 18 D, füzyon proteininin **HBV Der p23-4xP6**'nın birincil sekansını gösterir (sekans ID Nr. 152)

Şekil 17, SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 16 ve SEQ ID NO. 17 olan 4 hipoalerjenik füzyon proteinin bir karışımını içeren aşı formülasyonu BM322nin 3 subkutan enjeksiyonuyla tedavi ile indüklenen nazal semptomlardaki değişimi göstermektedir. Siyah çubuklar: tedaviden önce, gri çubuklar: tedaviden sonra.

5 Şekil 19B, aşı formülasyonu BM32 ile tedaviden önce ve sonra titre edilmiş deri prik testi arasındaki ortalama kabarıklık alanındaki değişimi göstermektedir. Titre edilen deri prik testi, 8 seri çimen poleni ekstraktı seyreltisi (1:128'e seyreltilmemiş) kullanılarak gerçekleştirildi.

Şekil 20, bir Der p 2 türevi peptitlerin IgE bağlanmasını, IgE nokta lekesi tahlili ile 10 test edilen tam alerjene kıyasla gösterir. 26 ev tozu akarı alerjisi olan hastadan elde edilen serum, noktalı KLH ile konjüge edilmiş peptitler ile inkübe edildi ve bağlanmış IgE, 1251 etiketli anti-insan IgE'si ile tespit edildi. Örnek 26'daki gibi 5 peptitin hiçbirinde IgE bağlanması tespit edilmedi.

## 15 BULUŞUN DETAYLI AÇIKLANMASI

### ÖRNEKLER:

#### Örnek 1: HBV Phlp1 4xP5 (BM321) için ekspresyon plazmidinin yapısı

20 Sentetik BM321 geni, sentetik oligo-nükleotitlerden ve/veya PCR ürünlerinden birleştirildi ve uygun bir standart vektöre (pMK-RQkanR) klonlandı. Plazmid, dönüştürülmüş bir E. coli K12 suşundan (DH10B-T1R) saflaştırıldı ve konsantrasyon, UV spektroskopisi ile belirlendi. Son sentetik ve kodon ile optimize edilmiş BM321 DNA sekansı, uygun kısıtlama bölgeleri (5'-ucunda NcoI bölgesi ve 25 3'-ucunda EcoRI) kullanılarak pET28b(+) ekspresyon vektörüne klonlandı. Plazmid DNA, dönüştürülmüş E. coli K12 DH10B'den (dam+dcn+) saflaştırıldı ve konsantrasyon, UV spektroskopisi ile belirlendi. Nihai yapı, insertin sekanslanması ile doğrulandı. Plazmid verilerinin bir özeti ve "pBM-321" son ekspresyon vektörünün bir plazmid haritası aşağıda gösterilmektedir. BM321 dizisinin özeti, 30 pET-28b (+) son ekspresyon vektörüne klonlandı.

| Sekans | Diğer ad sekansı | Gen boyutu | Plazmid boyutu | Plazmid adı | Kısıtlama bölgeleri |
|--------|------------------|------------|----------------|-------------|---------------------|
| BM321  | HBV_Phlp1_4xP    | 882 bp     | 6153 bp        | pBM-321     | NcoI / EcoRI        |

Örnek 2: Ekspresyon plazmidinin HBV Phlp1 4xP5 (BM321) için ekspresyon konağına dönüşümü

- 5 Kimyasal açıdan uygun E. coli BL21(DE3) hücreleri, ısı şoku yöntemi kullanılarak ekspresyon plazmidini ile dönüştürüldü. Dönüştürülen hücreler, seçim için %0.5 sodyum klorür, %1 soya peptonu, %0.5 maya ekstraktı, %1.5 agar ve 50 µg/mL kanamisin içeren LB-agar plakalarına plakalandı. LB plakalarındaki hücreler, gece boyunca 37 °C'de kültivasyon ile büyütüldü. Dönüştürülmüş BL21(DE3) E. coli
- 10 hücrelerinin tekli kolonileri izole edildi, LB ortamında kültürlendi ve BM321'in büyümesi ile ekspresyonu açısından görüntülendi. En iyi performans gösteren klon, Ana Hücre Bankasının kurulması için seçildi.

Örnek 3: HBV Phlp1 4xP5 (BM321) için Ana Hücre Bankasının Hazırlanması

15

- Seçilen klonun bir kısmı, 150 ml kültür ortamının inokülasyonu için kullanıldı (bileşim: %0.5 sodyum klorür, %1 soya peptonu, %0.5 maya ekstraktı, 50 µg/mL kanamisin). Ana Hücre Bankası (MCB) kültürü, kültür OD<sub>600</sub> = 1-2'lik bir optik yoğunluğa ulaşana kadar 200 rpm'de sürekli çalkalama altında 37 °C'de inkübe
- 20 edildi. Nihai %15 v/v gliserol konsantrasyonu elde etmek için gliserol eklendi ve MCB, 1 mL'lik şişelere bölünüp -75 ± 10 °C'de ultra derin dondurucuda saklandı.

Örnek 4: HBV Phlp1 4xP5'in (BM321) yüksek hücre yoğunluklu beslemeli kesikli fermantasyonu

25

- Sentetik kültür ortamı (100 mL, pH = 6.8, tuzlar ve eser elementler, karbon kaynağı olarak 10 g/L glikoz), 1 mL Ana Hücre Bankası (E. coli BL21(DE3) / pBM321) ve OD = 1'lik bir optik yoğunluk hedef değerine ulaşılan kadar bir çalkalama kabında (37 °C, 200 rpm) kültürlendi. Beslemeli kesikli fermantasyonunu gerçekleştirmek için 22 L'lik paslanmaz çelik bir fermentör
- 30 kullanıldı. Otomatik ve çoğaltılabilir besleme kontrolü için, spesifik büyüme hızı, besleme hızı, kesikli aşamanın süresi ve üssel beslemeli aşamanın süresini önceden tanımlamaya izin veren bir tarif programlandı. Fermentörün oksijen transfer hızını arttırmak için geri basınç kontrol edildi ve 1 bara ayarlandı.

Fermentör yukarıda bahsedildiği gibi sentetik kültür ortamı ile yerinde sterilize edildi ve fermentasyon ön kültürle inokülasyon ile başlatıldı. Glikozun tükenmesinden sonra,  $\mu = 0.25 \text{ h}^{-1}$  spesifik büyüme hızını korumak için üssel beslemeli aşama başlatıldı. Atari OD = 45 olduğunda, rekombinant BM321'in ekspresyonu IPTG'nin bolus ilavesiyle indüklenmiştir (nihai konsantrasyon 0.8 mM). Kültür, OD<sub>600</sub> = 73'te toplandı. Beslemeli kesikli fermentasyonundan elde edilen BM321 ürün titresi, L kültür besiyeri başına 1.2 g idi. Daha sonra bakteri kültür besiyeri,  $\leq 20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'ye soğutuldu ve 7.000 rpm'de (5.500 g)  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika boyunca santrifüjlendi. Islak hücre biyokütlesi alikotlandı ve  $-75 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de depolandı.

10

#### Örnek 5: Hücre bozulması ve durultma

Hücre bozulması için, Örnek 6'da elde edilen 748 gram biyokütle eritildi ve 125 gramlık alikotlara bölünüp 30 dakika boyunca oda sıcaklığında mekanik çalkalama altında bir homojenizasyon tamponu (20 mM Tris, 1 mM EDTA, %0.1 Triton X-100, pH 11.0) içinde tekrar süspansiyon haline getirildi. Hücre bozulması için,  $-75 \text{ }^\circ\text{C}$  donma ve ardından çözülme, ardından da mekanik homojenizasyon gerçekleştirilerek bir donma/çözme prosedürü uygulandı. Homojenatın pH'ı, pH = 10,0'a ayarlandı. Ham hücre homojenatı, 30 dakika boyunca  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 7.000 rpm'de (5.500 g) santrifüjleme aşamasına tabi tutuldu.

20

Süpernatantlar, mekanik çalkalama altında PEI (polietilenimin) ile çökeltildi. Çözünmeyen maddeler sonraki bir santrifüjleme aşaması ile ayrıldı. Durultulmuş süpernatantlar, aşağıdaki kromatografi aşamasına tabi tutuldu.

25

#### Örnek 6: HBV Phlp1 4xP5'in (BM321) kromatografik saflaştırılması

Örnek 7'de açıklandığı gibi durultma aşamasında elde edilen toplam 1840 mL PEI çökeltme süpernatanı, 5 x 30 cm Q-Sepharose FF kolonuna yüklendi ve tampon A (TrisHCl, EDTA) ile dengelendi. Bağlanmamış materyal, tampon A ve ardından tampon C (1 sodyum fosfat, EDTA, pH 7.0) ile yıkandıktan sonra uzaklaştırıldı. Ürün fraksiyonunun elüsyonu, BM32 tamponu C'de %0-100 BM32 tampon E (sodyum fosfat, EDTA, NaCl pH 7.0) ile doğrusal bir gradyan elüsyonu ile gerçekleştirildi. Havuzlama için ürün içeren fraksiyonların seçimi, SDS-PAGE

30

analizine göre, fraksiyon saflığının densitometrik değerlendirmesi ve ürün bandı yoğunluğu ile gerçekleştirildi.

Yakalama aşamasından elde edilen havuzlanmış fraksiyonlar, 2.5 M sodyum klorür ilave edilerek 115 mS/cm'lik bir iletkenliğe ayarlandı ve bu hammadde, 5  
tampon D (sodyum fosfat, EDTA, NaClpH 7.0) ile dengelenen bir Fenil Seforaz HP kolonu üzerine yüklendi. Bağlanmamış malzeme, tampon D ile yıkanarak uzaklaştırıldı. Ürün fraksiyonunun elüsyonu, tampon D'deki %40-100 tampon C'den (sodyum fosfat, EDTA, pH 7.0) gradyanlı bir elüsyon ile gerçekleştirildi. Havuzlama için ürün içeren fraksiyonların seçimi, SDS-PAGE analizine göre, 10  
fraksiyon saflığının densitometrik değerlendirmesi ve ürün bandı yoğunluğu ile gerçekleştirildi. Ara aşamasından elde edilen havuzlanmış fraksiyonlar, 2.5 M sodyum klorür ilave edilerek 80 mS/cm'lik bir iletkenliğe ayarlandı ve bu hammadde, tampon D (sodyum fosfat, EDTA, NaClpH 7.0) ile dengelenen bir Toyopearl Bütil 650-S kolonu üzerine yüklendi. Bağlanmamış materyal, tampon 15  
C'de (sodyum fosfat, EDTA, pH 7.0) %80-0 BM32 tampon F ile gradyanlı bir yıkama ile uzaklaştırıldı. Fraksiyonun elüsyonu, tampon C2de 0-1 tampon G'den (sodyum fosfat, EDTA, izopropanol, pH 7.0) bir gradyan elüsyonu ile gerçekleştirildi. Havuzlama için ürün içeren fraksiyonların seçimi, SDS-PAGE analizine göre, fraksiyon saflığının densitometrik değerlendirmesi ve ürün bandı 20  
yoğunluğu ile gerçekleştirildi.

Örnek 7: HBV Phlp2 4xP3 (BM322), HBV Phlp5 V2 (BM325) ve HBV Phlp6 4xP1 (BM326) üretimi:

25 Buluşa göre rekombinant moleküllerin, yani HBV\_Phlp2\_4xP3(BM322),HBV\_Phlp5\_V2(BM325) ve HBV\_Phlp6\_4xP1 (BM326) ekspresyonu ve üretimi için Örnek 1, Örnek 2, Örnek 3, Örnek 4, Örnek 5 ve Örnek 6'da tarif edilenle aynı, benzer veya karşılaştırılabilir yöntemler ve prosedürler uygulandı.

30

Örnek 8: HBV PhIP1 4xP5 (BM321); HBV PhIP2 4xP3 (BM322), HBV PhIP5 V2 (BM325) ve HBV PhIP6 4xP1 (BM326) karışımından oluşan enjekte edilebilir bir formülasyonun hazırlanması

Rekombinant saflaştırılmış proteinlerin her biri, %0.9 sodyum klorür ve 2 mM sodyum fosfat içeren bir izotonik tampon içinde çözüldü ve her bir protein solüsyonuna, uygun bir miktarda alüminyum hidroksit ilave edildi. Elde edilen dört süspansiyonun eşit parçalarını içeren bir karışım hazırlandı ve steril koşullar altında kapalı şişelere bölündü. Bu prosedürle elde edilen enjekte edilebilir formülasyon, her bir HBV\_Phip1\_4xP5; HBV\_Phip2\_4xP3, HBV\_Phip5\_V2 ve HBV\_Phip6\_4xP1'den 0.4 mg/mL içeriyordu.

#### 10 Örnek 9: His-etiketli HBV Betv1 4xPA'nın hazırlanması

N- ve C- terminallerinde (yani 4PA-PreS) iki kez Bet v 1 türevli peptit PA ile kaynaşmış PreS'den oluşan füzyon proteinleri için gen kodlaması, ATG:biosynthetics, Merzhausen, Almanya tarafından sentezlendi ve PET-17b vektörünün NdeI/XhoI bölgelerine (Novagen, Almanya) yerleştirildi. DNA sekansları, her iki DNA dizisinin (Microsynth, Balgach, İsviçre) otomatik dizilimi ile doğrulandı.

Füzyon proteini, E coli suşu BL21'de (DE3; Stratagene, La Jolla, CA) eksprese edildi. Hücreler, 50µg/mL kanamisin içeren Luria Bertani-ortamında 0.6 OD'ye büyütüldü. Protein ekspresyonu, 37 °C'de gece boyunca 1 mmol/L'lik nihai bir konsantrasyona izopropil-p-D-tiogalaktopiranosid eklenerek indüklendi. Hücreler, 10 dakika boyunca 3500 rpm'de santrifüj ile toplandı. Protein ürünü esas olarak dahil edilen vücut fraksiyonunda tespit edildi. Gece boyunca 6M GuHCl, 100mM NaH<sub>2</sub>P<sub>04</sub>, 10mM TRIS, pH 8.0 içerisinde çözündürüldü. Homojenat 14,000 g'de 18 dakika santrifüjlendi. Süpernatantları, 4 saat boyunca 2 mL önceden dengelenmiş bir Ni-NTA reçinesinde (Qiagen, Hilden, Almanya) inkübe edildi ve süspansiyonlar daha sonra bir kolona yüklendi, 2 kolon hacminde yıkama tamponu (8 mol/L üre, 100 mmol/L NaH<sub>2</sub>P<sub>04</sub> ve 10 mmol/L Tris-HCl [pH = 6.1]) ile yıkanıp aynı tamponla (pH = 3.5) elüe edilmiştir. Saflaştırılmış protein, suya karşı diyaliz edildi.

Rekombinant proteinlerin saflığı, indirgeyici koşullar altında Coomassie lekeli SDS-PAGE (%12.5) ile analiz edildi.

Füzyon proteininin kimliği, pre immun IgGs'nin yanı sıra Bet v 1 türevli peptitler P2' (mAb2) ve P4' (mAb12) ile PreS'e özgü tavşan antikorlarına özgü olan monoklonal antikorlar kullanılarak nokta lekesi vasıtasıyla doğrulandı. Bir µg PreS füzyon proteini, PreS ve HSA (kontrol) nitroselüloz üzerinde immobilize edildi ve  
 5 monoklonal ile ayrıca 1:1000 oranında seyreltilmiş tavşan serumlarıyla 4 °C'de ile inkübe edildi. Bağlı antikorlar, 2 saat boyunca 1:500 oranında seyreltilmiş iyot <sup>125</sup>-etiketli tavşan anti-fare IgG (mAb2, mAb12) veya <sup>125</sup>I-keçi anti-tavşan IgG (tavşan anti-PreS, tavşan pre-immun) (Perkin-Elmer, Waltham, Massachusetts) ile tespit edildi ve otoradyografi ile görselleştirildi. Ayrıca ELISA plakaları (Maxisorp,  
 10 Nunc, Danimarka) 2 µg PreS füzyon proteini ve PreS ile kaplandı, pH 9.6 olan 0.1 mol/L karbonat tamponu ile seyreltildi, %0.05 v/v Tween 20 (PBST) içeren PBS ile 3 kez yıkandı ve %1 BSA-PBST ile 2 saat boyunca bloke edildi. Ardından, plakalar mAb2, mAb12, anti-PreS tavşan serumu ve tavşan anti-Bet v 1 antikorları ile 1: 5000 dilüsyonda (seyreltme tamponu: PBST'de %0.5 wt/v) 4 °C'de gece  
 15 boyunca inkübe edildi. 5 kez yıkadıktan sonra, bağlanmış IgG antikorları, HRP etiketli koyun anti-fare antikor (mAb2, mAb12 için) veya HRP etiketli eşek anti-tavşan antikor (tavşan serası) (hem GE Healthcare, Uppsala, İsveç) ile tespit edildi ve renk reaksiyonu geliştirildi.

#### 20 Örnek 10 His-etiketli HBV Betv1 2xPA2xPB'nin hazırlanması (BM31)

N- ve C- terminallerinde (yani 2xPA2xPB-PreS) Bet v 1 türevli peptitler ile iki kez kaynaşmış PreS'den oluşan füzyon proteini için gen kodlaması, GenScript (Piscataway, NJ, ABD, 2PAPB-Pres) tarafından sentezlendi ve PET-17b  
 25 vektörünün NdeI/XhoI bölgelerine (Novagen, Almanya) yerleştirildi. DNA sekansları, her iki DNA dizisinin (Microsynth, İsviçre) otomatik dizilimi ile doğrulandı.

Rekombinant PreS füzyon proteinleri, E coli suşu BL21'de (DE3; Stratagene, CA) eksprese edildi. Hücreler, 50µg/mL kanamisin içeren Luria Bertani-ortamında 0.6  
 30 OD'ye büyütüldü. Protein ekspresyonu, 37 °C'de gece boyunca 1 mmol/L'lik nihai bir konsantrasyona izopropil-β-D-tiogalaktopiranosid eklenerek indüklendi. Hücreler, 10 dakika boyunca 3500 rpm'de santrifüj ile toplandı. Proteinler esas olarak dahil edilen vücut fraksiyonunda tespit edildi. Elde edilen protein, Gece



boyunca 6M GuHCl, 100mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10m MTRIS, pH 8.0 içerisinde çözündürüldü. Homojenat 14,000 g'de 18 dakika santrifüjlendi. Süpernatantları, 4 saat boyunca 2 mL önceden dengelenmiş bir Ni-NTA reçinesinde (Qiagen, Hilden, Almanya) inkübe edildi ve süspansiyonlar daha sonra bir kolona yüklendi, 2 kolon hacminde yıkama tamponu (8 mol/L üre, 100 mmol/L NaH<sub>2</sub>P0<sub>4</sub> ve 10 mmol/LTris-HCl [pH = 6.1]) ile yıkayıp aynı tamponla (pH = 3.5) elüe edilmiştir. Protein 10mM NaH<sub>2</sub>P0<sub>4</sub> karşısında diyaliz edildi.

Rekombinant proteinlerin saflığı, indirgeyici koşullar altında Coomassie lekeli SDS-PAGE (%12.5) ile analiz edildi. Füzyon proteinlerinin kimliği, pre immun IgGs'nin yanı sıra Bet v 1 türevli peptitler P2' (mAb2) ve P4' (mAb12) ile PreS'e özgü tavşan antikörlerine özgü olan monoklonal antikörler kullanılarak nokta lekeli vasıtasıyla doğrulandı. Bir µg PreS füzyon proteini, PreS veHSA (kontrol) nitroselüloz üzerinde immobilize edildi ve monoklonal ile ayrıca 1:1000 oranında seyreltilmiş tavşan serumlarıyla 4 °C'de ile inkübe edildi. Bağlı antikörler, 2 saat boyunca 1:500 oranında seyreltilmiş iyot 125-etiketli tavşan anti-fare IgG (mAb2, mAb12) veya 1251-keçi anti-tavşan IgG (tavşan anti-PreS, tavşan pre-immun) (Perkin-Elmer, Waltham, Massachusetts) ile tespit edildi ve otoradyografi ile görselleştirildi. Ayrıca ELISA plakaları (Maxisorp, Nunc, Roskilde, Danimarka) 2 µg PreS füzyon proteini ve PreS ile kaplandı, pH 9.6 olan 0.1 mol/L karbonat tamponu ile seyreltildi, %0.05 v/v Tween 20 (PBST) içeren PBS ile 3 kez yıkandı ve %1 BSA-PBST ile 2 saat boyunca bloke edildi. Ardından, plakalar mAb2, mAb12, anti-PreS tavşan serumu ve tavşan anti-Bet v 1 antikörleri ile 1: 5000 dilüsyonda (seyreltme tamponu: PBST'de %0.5 wt/v) 4 °C'de gece boyunca inkübe edildi. 5 kez yıkadıktan sonra, bağlanmış IgG antikörleri, HRP etiketli koyun anti-fare antikoru (mAb2, mAb12 için) veya HRP etiketli eşek anti-tavşan antikoru (tavşan serası) (hem GE Healthcare, Uppsala, İsveç) ile tespit edildi ve renk reaksiyonu geliştirildi.

Örnek 11: HBV PhIpl 4xP5 (BM321) füzyon proteininin IgE reaktivitesinin tespiti

30

Tam alerjene kıyasla IgE bağlanması, IgE nokta blot analizi ile test edildi. Çim polen alerjisi olan hastalardan elde edilen serum, noktalı proteinlerle inkübe edildi

ve bağlanmış IgE, 125I-işaretli anti-insan IgE ile tespit edildi. Şekil 4A'da gösterildiği gibi HBV\_Phlp1\_4xP5 (BM321) için IgE bağlanma saptanmadı.

Örnek 12: HBV\_Phlp2\_4xP3 (BM322) füzyon proteininin IgE reaktivitesinin tespiti

5

Tam alerjene kıyasla IgE bağlanması, IgE nokta blot analizi ile test edildi. Çim polen alerjisi olan hastalardan elde edilen serum, noktalı proteinlerle inkübe edildi ve bağlanmış IgE, 125I-işaretli anti-insan IgE ile tespit edildi. Şekil 4B'de gösterildiği gibi HBV\_Phlp2\_4xP3 (BM321) için IgE bağlanma saptanmadı.

10

Örnek 13: HBV\_Phlp5\_V2 (BM325) füzyon proteininin IgE reaktivitesinin tespiti

Tam alerjene kıyasla IgE bağlanması, IgE nokta blot analizi ile test edildi. Çim polen alerjisi olan hastalardan elde edilen serum, noktalı proteinlerle inkübe edildi ve bağlanmış IgE, 125I-işaretli anti-insan IgE ile tespit edildi. Şekil 4C'de gösterildiği gibi HBV\_Phlp5\_V2 (BM325) için IgE bağlanma saptanmadı.

15

Örnek 14: HBV\_Phlp6\_4xP1 (BM326) füzyon proteininin IgE reaktivitesinin tespiti

Tam alerjene kıyasla IgE bağlanması, IgE nokta blot analizi ile test edildi. Çim polen alerjisi olan hastalardan elde edilen serum, noktalı proteinlerle inkübe edildi ve bağlanmış IgE, 125I-işaretli anti-insan IgE ile tespit edildi. Şekil 4D'de gösterildiği gibi HBV\_Phlp1\_4xP1 (BM326) için IgE bağlanma saptanmadı.

20

Örnek 15: HBV\_etV1\_4xPA ve HBV\_Betv1\_2xPA2xPB (BM31) füzyon proteininin IgE reaktivitesinin tespiti

Tam alerjene kıyasla IgE bağlanması, IgE nokta blot analizi ile test edildi. Çim polen alerjisi olan hastalardan elde edilen serum, noktalı proteinlerle inkübe edildi ve bağlanmış IgE, 125I-işaretli anti-insan IgE ile tespit edildi. Şekil 5'de gösterildiği gibi her iki füzyon proteini için IgE bağlanma saptanmadı.

30

Örnek 16: Tavşan anti-r89P5 antikorları, hastanın IgE'sinin rPhl p1'e bağlanmasını bloke eder

Peptit indükeli tavşan Ig'nin, alerjik hastaların IgE antikorlarının rPhl p 1'e bağlanmasını önleme kabiliyetini belirlemek için, ELISA plakaları Vg/ml rPhl p 1 ile kaplandı, yıkandı ve bloke edildi. Plakalar, 1:100 seyreltilmiş tavşan anti-peptiti (HBV\_Phlp1\_4xP5, KLHP5), bir tavşan anti rPhl p 1 ve kontrol amaçlı olarak ilgili preimmün serumlar ile önceden inkübe edildi. Yıkamadan sonra plakalar, Phlp-1-alerjik hastalardan elde edilen insan serumları (1:3 seyreltilmiş) ile inkübe edildi ve bağlanmış IgE, fare anti-insan IgE'sinde (Pharmingen 1:1000) ve daha sonra koyun anti-fare IgG POX-kuplajında (Amersham Bioscience) 1:2000 tespit edildi. Anti-peptit antiserumlarla ön inkübasyon yoluyla elde edilen IgE bağlanmasının inhibisyon yüzdesi şu şekilde hesaplandı:  $100 - OD_i / OD_p \times 100$ .

OD<sub>i</sub> ve OD<sub>p</sub>, sırasıyla tavşan immün ve preimmün serum ile ön inkübasyon sonrası sönmeleri temsil eder. Tablo 1, anti-Phl p 1 peptid antikorlarının, 13 alerjik hastanın IgE'sinin tam rPhlp 1'e bağlanmasını önleme kapasitesini gösterir. Anti-füzyon proteini serumları, IgE'nin rPhlp I ve KLHP5'e karşı serum ile aynı ölçüde bağlanmasını engelledi. Tablo 2, 13 hastanın tamamının inhibisyonunu (% olarak) gösterir.

20

Tablo 1: tavşan anti-rPhlp 1, anti-HBV\_Phlp1\_4xP5 ve anti-KLHP5 antiserumları ile inkübasyondan sonra 13 hastanın IgE'sinin rPhlp 1'e bağlanmasının %inhibisyonu

| hasta | % inhibisyon |                |       |
|-------|--------------|----------------|-------|
|       | rPhl p 1     | HBV_Phlp1_4xP5 | KLHP5 |
| 1     | 83.63        | 86.11          | 85.17 |
| 2     | 88.74        | 95.69          | 93.85 |
| 3     | 95.66        | 96.80          | 98.42 |
| 4     | 97.43        | 97.72          | 96.29 |
| 5     | 92.77        | 90.84          | 88.45 |
| 6     | 93.56        | 91.93          | 90.07 |
| 7     | 95.00        | 94.56          | 96.84 |
| 8     | 85.25        | 89.10          | 90.05 |
| 9     | 97.07        | 104.72         | 93.73 |
| 10    | 91.55        | 103.02         | 95.47 |

|          |       |        |        |
|----------|-------|--------|--------|
| 11       | 98.85 | 102.43 | 100.49 |
| 12       | 94.01 | 92.12  | 93.91  |
| 13       | 87.75 | 59.62  | 42.98  |
| Ortalama | 92.41 | 92.59  | 89.67  |

Örnek 17: Tavşan anti-HBV Phlp2 4xP3 antikorları, hastanın IgE'sinin rPhl p2'e bağlanmasını bloke eder

- 5 Peptit indükeli tavşan Ig'nin, alerjik hastaların IgE antikorlarının rPhl p 1'e bağlanmasını önleme kabiliyetini belirlemek için, ELISA plakaları 1µg/ml rPhl p 2 ile kaplandı, yıkandı ve bloke edildi. Plakalar, 1:100 seyreltilmiş tavşan anti-peptiti (HBV\_Phlp2\_4xP3, KLHP3), bir tavşan anti rPhl p 2 ve kontrol amaçlı olarak ilgili preimmün serumlar ile önceden inkübe edildi. Yıkamadan sonra plakalar, Phlp-1-
- 10 alerjik hastalardan elde edilen insan serumları (2:3 seyreltilmiş) ile inkübe edildi ve bağlanmış IgE, fare anti-insan IgE'sinde (Pharmingen 1:1000) ve daha sonra koyun anti-fare IgG POX-kuplajında (Amersham Bioscience) 1:2000 tespit edildi. Anti-peptit antiserumlarla ön inkübasyon yoluyla elde edilen IgE bağlanmasının inhibisyon yüzdesi şu şekilde hesaplandı:  $100 - OD_i / OD_p \times 100$ .
- 15  $OD_i$  ve  $OD_p$ , sırasıyla tavşan immün ve preimmün serum ile ön inkübasyon sonrası sönmeleri temsil eder. Tablo 2, anti-Phi p 2 peptid antikorlarının, 19 alerjik hastanın IgE'sinin tam rPhl p 2'e bağlanmasını önleme kapasitesini gösterir. Anti-füzyon proteini serumları, IgE'nin rPhl p 2 ve KLHP3'e karşı serum ile aynı ölçüde bağlanmasını engelledi. Tablo 2, 19 hastanın tamamının inhibisyonunu (% olarak)
- 20 gösterir.

25 Tablo 2: tavşan anti-rPhl p 1, anti-HBV\_Phlp2\_4xP3 ve anti-KLHP3 antiserumları ile inkübasyondan sonra 19 hastanın IgE'sinin rPhl p 2'ye bağlanmasının %inhibisyonu

|       | % inhibisyon |                |       |
|-------|--------------|----------------|-------|
| hasta | rPhl p 2     | HBV_Phlp2_4xP3 | KLHP  |
| 1     |              | 98.24          | 81.36 |
| 2     |              | 97.50          | 83.90 |
| 3     | 96.46        | 98.57          | 90.58 |

|          |       |       |       |
|----------|-------|-------|-------|
| 4        |       | 98.31 | 86.77 |
| 5        |       | 96.46 | 81.17 |
| 6        |       | 99.43 | 72.45 |
| 9        | 91.25 | 91.38 | 90.44 |
| 8        |       | 95.78 | 54.49 |
| 9        |       | 98.60 | 87.55 |
| 10       |       | 95.45 | 82.68 |
| 11       | 91.36 | 96.70 | 78.21 |
| 12       |       | 98.47 | 90.21 |
| 13       |       | 97.67 | 93.20 |
| 14       |       | 96.57 | 85.64 |
| 15       |       | 97.00 | 91.35 |
| 16       | 93.73 | 98.06 | 83.62 |
| 17       |       | 95.55 | 76.27 |
| 18       |       | 95.91 | 86.49 |
| 19       |       | 95.90 | 83.99 |
| Ortalama | 93.20 | 97.19 | 83.18 |

Örnek 18: Tavşan anti-HBV Phlp5 V2 antikorumları, hastanın IgE'sinin rPhl p 5'e bağlanmasını bloke eder

- 5 Peptit indükeli tavşan Ig'nin, alerjik hastaların IgE antikorumlarının rPhlp 5'e bağlanmasını önleme kabiliyetini belirlemek için, ELISA plakaları 1µg/ml rPhl p 5 ile kaplandı, yıkandı ve bloke edildi. Plakalar, 1:100 seyreltilmiş tavşan anti-peptiti (HBV\_Phlp2\_V2), bir tavşan anti rPhl p 5 ve kontrol amaçlı olarak ilgili preimmün serumlar ile önceden inkübe edildi. Yıkamadan sonra plakalar, Phl p 5-alerjik
- 10 hastalardan elde edilen insan serumları (1:3 seyreltilmiş) ile inkübe edildi ve bağlanmış IgE, fare anti-insan IgE'sinde (Pharmingen 1:1000) ve daha sonra koyun anti-fare IgG POX-kuplajında (Amersham Bioscience) 1:2000 tespit edildi. Anti-peptit antiserumlarla ön inkübasyon yoluyla elde edilen IgE bağlanmasının inhibisyon yüzdesi şu şekilde hesaplandı:  $100 - OD_i / OD_p \times 100$ .
- 15  $OD_i$  ve  $OD_p$ , sırasıyla tavşan immün ve preimmün serum ile ön inkübasyon sonrası sönmeleri temsil eder. Tablo 3, anti-Phi p 5 peptid antikorumlarının, 16 alerjik hastanın IgE'sinin tam rPhlp 5'e bağlanmasını önleme kapasitesini gösterir. Anti-füzyon proteini serumları, IgE'nin rPhlp 5'e karşı serum ile aynı ölçüde ve KLH

peptit karışımından daha iyi bağlanmasını engelledi. Tablo 3, 16 hastanın tamamının inhibisyonunu (% olarak) gösterir.

5 Tablo 3: tavşan anti-rPhl p 1, anti-HBV\_Phlp5\_V2 ve anti-KLH peptit karışımı antiserumları ile inkübasyondan sonra 13 hastanın IgE'sinin rPhl p 5'ye bağlanmasının %inhibisyonu

| hasta    | % inhibisyon |              |               |
|----------|--------------|--------------|---------------|
|          | rPhl p 5     | HBV_Phlp5_V2 | KLHP karışımı |
| 1        | 99.00        | 96.69        | 91.74         |
| 2        | 94.57        | 94.15        | 68.42         |
| 3        | 98.98        | 95.88        | 85.74         |
| 4        | 97.39        | 88.38        | 80.23         |
| 5        | 98.95        | 93.74        | 62.33         |
| 6        | 98.52        | 93.36        | 78.82         |
| 9        | 97.22        | 91.35        | 79.94         |
| 8        | 96.02        | 89.70        | 80.14         |
| 9        | 97.09        | 88.48        | 61.11         |
| 10       | 99.30        | 84.03        | 92.92         |
| 11       | 99.50        | 94.09        | 86.46         |
| 12       | 95.45        | 88.97        | 81.31         |
| 13       | 96.22        | 93.34        | 60.87         |
| 14       | 90.86        | 94.80        | 83.02         |
| 15       | 98.45        | 94.15        | 83.60         |
| 16       | 94.68        | 92.46        | 91.77         |
| Ortalama | 97.01        | 92.10        | 79.28         |

Örnek 19: Tavşan anti-HBV\_Phlp6\_4xP1 antikorları, hastanın IgE'sinin rPhlp 6'ya bağlanmasını bloke eder

10

Peptit indükeli tavşan Ig'nin, alerjik hastaların IgE antikorlarının rPhl p6'ya bağlanmasını önleme kabiliyetini belirlemek için, ELISA plakaları 1µg/mlrPhl p 6 ile kaplandı, yıkandı ve bloke edildi. Plakalar, seyreltilmiş tavşan anti-peptiti (HBV\_Phlp6\_4xP1, KLHP1), bir tavşan anti rPhl p 6 ve kontrol amaçlı olarak ilgili preimmün serumlar ile önceden inkübe edildi. Yıkamadan sonra plakalar, Phl p 6-alerjik hastalardan elde edilen insan serumları (1:3 seyreltilmiş) ile inkübe edildi ve bağlanmış IgE, fare anti-insan IgE'sinde (Pharmingen 1:1000) ve daha sonra koyun anti-fare IgG POX-kuplajında (Amersham Bioscience) 1:2000 tespit edildi.

15

Anti-peptit antiserumlarla ön inkübasyon yoluyla elde edilen IgE bağlanmasının inhibisyon yüzdesi şu şekilde hesaplandı:  $100 - OD_i / OD_P \times 100$ .  $OD_i$  ve  $OD_P$ , sırasıyla tavşan immün ve preimmün serum ile ön inkübasyon sonrası sönmeleri temsil eder. Tablo 4, anti-Phl p 6 peptid antikörlerinin, 21 alerjik hastanın IgE'sinin tam rPhl p 6'e bağlanmasını önleme kapasitesini gösterir. Anti-füzyon proteini serümları, IgE'nin rPhl p 6 ve KLHP1'e karşı serum ile aynı ölçüde bağlanmasını engelledi. Tablo 4, 21 hastanın tamamının inhibisyonunu (% olarak) gösterir.

Tablo 4: tavşan anti-rPhlp 6, anti-HBV\_Phlp6\_4xP1 ve anti-KLHP1 antiserümları ile inkübasyondan sonra 21 hastanın IgE'sinin rPhl p 6'ya bağlanmasının %inhibisyonu

| hasta | % inhibisyon |                |       |
|-------|--------------|----------------|-------|
|       | rPhlp6       | HBV_Phlp6_4xP1 | KLHP1 |
| 1     | 96.52        | 95.96          | 95.64 |
| 2     | 88.26        | 91.20          | 88.06 |

(devam)

| hasta    | % inhibisyon |                |        |
|----------|--------------|----------------|--------|
|          | rPhl p 6     | HBV_PhIp6_4xP1 | KLHP1  |
| 3        | 95.07        | 95.39          | 94.10  |
| 4        | 82.77        | 83.74          | 81.98  |
| 5        | 96.71        | 96.35          | 95.20  |
| 6        | 95.46        | 93.38          | 92.83  |
| 7        | 90.52        | 88.07          | 86.06  |
| 8        | 86.69        | 85.14          | 83.08  |
| 9        | 89.09        | 91.56          | 89.00  |
| 10       | 97.05        | 96.48          | 97.42  |
| 11       | 86.97        | 89.19          | 84.95  |
| 12       | 37.22        | 49.14          | 44.90  |
| 13       | 75.97        | 79.19          | 75.85  |
| 14       | 91.05        | 92.13          | 87.93  |
| 15       | 89.01        | 88.25          | 85.82  |
| 16       | 92.46        | 91.82          | 91.30  |
| 17       | 78.99        | 84.13          | 77.93  |
| 18       | 47.25        | 67.02          | 67.825 |
| 19       | 93.84        | 86.62          | 79.841 |
| 20       | 58.42        | 56.69          | 71.388 |
| 21       | 39.92        | 56.69          | 67.797 |
| Ortalama | 81.39        | 83.36          | 82.81  |

Örnek 20: PreS füzyon proteinlerinin nokta leke ve ELISA ile belirlenen IgE

5 reaktivitesi

Saflaştırılmış rBet v 1, rekombinant füzyon proteinleri 4xPA-PreS, 2xPA2xPB-PreS, IgE reaktiviteleri için RAST bazlı, denatüre edici olmayan nokta leke analizleri ile test edildi. İki µg saflaştırılmış protein ve kontrol amaçları  
10 doğrultusunda HSA, nitroselüloz membran şeritlerine (Schleicher & Schuell, Dassel, Almanya) noktalandı.

Nitroselüloz şeritler, tampon A'da bloke edildi (Vrtala, J Clin Invest, 1997) ve huş ağacı poleni alerjisine sahip hastalardan alınan serum (n=50) , 1:10 oranında seyreltilmiş alerjik olmayan insanlardan alınan serum (n=3), tampon kontrolü ve  
15 pozitif kontrol (1:1000 oranında seyreltilmiş tavşan anti-rBet v 1 antiserumu) ile



inkübe edildi. Bağlı IgE antikorları, <sup>125</sup>I-etiketli anti-insan IgE antikorları (BSM Diagnostica, Viyana, Avusturya) ile, bağlı tavşan antikorları ile <sup>125</sup>I-etiketli keçi anti-tavşan antiserumu (Perkin-Elmer) ile tespit edildi ve otoradyografi ile görselleştirildi (Valenta v.d., 1992). Ayrıca, ELISA plakaları rBet v 1 ve saflaştırılmış PreS füzyon proteinleri (5µg/mL) ile kaplandı. Yukarıda tarif edildiği şekilde yıkandıktan ve bloke edildikten sonra plakalar, huş ağacı poleni alerjisi olan hastaların serumları (n = 21) ve 1:5 oranında seyreltilmiş üç alerjik olmayan kontrol serumuyla inkübe edildi. Bağlı IgE, gece boyunca 1:1000 oranında seyreltilmiş saflaştırılmış fare anti-insan IgE (BD Pharmingen) ile tespit edildi ve 1:2000 oranında seyreltilmiş HRP etiketli koyun anti-fare IgG (GE Healthcare) ile görselleştirildi. Yıkama işleminden sonra, yukarıda açıklandığı gibi renk reaksiyonu belirlendi.

Örnek 21: Alerjisi olan hastaların bazofillerinin CD203c'sinin allerjen indükeli yukarı doğru düzenlenmesi

Bilgilendirilmiş onam alındıktan sonra huş ağacı alerjisi olan hastalardan heparinize kan örnekleri alındı ve 15 dakika boyunca (37 °C) 0.001 ila 1 mg/mL arasında değişen artan konsantrasyonlarda rBet v 1, 4PA-PreS, 2PAPB-PreS, pozitif kontrol olarak bir monoklonal anti-IgE antikor (Immunotech, Marseille, Fransa) veya PBS (negatif kontrol) ile inkübe edildi. CD 203c ekspresyonu daha önce tarif edildiği gibi belirlendi.

Örnek 22: Huş ağacı poleni alerjisi olan hastalarda periferik mononükleer kan hücrelerinde lenfoproliferatif tepkiler ve sitokin indüksiyonu

Huş ağacı poleni alerjisi olan hastalardan alınan periferik mononükleer kan hücreleri (n=6) Ficoll (Amersham Biosciences, Uppsala, İsveç) yoğunluk gradyanlı santrifüjleme ile izole edildi. Daha sonra periferik mononükleer kan hücreleri, AIM V ortamında (Life Technologies, Grand Island, NY) nihai  $2 \times 10^5$  hücre/göz konsantrasyonuna kadar yeniden süspanse edildi ve azalan antijen dozları (eş molar 5µg/göz rBet v 1, PA, PB, PreS, 2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PAPB-PreSi) ile, sadece ortamla (negatif kontrol) veya IL-2 (4 IE/göz) (pozitif kontrol) ile

stimüle edildi. 6 gün sonra, proliferatif tepkiler [<sup>3</sup>H] timidin katılımı ile ölçüldü ve stimülasyon endeksleri (SI) olarak ifade edildi.

Ayrıca 17 farklı sitokin (yani, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , G-CSF, GM-CSF, MIP-1 $\beta$ , MCP-1), Bio-plex Pro Human Cytokine 17-Plex Panel (Bio-Rad Laboratories) ile üreticinin talimatlarına göre 6 günlük stimülasyondan sonra ölçüldü. Kısaca, seyreltilmemiş süpernatantlar, yakalama antikoru (Bio-Rad) olarak farklı tanelere bağlanmış anti-sitokin/kemokin fare monoklonal antikoru ile karıştırıldı. Düşük uç hassasiyetini sağlamak için 8 noktalı standart bir eğri kullanıldı. Yıkandıktan sonra, anti-sitokin biyotinlenmiş saptama antikoru eklendi. Reaksiyon, Streptavidin etiketli Fikoeritrin (PE) ve tahlil tamponu eklenerek görselleştirildi. Numuneler bir Luminex 100 cihazında (Biosource, Nivelles, Belçika) analiz edildi ve veriler Bio-Plex Manager 6.0 yazılımı kullanılarak elde edildi. Tüm numuneler tek bir çalışmada analiz edildi. Sonuçlar Şekil 10'da gösterilmektedir.

15

Örnek 23: ELISA ile rBet v 1, Bet v 1 homolog alerjenleri ve Bet v 1 türevli peptitlerin tanınması için rBet v 1 ve PreS füzyon proteinleri ile immünize edilmiş tavşan serumlarının analizi

ELISA plakaları (Maxisorp, Nunc), kızılâğaç (rAlng 1), fındık ağacı (rCora 1), elmada (rMal d1), 1 $\mu$ g/ml rBet v 1 veya homolog alerjenlerle ve ayrıca birkaç Bet v 1 türevli peptitlerle 1 $\mu$ g/ml konsantrasyonunda gece boyunca 4 °C'de kaplandı. Yukarıda tarif edildiği gibi, rBet v 1 ve alum veya CFA'ya konjüge edilmiş PreS füzyon proteinleri ile immünize edilmiş tavşanlardan serumların yıkanıp bloke edilmesinden sonra 1:500 ile 1:1 280 000 arasında değişen seri 1:2 seyreltilerinde ve bir 1:1000 konsantrasyonda inkübe edildi. HRP etiketli eşek anti-tavşan antikoru (GE Healthcare) ile bağlı tavşan IgG'si tespit edildi ve renk reaksiyonu yukarıda tarif edildiği gibi belirlendi.

30

Örnek 24: Alerjik hastaların IgE'sinin rBet v 1'e bağlanmasının inhibisyonu

Huş ağacı poleni alerjisi olan hastaların IgE'sinin rBet v 1'e bağlanmasının inhibisyonunu incelemek için bir inhibisyon ELISA kullanıldı. ELISA plakaları, gece

boyunca 4 °C'de 1µg/ml konsantrasyonunda rBet v 1 ile kaplandı. Yıkandıktan ve bloke edildikten sonra plakalar, PreS füzyon proteini 2PAPB-PreS ve anti-Bet v 1 tavşan serisine karşı yöneltilmiş tavşan serumuyla, gece boyunca 4 °C'de tavşan preimmün serumları ile karşılaştırıldığında 1:80 ve 1:160 seyreltisinde inkübe edildi. Ek bir yıkama aşamasından sonra, huş ağacı polenine alerjisi olan hastaların 1:5 oranında seyreltilmiş serumları, 4°C'de gece boyunca ilave edildi ve bağlı insan IgE'si, 1:1000 oranında seyreltilmiş alkalın fosfataz konjuge fare monoklonal anti-insan IgE antikoru (BD Pharmingen) ile tespit edildi. 2PAPB-PreS tavşan antiserum ve Bet v 1 tavşan antiserum ile ön inkübasyondan sonra IgE'nin rBet v 1'e bağlanmasının inhibisyon yüzdesi, şu şekilde hesaplandı: yüzde inhibisyon = 100 - (OD<sup>i</sup> x 100/ OD<sup>P</sup>). OD<sup>P</sup> ve OD<sup>i</sup>, sırasıyla spesifik tavşan IgG (OD<sup>i</sup> ) veya preimmün serumlar (OD<sup>P</sup>) ile ön inkübasyondan sonraki tükenmeyi temsil eder. (Şekil 12)

Örnek 25: Çim poleni alerjisi olan insan bireylerde çim polen, alerjisinin tedavisi için 4 hipoalerjenik füzyon proteininin bir karışımını içeren bir aşı formülasyonunun kullanılması

Örnek 8'de tarif edildiği gibi alüminyum hidroksit içeren SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 15, SEQ ID No.16 ve SEQ ID No. 17 olan hipoalerjenik füzyon proteinlerinin enjekte edilebilir formülasyonu hazırlandı. Klinik bir çalışma sırasında, aşı, 69 çim poleni alerjisi olan insan deneğe subkutan olarak 3 kez uygulandı. (Şekil 17)

Aşı formülasyonu ile aşılama, güçlü bir IgG immün tepkisi sağladı. Aşının ve plasebonun 3 farklı doz seviyesinde sübkütan enjeksiyonunun ardından alerjene özgü IgG, aşı formülasyonunun 3 sübkütan enjeksiyonundan önce ve sonra çalışma katılımcılarından alınan serumda ELISA ile belirlendi. (Şekil 14).

Bu amaç doğrultusunda ELISA plakaları (Nunc Maxisorp, Roskilde, Danimarka), 5 µg/ml antijen Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 ve Phl p 6 veya kontrol olarak insan serum albümini (HSA) ile 4 °C'de gece boyunca kaplandı. %0.5 Tween 20 (PT) içeren PBS ile yıkadıktan ve PT içinde% 2 w/v BSA ile bloke ettikten sonra plakalar, hastalardan alınan 1:10 ila 1:100 oranında seyreltilmiş serum, atopik olmayan bir bireyden serum veya tek başına tampondan ile 4 °C'de gece boyunca üçlü halinde inkübe edildi. Bağlı IgE antikoları, PT, %0.5 w/v BSA'da seyreltilmiş

HRP-bağlantılı anti-insan IgE antikorları ile tespit edildi. Renk gelişimi, boyama çözeltisi ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu; Sigma-Aldrich, St.Louis, Missouri, ABD) (100µl/göz) ilave edilerek gerçekleştirildi. Optik yoğunluk, 405 nm'de bir ELISA Okuyucusu kullanılarak ölçüldü. IgG değerlendirmelerinin sonuçları, Şekil 14'te gösterilmiştir.

Aşı, in-vitro T hücresi çoğalma tahlilinde (Şekil 15) belirlendiği şekilde aşı formülasyonunda mevcut olan hipoalerjenik füzyon proteinlerine yönelik ilgili herhangi bir T hücresi reaktivitesini tetiklemedi, bu da hipoalerjenik füzyon proteinlerinin T hücresi reaktivitesinin bulunmadığını göstermektedir.

T-hücresi çoğalma deneyleri, aşağıdaki prosedür kullanılarak yapıldı: Periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC), Ficoll (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, BK) yoğunluk gradyan santrifüjlemesi ile çim poleni alerjisi olan hastaların heparinli kan örneklerinden izole edildi. PBMC ( $2 \times 10^5$ ) daha sonra, nemlendirilmiş bir atmosferde 37 °C'de ve %5 CO<sub>2</sub>'de 2 mM L-glutamin (SIGMA, St. Louis, MO), 50 µM b-merkaptotanol (SIGMA) ve ml başına 0.1 mg gentamisin (SIGMA) ile takviye edilmiş 200 ul serumsuz Ultra Kültür ortamı (Bio-Whittaker, Rockland, ME) içinde 96 gözlü plakalarda (Nunclone; Nalge Nunc International, Roskilde, Danimarka) üçlü halde kültürlendi. Hücreler, aşının her bir polipeptit bileşeninin 0.25µg'sini içeren bir karışımla ve karşılaştırma için grasspollen ekstraktının eşit mol konsantrasyonlarında veya kontrol amacıyla, göz başına 4 U-Interleukin-2 (Boehringer Mannheim, Almanya) veya ortam ile stimüle edildi. 6 günlük kültürden sonra göz başına 0.5 µCi [3H]timidin (Amersham Pharmacia Biotech) eklendi ve bundan 16 saat sonra eklenen radyoaktivite, bir mikrobe sintilasyon sayacı (Wallac ADL, Freiburg, Almanya) kullanılarak sıvı sintilasyon sayımı ile ölçüldü. Ortalama cpm, üç kopyadan hesaplandı ve stimülasyon endeksleri (SI), antijen veya interlökin-2 stimülasyonu ve stimüle edilmemiş kontrol ile elde edilen cpm'nin bir kısmı olarak hesaplandı. Çoğalma tahlillerinin sonuçları, Şekil 15'te gösterilmiştir.

Aşı ile indüklenen IgG antikorları ile tedavi, tedavi indükeli IgG varlığında çim poleni alerjenleri ile stimülasyon üzerine azaltılmış proliferatif bir tepki ile gösterildiği gibi alerjene özgü T hücresi tepkisini modüle etme kabiliyetine sahiptir. (Şekil 16). Bu amaç doğrultusunda, stimülasyonun, tedaviden önce ve sonra aynı katılımcıdan toplanan serum ile birlikte 4 çim polen alerjeni Phl p 1, Phl p 2, Phl p

5, ve Phl p 6 4 (alerjen başına 0.25 µg ) karışımı ile yapılması haricinde yukarıda tarif edilen tedaviden sonra çalışma katılımcılarından izole edilen PBMC'ler ile T hücresi çoğalma deneyleri yapıldı. Deneysel kurulum ve sonuçlar, Şekil 16'da gösterilmiştir.

- 5 Bir polen odasında provokasyonun neden olduğu nazal alerji semptomlarının azalması ve titre edilmiş deri prick testi ile belirlenen deri reaktivitesinin azalması, 20 ya da 40 µg 4 polipeptidin her birini içeren 3 enjeksiyon almış hastalarda gözlemlendi ancak her bir polipeptidin 10µg'lık dozlarıyla tedaviden sonra bu parametrelerde azalma görülmedi (bkz. Şekil 19).

10

Örnek 26: Ev tozu akarı alerjisi Der p 2'den türetilen peptitlerin seçimi ve bu peptitleri kullanan PreS füzyon proteinlerinin tasarımı

5 IgE bağlayıcı olmayan Der p2 türevi peptitler, yani Der p2 Pep 1 (SEQ ID No.96), Der p2 Pep2 (SEQ ID No.97), Derp2 Pep3 (SEQ ID No. 98), Der p2 Pep4 (SEQ ID No. 99), and Der p2 Pep5 (SEQ ID No. 100) aşağıdakilere göre incelendi

- IgE bağlanma özellikleri (nokta leke deneyi)
- Der p 2'ye özgü T hücresi reaksiyonlarını indüklemeye potansiyelleri (T-hücre çoğalma tahlili)
- insan hastanın IgE'sini Der p 2'ye bloke etme kapasitesine sahip Der p 2'ye özgü antikoları indüklemeye yetenekleri. (tavşan anti-peptid IgG'si kullanılarak ELISA inhibisyonu)

25 Bu amaç doğrultusunda, peptitlerin her biri KLH'ye kimyasal olarak bağlandı. Bu eleme deneyinde KLH ve peptitlerin kimyasal eşleştirmesi kullanıldı, çünkü bu, farklı peptitlerin ilk karşılaştırmasını sağlayan, kullanımı kolay ve iyi kurulmuş ve ileri düz bir model sistemidir.

Der p 2 türevi peptitlerin IgE bağlanması, tam alerjene kıyasla IgE nokta lekesi tahlili ile test edildi. 26 ev tozu akarı alerjisi olan hastadan elde edilen serum, noktalı KLH ile konjüge edilmiş peptitler ile inkübe edildi ve bağlanmış IgE, 1251 etiketli anti-insan IgE'si ile tespit edildi. Aşağıda gösterildiği gibi 5 peptitin hiçbirinde IgE bağlanması tespit edilmedi.

Ev tozu akarı alerjisi olan hastalarından PBMC'de düşük bir lenfoproliferatif tepki indükleyen peptitleri tanımlamak için, 10 hastadan izole edilen PBMC'ler, sadece karşılaştırma için 5 Der p 2 türevi peptitler, KLH konjüge edilmiş peptitler ve vahşi tip Der p 2 ile stimüle edildi.

5 Her 10 hastanın PBMC'leri, vahşi tip Der p 2 tarafından stimüle edildi ve Der p2 Pep1, Der p2 Pep2 ve Der p2 Pep4 ile stimülasyonun üzerine çok düşük proliferasyonlar vardı veya hiç yoktu. Ancak, Der p2 Pep3 ve Der p2 Pep5 ile stimülasyon, PBMC'lerin sırasıyla 10 vakadan 4'ünde ve 10 vakadan 3'ünde anlamlı bir şekilde çoğalmasına neden oldu; bu, peptitler 3 ve 5'in önemli T  
10 hücreleri epitoplara içerdiğini gösterir.

Peptitlerin IgG'yi bloke etmeyi indükleme kabiliyetini belirlemek için, tavşanlar 5 ayrı KLH-peptit konjugatı ile immünize edildi. Daha sonra, peptit indükeli tavşan IgG'nin, alerjik hastaların IgE antikörlerinin rDer p 2'ye bağlanmasını önleme kabiliyeti ELISA ile araştırıldı. ELISA plakaları 1µg/ml rDer p 2 ile kaplandı,  
15 yıkandı ve bloke edildi.

Plakalar, 1:100 seyreltilmiş tavşan anti-peptiti (KLH-P1, KLH-P2, KLH-P3, KLH-P4 ve KLH-P5), bir tavşan anti rDer p 2 ve kontrol amaçlı olarak ilgili preimmün serumlar ile önceden inkübe edildi. Yıkamadan sonra plakalar, ev tozu akarına alerjisi olan, Der p 2 hassas hastalardan elde edilen insan serumları (1:3  
20 seyreltilmiş) ile inkübe edildi ve bağlanmış IgE, fare anti-insan IgE'sinde (Pharmingen 1:1000) ve daha sonra koyun anti-fare IgG POX-kuplajında (Amersham Bioscience) 1:2000 tespit edildi. Anti-peptit antiserumlarla ön inkübasyon yoluyla elde edilen IgE bağlanmasının inhibisyon yüzdesi şu şekilde hesaplandı:  $100 - \text{ODi} / \text{ODP} \times 100$ .

25

30

Tablo 5: Anti-Phi p 2 peptid antikollarının, 20 alerjik hastanın IgE'sinin tam rPhi p 2'e bağlanmasını önleme kapasitesi Peptitler 2, 3 ve 4 tarafından indüklenen anti-KLH-peptit serumları, IgE bağlanmasını, vahşi tip Der p 2'ye karşı sera ile aynı ölçüde bloke etti. Tablo 5, 20 hastanın tamamının inhibisyonunu (% olarak) gösterir.

| Hasta No        | Peptit 1     | Peptit 2     | Peptit 3     | Peptit 4     | Peptit 5    | Der p 2      |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
| 1               | 50.63        | 74.41        | 78.36        | 75.50        | 1.07        | 78.26        |
| 2               | 49.61        | 77.15        | 82.95        | 77.85        | 4.16        | 82.74        |
| 3               | 64.73        | 87.41        | 92.13        | 89.25        | 0.00        | 93.34        |
| 4               | 37.98        | 72.24        | 81.08        | 75.60        | 2.48        | 84.25        |
| 5               | 0.00         | 43.56        | 50.52        | 47.28        | 0.00        | 56.70        |
| 6               | 54.12        | 80.63        | 82.64        | 80.94        | 1.10        | 83.21        |
| 7               | 51.43        | 79.64        | 92.08        | 83.25        | 16.16       | 93.51        |
| 8               | 42.93        | 71.02        | 79.55        | 75.44        | 0.83        | 78.35        |
| 9               | 30.33        | 58.36        | 50.94        | 56.49        | 7.76        | 57.03        |
| 10              | 38.46        | 66.79        | 71.20        | 71.25        | 0.00        | 69.06        |
| 11              | 48.15        | 74.60        | 83.13        | 78.97        | 5.59        | 83.56        |
| 12              | 46.06        | 68.54        | 74.05        | 71.32        | 10.05       | 76.46        |
| 13              | 44.71        | 73.62        | 87.29        | 77.19        | 4.97        | 84.34        |
| 14              | 39.20        | 63.55        | 63.94        | 65.30        | 0.00        | 66.20        |
| 15              | 43.62        | 71.82        | 89.94        | 74.54        | 0.51        | 94.39        |
| 16              | 38.09        | 69.94        | 84.08        | 72.45        | 1.29        | 86.83        |
| 17              | 43.63        | 74.16        | 87.12        | 78.50        | 2.98        | 89.10        |
| 18              | 29.09        | 73.75        | 89.97        | 77.59        | 1.38        | 90.66        |
| 19              | 40.44        | 56.77        | 62.09        | 62.30        | 0.00        | 66.16        |
| 20              | 20.89        | 60.85        | 70.76        | 63.16        | 2.69        | 74.98        |
| <b>ortalama</b> | <b>40.71</b> | <b>69.94</b> | <b>77.69</b> | <b>72.71</b> | <b>3.15</b> | <b>79.46</b> |

Tablo 6: Peptitlerin seçimi için karar matrisi. Peptitler 2 ve 4, bu buluşun peptit fragmanlarının tüm gereksinimlerini karşılar.

|              | peptid, IgE bağlayıcı değildir | peptid, hiç T hücresi reaktivitesine neden olmaz ya da çok düşüktür | peptid, insan IgE'sinin Der p 2'ye bağlanmasını inhibe eden IgG'yi indükler | Peptit uygun mu? |
|--------------|--------------------------------|---|---|------------------|
| Der p2 Pep 1 | ✓                              | ✓   | X   | Hayır            |
| Der p2 Pep2  | ✓                              | ✓   | ✓   | evet             |
| Der p2 Pep3  | ✓                              | X   | ✓   | hayır            |
| Der p2 Pep4  | ✓                              | ✓   | ✓   | evet             |
| Der p2 Pep5  | ✓                              | X   | X   | hayır            |



Örnek 27: Der p 1 türevli hipoalerjenik peptitlerin seçimi

IgE-bloke edici IgG antikorlarını indüklemek için Der p 1 türevli peptitlerin tercih edilebilirliği, ELISA plakalarının, Der p 2 yerine vahşi tip Der p 1 ile kaplandığı istisna dışında örnek 26'da tarif edildiği gibi bir inhibisyon ELISA'sında 6 ev tozu akarı alerjisi olan hastadan tavşan-anti-peptidKLH antiserumları ve serumları kullanılarak belirlendi.

Tablo 7: Anti-Phi p 1 peptid antikorlarının, 6 alerjik hastanın IgE'sinin tam Der p 1'e bağlanmasını önleme kapasitesi. Peptitler 1, 2 ve 8 tarafından indüklenen anti-KLH-peptid serumlarının, IgE bağlanmasını, vahşi tip Der p 1'e karşı sera ile aynı ölçüde bloke ettiği bulundu. Tablo 7, 6 hastanın inhibisyonunu (% olarak) gösterir.

|                 | Hasta I     | Hasta II | Hasta III | Hasta IV | Hasta V | Hasta VI | ortala      |
|-----------------|-------------|----------|-----------|----------|---------|----------|-------------|
| <b>Der p 1</b>  | <b>72.9</b> | 91.3     | 80        | 90.8     | 87.5    | 89.7     | <b>85.4</b> |
| <b>peptit 1</b> | <b>50</b>   | 68.4     | 65.5      | 87.7     | 77.4    | 85.1     | <b>72.4</b> |
| <b>peptit 2</b> | 47.8        | 73.4     | 66.1      | 83.2     | 72.6    | 82.5     | <b>70.9</b> |
| <b>peptit 3</b> | 22.5        | 28.2     | 22.1      | 35.5     | 26.4    | 27.6     | <b>27.1</b> |
| <b>peptit 4</b> | 24.4        | 42.4     | 33.4      | 46.5     | 33.2    | 42       | <b>37.0</b> |
| <b>peptit 5</b> | 22.7        | 31.4     | 23.3      | 38.4     | 30.4    | 31.5     | <b>29.6</b> |
| <b>peptit 6</b> | 1.9         | 12.8     | 3.6       | 5.6      | 4.2     | 5.4      | <b>5.6</b>  |
| <b>peptit 7</b> | 30          | 51.8     | 43.5      | 67.4     | 52.1    | 59.6     | <b>50.7</b> |
| <b>peptit 8</b> | 41.1        | 65.8     | 52.8      | 76       | 66.2    | 73.9     | <b>62.6</b> |

15

20

## SEKANS LİSTESİ

- 5 <110> BiomayAG
- <120> Alerji aşısı olarak peptit taşıyıcı füzyon proteinleri
- <130> R 62042
- 10 <150> EP 11169365.1  
<151> 9.06.2011
- <160> 152
- 15 <170> PatentIn versiyonu 3.5
- <210> 1  
<211> 28  
<212> PRT
- 20 <213> Yapay Sekans  
<220>  
<223> Peptit  
<400> 1
- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Val | Glu | Lys | Gly | Ser | Asn | Pro | Asn | Tyr | Leu | Ala | Leu | Leu | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | Val | Asn | Gly | Asp | Gly | Asp | Val | Val | Ala | Val | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |
- 25 <210> 2  
<211> 32  
<212> PRT  
<213> Yapay Sekans
- 30 <220>

<223> Peptit

<400> 2

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

Pro Tyr His Phe Asp Leu Ser Gly His Ala Phe Gly Ala Met Ala Cys  
20 25 30

5

<210> 3

<211> 32

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

10

<220>

<223> Peptit

<400> 3

Ile Pro Lys Val Pro Pro Gly Pro Asn Ile Thr Ala Thr Tyr Gly Asp  
1 5 10 15

Lys Trp Leu Asp Ala Lys Ser Thr Trp Tyr Gly Lys Pro Thr Gly Cys  
20 25 30

15

<210> 4

<211> 28

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

20

<220>

<223> Peptit

<400> 4

Gly Tyr Lys Asp Val Asp Lys Pro Pro Phe Ser Gly Met Thr Gly Cys  
1 5 10 15

Gly Asn Thr Pro Ile Phe Lys Ser Gly Arg Gly Cys  
20 25

25

<210> 5

<211> 31

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

5

<220>

<223> Peptit

<400> 5

10

Cys Val Arg Tyr Thr Thr Glu Gly Gly Thr Lys Thr Glu Ala Glu Asp  
1 5 10 15

Val Ile Pro Glu Gly Trp Lys Ala Asp Thr Ser Tyr Glu Ser Lys  
20 25 30

<210> 6

<211> 34

15

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> Peptit

20

<400> 6

Val Pro Lys Val Thr Phe Thr Val Glu Lys Gly Ser Asn Glu Lys His  
1 5 10 15

Leu Ala Val Leu Val Lys Tyr Glu Gly Asp Thr Met Ala Glu Val Glu  
20 25 30

Leu Cys

25

<210> 7

<211> 33

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> Peptit

5

<400> 7

Cys Val Glu Lys Gly Ser Asn Glu Lys His Leu Ala Val Leu Val Lys  
1 5 10 15

Tyr Glu Gly Asp Thr Met Ala Glu Val Glu Leu Arg Glu His Gly Ser  
20 25 30

Asp

10

<210> 8

<211> 33

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

15

<220>

<223> Peptit

<400> 8

Arg Glu His Gly Ser Asp Glu Trp Val Ala Met Thr Lys Gly Glu Gly  
1 5 10 15

Gly Val Trp Thr Phe Asp Ser Glu Glu Pro Leu Gln Gly Pro Phe Asn  
20 25 30

20

Cys

<210> 9

<211> 32

<212> PRT

25

<213> Yapay Sekans

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Peptit

&lt;400&gt; 9

5

Cys Phe Arg Phe Leu Thr Glu Lys Gly Met Lys Asn Val Phe Asp Asp  
 1 5 10 15

Val Val Pro Glu Lys Tyr Thr Ile Gly Ala Thr Tyr Ala Pro Glu Glu  
 20 25 30

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 32

10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay Sekans

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Peptit

15

&lt;400&gt; 10

Gly Lys Ala Thr Thr Glu Glu Gln Lys Leu Ile Glu Asp Val Asn Ala  
 1 5 10 15

Ser Phe Arg Ala Ala Met Ala Thr Thr Ala Asn Val Pro Pro Ala Asp  
 20 25 30

&lt;210&gt; 11

20

&lt;211&gt; 35

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay Sekans

&lt;220&gt;

25

&lt;223&gt; Peptit

&lt;400&gt; 11

Tyr Lys Thr Phe Glu Ala Ala Phe Thr Val Ser Ser Lys Arg Asn Leu  
 1 5 10 15

Ala Asp Ala Val Ser Lys Ala Pro Gln Leu Val Pro Lys Leu Asp Glu  
 20 25 30

Val Tyr Asn  
 35

<210> 12

<211> 33

5

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> Peptit

10

<400> 12

Ala Ala Asp His Ala Ala Pro Glu Asp Lys Tyr Glu Ala Phe Val Leu  
 1 5 10 15

His Phe Ser Glu Ala Leu Arg Ile Ile Ala Gly Thr Pro Glu Val His  
 20 25 30

Ala

15

<210> 13

<211> 33

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

20

<220>

<223> Peptit

<400> 13

Asp Ala Val Ser Lys Ala Pro Gln Leu Val Pro Lys Leu Asp Glu Val  
 1 5 10 15

Tyr Asn Ala Ala Tyr Asn Ala Ala Asp His Ala Ala Pro Glu Asp Lys  
 20 25 30

Tyr

<210> 14

<211> 294

5 <212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> Peptit

10

<400> 14

Met Val Arg Tyr Thr Thr Glu Gly Gly Thr Lys Thr Glu Ala Glu Asp  
 1 5 10 15

Val Ile Pro Glu Gly Trp Lys Ala Asp Thr Ser Tyr Glu Ser Lys Val  
 20 25 30

Arg Tyr Thr Thr Glu Gly Gly Thr Lys Thr Glu Ala Glu Asp Val Ile  
 35 40 45

Pro Glu Gly Trp Lys Ala Asp Thr Ser Tyr Glu Ser Lys Gly Gly Trp  
 50 55 60

Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn  
 65 70 75 80

Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala  
 85 90 95

Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp  
 100 105 110



Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr  
 115 120 125

Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile  
 130 135 140

Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln  
 145 150 155 160

Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His  
 165 170 175

Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln  
 180 185 190

Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser  
 195 200 205

Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile  
 210 215 220

Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Val Arg Tyr Thr Thr Glu  
 225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Thr Glu Ala Glu Asp Val Ile Pro Glu Gly Trp Lys  
 245 250 255

Ala Asp Thr Ser Tyr Glu Ser Lys Val Arg Tyr Thr Thr Glu Gly Gly  
 260 265 270

Thr Lys Thr Glu Ala Glu Asp Val Ile Pro Glu Gly Trp Lys Ala Asp  
 275 280 285

Thr Ser Tyr Glu Ser Lys  
 290

<210> 15

5 <211> 298

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

10 <223> Peptit

<400> 15

Met Phe Arg Phe Leu Thr Glu Lys Gly Met Lys Asn Val Phe Asp Asp  
 1 5 10 15  
  
 Val Val Pro Glu Lys Tyr Thr Ile Gly Ala Thr Tyr Ala Pro Glu Glu  
 20 25 30  
  
 Phe Arg Phe Leu Thr Glu Lys Gly Met Lys Asn Val Phe Asp Asp Val  
 35 40 45  
  
 Val Pro Glu Lys Tyr Thr Ile Gly Ala Thr Tyr Ala Pro Glu Glu Gly  
 50 55 60  
  
 Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val  
 65 70 75 80  
  
 Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe  
 85 90 95  
  
 Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp  
 100 105 110  
  
 His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly  
 115 120 125  
  
 Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln  
 130 135 140  
  
 Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn  
 145 150 155 160  
  
 Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp  
 165 170 175  
  
 Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala  
 180 185 190  
  
 Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser  
 195 200 205  
  
 Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser  
 210 215 220  
  
 Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Phe Arg Phe Leu  
 225 230 235 240  
  
 Thr Glu Lys Gly Met Lys Asn Val Phe Asp Asp Val Val Pro Glu Lys  
 245 250 255  
  
 Tyr Thr Ile Gly Ala Thr Tyr Ala Pro Glu Glu Phe Arg Phe Leu Thr  
 260 265 270  
  
 Glu Lys Gly Met Lys Asn Val Phe Asp Asp Val Val Pro Glu Lys Tyr  
 275 280 285  
  
 Thr Ile Gly Ala Thr Tyr Ala Pro Glu Glu  
 290 295

<210> 16  
 <211> 307  
 <212> PRT  
 <213> Yapay Sekans

5

<220>  
 <223> Peptit  
 <400> 16

Met Glu Ala Ala Phe Asn Asp Ala Ile Lys Ala Ser Thr Gly Gly Ala  
 1                    5                    10                    15

Tyr Glu Ser Tyr Lys Phe Ile Pro Ala Leu Glu Ala Ala Val Lys Ala  
                   20                    25                    30

Glu Glu Val Lys Val Ile Pro Ala Gly Glu Leu Gln Val Ile Glu Lys  
                   35                    40                    45

Val Asp Ala Ala Phe Lys Val Ala Ala Thr Ala Ala Asn Ala Ala Pro  
                   50                    55                    60

Ala Asn Asp Lys Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly  
 65                    70                    75                    80

Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln  
                   85                    90                    95

Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe  
                   100                    105                    110

Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly  
                   115                    120                    125

Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp  
                   130                    135                    140

Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro  
 145                    150                    155                    160

Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser  
                   165                    170                    175

Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr  
                   180                    185                    190

Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe  
                   195                    200                    205

10

Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile  
 210 215 220

Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr  
 225 230 235 240

Asn Ala Asp Leu Gly Tyr Gly Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Ala  
 245 250 255

Gly Tyr Thr Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Glu Ala Ala Pro Ala

260

265

270

Gly Lys Ala Thr Thr Glu Glu Gln Lys Leu Ile Glu Lys Ile Asn Ala  
 275 280 285

Gly Phe Lys Ala Ala Leu Ala Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro Ala Asp  
 290 295 300

Lys Tyr Arg  
 305

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 305

5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay Sekans

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Peptit

10

&lt;400&gt; 17

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

Gly Lys Ala Thr Thr Glu Glu Gln Lys Leu Ile Glu Asp Val Asn Ala  
 275 280 285

Ser Phe Arg Ala Ala Met Ala Thr Thr Ala Asn Val Pro Pro Ala Asp  
 290 295 300

Lys  
 305

<210> 18

<211> 346

<212> PRT

5 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> Peptit

10 <400> 18

Leu Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile  
 1 5 10 15

Glu Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe Pro Glu  
 20 25 30

Gly Pro Phe Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Leu Phe Pro Lys  
 35 40 45

Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile Glu Gly Asn Gly  
 50 55 60

Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Pro Glu Gly Pro Phe Lys Tyr  
 65 70 75 80

Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys  
 85 90 95

Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro  
 100 105 110

Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp  
 115 120 125

Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val  
 130 135 140

Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile  
 145 150 155 160

Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr  
 165 170 175

Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr  
180 185 190

Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp  
195 200 205

Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly  
210 215 220

Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala  
225 230 235 240

Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp  
245 250 255

Pro Val Thr Asn Leu Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser  
260 265 270

Val Glu Asn Ile Glu Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile  
275 280 285

Ser Pro Glu Gly Pro Phe Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Leu  
290 295 300

Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile Glu  
305 310 315 320

Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Pro Glu Gly Pro  
325 330 335

Phe Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu  
340 345

<210> 19

5

<211> 349

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

10

<223> Peptit

<400> 19

Leu Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile  
 1 5 10 15

Glu Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe Pro Glu  
 20 25 30

Gly Pro Phe Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Leu Phe Pro Lys  
 35 40 45

Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile Glu Gly Asn Gly  
 50 55 60

Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Pro Glu Gly Pro Phe Lys Tyr  
 65 70 75 80

Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys  
 85 90 95

Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro  
 100 105 110

Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp  
 115 120 125

Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val  
 130 135 140

Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile  
 145 150 155 160

Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr  
 165 170 175

Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr  
 180 185 190

Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp  
 195 200 205

Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly  
 210 215 220

Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala  
 225 230 235 240

Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp  
 245 250 255

Pro Val Thr Asn Pro Glu Gly Phe Pro Phe Lys Tyr Val Asp Arg Val  
 260 265 270

Asp Glu Val Asp His Thr Asn Phe Lys Tyr Asn Tyr Ser Val Ile Glu  
 275 280 285

Gly Gly Pro Ile Gly Asp Thr Leu Glu Lys Ile Ser Asn Glu Ile Lys  
 290 295 300



Ile Pro Glu Gly Phe Pro Phe Lys Tyr Val Asp Arg Val Asp Glu Asp  
 305 310 315 320

His Thr Asn Phe Lys Tyr Asn Tyr Ser Val Ile Glu Gly Gly Pro Ile  
 325 330 335

Gly Asp Thr Leu Glu Lys Ile Ser Asn Glu Ile Lys Ile  
 340 345

<210> 20

<211> 307

<212> PRT

5 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> Peptit

10 <400> 20

Met Ala Asp Leu Gly Tyr Gly Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Ala  
 1 5 10 15

Gly Tyr Thr Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Glu Ala Ala Pro Ala  
 20 25 30

Gly Lys Ala Thr Thr Glu Glu Gln Lys Leu Ile Glu Lys Ile Asn Ala  
 35 40 45

Gly Phe Lys Ala Ala Leu Ala Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro Ala Asp  
 50 55 60

Lys Tyr Arg Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr  
65 70 75 80

Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu  
85 90 95

Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn  
100 105 110

Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala  
115 120 125

Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser  
130 135 140

Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro  
145 150 155 160

Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro  
165 170 175

Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala  
180 185 190

Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro  
195 200 205

Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala  
210 215 220

Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn  
225 230 235 240

Glu Ala Ala Phe Asn Asp Ala Ile Lys Ala Ser Thr Gly Gly Ala Tyr  
245 250 255

Glu Ser Tyr Lys Phe Ile Pro Ala Leu Glu Ala Ala Val Lys Ala Glu  
260 265 270

Glu Val Lys Val Ile Pro Ala Gly Glu Leu Gln Val Ile Glu Lys Val  
275 280 285

Asp Ala Ala Phe Lys Val Ala Ala Thr Ala Ala Asn Ala Ala Pro Ala  
290 295 300

Asn Asp Lys  
305

<210> 21

5 <211> 173

<212> PRT

<213> Hepatit B virüsü

&lt;400&gt; 21

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

5

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay Sekans

10

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Peptit

&lt;400&gt; 22

Ala Thr Thr Glu Glu Gln Lys Leu Ile Glu Lys Ile Asn Ala Gly Phe  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Leu Ala Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro Ala Asp Lys Tyr  
 20 25 30

Arg

<210> 23

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Alt a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10 <400> 23

Ala Pro Leu Glu Ser Arg Gln Asp Thr Ala Ser Cys Pro Val Thr Thr  
 1 5 10 15

Glu Gly Asp Tyr Val Trp Lys Ile Ser Glu Phe Tyr Gly Arg Lys Pro  
 20 25 30

Glu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser Leu  
 35 40

<210> 24

<211> 37

<212> PRT

15 <213> Yapay

<220>

<223> Alt a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

20 <400> 24

Gly Phe Asn Ile Lys Ala Thr Asn Gly Gly Thr Leu Asp Phe Thr Cys  
 1 5 10 15

Ser Ala Gln Ala Asp Lys Leu Glu Asp His Lys Trp Tyr Ser Cys Gly  
 20 25 30

Glu Asn Ser Phe Met 35

<210> 25  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Yapay

5

<220>  
 <223> Alt a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 25

Glu Asn Ser Phe Met Asp Phe Ser Phe Asp Ser Asp Arg Ser Gly Leu  
 1 5 10 15

10

Leu Leu Lys Gln Lys Val Ser Asp Asp Ile Thr Tyr Val Ala  
 20 25 30

<210> 26  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Yapay

15

<220>  
 <223> Alt a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 26

20

Thr Ala Thr Leu Pro Asn Tyr Cys Arg Ala Gly Gly Asn Gly Pro Lys  
 1 5 10 15

Asp Phe Val Cys Gln Gly Val Ala Asp Ala Tyr Ile Thr Leu Val Thr  
 20 25 30

Leu Pro Lys Ser Ser  
 35

<210> 27  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Yapay

25

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Alt a 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

&lt;400&gt; 27

5

Met His Ser Ser Asn Asn Phe Phe Lys Asp Asn Ile Phe Arg Ser Leu  
 1 5 10 15

Ser Lys Glu Asp Pro Asp Tyr Ser Arg Asn Ile Glu Gly Gln Val Ile  
 20 25 30

Arg Leu His Trp Asp Trp Ala Gln  
 35 40

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 40

10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Alt a 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

15

&lt;400&gt; 28

Leu Leu Met Leu Ser Ala Lys Arg Met Lys Val Ala Phe Lys Leu Asp  
 1 5 10 15

Ile Glu Lys Asp Gln Arg Val Trp Asp Arg Cys Thr Ala Asp Asp Leu  
 20 25 30

Lys Gly Arg Asn Gly Phe Lys Arg  
 35 40

&lt;210&gt; 29

20

&lt;211&gt; 40

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

&lt;220&gt;

<223> Alt a 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 29

Cys Leu Gln Phe Thr Leu Tyr Arg Pro Arg Asp Leu Leu Ser Leu Leu  
1 5 10 15

Asn Glu Ala Phe Phe Ser Ala Phe Arg Glu Asn Arg Glu Thr Ile Ile  
20 25 30

Asn Thr Asp Leu Glu Tyr Ala Ala  
35 40

5

<210> 30

<211> 40

<212> PRT

10

<213> Yapay

<220>

<223> Alt a 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

15

<400> 30

Lys Ser Ile Ser Met Ala Arg Leu Glu Asp Leu Trp Lys Glu Tyr Gln  
1 5 10 15

Lys Ile Phe Pro Ser Ile Gln Val Ile Thr Ser Ala Phe Arg Ser Ile  
20 25 30

Glu Pro Glu Leu Thr Val Tyr Thr  
35 40

20

<210> 31

<211> 30

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

25

<223> Alt a 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 31

```

Cys Leu Lys Lys Ile Glu Ala Ser Phe Glu Leu Ile Glu Glu Asn Gly
 1      5      10     15
Asp Pro Lys Ile Thr Ser Glu Ile Gln Leu Leu Lys Ala Ser
      20     25     30

```

5 <210> 32

<211> 34

<212> PRT

<213> Yapay

10 <220>

<223> Alt a 6 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 32

```

Met Thr Ile Thr Lys Ile His Ala Arg Ser Val Tyr Asp Ser Arg Gly
 1      5      10     15
Asn Pro Thr Val Glu Val Asp Ile Val Thr Glu Thr Gly Leu His Arg
      20     25     30

```

15

Ala lie

<210> 33

<211> 40

20 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Alt a 6 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

25

<400> 33



Val Thr Glu Thr Gly Leu His Arg Ala Ile Val Pro Ser Gly Ala Ser  
 1 5 10 15

Thr Gly Ser His Glu Ala Cys Glu Leu Arg Asp Gly Asp Lys Ser Lys  
 20 25 30

Trp Gly Gly Lys Gly Val Thr Lys  
 35 40

<210> 34

<211> 42

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Alt a 6 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 34

Ala Pro Ala Leu Ile Lys Glu Lys Leu Asp Val Lys Asp Gln Ser Ala  
 1 5 10 15

Val Asp Ala Phe Leu Asn Lys Leu Asp Gly Thr Thr Asn Lys Thr Asn  
 20 25 30

Leu Gly Ala Asn Ala Ile Leu Gly Val Ser  
 35 40

15 <210> 35

<211> 41

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Alt a 6 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 35

Glu Lys Gly Val Pro Leu Tyr Ala His Ile Ser Asp Leu Ala Gly Thr  
 1 5 10 15

Lys Lys Pro Tyr Val Leu Pro Val Pro Phe Gln Asn Val Leu Asn Gly  
 20 25 30

Gly Ser His Ala Gly Gly Arg Leu Ala  
 35 40

<210> 36

<211> 40

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Alt a 6 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 36

Cys Glu Ala Pro Thr Phe Ser Glu Ala Met Arg Gln Gly Ala Glu Val  
 1 5 10 15

Tyr Gln Lys Leu Lys Ala Leu Ala Lys Lys Thr Tyr Gly Gln Ser Ala  
 20 25 30

Gly Asn Val Gly Asp Glu Gly Gly  
 35 40

15 <210> 37

<211> 40

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Alt a 6 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 37

Ile Lys Ile Ala Met Asp Val Ala Ser Ser Glu Phe Tyr Lys Ala Asp  
 1 5 10 15

Glu Lys Lys Tyr Asp Leu Asp Phe Lys Asn Pro Asp Ser Asp Lys Ser  
 20 25 30

Lys Trp Leu Thr Tyr Glu Gln Leu  
 35 40

<210> 38

5 <211> 40

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10 <223> Alt a 6 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 38

Val Ser Ile Glu Asp Pro Phe Ala Glu Asp Asp Trp Glu Ala Trp Ser  
 1 5 10 15

Tyr Phe Phe Lys Thr Tyr Asp Gly Gln Ile Val Gly Asp Asp Leu Thr  
 20 25 30

Val Thr Asn Pro Glu Phe Ile Lys  
 35 40

15

<210> 39

<211> 40

<212> PRT

<213> Yapay

20

<220>

<223> Alt a 6 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 39

25

Ala Lys Asp Ala Phe Gly Ala Gly Trp Gly Val Met Val Ser His Arg  
 1 5 10 15

Ser Gly Glu Thr Glu Asp Val Thr Ile Ala Asp Ile Val Val Gly Leu  
 20 25 30

Arg Ser Gly Gln Ile Lys Thr Gly  
 35 40

<210> 40

<211> 38

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Alt a 6 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 40

Ala Pro Ala Arg Ser Glu Arg Leu Ala Lys Leu Asn Gln Ile Leu Arg  
 1 5 10 15

Ile Glu Glu Glu Leu Gly Asp Asn Ala Val Tyr Ala Gly Asn Asn Phe  
 20 25 30

Arg Thr Ala Val Asn Leu  
 35

15

<210> 41

<211> 40

<212> PRT

<213> Yapay

20

<220>

<223> Amb a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 41

Glu Ile Leu Pro Val Asn Glu Thr Arg Arg Leu Thr Thr Ser Gly Ala  
 1 5 10 15

Tyr Asn Ile Ile Asp Gly Cys Trp Arg Gly Lys Ala Asp Trp Ala Glu  
 20 25 30

Asn Arg Lys Ala Leu Ala Asp Cys  
 35 40

<210> 42

<211> 41

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Amb a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 42

Gly Gly Lys Asp Gly Asp Ile Tyr Thr Val Thr Ser Glu Leu Asp Asp  
 1 5 10 15

Asp Val Ala Asn Pro Lys Glu Gly Thr Leu Arg Phe Gly Ala Ala Gln  
 20 25 30

Asn Arg Pro Leu Trp Ile Ile Phe Glu  
 35 40

<210> 43

15

<211> 31

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20

<223> Amb a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 43

Ile Arg Leu Asp Lys Glu Met Val Val Asn Ser Asp Lys Thr Ile Asp  
 1 5 10 15

Gly Arg Gly Ala Lys Val Glu Ile Ile Asn Ala Gly Phe Thr Leu  
 20 25 30

<210> 44

<211> 41

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Amb a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 44

Asn Val Ile Ile His Asn Ile Asn Met His Asp Val Lys Val Asn Pro  
 1 5 10 15

Gly Gly Leu Ile Lys Ser Asn Asp Gly Pro Ala Ala Pro Arg Ala Gly  
 20 25 30

Ser Asp Gly Asp Ala Ile Ser Ile Ser  
 35 40

15

<210> 45

<211> 39

<212> PRT

<213> Yapay

20

<220>

<223> Amb a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 45

Gly Thr Thr Arg Leu Thr Val Ser Asn Ser Leu Phe Thr Gln His Gln  
 1 5 10 15

Phe Val Leu Leu Phe Gly Ala Gly Asp Glu Asn Ile Glu Asp Arg Gly  
 20 25 30

Met Leu Ala Thr Val Ala Phe  
 35

<210> 46

<211> 37

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Amb a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 46

Asn Thr Phe Thr Asp Asn Val Asp Gln Arg Met Pro Arg Cys Arg His  
 1 5 10 15

Gly Phe Phe Gln Val Val Asn Asn Asn Tyr Asp Lys Trp Gly Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Ile Gly Gly Ser  
 35

15 <210> 47

<211> 46

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Amb a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 47

Ile Leu Ser Gln Gly Asn Arg Phe Cys Ala Pro Asp Glu Arg Ser Lys  
 1 5 10 15

Lys Asn Val Leu Gly Arg His Gly Glu Ala Ala Ala Glu Ser Met Lys  
 20 25 30

Trp Asn Trp Arg Thr Asn Lys Asp Val Leu Glu Asn Gly Ala  
 35 40 45

<210> 48

<211> 41

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Amb a 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 48

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

Ala Glu Pro Gly Glu Ser Ala Leu Ser Leu Thr Ser Ser Ala Gly Val  
 20 25 30

Leu Ser Cys Gln Pro Gly Ala Pro Cys  
 35 40

15

<210> 49

<211> 44

<212> PRT

<213> Yapay

20

<220>

<223> Art v 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 49



Ser Lys Leu Cys Glu Lys Thr Ser Lys Thr Tyr Ser Gly Lys Cys Asp  
 1 5 10 15

Asn Lys Lys Cys Asp Lys Lys Cys Ile Glu Trp Glu Lys Ala Gln His  
 20 25 30

Gly Ala Cys His Lys Arg Glu Ala Gly Lys Glu Ser  
 35 40

<210> 50

<211> 31

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Art v 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 50

Ser Cys Phe Cys Tyr Phe Asp Cys Ser Lys Ser Pro Pro Gly Ala Thr  
 1 5 10 15

Pro Ala Pro Pro Gly Ala Ala Pro Pro Pro Ala Ala Gly Gly Ser  
 20 25 30

15

<210> 51

<211> 41

<212> PRT

<213> Yapay

20

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Art v 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

&lt;400&gt; 51

5

Ala Pro Pro Pro Ala Ala Gly Gly Ser Pro Ser Pro Pro Ala Asp Gly  
 1 5 10 15

Gly Ser Pro Pro Pro Pro Ala Asp Gly Gly Ser Pro Pro Val Asp Gly  
 20 25 30

Gly Ser Pro Pro Pro Pro Ser Thr His  
 35 40

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 38

10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Can f 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

15

&lt;400&gt; 52

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

Trp Tyr Leu Lys Ala Met Thr Ala Asp Gln Glu Val Pro Glu Lys Pro  
 20 25 30

Asp Ser Val Thr Pro Met

35

20

&lt;210&gt; 53

&lt;211&gt; 40

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Can f 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

5 &lt;400&gt; 53

```

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

```

```

Glu Ala Lys Ile Thr Met Leu Thr Asn Gly Gln Cys Gln Asn Ile Thr
                20           25           30

```

```

Val Val Leu His Lys Thr Ser Glu
                35           40

```

&lt;210&gt; 54

10 &lt;211&gt; 41

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

&lt;220&gt;

15 &lt;223&gt; Can f 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

&lt;400&gt; 54

```

Cys Gln Asn Ile Thr Val Val Leu His Lys Thr Ser Glu Pro Gly Lys
1           5           10           15

```

```

Tyr Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Arg Val Val Phe Ile Gln Pro Ser Pro
                20           25           30

```

```

Val Arg Asp His Tyr Ile Leu Tyr Cys
                35           40

```

20

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 40

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

25

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Can f 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

&lt;400&gt; 55

5

Gln Pro Ser Pro Val Arg Asp His Tyr Ile Leu Tyr Cys Glu Gly Glu  
 1 5 10 15

Leu His Gly Arg Gln Ile Arg Met Ala Lys Leu Leu Gly Arg Asp Pro  
 20 25 30

Glu Gln Ser Gln Glu Ala Leu Glu  
 35 40

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 40

10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Can f 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

15

&lt;400&gt; 56

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

Ser Arg Ala Lys Gly Leu Asn Gln Glu Ile Leu Glu Leu Ala Gln Ser  
 20 25 30

Glu Thr Cys Ser Pro Gly Gly Gln  
 35 40

&lt;210&gt; 57

20

&lt;211&gt; 40

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

&lt;220&gt;

25

&lt;223&gt; Can f 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

&lt;400&gt; 57

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Glu | Gly | Asn | His | Glu | Glu | Pro | Gln | Gly | Gly | Leu | Glu | Glu | Leu | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Gly | Arg | Trp | His | Ser | Val | Ala | Leu | Ala | Ser | Asn | Lys | Ser | Asp | Leu | Ile |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Trp | Gly | His | Phe | Arg | Val |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     |     |     |     |

5

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 40

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

10

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Can f 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

&lt;400&gt; 58

15

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Pro | Trp | Gly | His | Phe | Arg | Val | Phe | Ile | His | Ser | Met | Ser | Ala | Lys | Asp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Gly | Asn | Leu | His | Gly | Asp | Ile | Leu | Ile | Pro | Gln | Asp | Gly | Gln | Cys | Glu |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Lys | Val | Ser | Leu | Thr | Ala | Phe | Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 38

20

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

5 <223> Can f 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 59

Cys Glu Lys Val Ser Leu Thr Ala Phe Lys Thr Ala Thr Ser Asn Lys  
1 5 10 15

Phe Asp Leu Glu Tyr Trp Gly His Asn Asp Leu Tyr Leu Ala Glu Val  
20 25 30

Asp Pro Lys Ser Tyr Leu  
35

10

<210> 60

<211> 39

<212> PRT

<213> Yapay

15

<220>

<223> Can f 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 60

20

Asn Asp Leu Tyr Leu Ala Glu Val Asp Pro Lys Ser Tyr Leu Ile Leu  
1 5 10 15

Tyr Met Ile Asn Gln Tyr Asn Asp Asp Thr Ser Leu Val Ala His Leu  
20 25 30

Met Val Arg Asp Leu Ser Arg  
35

<210> 61

<211> 42

25 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Can f 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

5

<400> 61

Val Arg Asp Leu Ser Arg Gln Gln Asp Phe Leu Pro Ala Phe Glu Ser  
1 5 10 15

Val Cys Glu Asp Ile Gly Leu His Lys Asp Gln Ile Val Val Leu Ser  
20 25 30

10

<210> 62

<211> 34

<212> PRT

<213> Yapay

15

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 62

Asp Asp Asp Arg Cys Gln Gly Ser Arg Asp  
35 40

20

<210> 62

<211> 34

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 62

30

Glu Ala His Gln Ser Glu Ile Ala His Arg Phe Asn Asp Leu Gly Glu  
 1 5 10 15

Glu His Phe Arg Gly Leu Val Leu Val Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln  
 20 25 30

Gln Cys

<210> 63

<211> 35

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 63

Cys Thr Val Ala Ser Leu Arg Asp Lys Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys  
 1 5 10 15

Cys Glu Lys Lys Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys  
 20 25 30

Asp Asp Asn  
 35

15

<210> 64

<211> 30

<212> PRT

<213> Yapay

20

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 64





<210> 67

<211> 30

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10 <400> 67

Leu Ala Lys Glu Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Thr Asp  
1 5 10 15

Asp Pro Pro Ala Cys Tyr Ala His Val Phe Asp Glu Phe Lys  
20 25 30

<210> 68

<211>30

15 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

20

<400> 68

Glu Lys Gln Ile Lys Lys Gln Ser Ala Leu Val Glu Leu Leu Lys His  
1 5 10 15

Lys Pro Lys Ala Thr Glu Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Gly  
20 25 30

<210> 69

25 <211> 30

<212> PRT

<213> Yapay



<210> 71

<211> 41

<212> PRT

<213> Yapay

5

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 71

10

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Gly Phe Gly Gln Leu Val  
1 5 10 15

Thr Pro Glu Ala Asp Ala Met Cys Thr Ala Phe His Glu Asn Glu Gln  
20 25 30

Arg Phe Leu Gly Lys Tyr Leu Tyr Glu  
35 40

<210>72

<211> 42

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

20

<400> 72

Glu Glu Tyr Lys Gly Val Phe Thr Glu Cys Cys Glu Ala Ala Asp Lys  
1 5 10 15

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

Ala Ser Ser Ala Lys Glu Arg Leu Lys Cys  
35 40

<210> 73

<211> 38

<212> PRT

<213> Yapay

5

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 73

10

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

Val Ala Arg Leu Ser Gln Lys Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Ile  
20 25 30

Ser Lys Leu Val Thr Asp  
35

<210>74

<211>38

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

20

<400> 74

Phe Ala Glu Ile Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Ala Lys Ile His Lys  
1 5 10 15

Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp  
20 25 30

Leu Ala Lys Tyr Ile Cys  
35

<210> 75

<211> 38

<212> PRT

<213> Yapay

5

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 75

10

Cys Gly Lys Pro Val Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ser Glu Val Glu  
1 5 10 15

Arg Asp Glu Leu Pro Ala Asp Leu Pro Pro Leu Ala Val Asp Phe Val  
20 25 30

Glu Asp Lys Glu Val Cys  
35

<210> 76

<211> 42

15

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Fel d 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

20

<400> 76

Cys Glu Leu Phe Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Leu  
1 5 10 15

Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu  
20 25 30

Val Glu Val Ser Arg Ser Leu Gly Lys Val  
35 40

25

<210> 77



Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Gln  
 1 5 10 15

Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Ser Ala Glu Thr Phe Thr  
 20 25 30

Phe His Ala Asp Leu Cys Thr Leu Pro Glu  
 35 40

<210> 79

<211> 40

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Ole e 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 79

Glu Asp Ile Pro Gln Pro Pro Val Ser Gln Phe His Ile Gln Gly Gln  
 1 5 10 15

Val Tyr Cys Asp Thr Cys Arg Ala Gly Phe Ile Thr Glu Leu Ser Glu  
 20 25 30

Phe Ile Pro Gly Ala Ser Leu Arg  
 35 40

15

<210> 80

<211> 31

<212> PRT

<213> Yapay

20

<220>

<223> Ole e 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 80



Gly Ala Ser Leu Arg Leu Gln Cys Lys Asp Lys Glu Asn Gly Asp Val  
 1 5 10 15

Thr Phe Thr Glu Val Gly Tyr Thr Arg Ala Glu Gly Leu Tyr Ser  
 20 25 30

<210> 81

<211> 37

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Ole e 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 81

Gly Leu Tyr Ser Met Leu Val Glu Arg Asp His Lys Asn Glu Phe Cys  
 1 5 10 15

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

Thr Glu Gly Trp Ala  
 35

<210> 82

15 <211> 35

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20 <223> Ole e 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 82

Gly Arg Lys Asp Cys Asn Glu Ile Pro Thr Glu Gly Trp Ala Lys Pro  
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Phe Lys Leu Asn Thr Val Asn Gly Thr Thr Arg Thr Val  
 20 25 30

Asn Pro Leu  
 35

<210> 83

<211> 39

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Ole e 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 83

Leu Asn Thr Val Asn Gly Thr Thr Arg Thr Val Asn Pro Leu Gly Phe  
 1 5 10 15

Phe Lys Lys Glu Ala Leu Pro Lys Cys Ala Gln Val Tyr Asn Lys Leu  
 20 25 30

Gly Met Tyr Pro Pro Asn Met  
 35

<210> 84

15 <211> 30

<212> PRT

<213> Yapay

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Par j 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

&lt;400&gt; 84

5

Gly Glu Glu Ala Cys Gly Lys Val Val Gln Asp Ile Met Pro Cys Leu  
 1                    5                    10                    15

His Phe Val Lys Gly Glu Glu Lys Glu Pro Ser Lys Glu Cys  
                   20                    25                    30

&lt;210&gt; 85

&lt;211&gt; 36

10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Par j 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

15

&lt;400&gt; 85

Cys Leu His Phe Val Lys Gly Glu Glu Lys Glu Pro Ser Lys Glu Cys  
 1                    5                    10                    15

Cys Ser Gly Thr Lys Lys Leu Ser Glu Glu Val Lys Thr Thr Glu Gln  
                   20                    25                    30

Lys Arg Glu Ala  
                   35

20

&lt;210&gt; 86

&lt;211&gt; 37

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

25

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Par j 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 86

```

Cys Cys Ser Gly Thr Lys Lys Leu Ser Glu Glu Val Lys Thr Thr Glu
1          5          10          15

Gln Lys Arg Glu Ala Cys Lys Cys Ile Val Arg Ala Thr Lys Gly Ile
          20          25          30

Ser Gly Ile Lys Asn
          35

```

<210> 87

<211> 37

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Par j 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 87

```

Glu Leu Val Ala Glu Val Pro Lys Lys Cys Asp Ile Lys Thr Thr Leu
1          5          10          15

Pro Pro Ile Thr Ala Asp Phe Asp Cys Ser Lys Ile Gln Ser Thr Ile
          20          25          30

Phe Arg Gly Tyr Tyr
          35

```

15

<210> 88

<211> 30

<212> PRT

<213> Yapay

20

<220>

<223> Der p 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 88

Thr Asn Ala Cys Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu Ile Asp Leu  
 1 5 10 15

Arg Gln Met Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly  
 20 25 30

<210> 89

<211> 33

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 89

Asn Gln Ser Leu Asp Leu Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Cys Ala Ser  
 1 5 10 15

Gln His Gly Cys His Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile  
 20 25 30

Gln

15 <210> 90

<211> 31

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 90

5

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

Gln Ser Cys Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe Gly Ile Ser Asn  
20 25 30

<210> 91

<211> 37

10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

15

<400> 91

Arg Glu Gln Ser Cys Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe Gly Ile Ser  
1 5 10 15

Asn Tyr Cys Gln Ile Tyr Pro Pro Asn Val Asn Lys Ile Arg Glu Ala  
20 25 30

Leu Ala Gln Thr His  
35

20

<210> 92

<211> 31

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> Der p 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 92

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

Arg Asp Asn Gly Tyr Gln Pro Asn Tyr His Ala Val Asn Ile Val  
20 25 30

<210> 93

5

<211> 33

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

10

<223> Der p 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 93

Gly Arg Thr Ile Ile Gln Arg Asp Asn Gly Tyr Gln Pro Asn Tyr His  
1 5 10 15

Ala Val Asn Ile Val Gly Tyr Ser Asn Ala Gln Gly Val Asp Tyr Trp  
20 25 30

Ile

15

<210> 94

<211> 34

<212> PRT

<213> Yapay

20

<220>

<223> Der p 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 94

25

Val Gly Tyr Ser Asn Ala Gln Gly Val Asp Tyr Trp Ile Val Arg Asn  
 1 5 10 15

Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr Phe Ala Ala  
 20 25 30

Asn Ile

<210> 95

<211> 35

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekiil

10

<400> 95

Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr  
 1 5 10 15

Phe Ala Ala Asn Ile Asp Leu Met Met Ile Glu Glu Tyr Pro Tyr Val  
 20 25 30

Val Ile Leu  
 35

15 <210> 96

<211> 33

<212> PRT

<213> Yapay



<220>

<223> Der p 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 96

5

Asp Gln Val Asp Val Lys Asp Cys Ala Asn His Glu Ile Lys Lys Val  
1 5 10 15

Leu Val Pro Gly Cys His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly  
20 25 30

Lys

<210> 97

<211> 31

10

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

15

<400> 97

Cys His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln  
1 5 10 15

Leu Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys  
20 25 30

20

<210> 98

<211> 32

<212> PRT

<213> Yapay

25

<220>

<223> Der p 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 98

Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys Ile Glu Ile Lys Ala Ser  
1 5 10 15

Ile Glu Gly Leu Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys  
20 25 30

5 <210> 99

<211> 42

<212> PRT

<213> Yapay

10 <220>

<223> Der p 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 99

Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys His Tyr Met Lys  
1 5 10 15

Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile  
20 25 30

15

Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn  
35 40

<210> 100

<211> 32

<212> PRT

20 <213> Yapay

<220>

<223> Der p 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

25 <400> 100

Ala Pro Lys Ser Glu Asn Val Val Val Thr Val Lys Val Met Gly Asp  
 1 5 10 15

Asn Gly Val Leu Ala Cys Ala Ile Ala Thr His Ala Lys Ile Arg Asp  
 20 25 30

<210> 101

<211> 35

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 5 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 101

Met Glu Asp Lys Lys His Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu  
 1 5 10 15

Met Glu Arg Ile His Glu Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe  
 20 25 30

Tyr Leu Gln  
 35

15

<210> 102

<211> 36

<212> PRT

<213> Yapay

20

<220>

<223> Der p 5 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 102

25

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

<210> 103

<211> 31

5

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 5 abgeleitetes hypoallergenes Molekiil

10

<400> 103

Asp Gly Val Arg Gly Val Leu Asp Arg Leu Met Gln Arg Lys Asp Leu  
 1 5 10 15  
 Asp Ile Phe Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser Gly  
 20 25 30

15

<210> 104

<211> 36

<212> PRT

<213> Yapay

20

<220>

<223> Der p 5 abgeleitetes hypoallergenes Molekiil

<400> 104

Asp Leu Asp Ile Phe Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser  
 1 5 10 15

Gly Asp Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Ala Arg Val Lys  
 20 25 30

Lys Ile Glu Val  
 35

<210> 105

<211> 30

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 7 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 105

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

Asp Glu Ala Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp  
 20 25 30

<210> 106

15 <211> 31

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20 <223> Der p 7 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 106

Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp Pro Met Lys Val Pro  
 1 5 10 15

Asp His Ser Asp Lys Phe Glu Arg His Ile Gly Ile Ile Asp Leu  
 20 25 30

<210> 107

<211> 31

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Der p 7 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10 <400> 107

Leu Lys Gly Glu Leu Asp Met Arg Asn Ile Gln Val Arg Gly Leu Lys  
1 5 10 15

Gln Met Lys Arg Val Gly Asp Ala Asn Val Lys Ser Glu Asp Gly  
20 25 30

<210> 108

15 <211> 36

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20 <223> Der p 7 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 108

Val His Asp Asp Val Val Ser Met Glu Tyr Asp Leu Ala Tyr Lys Leu  
 1 5 10 15

Gly Asp Leu His Pro Asn Thr His Val Ile Ser Asp Ile Gln Asp Phe  
 20 25 30

Val Val Glu Leu  
 35

<210> 109

<211> 31

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 7 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 109

Leu Ser Leu Glu Val Ser Glu Glu Gly Asn Met Thr Leu Thr Ser Phe  
 1 5 10 15

Glu Val Arg Gln Phe Ala Asn Val Val Asn His Ile Gly Gly Leu  
 20 25 30

15 <210> 110

<211> 34

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Der p 7 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 110

Leu Ser Asp Val Leu Thr Ala Ile Phe Gln Asp Thr Val Arg Ala Glu  
 1 5 10 15

Met Thr Lys Val Leu Ala Pro Ala Phe Lys Lys Glu Leu Glu Arg Asn  
 20 25 30

Asn Gln

<210> 111

<211> 35

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 10 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 111

Met Glu Ala Ile Lys Lys Lys Met Gln Ala Met Lys Leu Glu Lys Asp  
 1 5 10 15

Asn Ala Ile Asp Arg Ala Glu Ile Ala Glu Gln Lys Ala Arg Asp Ala  
 20 25 30

Asn Leu Arg  
 35

<210> 112

15 <211> 35

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20 <223> Der p 10 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 112



Ala Glu Lys Ser Glu Glu Glu Val Arg Ala Leu Gln Lys Lys Ile Gln  
 1                    5                    10                    15

Gln Ile Glu Asn Glu Leu Asp Gln Val Gln Glu Gln Leu Ser Ala Ala  
                   20                    25                    30

Asn Thr Lys  
                   35

<210> 113

<211> 40

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 10 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 113

Leu Glu Glu Lys Glu Lys Ala Leu Gln Thr Ala Glu Gly Asp Val Ala  
 1                    5                    10                    15

Ala Leu Asn Arg Arg Ile Gln Leu Ile Glu Glu Asp Leu Glu Arg Ser  
                   20                    25                    30

Glu Glu Arg Leu Lys Ile Ala Thr  
                   35                    40

15 <210> 114

<211> 35

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Der p 10 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 114

25

Ala Lys Leu Glu Glu Ala Ser Gln Ser Ala Asp Glu Ser Glu Arg Met  
 1 5 10 15

Arg Lys Met Leu Glu His Arg Ser Ile Thr Asp Glu Glu Arg Met Glu  
 20 25 30

Gly Leu Glu  
 35

<210> 115

<211> 31

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 10 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 115

Arg Met Glu Gly Leu Glu Asn Gln Leu Lys Glu Ala Arg Met Met Ala  
 1 5 10 15

Glu Asp Ala Asp Arg Lys Tyr Asp Glu Val Ala Arg Lys Leu Ala  
 20 25 30

15 <210> 116

<211> 31

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Der p 10 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 116

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

Val Glu Leu Glu Glu Glu Leu Arg Val Val Gly Asn Asn Leu Lys  
 20 25 30

<210> 117

<211> 41

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 10 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 117

Ser Glu Glu Lys Ala Gln Gln Arg Glu Glu Ala His Glu Gln Gln Ile  
 1 5 10 15

Arg Ile Met Thr Thr Lys Leu Lys Glu Ala Glu Ala Arg Ala Glu Phe  
 20 25 30

Ala Glu Arg Ser Val Gln Lys Leu Gln  
 35 40

15 <210> 118

<211> 35

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Der p 10 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 118

Gln Lys Glu Val Asp Arg Leu Glu Asp Glu Leu Val His Glu Lys Glu  
 1 5 10 15

Lys Tyr Lys Ser Ile Ser Asp Glu Leu Asp Gln Thr Phe Ala Glu Leu  
 20 25 30

Thr Gly Tyr  
 35

<210> 119

<211> 35

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 21 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 119

Met Phe Ile Val Gly Asp Lys Lys Glu Asp Glu Trp Arg Met Ala Phe  
 1 5 10 15

Asp Arg Leu Met Met Glu Glu Leu Glu Thr Lys Ile Asp Gln Val Glu  
 20 25 30

Lys Gly Leu  
 35

15 <210> 120

<211> 37

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Der p 21 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 120

Leu His Leu Ser Glu Gln Tyr Lys Glu Leu Glu Lys Thr Lys Ser Lys  
 1 5 10 15

Glu Leu Lys Glu Gln Ile Leu Arg Glu Leu Thr Ile Gly Glu Asn Phe  
 20 25 30

Met Lys Gly Ala Leu  
 35

<210> 121

<211> 31

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Der p 21 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 121

Gly Ala Leu Lys Phe Phe Glu Met Glu Ala Lys Arg Thr Asp Leu Asn  
 1 5 10 15

Met Phe Glu Arg Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys

20

25

30

15 <210> 122

<211> 33

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Der p 21 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 122

Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys Lys  
 1 5 10 15

Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu Tyr  
 20 25 30

Tyr

<210> 123

<211> 32

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Clone 30 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10 <400> 123

Met Ala Asn Asp Asn Asp Asp Asp Pro Thr Thr Thr Val His Pro Thr  
 1 5 10 15

Thr Thr Glu Gln Pro Asp Asp Lys Phe Glu Cys Pro Ser Arg Phe Gly  
 20 25 30

<210> 124

15 <211> 34

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20 <223> Clone 30 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 124

Pro Thr Thr Thr Glu Gln Pro Asp Asp Lys Phe Glu Cys Pro Ser Arg  
 1 5 10 15

Phe Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys  
 20 25 30

Ser Asn

<210> 125

<211> 39

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Clone 30 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 125

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser  
 1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn  
 20 25 30

Glu Asp Glu Glu Thr Cys Thr  
 35

15 <210> 126

<211> 30

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Bet v 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 126

Leu Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile  
 1 5 10 15

Glu Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe  
 20 25 30

<210> 127

<211> 30

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Bet v 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 127

Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe Pro Glu Gly Phe Pro Phe  
 1 5 10 15

Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Val Asp His Thr Asn  
 20 25 30

<210> 128

15 <211> 30

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20 <223> Bet v 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 128

Val Asp His Thr Asn Phe Lys Tyr Asn Tyr Ser Val Ile Glu Gly Gly  
 1 5 10 15

Pro Ile Gly Asp Thr Leu Glu Lys Ile Ser Asn Glu Ile Lys  
 20 25 30

25 <210> 129

<211> 35



<212> PRT

<213> Yapay

<220>

5 <223> Fel d 1 chain 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 129

Glu Ile Cys Pro Ala Val Lys Arg Asp Val Asp Leu Phe Leu Thr Gly  
1 5 10 15

Thr Pro Asp Glu Tyr Val Glu Gln Val Ala Gln Tyr Lys Ala Leu Pro  
20 25 30

Val Val Cys  
35

10

<210> 130

<211> 36

<212> PRT

<213> Yapay

15

<220>

<223> Fel d 1 chain 1 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 130

Leu Glu Asn Ala Arg Ile Leu Lys Asn Cys Val Asp Ala Lys Met Thr  
1 5 10 15

Glu Glu Asp Lys Glu Asn Ala Leu Ser Leu Leu Asp Lys Ile Tyr Thr  
20 25 30

Ser Pro Leu Cys  
35

20

<210> 131

<211> 35

<212> PRT

25

<213> Yapay

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Fel d 1 chain 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

5 &lt;400&gt; 131

Val Lys Met Ala Ile Thr Cys Pro Ile Phe Tyr Asp Val Phe Phe Ala  
 1                    5                    10                    15

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

Asn Ala Cys  
                   35

&lt;210&gt; 132

10 &lt;211&gt; 30

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

&lt;220&gt;

15 &lt;223&gt; Fel d 1 chain 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

&lt;400&gt; 132

Thr Glu Pro Glu Arg Thr Ala Met Lys Lys Ile Gln Asp Cys Tyr Val  
 1                    5                    10                    15

Glu Asn Gly Leu Ile Ser Arg Val Leu Asp Gly Leu Val Cys  
                   20                    25                    30

20

&lt;210&gt; 133

&lt;211&gt; 30

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Yapay

25

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Fel d 1 chain 2 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 133

Cys Met Thr Thr Ile Ser Ser Ser Lys Asp Cys Met Gly Glu Ala Val  
1 5 10 15

Gln Asn Thr Val Glu Asp Leu Lys Leu Asn Thr Leu Gly Arg  
20 25 30

5

<210> 134

<211> 32

<212> PRT

<213> Yapay

10

<220>

<223> Phl p 5 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 134

15

Cys Gly Ala Ala Ser Asn Lys Ala Phe Ala Glu Gly Leu Ser Gly Glu  
1 5 10 15

Pro Lys Gly Ala Ala Glu Ser Ser Ser Lys Ala Ala Leu Thr Ser Lys  
20 25 30

<210> 135

<211> 34

20

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Phl p 5 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

25

<400> 135

Ala Asp Leu Gly Tyr Gly Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Ala Gly  
 1 5 10 15

Tyr Thr Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Glu Ala Ala Pro Ala Gly  
 20 25 30

Lys Cys

<210> 136

<211> 32

5 <212> PRT

<213> Yapay

<220>

<223> Phl p 5 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10

<400> 136

Ala Tyr Lys Leu Ala Tyr Lys Thr Ala Glu Gly Ala Thr Pro Glu Ala  
 1 5 10 15

Lys Tyr Asp Ala Tyr Val Ala Thr Leu Ser Glu Ala Leu Arg Ile Cys  
 20 25 30

15 <210> 137

<211> 31

<212> PRT

<213> Yapay

20 <220>

<223> Phl p 5 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 137

Cys Glu Ala Ala Phe Asn Asp Ala Ile Lys Ala Ser Thr Gly Gly Ala  
 1 5 10 15

Tyr Glu Ser Tyr Lys Phe Ile Pro Ala Leu Glu Ala Ala Val Lys  
 20 25 30

25

<210> 138

<211> 33

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> Phl p 5 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

10 <400> 138

Thr Val Ala Thr Ala Pro Glu Val Lys Tyr Thr Val Phe Glu Thr Ala  
1 5 10 15

Leu Lys Lys Ala Ile Thr Ala Met Ser Glu Ala Gln Lys Ala Ala Lys  
20 25 30

Cys

<210> 139

15 <211> 38

<212> PRT

<213> Yapay

<220>

20 <223> Phl p 5 abgeleitetes hypoallergenes Molekül

<400> 139

Cys Ala Glu Glu Val Lys Val Ile Pro Ala Gly Glu Leu Gln Val Ile  
1 5 10 15

Glu Lys Val Asp Ala Ala Phe Lys Val Ala Ala Thr Ala Ala Asn Ala  
20 25 30

Ala Pro Ala Asn Asp Lys  
35

25

<210> 140

<211> 70

<212> PRT

<213> Yapay

5

<220>

<223> Clone 30 Dermatophagoides pteronyssinus allergen

<400> 140

10

Met Ala Asn Asp Asn Asp Asp Asp Pro Thr Thr Thr Val His Pro Thr  
1 5 10 15

Thr Thr Glu Gln Pro Asp Asp Lys Phe Glu Cys Pro Ser Arg Phe Gly  
20 25 30

Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser Asn  
35 40 45

Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu  
50 55 60

Asp Glu Glu Thr Cys Thr

<210> 141

<211> 37

<212> PRT

15

<213> Yapay

<220>

<223> Phi p 5 türevli peptit

20

<400> 141

Cys Phe Val Ala Thr Phe Gly Ala Ala Ser Asn Lys Ala Phe Ala Glu  
1 5 10 15

Gly Leu Ser Gly Glu Pro Lys Gly Ala Ala Glu Ser Ser Ser Lys Ala  
20 25 30

Ala Leu Thr Ser Lys  
35

<210> 142

<211> 29

<212> PRT

5 <213> Yapay

<220>

<223> PhI p 5 türevli peptit

10 <400> 142

Ala Asp Leu Gly Tyr Gly Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Ala Gly  
1 5 10 15

Tyr Thr Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Glu Ala Cys  
20 25

<210> 143

15 <211> 41

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

20 <223> Der p 1 Fragmanı

<400> 143

Thr Asn Ala Cys Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu Ile Asp Leu  
1 5 10 15

Arg Gln Met Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly Cys Gly  
20 25 30

Ser Cys Trp Ala Phe Ser Gly Val Ala  
35 40

25 <210> 144

<211> 43

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

5 <223> Der p 1 Fragmanı

<400> 144

Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn Gln Ser Leu Asp Leu  
1                    5                    10                    15

Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Cys Ala Ser Gln His Gly Cys His Gly  
                  20                    25                    30

Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln  
          35                    40

10

<210> 145

<211> 30

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

15

<220>

<223> Der p 1 Fragmanı

<400> 145

20

Met Gln Gly Gly Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Gly Val Ala Ala  
1                    5                    10                    15

Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn Gln Ser Leu Asp  
                  20                    25                    30

<210> 146

<211> 29

25 <212> PRT

<213> Yapay Sekans



<220>

<223> Der p 23 Fragmanı

<400> 146

5

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser  
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr  
20 25

<210> 147

<211> 29

10

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

<223> Der p 23 Fragmanı

15

<400> 147

Lys Phe Tyr Ile Cys Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro  
1 5 10 15

Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Cys Thr  
20 25

<210> 148

20

<211> 39

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

25

<223> Der p 23 Fragmanı

<400> 148

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

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn  
 20 25 30

Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr  
 35

<210> 149

<211> 317

<212> PRT

5 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> Yapay Sekans

10 <400> 149

His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln Leu  
 1 5 10 15

Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys His Gly  
 20 25 30

Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln Leu Glu Ala  
 35 40 45

Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys Gly Gly Trp Ser  
 50 55 60

Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro  
 65 70 75 80

Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn  
 85 90 95

Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro  
 100 105 110

Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro  
 115 120 125

Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu  
 130 135 140

Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser  
 145 150 155 160

Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro  
 165 170 175

Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp  
 180 185 190

Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly  
 195 200 205

Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser  
 210 215 220

Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Glu Val Asp Val Pro Gly Ile  
 225 230 235 240

Asp Pro Asn Ala Cys His Tyr Met Lys Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln  
 245 250 255

Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys  
 260 265 270

Ser Glu Asn Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys His  
 275 280 285

Tyr Met Lys Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr  
 290 295 300

Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn  
 305 310 315

- 5 <210> 150  
 <211> 389  
 <212> PRT  
 <213> Yapay Sekans
- 10 <220>  
 <223> Yapay Sekans

&lt;400&gt; 150

His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln Leu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys His Gly  
20 25 30

Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln Leu Glu Ala  
35 40 45

Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys His Gly Ser Glu  
50 55 60

Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln Leu Glu Ala Val Phe  
65 70 75 80

Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys Gly Gly Trp Ser Ser Lys  
85 90 95

5

Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly  
100 105 110

Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn  
115 120 125

Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala  
130 135 140

Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His  
145 150 155 160

Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr  
165 170 175

Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg  
180 185 190

Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala  
195 200 205

Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg  
210 215 220

Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val  
225 230 235 240

Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg  
245 250 255

Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro  
 260 265 270

Asn Ala Cys His Tyr Met Lys Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr  
 275 280 285

Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu  
 290 295 300

Asn Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys His Tyr Met  
 305 310 315 320

Lys Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp  
 325 330 335

Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn Glu Val Asp Val Pro  
 340 345 350

Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys His Tyr Met Lys Cys Pro Leu Val Lys  
 355 360 365

Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala  
 370 375 380

Pro Lys Ser Glu Asn  
 385

<210> 151

5 <211> 289

<212> PRT

<213> Yapay Sekans

<220>

10 <223> Yapay Sekans

<400> 151

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

Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu  
 245 250 255

Glu Thr Cys Thr Lys Phe Tyr Ile Cys Ser Asn Trp Glu Ala Val His  
 260 265 270

Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Cys  
 275 280 285

Thr

<210> 152

<211> 329

<212> PRT

5 <213> Yapay Sekans

<220>

<223> Yapay Sekans

10 <400> 152

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

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn  
 20 25 30

Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro  
 35 40 45

His Lys Phe Tyr Ile Ser Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser  
 50 55 60

Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr Gly Gly  
 65 70 75 80

Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro  
 85 90 95

Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly  
 100 105 110

Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His  
 115 120 125

Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu  
 130 135 140

Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly  
 145 150 155 160

Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg  
 165 170 175

Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser  
 180 185 190

His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu  
 195 200 205

Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser  
 210 215 220

Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser  
 225 230 235 240

Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Gly Tyr Phe Ala Asp  
 245 250 255

Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Ser Ser Asn Trp Glu Ala Val  
 260 265 270

His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr  
 275 280 285

Ser Thr Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile  
 290 295 300

Ser Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr Arg  
 305 310 315 320

Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr  
 325



## TANIMLAMADA BELİRTİLEN REFERANSLAR

Başvuran tarafından belirtilen bu referanslar listesi yalnızca okuyucu için bir kolaylık sağlaması içindir. Avrupa patent dokümanının bir parçasını teşkil etmez.

- 5 Referansların derlenmesinde büyük bir özen gösterilmiş olmakla birlikte hatalar veya eksiklikler olabilir ve EPO bu anlamda hiçbir sorumluluk üstlenmemektedir.

### Tarifnamede Atıfta Bulunulan Patent Belgeleri

WO 2004004761 A

- 10 WO 2004003143 A

WO 2007140505 A

WO 2007124524 A

EP 11169365 A

- 15 **Tarifnamede Atıfta Bulunulan Patent Dışı Literatürler**

**BOHLE B. et al.** J. Immunol., 2004, vol. 172 (11), 6642-6648

**EDLMAYR et al.** J. Immunol., 2009, vol. 182 (10), 6298-6306

**NIESPODZIANA et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 2011, vol. 127 (6), 1562-1570

**BERCOVICI N. et al.** Clin Diagn Lab Immunol., 2000, vol. 7, 859-864

- 20 **TATUSOVA et al.** BLAST 2 SEQUENCES (blastp). FEMS Microbiol. Lett., 1999, vol. 174, 247-25

**CORPET F.** Nucl. Acids Res., 1988, vol. 16, 10881-10890

**MARSH, D.G. ; L.R. FREIDHOFF. ALBE,** an allergen database. IUIS, 1992

**MARSH, D. G. et al.** Allergen nomenclature. Bull WHO, 1986, vol. 64, 767-770

- 25 **KING, T.P. et al.** Biochemistry, 1964, vol. 3, 458-468

**LOWENSTEIN, H.** Allergy, 1980, vol. 35, 188-191

**AUKRUST, L.** Allergy, 1980, vol. 35, 206-207

**DEMEREK, M. et al.** Genetics, 1966, vol. 54, 61-75

**BODMER, J. G. et al.** Immunogenetics, 1991, vol. 33, 301-309

- 30 **GRIFFITH, I.J. et al.** Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 1991, vol. 96, 296-304

**ROEBBER, M. et al.** J. Immunol., 1985, vol. 134, 3062-3069

**METZLER, W. J. et al.** Biochemistry, 1992, vol. 31, 5117-5127

**METZLER, W. J. et al.** Biochemistry, 1992, vol. 31, 8697 -8705

- GOODFRIEND, L. et al.** Fed. Proc., 1979, vol. 38, 1415
- EKRAMODDOULLAH, A. K. M. Et al.** Mol. Immunol., 1982, vol. 19, 1527-1534
- ANSARI, A. A. et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1987, vol. 80, 229-235
- MORGENSTERN, J.P. et al.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991, vol. 88, 9690-9694
- 5 **GRIFFITH, I.J. et al.** Gene, 1992, vol. 113, 263-268
- WEBER, A. et al.** Biochem. Physiol., 1986, vol. 83B, 321-324
- WEBER, A. et al.** Allergy, 1987, vol. 42, 464-470
- STANWORTH, D. R. et al.** Bulletin WHO, 1990, vol. 68, 109-111
- RAFNAR, T. et al.** J. Biol. Chem., 1991, vol. 266, 1229-1236
- 10 **ROGERS, B.L. et al.** J. Immunol., 1991, vol. 147, 2547 -2552
- KLAPPER, D.G. et al.** Biochemistry, 1980, vol. 19, 5729-5734
- GHOSH, B. et al.** J. Immunol., 1993, vol. 150, 5391-5399
- ROEBBER, M. et al.** J. Immunol., 1983, vol. 131, 706-711
- LUBAHN, B. ; D.G. KLAPPER.** J. Allergy Clin. Immunol., 1993, vol. 91, 338
- 15 **ROEBBER, M. ; D.G. MARSH.** J. Allergy Clin. Immunol., 1991, vol. 87, 324
- GOODFRIEND L. et al.** Mal Immunol, 1985, vol. 22, 899-906
- HIMLY M. et al.** FASEB J, 2003, vol. 17, 106-108
- NILSEN, B. M. et al.** J. Biol. Chem., 1991, vol. 266, 2660-2668
- WOPFNER N. et al.** Biol Chem, 2002, vol. 383, 1779-1789
- 20 **JIMENEZ A. et al.** Int Arch Allergy Immunol, 1994, vol. 105, 297-307
- BARDERAS R. et al.** Int Arch Allergy Immunol, 2002, vol. 127, 47-54
- CARNES J. et al.** Allergy, 2001, vol. 56 (68), 274
- GIULIANI A. et al.** Allergy, 1987, vol. 42, 434-440
- SMITH, P.M. et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1996, vol. 98, 331-343
- 25 **SUPHIOGLU, C. et al.** FEBS Lett., 1997, vol. 402, 167 -172
- ASTURIAS J.A. et al.** Clin ExpAllergy, 1997, vol. 27, 1307-1313
- MECHERI, S. et al.** Allergy Appl. Immunol., 1985, vol. 78, 283-289
- ROBERTS, A.M. et al.** Allergy, 1993, vol.48, 615-623
- GUERIN-MARCHAND,C.etal .Mol. Immunol., 1996, vol. 33, 797-806**
- 30 **KLYSNER, S. et al.** Clin. Exp. Allergy, 1992, vol. 22, 491-497
- PEREZ, M. et al.** J. Biol. Chem., 1990, vol. 265, 16210-16215
- GRIFFITH, I. J. et al.** FEBS Letters, 1991, vol. 279, 210-215
- ANSARI, A. A. et al.** J. Biol. Chem., 1989, vol. 264, 11181-11185

- SIDOLI, A. et al. *J. Biol. Chem.*, 1993, vol. 268, 21819-21825
- ANSARI, A. A. et al. *Biochemistry*, 1989, vol. 28, 8665-8670
- SINGH, M. B. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1991, vol. 88, 1384-1388
- VAN REE R. E. et al. *J Allergy Clin Immunol*, 1995, vol. 95, 970-978
- 5 SUPHIOGLU, C. ; SINGH, M. B. *Clin. Exp. Allergy*, 1995, vol. 25, 853-865
- DOLECEK, C. et al. *FEBS Lett.*, 1993, vol. 335, 299-304
- FISCHER S. et al. *J Allergy Clin Immunol*, 1996, vol. 98, 189-198
- MATTHIESEN, F.; H. LOWENSTEIN. *Clin. Exp. Allergy*, 1991, vol. 21, 297-307
- PETERSEN, A. et al. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1995, vol. 108, 55-59
- 10 MARKNELL DEWITT A. Et al. *Clin Exp Allergy*, 2002, vol. 32, 1329-1340
- VALENTA, R. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994, vol. 199, 106-118
- ESCH, R. E.; D. G. KLAPPER. *Mol. Immunol.*, 1989, vol. 26, 557-561
- OLSEN, E. et al. *J. Immunol.*, 1991, vol. 147, 205-211
- AVJIOGLU, A. et al. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1993, vol. 91, 340
- 15 KOS T. et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, vol. 196, 1086-92
- DiAZ-PERALES A. et al. *Clin Exp Allergy*, 2000, vol. 30, 1403-1410
- IPSEN, H. ; O. C. HANSEN. *Mol. Immunol.*, 1991, vol. 28, 1279-1288
- TANIAI, M. et al. *FEBS Lett.*, 1988, vol. 239, 329-332
- GRIFFITH, I. J. et al. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1993, vol. 91, 339
- 20 SAKAGUCHI, M. et al. *Allergy*, 1990, vol. 45, 309-312
- YOKOYAMA M. et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, vol. 275, 195-202
- MIDORO-HORIUTI T. et al. *J Immunol*, 2000, vol. 164, 2188-2192
- TINGHINO R. et al. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1998, vol. 101, 772-777
- GROSS GN et al. *Scand J Immunol*, 1978, vol. 8, 437-441
- 25 OBISPO TM et al. *Clin Exp Allergy*, 1993, vol. 23, 311-316
- MIDORO-HORIUTI T. et al. *Clin Exp Allergy*, 2001, vol. 31, 771-778
- LOMBARDERO M. et al. *Clin. Exp. Allergy*, 1994, vol. 24, 765-770
- VILLALBA, M. et al. *Eur. J. Biochem.*, 1993, vol. 216, 863-869
- ASTURIAS JA et al. *J Allergy Clin Immunol*, 1997, vol. 100, 365-372
- 30 BATANERO E. Et al. *Eur J Biochem*, 1996, vol. 241, 772-778
- BATANERO E. et al. *FEBS Lett.*, 1997, vol. 410, 293-296
- TEJERA ML et al. *J Allergy Clin Immunol*, 1999, vol. 104, 797-802
- LEDESMA A. et al. *FEBS Lett*, 2000, vol. 466, 192-196

- BARRALP. et al.** J Immunol, 2004, vol. 172, 3644-3651
- YI FC et al.** Clin Exp Allergy, 2002, vol. 32, 1203-1210
- RAMOS JD et al.** Int Arch Allergy Immunol, 2001, vol. 126, 286-293
- CHUA, K. Y. et al.** J. Exp. Med., 1988, vol. 167, 175- 182
- 5 **CHUA, K. Y. et al.** Int Arch. Allergy Appl. Immunol., 1990, vol. 91, 118-123
- SMITH AM et al.** Int Arch Allergy Immunol, 2001, vol. 124, 61-63
- SMITH AM et al.** J Allergy Clin Immunol, 2001, vol. 107, 977-984
- SMITH WA ; THOMAS WR.** Int Arch Allergy Immunol, 1996, vol. 109, 133-140
- LAKE, F. R. et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1991, vol. 87, 1035-1042
- 10 **TOVEY, E. R. et al.** J. Exp. Med., 1989, vol. 170, 1457-1462
- Allergenic and proteolytic properties of four allergens from Dermatophagoides mites. **YASUEDA, H. ; T. SHIDA; T. ANDO; S. SUGIYAMA; H. YAMAKAWA.** Dust Mite Allergens and Asthma. Report of the 2nd international workshop. UCB Institute of Allergy, 1991, 63-64
- 15 **SHEN, H.-D. et al.** Clin. Exp. Allergy, 1993, vol. 23, 934-940
- O'NEIL GM et al.** Biochim Biophys Acta, 1994, vol. 1219, 521-528
- KING C. et al.** J Allergy Clin Immunol, 1996, vol. 98, 739-747
- LIND P. et al.** J. Immunol., 1988, vol. 140, 4256-4262
- DILWORTH, R. J. et al.** Clin. Exp. Allergy, 1991, vol. 21, 25-32
- 20 **NISHIYAMA, C. et al.** Int. Arch. Allergy Immunol., 1993, vol. 101, 159-166
- TRUDINGER, M. et al.** Clin. Exp. Allergy, 1991, vol. 21, 33-38
- SHEN HD et al.** Clin Exp Allergy, 1995, vol. 25, 1000-1006
- TATEGAKI A. et al.** ACI International, 2000, 74-76
- AKI T. et al.** J Allergy Clin Immunol, 1995, vol. 96, 74-83
- 25 **TSAI L. et al.** Clin Exp Allergy, 1999, vol. 29, 1606-1613
- GAFVELIN G. et al.** J Allergy Clin Immunol, 2001, vol. 107, 511-518
- VAN HAGE-HAMSTEN et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1993, vol. 91, 353
- VARELA J. et al.** Eur J Biochem, 1994, vol. 225 93- 98
- SCHMIDT M. et al.** FEBS Lett, 1995, vol. 370, 11-14
- 30 **ERIKSSON TLJ et al.** Eur. J. Biochem., 2001, vol. 268, 287-294
- SAARNE T. et al.** Int Arch Allergy Immunol, 2003, vol. 130, 258-265
- ERIKSSON TL et al.** Eur. J. Biochem., 1998, vol. 251 (1-2), 443-447

- RAUTIAINEN J ; RYTKONEN M ; PELKONEN J ; PENTIKAINEN J; PEROLA O; VIRTANEN T; ZEILER T ; MANTY JARVIR.** BDA20, a major bovine danderallergen characterised at the sequence level is Bos d 2
- GJESING B; LOWENSTEIN H.** Ann Allergy, 1984, vol. 53, 602
- 5 **DE GROOT, H. et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1991, vol. 87, 1056-1065
- KONIECZNY, A.** Personal communication. Immuno-logic Pharmaceutical Garp,
- BULONE, V.** Eur J Biochem, 1998, vol. 253, 202-211
- DANDEU J. P. et al.** J. Chromatogr., 1993, vol. 621, 23-31
- GOUBRAN BOTROS H. et al.** J. Chromatogr. B, 1998, vol. 710, 57-65
- 10 **HILGER C. et al.** Allergy, vol. 52, 179-187
- HILGER C. et al.** Gene, 1996, vol. 169, 295-296
- ICHIKAWA K. et al.** Clin Exp Allergy, 2001
- FAHLBUSCH B. et al.** Allergy, 2002, vol. 57, 417-422
- MCDONALD, B. et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1988, vol. 83, 251
- 15 **CLARKE, A. J. et al.** EMBO J, 1984, vol. 3, 1045-1052
- LONGBOTTOM, J. L.** Characterisation of allergens from the urines of experimental animals. McMillan Press, 1983, 525-529
- LAPERCHE, Y. et al.** Cell, 1983, vol. 32, 453-460
- BUSH RK et al.** J Allergy Clin Immunol, 1999, vol. 104, 665-671
- 20 **AUKRUST L ; BORCH SM.** Int Arch Allergy Appl Immunol, 1979, vol. 60, 68-79
- SWARD-NORDMO M. et al.** Int Arch Allergy Appl Immunol, 1988, vol. 85, 288-294
- SHEN et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1999, vol. 103, S157
- Epidemiology and molecular basis of the involvement of *Aspergillus fumigatus* in allergic diseases. **CRAMERIR.** Contrib. Microbiol. Karger, vol. 2
- 25 **SHEN HD et al.** Vacuolar serine proteinase: A major allergen of *Aspergillus fumigatus*. 10th International Congress of Immunology, 1998
- KUMAR A. et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1993, vol. 91, 1024-1030
- SAXENA S. et al.** Clin Exp Immunol, 2003, vol. 134, 86-91
- BAUR X. et al.** Allergy, 2002, vol. 57, 943-945 [0036] **SHEN HD et al.** Clin Exp
- 30 Allergy, 1996, vol. 26, 444-451
- SHEN et al.** Abstract; The XV/11 Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 03 July 1999
- SHEN HD et al.** Clin Exp Allergy, 1999, vol. 29, 642-651

- SHEN HD et al.** Clin Exp Allergy, 1995, vol. 25, 350-356
- SHEN HD et al.** J Lab Clin Med, 2001, vol. 137, 115-124
- WOODFOLK JA et al.** J Biol Chem, 1998, vol. 273, 29489-96
- DEUEL, B. Et al.** J. Immunol., 1991, vol. 147, 96-101
- 5 **SHEN, H.D. et al.** Clin. Exp. Allergy, 1991, vol. 21,675-681
- HORNER WE et al.** Int Arch Allergy Immunol, 1995, vol. 107, 298-300
- CHANG CY et al.** J Biomed Sci, 2002, vol. 9, 645-655
- YASUEDA H. et al.** Biochem Biophys Res Commun, 1998, vol. 248, 240-244
- ONISHI Y. et al.** Eur J Biochem, 1999, vol. 261,148- 154
- 10 **SCHMIDT M. et al.** Eur J Biochem, 1997, vol. 246, 181-185
- RASOOL O. et al.** Eur J Biochem, 2000, vol. 267, 4355-4361
- KUCHLER, K. et al.** Eur. J. Biochem., 1989, vol. 184, 249-254
- GMACHL, M. ; G. KREIL.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, vol. 90, 3569-3573
- HOFFMAN DR.** J Allergy Clin. Immunol., 1977, vol. 59, 364-366
- 15 **HABERMANN, E.** Science, 1972, vol. 177, 314-322
- HOFFMAN DR ; JACOBSON RS.** J. Allergy Clin. Immunol., 1996, vol. 97, 812-821
- HOFFMAN DR; EL-CHOUFANI AE ; SMITH MM ; DE GROOT H.** Occupational allergy to bumblebee venom: Allergens of *Bombus terrestris*. J Allergy Clin
- 20 Immunol, 2001
- HELM R. et al.** J Allerg Clin Immunol, 1996, vol. 98, 172-180
- POMES A. et al.** J Biol Chem, 1998, vol. 273, 30801-30807
- ARRUDA LK et al.** J Biol Chem, 1995, vol. 270, 19563-19568
- ARRUDA LK et al.** J Biol Chem, 1995, vol. 270, 31196-31201
- 25 **ARRUDA LK et al.** Int Arch Allergy Immunol, 1995, vol. 107, 295-297
- WU CH et al.** J Allergy Clin Immunol, 1998, vol. 101, 832-840
- MELEN E. et al.** J Allergy Clin Immunol, 1999, vol. 103, 859-64
- WU CH et al.** J Biol Chem, 1996, vol. 271, 17937-17943
- WU CH et al.** Molecular Immunol, 1997, vol. 34, 1-8
- 30 **SANTOS ABR et al.** J Allergy Clin Immunol, 1999, vol. 104, 329-337
- ASTURIAS JA et al.** J Immunol, 1999, vol. 162, 4342-4348
- MAZUR, G. et al.** Monog. Allergy, 1990, vol. 28,121- 137
- MONEO I. et al.** Allergy, 2003, vol. 58, 34-37

- SOLDATOVA, L. Et al.** FEBS Letters, 1993, vol. 320, 145-149
- LU, G. et al.** Allergy Clin. Immunol., 1994, vol. 93, 224
- FANG, K. S. F. et al.** Proc. Natl. Acad. Sci., 1988, vol. 85, 895-899
- KING, T. P. et al.** Prot. Seq. Data Ana/., 1990, vol. 3, 263-266
- 5 **LU, G. et al.** J. Immunol., 1993, vol. 150, 2823-2830
- KING TP et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1996, vol. 98, 588-600
- HOFFMAN, D.R.** J. Allergy Clin. Immunol., 1993, vol. 92, 707-716
- HOFFMAN DR.** J. Allergy Clin. Immunol., 1993, vol. 91, 187
- JACOBSON RS et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1992, vol. 89, 292
- 10 **HOFFMAN DR.** J. Allergy Clin. Immunol, 1993, vol. 91, 71-78
- SCHMIDT M. et al.** FEBS Letters, 1993, vol. 319, 138-140
- PADDOCK CD et al.** J Immunol, 2001, vol. 167, 2694-2699
- ELSAYED S; BENNICH H.** Scand J Immunol, 1974, vol. 3, 683-686
- ELSAYED S. et al.** Immunochemistry, 1972, vol. 9, 647-661
- 15 **HOFFMAN, D. R.** J. Allergy Clin. Immunol., 1983, vol. 71, 481-486
- LANGELAND, T.** Allergy, 1983, vol. 38, 493-500
- Common crustacea allergens: identification of B cell epitopes with the shrimp specific monoclonal antibodies. **DAUL CB; SLATTERY M; MORGAN JE; LEHRER SB.** Molecular Biology and Immunology of Allergens. CRC Press, 1993,
- 20 291-293
- SHANTI KN et al.** J. Immunol., 1993, vol. 151, 5354-5363
- YU CJ et al.** J Immunol, 2003, vol. 170, 445-453
- MIYAZAWA Met al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1996, vol. 98, 948-953
- ASTURIAS JA et al.** Int Arch Allergy Immunol, 2002, vol. 128, 90-96
- 25 **LOPATA AL et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1997, vol. 100, 642-648
- HOFFMANN-SOMMERGRUBER K. et al.** Clin. Exp. Allergy, 1999, vol. 29, 840-847
- MONSALVE RI et al.** Biochem. J., 1993, vol. 293,625-632
- MONSALVE RI et al.** Clin Exp Allergy, 1997, vol. 27 833-841
- 30 **MENA, M. et al.** Plant Molec. Biol., 1992, vol. 20, 451-458
- PALOSUO K. et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 2001, vol. 108, 634-638
- XU H. et al.** Gene, 1995, vol. 164, 255-259
- PASTORELLO K et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 1994, vol. 94, 699-707

- DIAZ-PERALES A. et al.** J Allergy Clin Immunol, 2002, vol. 11 O, 790-796
- GALLEGUILLLOS F ; RODRIGUEZ JC.** Clin Allergy, 1978, vol. 8, 21-24
- BAUR X.** Clin Allergy, 1979, vol. 9, 451-457 [0036] **GAILHOFER G. et al.** Clin Allergy, 1988, vol. 18,445-450
- 5 **MENENDEZ-ARIAS, L. Et al.** Eur. J. Biochem., 1988, vol. 177, 159-166
- GONZALEZ R. et al.** Lancet, 1995, vol. 346, 48-49
- KLEINE-TEBBE J. et al.** J Allergy Clin Immunol, 2002, vol. 11 O, 797-804
- SANCHEZ-MONGE R. et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 2000, vol. 106, 955-961
- GAVROVIC-JANKULOVIC M. et al.** J Allergy Clin Immunol, 2002, vol. 11 O, 805-  
10 810
- PASTORELLO EA et al.** J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl., 2001, vol. 756, 85-93
- MONEO I. et al.** J. Allergy Clin. Immunol., 2000, vol. 106, 177-182
- ASTURIAS JA et al.** Allergy, 2000, vol. 55, 898-890
- 15 **CHRISTIE, J. F. et al.** Immunology, 1990, vol. 69, 596-602
- BAURX. Et al.** Clin Allergy, 1982, vol. 12, 9-17
- ONISUKA R. et al.** Int Arch Allergy Immunol, 2001, vol. 125, 135-143
- CZUPPON AB et al.** J Allergy Clin Immunol, 1993, vol. 92, 690-697
- ATTANAYAKA DPSTG et al.** Plant Mal Biol, 1991, vol. 16, 1079-1081
- 20 **CHYE ML ; CHEUNG KY.** Plant Mal Biol, 1995, vol. 26, 397-402
- ALENIUS H. et al.** Int Arch Allergy Immunol, 1993, vol. 102, 61-66
- YEANG HY ; CHEONG KF ; SUNDERASAN E ; HAMZAH S ; CHEW NP ; HAMID S ; HAMIL TON RG; CARDOSA MJ.** The 14.6 kD (REF, Hev b 1) and 24 kD (Hev b 3) rubber particle proteins are recognised by IgE from Spina Bifida  
25 patients with Latex allergy. J Allergy Clin Immunol, 1996
- SUNDERASAN E. et al.** J nat Rubb Res, 1995, vol. 1 O, 82-99
- SWOBODA I. et al.** J Immunol., 2002, vol. 168, 4576-84
- VRTALA et al.** J Immunol., 2007, vol. 179, 1731-1739
- VALENTA; NIEDERBERGER.** J Allergy Clin Immunol., 2007, vol. 119 ( 4 ), 826-  
30 830
- NIESPODZIANA.** J. Allergy & Clin. Immunol., 13 March 2011, vol. 127 (6), 1562-1570
- FOCKE M et al.** Clinical & Experimental Allergy, 201 O, vol. 40, 385-397



**ZHEN L. et al.** Infect Immun., 2003, vol. 71, 3920-3926

**GUPTA R. K. et al.** Vaccine, 1993, vol. 11, 293-306

**JOHNSON A. G.** Clin. Microbial. Rev., vol. 7, 277-289

**VALENTA; NIEDERBERGER.** J Allergy Clin Immunol, 2007, vol. 119 (4), 826-

5 830

**SCHRAMM G et al.** J Immunol, 1999, vol. 162, 2406-2435

**FLICKER S et al.** J Immunol, 2000, vol. 165, 3849-3859

**MAGLIO O et al.** Protein Eng., 2002, vol. 15, 635-642

**SAMBROOK et al.** Molecular Cloning. Cold Spring Harbor Laboratory Press,

10 1989

**AUSUBEL et al.** Short Protocols in Molecular Biology. Wiley and Sons, 1995

**VRTALA.** J Clin Invest, 1997

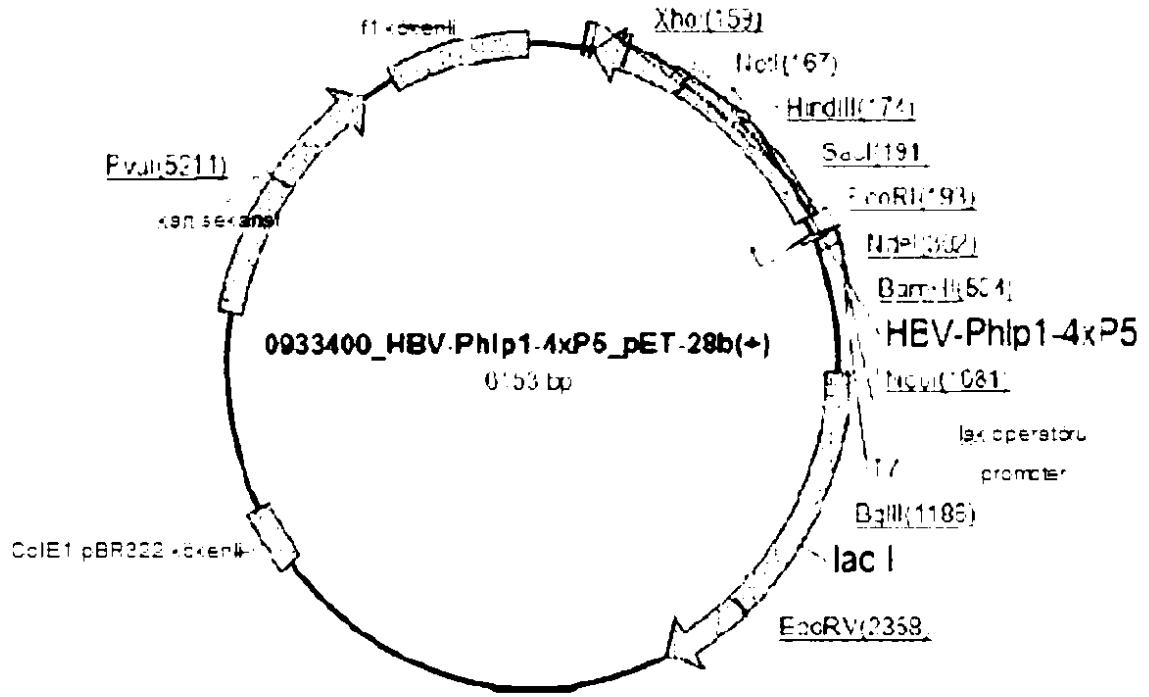
15

20

25

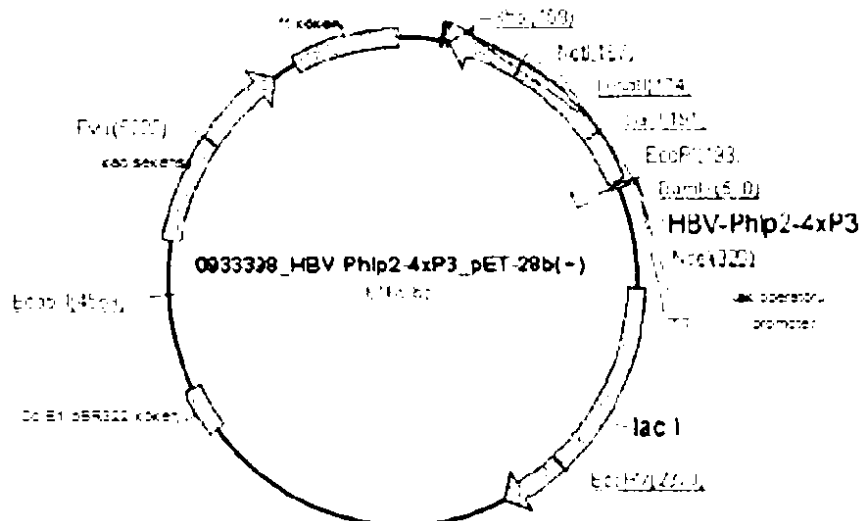
30

Plazmid Haritası:



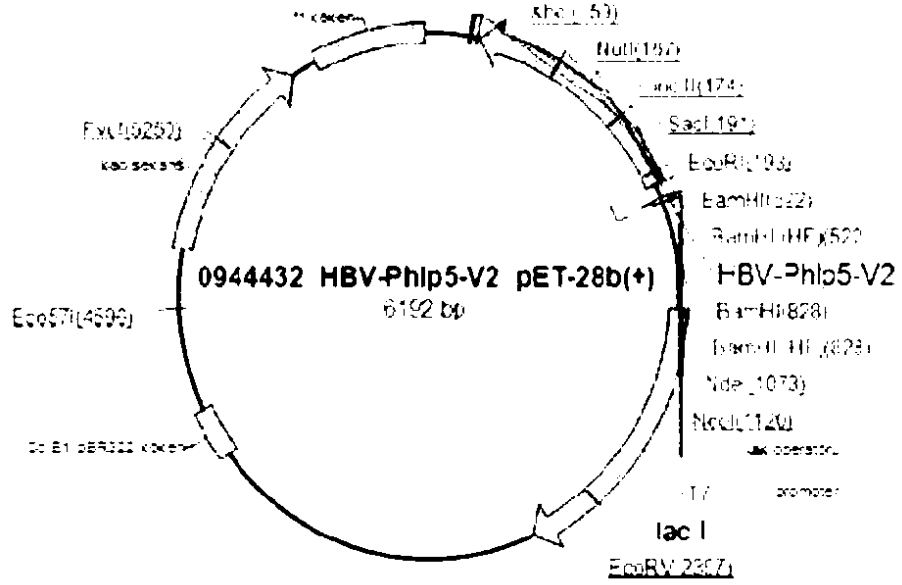
Şekil 1A

Plazmid Haritası:



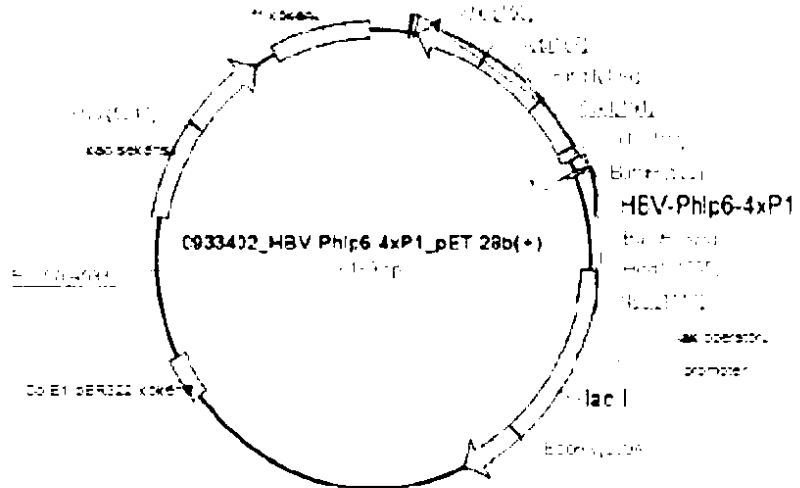
Şekil 1B

Plazmid Haritası:



Şekil 1C

Plazmid Haritası:



Şekil 1D

## Şekil 2A

1 MVRYTTEGGT KTEAEDVIPE GWKADTSYES KVRYYTTEGGT KTEAEDVIPE GWKADTSYES  
 61 KGGWSESEPRK GNGTNLSEVNH DLGFTFDHQI DPAPGANSNN DWDENPIKO HFPAAHQVGV  
 121 GAFGEGLETPP HGGILGWSPO AQLLITVST IUPPASTNRQ SGRQPTPISF FLKDSHPQAN  
 181 QSNSTAFHOA IQDPRVRELY FPAGSSSGT VNPAPNIASH ISSISARTGD PAVHVRYTTE  
 241 GGTKTEADV IPEGWKADTS YESKVRYYTTE GGTKTEADV IPEGWKADTS YESK

## Şekil 2B

1 MFRFLTEKGM KNVFDDVVE KYTIGATYAP EEFRLTEKG MKNVFDDVVP EKYTIGATYA  
 61 PEEGGFSQNP RKGMTNLSEV NPLGFFFDH QIDPAPGANS NPDWENPI KDHGPAANOV  
 121 GVGAFERGLT FPHGGLGWS PQAGGILITV STTPPASTN RQSSRQPTPI SPPLRDSHPQ  
 181 AMQWNSTAFH QALQDPRVRE LYFPAGSSSG OTVNPAPNIA SHISSISART GDPVTMFRFL  
 241 TEKGMKNVFD DVVPEKYTIG ATYAPEEFRF LTEKGMKNVF DDVPEKYTI GATYAPEE

## Şekil 2C

1 MEAAFNDAIK ASTGGAYESY KFIPALEAAV KAESKVVIPA GELQVIEKVD AAFKVAATAA  
 61 KAAPANDKGG WSKPRRGMG INLOVNPPLG FEPDHOQDPA FGANSNPFOW LENPIKDHFP  
 121 AANQVGVGAF GPGLTTPHGG ILGWSFQAQG ILITVSTIPP PASTNRQSGR QPTPISPPLE  
 181 DSDPAMQWNS STAFHQALQD FVREGLYFPA GSSSGTGNP APNIASHISS ISARTGDQVT  
 241 NADLGYGPAT PAAPAAGYTP ATPAAPAAA PAGKATTEEQ KLIKYNAGF KALALAGV  
 301 QPADFYR.

## Şekil 2D

1 GKATTEEQKL IEDVNASFRA AMATTANVPP ADKGKATTEE QKLIEDVNAS FRAAMATTAN  
 61 VPPADKGGKS SKPRKGMTH LSVNPLGFF PDHQLDPAG ANSNPFOWF NPIKDHFPAA  
 121 NQVGVGAFGP GLTTPHGGIL GWSFQAQGL TIVSTIPPPA STNRQSGRQF QPTPISPPLE  
 181 HPQAMQWNSC AFHQALQDPR VREGLYFPAG SSGTGNPAP NIASHISSIS ARTGDQVTNG  
 241 KATTEEQKLI EDVNASFRAA MATTANVPPA DKGKATTEEQ KLIEDVNASF RAAMATTANV  
 301 PPADK

## Şekil 2E

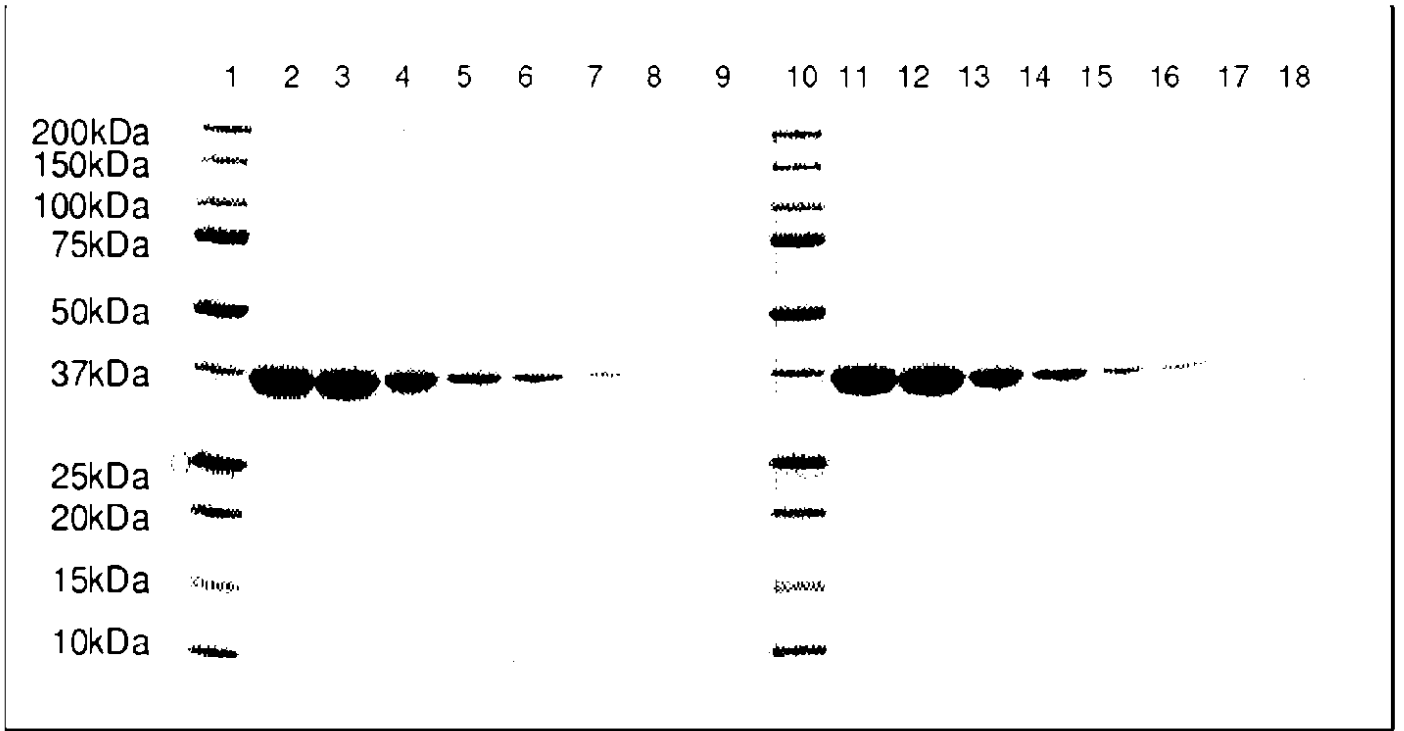
1 LFPKVAPQA ISSVENIEGN GGPGTIKKIS FPEGPFKYVK DRVDELEPKV APQAISSVEN  
 61 IEGNGGPGTI KKISPEGPFK YVKDRVDEG WSKPRRGMG INLOVNPPLG FEPDHOQDPA  
 121 FGANSNPFOW LENPIKDHFP AANQVGVGAF GPGLTTPHGG ILGWSFQAQG ILITVSTIPP  
 181 PASINEQSGR QPTPISPPLE DSHPQAMQWN STAFHQALQD FVREGLYFPA GSSSGTGNP  
 241 APNIASHISS ISARTGDQVT NLFPKVAPQA ISSVENIEGN GGPGTIKKIS PEGPFKYVKD  
 301 RVDELEPKVA PQAISSVENI EGNNGPGTIK KISPEGPFKY VKDRVDE

## Şekil 2F

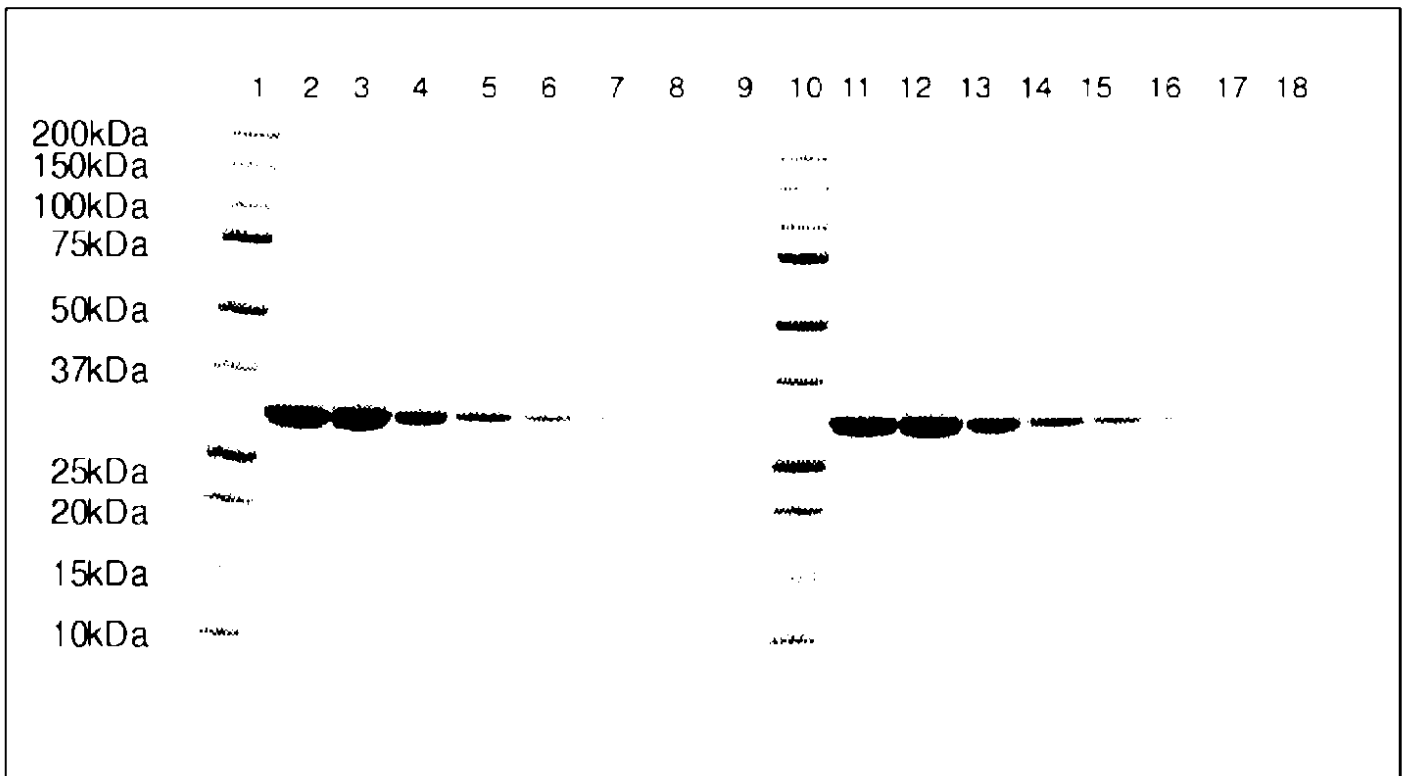
1 LFPKVAPQA ISSVENIEGN GGPGTIKKIS FPEGPFKYVK DRVDELEPKV APQAISSVEN  
 61 IEGNGGPGTI KKISPEGPFK YVKDRVDEG WSKPRRGMG INLOVNPPLG FEPDHOQDPA  
 121 FGANSNPFOW LENPIKDHFP AANQVGVGAF GPGLTTPHGG ILGWSFQAQG ILITVSTIPP  
 181 PASTNRQSGR QPTPISPPLE DSHPQAMQWN STAFHQALQD FVREGLYFPA GSSSGTGNP  
 241 APNIASHISS ISARTGDQVT NPEGPFKYVK DRVDEVDHTN FKYNYSVIEG GPIGDTLEKI  
 301 SNEIKIPROF PFWYDRVDE DHTNFKYNS VTEQPIQDT AKTONFEXT

## Şekil 2G

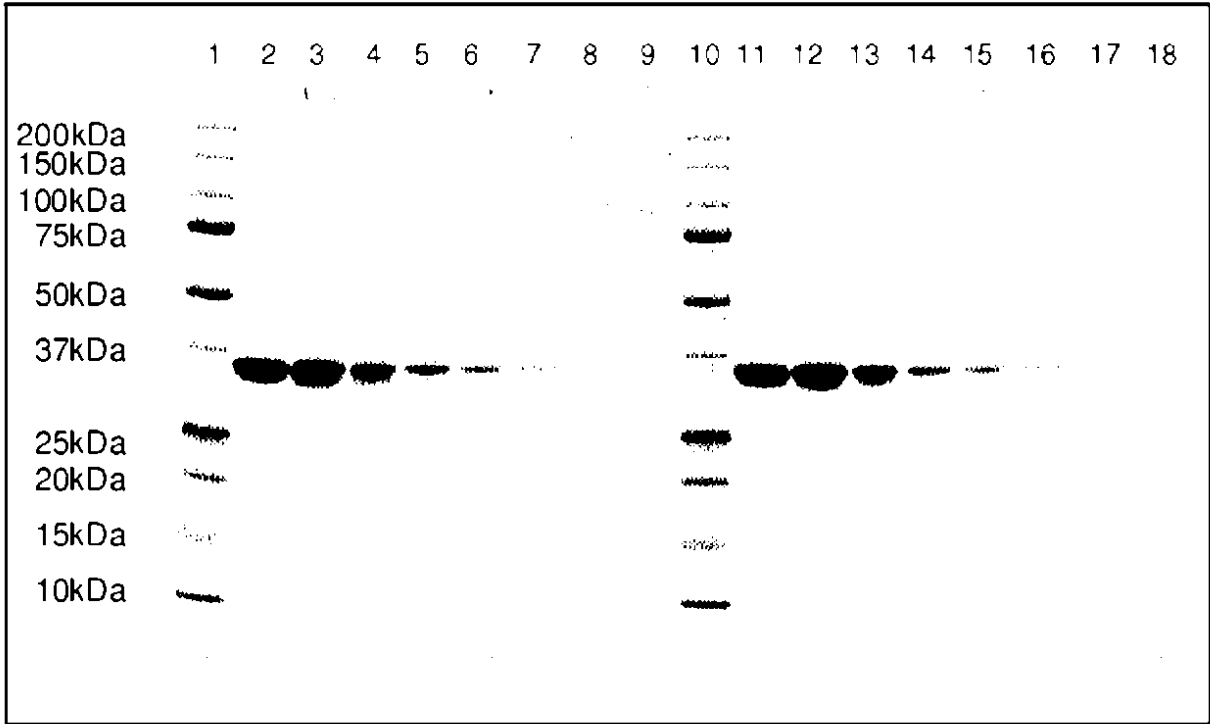
1 KIDLGYGPAT PAAPAGYTF ATPAAPASAA PAKVATTEEQ KLEKINAGF KALALADAGV  
 61 QPADAKRGGW SSNPKKMET KLSVENELGF FPDHQLDFAF GANNNKPDND ENFIKDHWA  
 121 ANQVGVGAFG PGLTDPHGGI LGWSPQAQGI LTIWSTIPFP ASTNROGGRO PEPIDPLRD  
 181 SHPQANQWNS TAFHQALQDP EVRGLYFPAG GSSSGTVNFA PNIASHIOSI SARTGDPVTN  
 241 **EAAFNDAIKA** **STGGAYESYK** **FIPALEAAVK** AEEVWVIFAG ELQVIEKVA AFKVAATAAN  
 301 AAPANDK



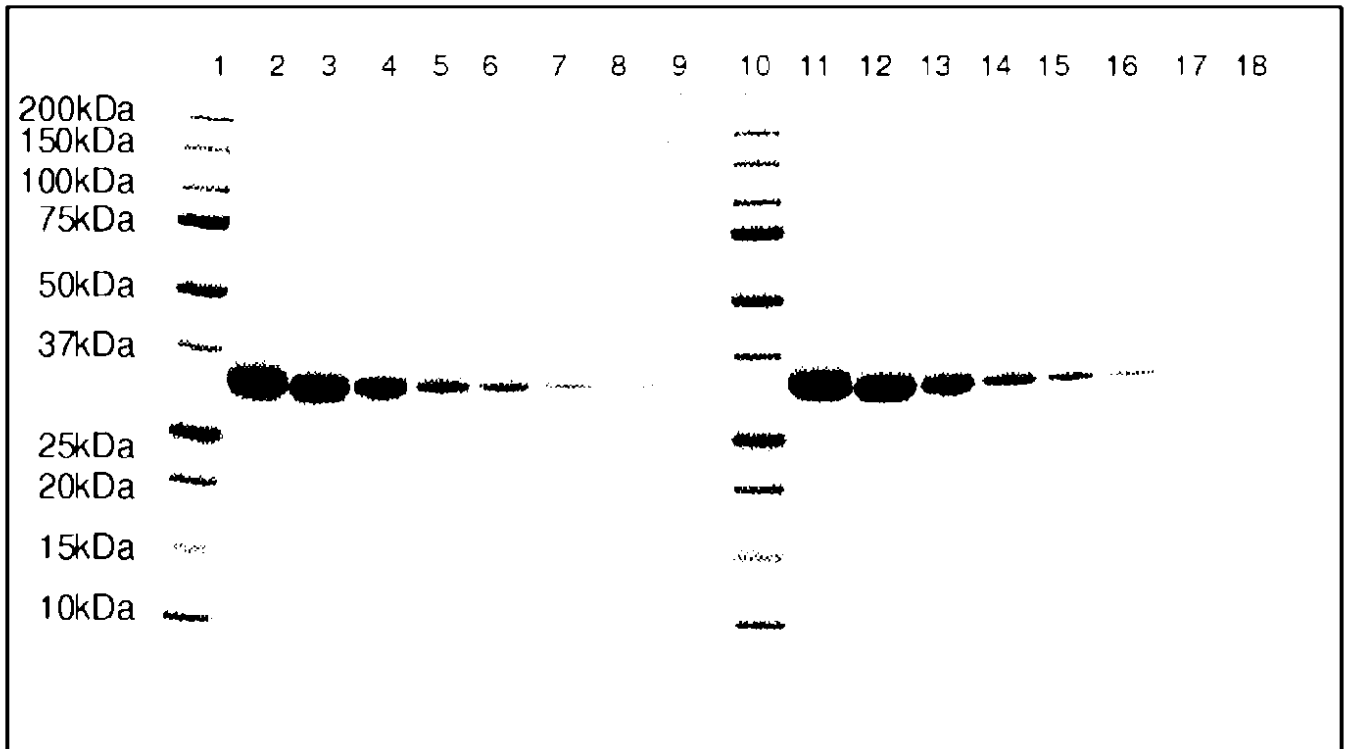
Şekil 3A



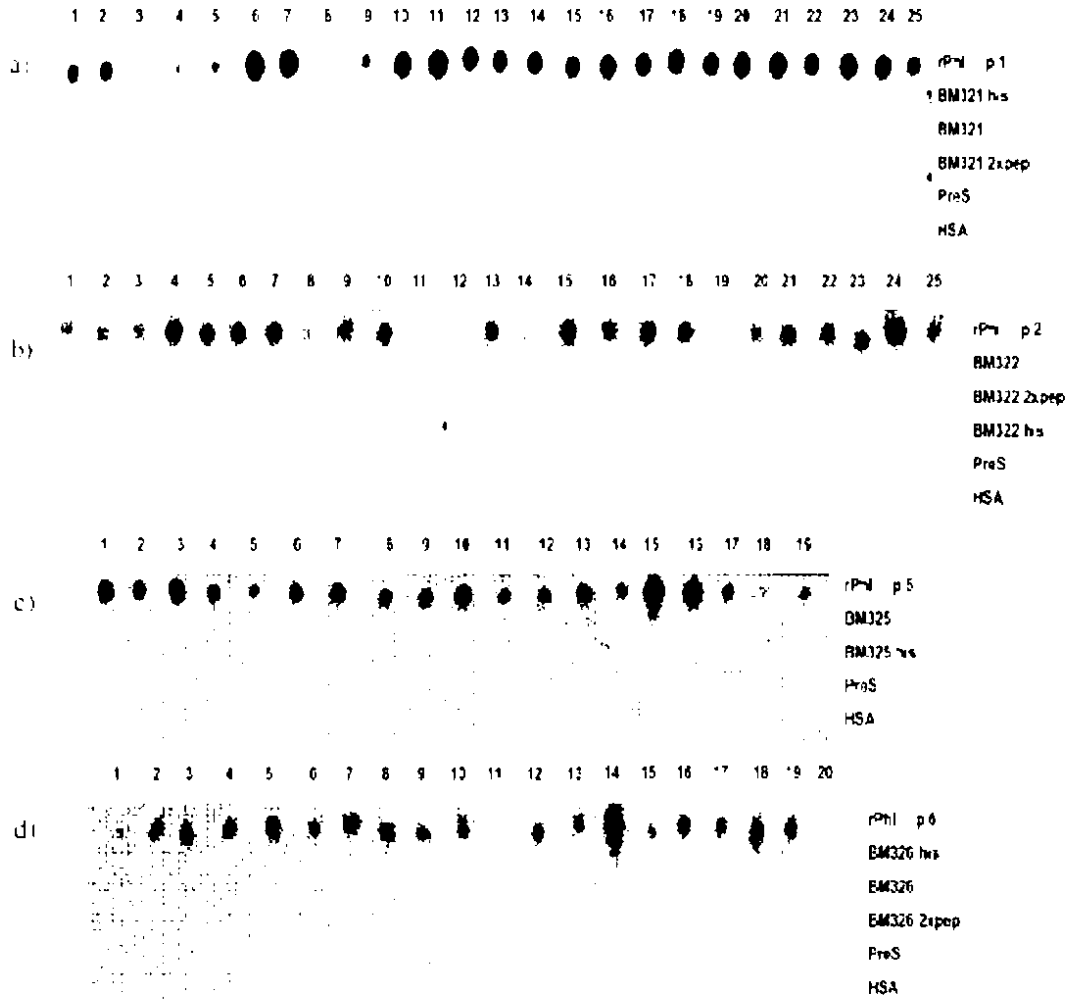
Şekil 3B



Şekil 3C

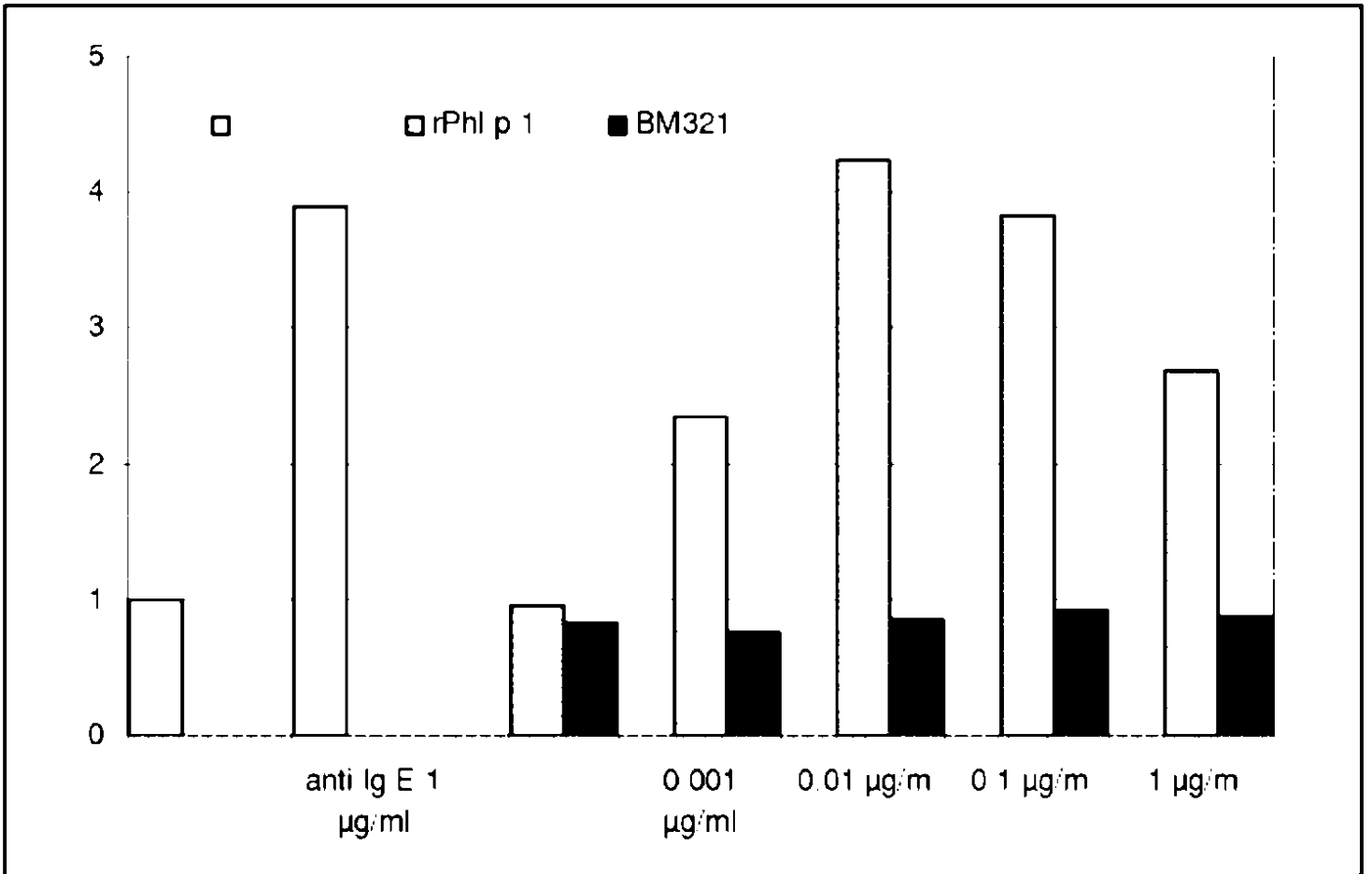


Şekil 3D

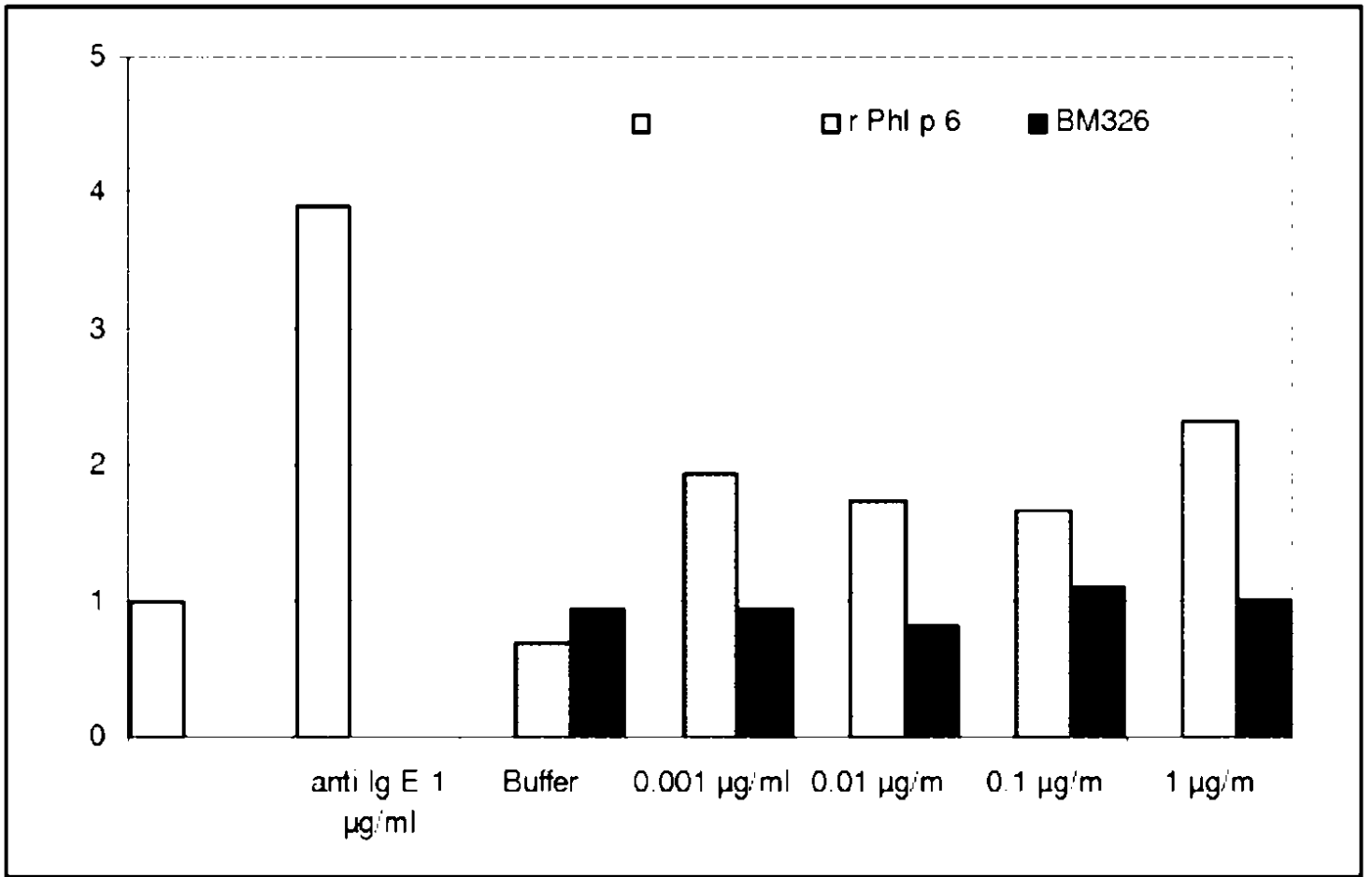


Şekil 4

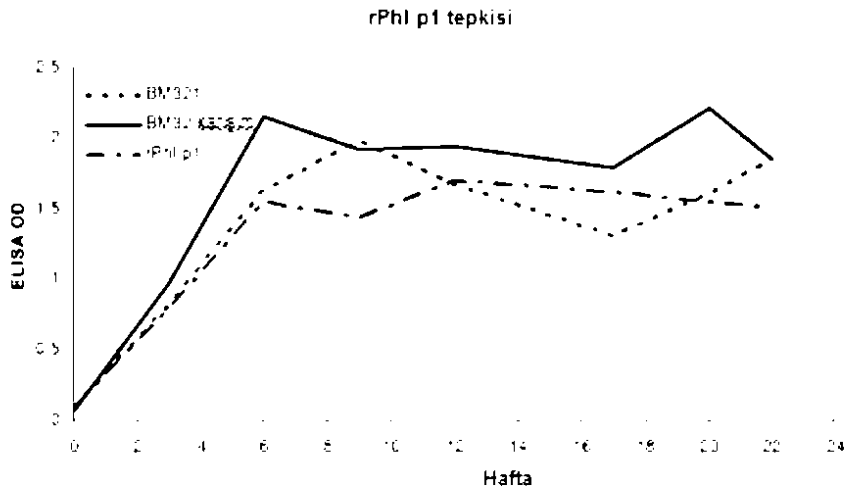




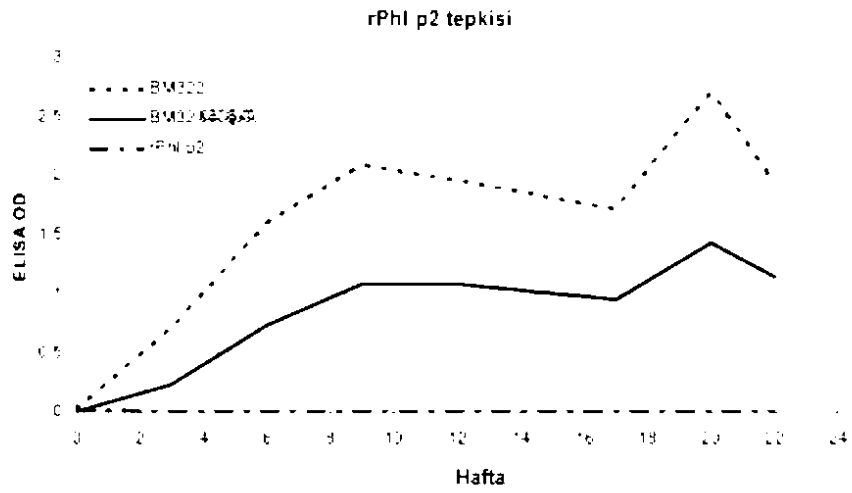
Şekil 5



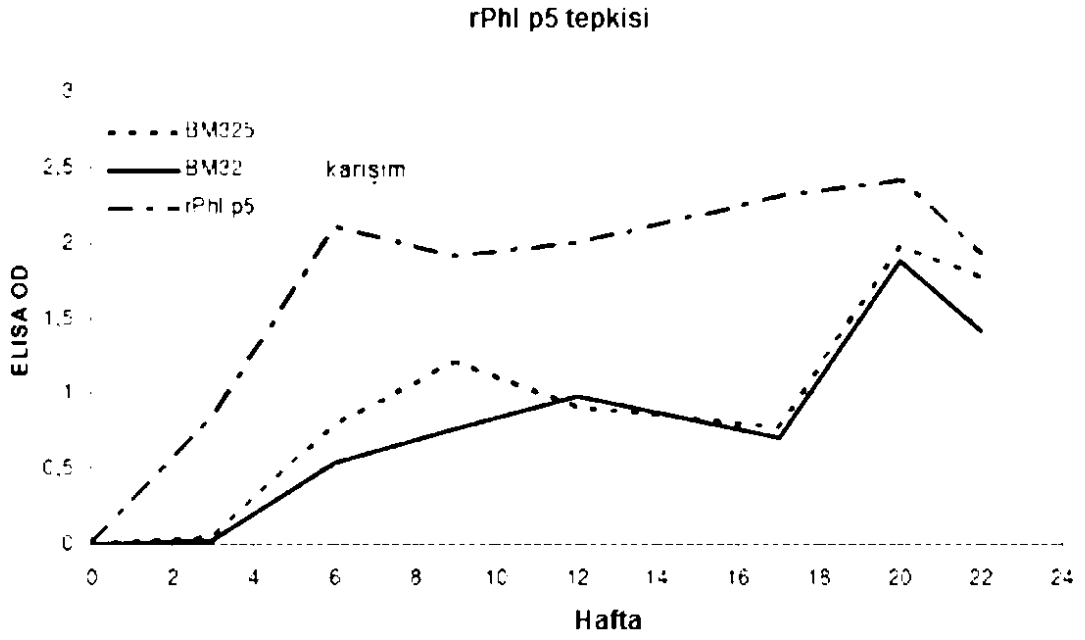
Şekil 6



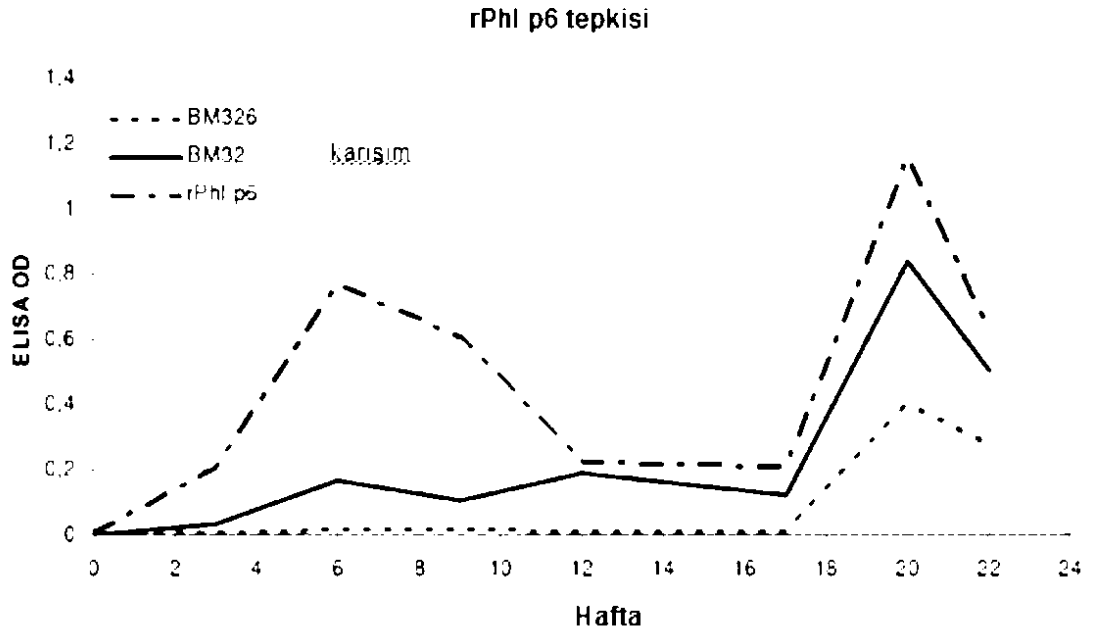
W 5A



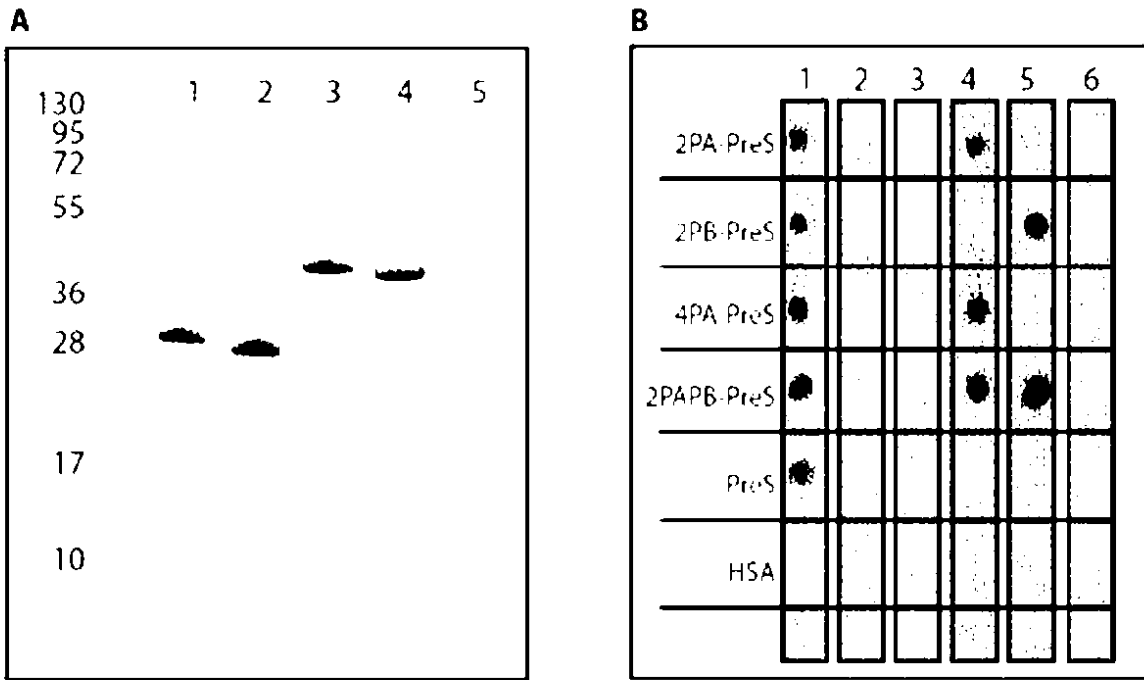
W 01



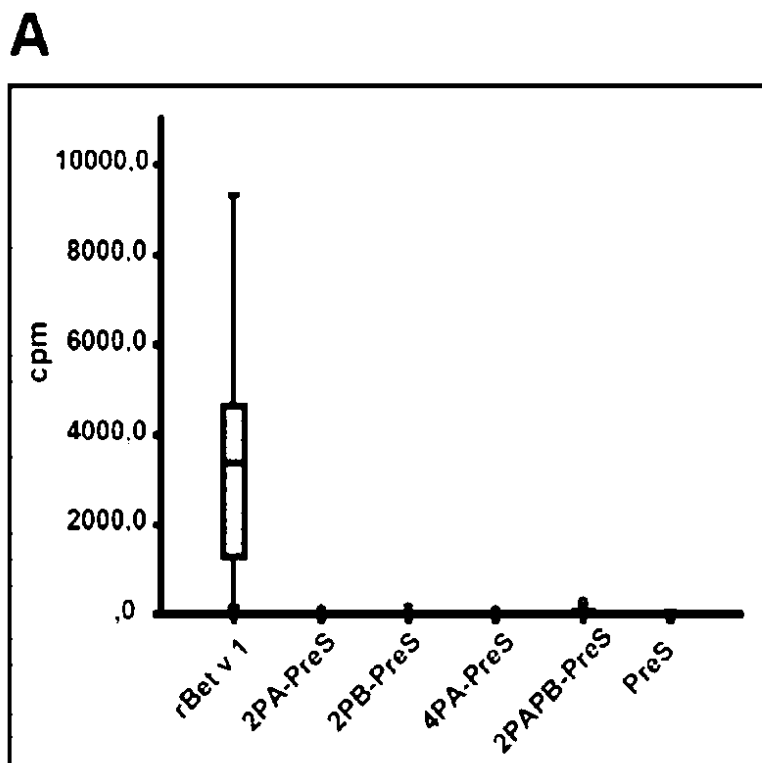
Şekil 7C



Şekil 7D

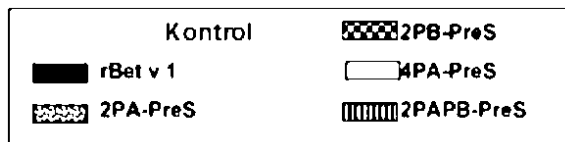
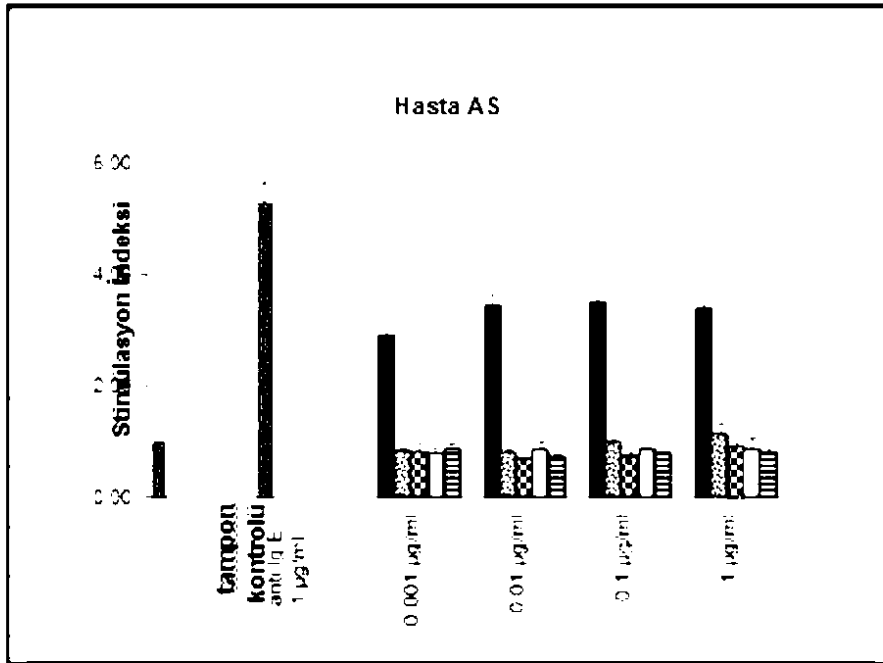


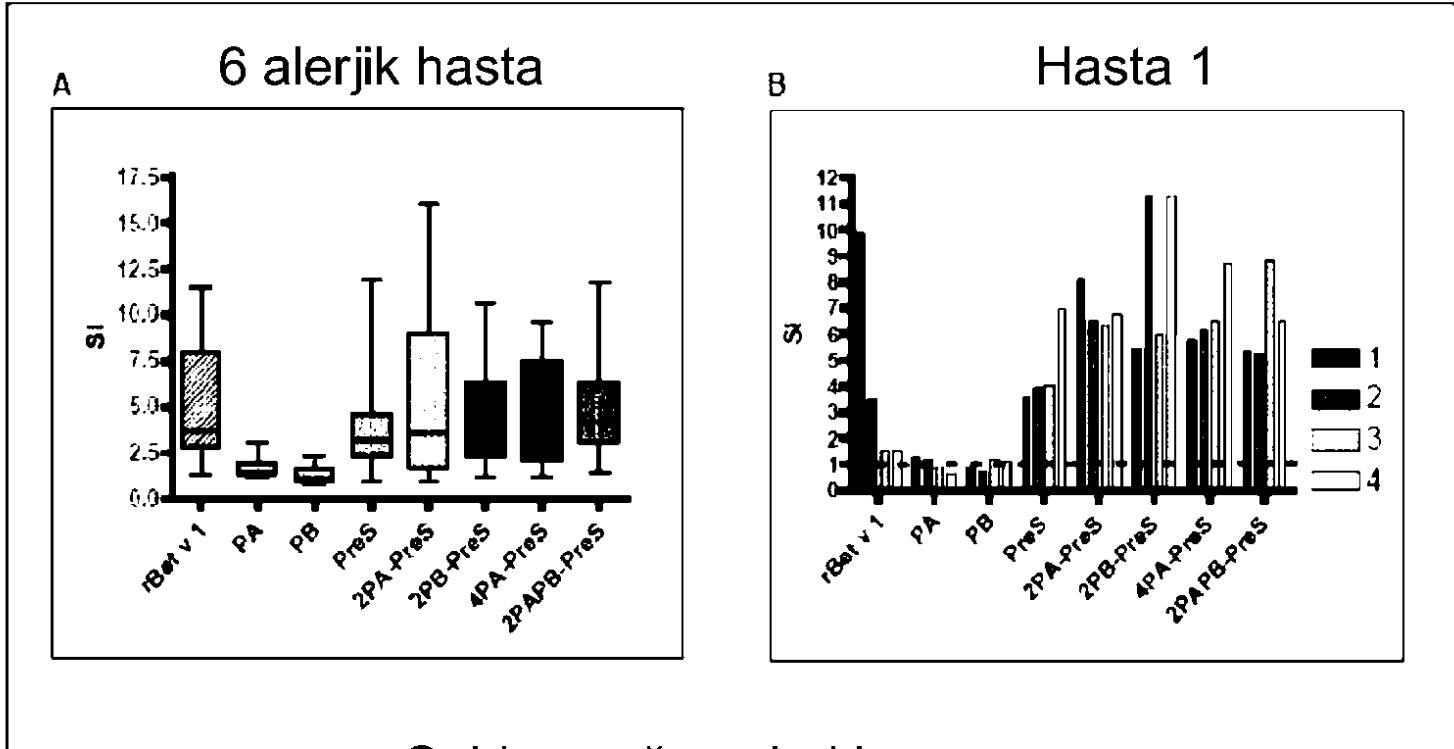
Şekil 8



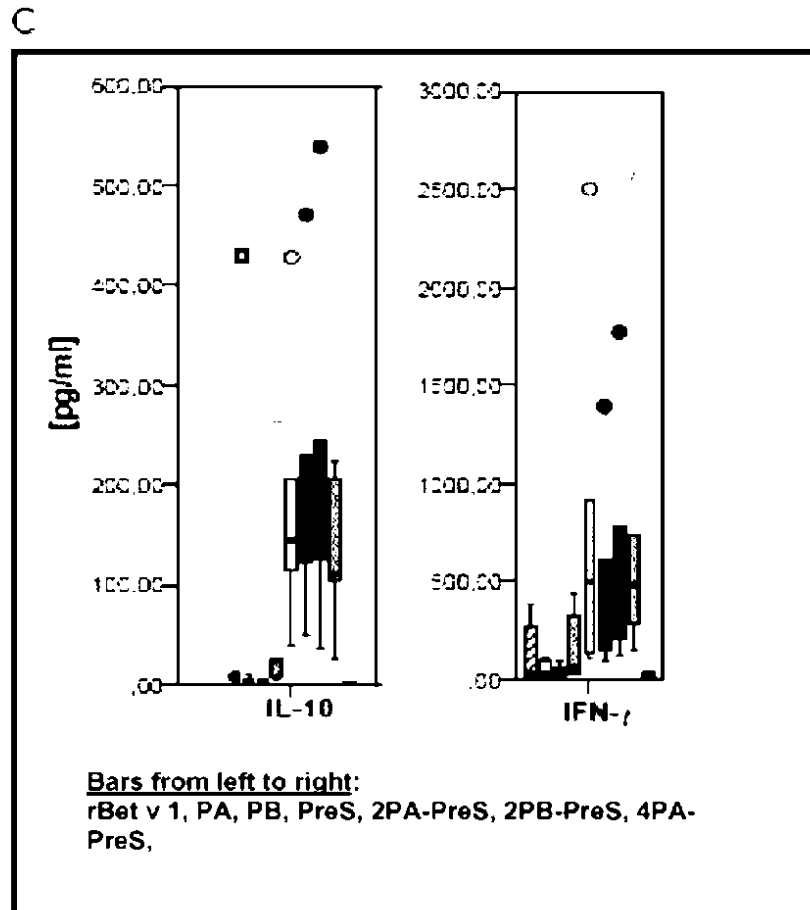
Şekil 9A

**B**



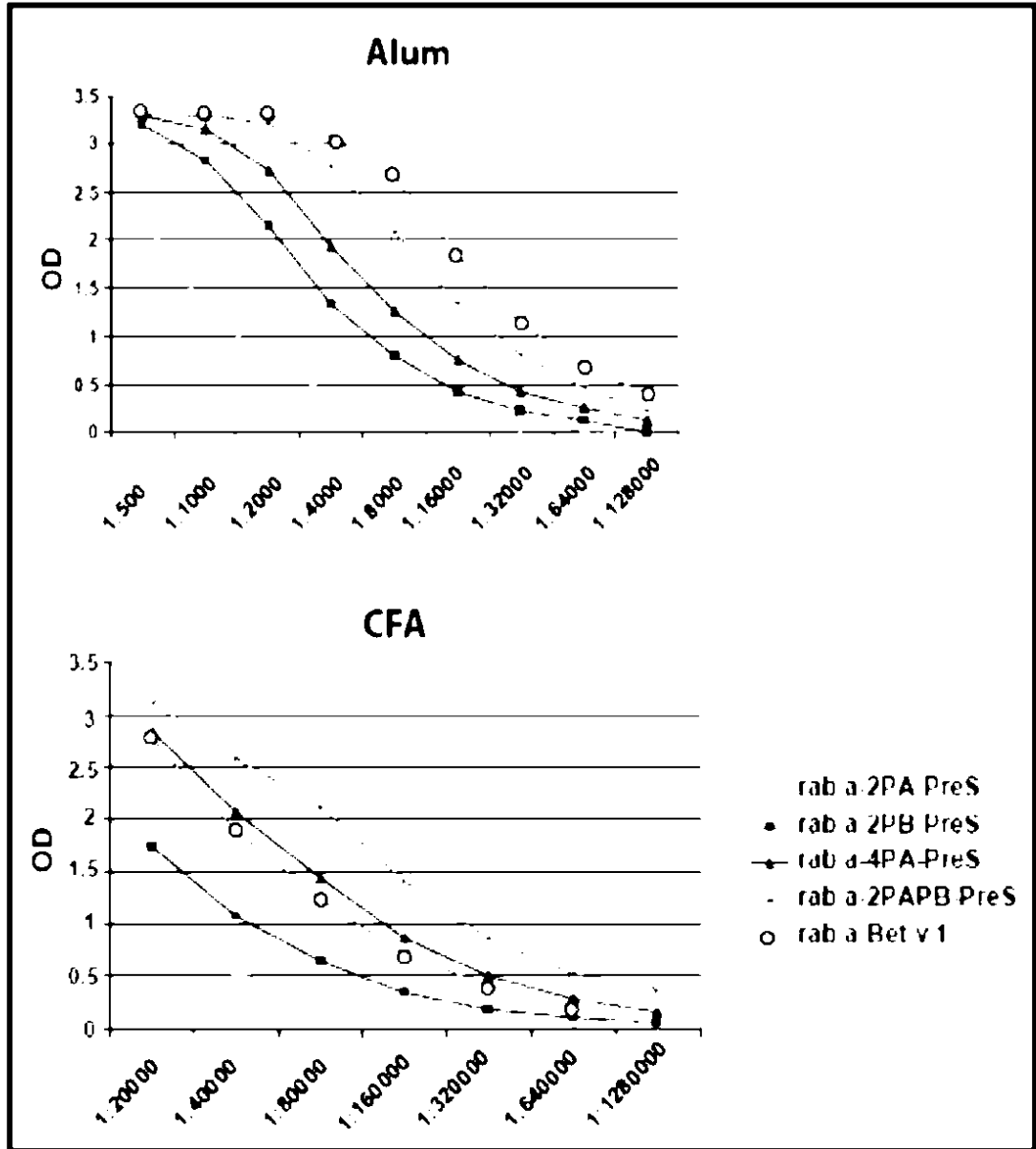


Soldan sağa çubuklar:



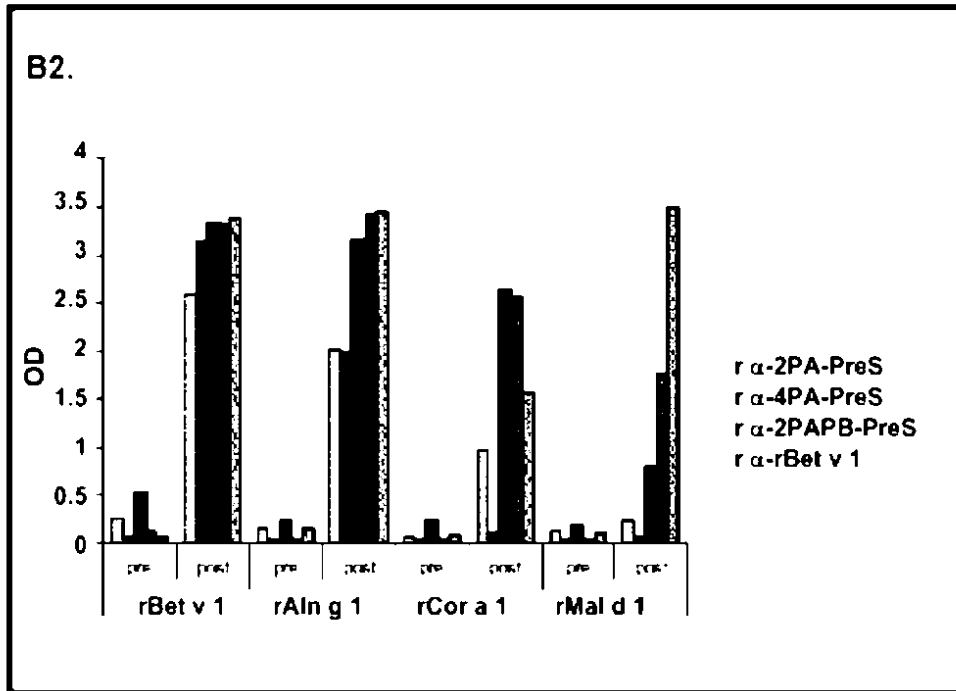
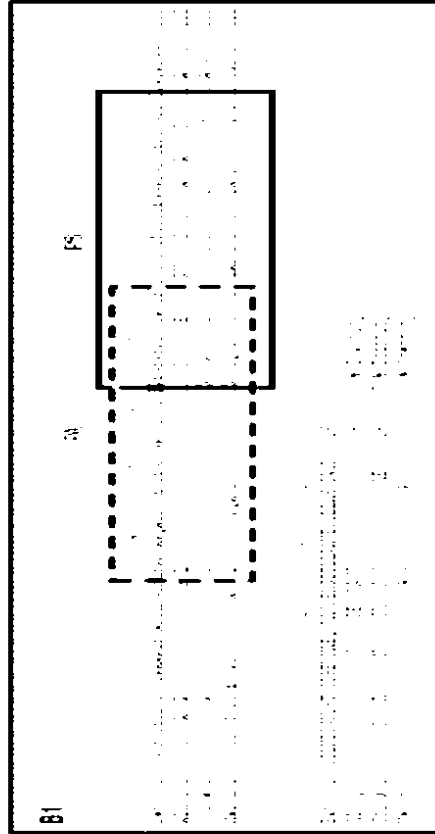
Şekil 10

A

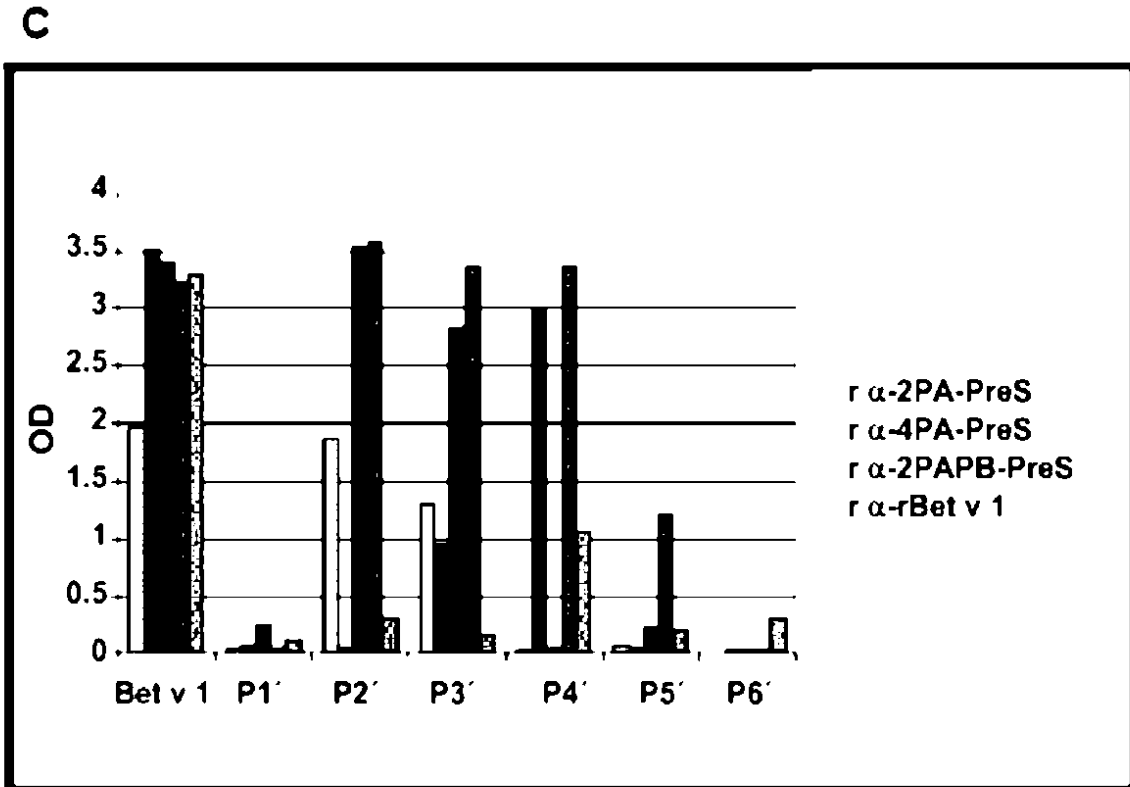


Şekil 11A

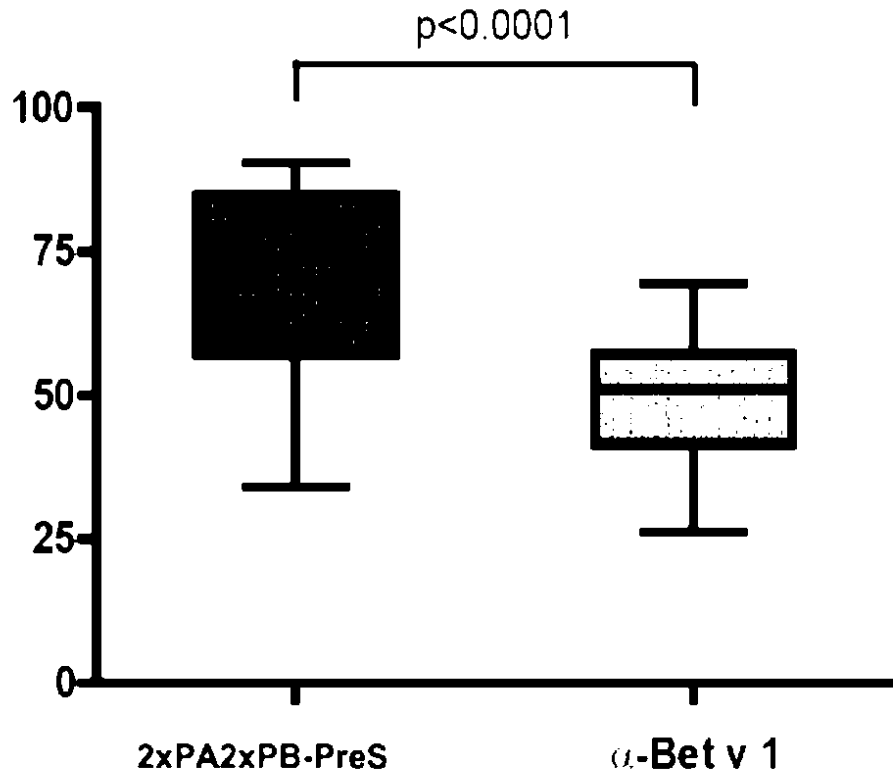




Şekil 11B

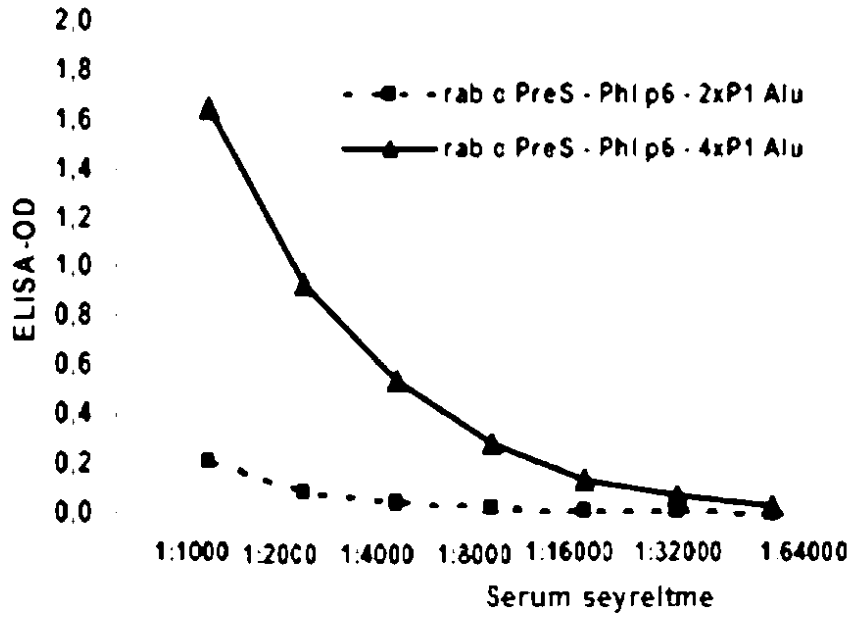


Şekil 11C



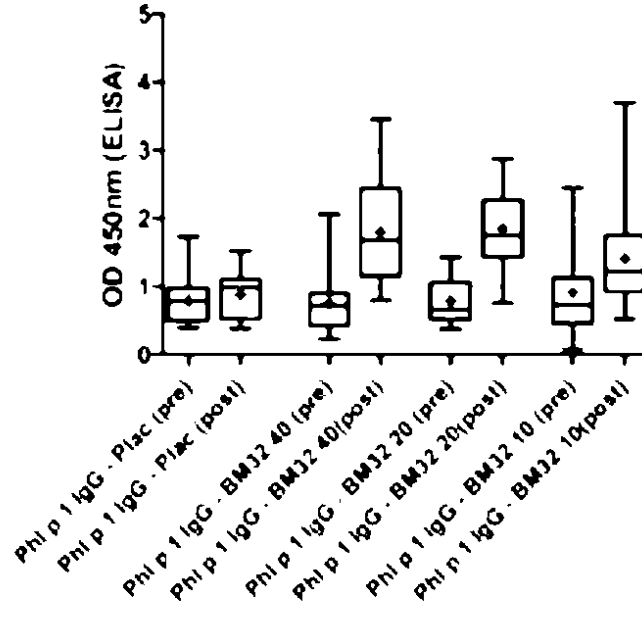
Şekil 12

PreSfüzyon proteinleri (Phi p 6'dan türetilen peptitler) ile immünizasyonla ortaya çıkan tavşan IgG'nin titrasyonu



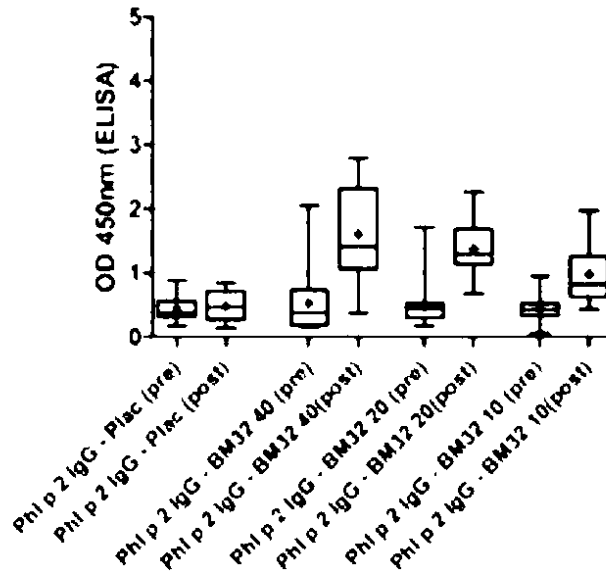
Şekil 13

Phl p 1'e özgü toplam IgG

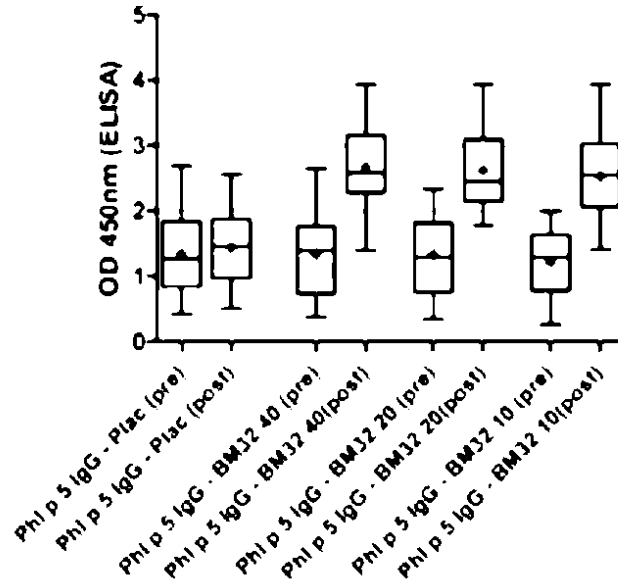


Şekil 14A

Phl p 2'e özgü toplam IgG

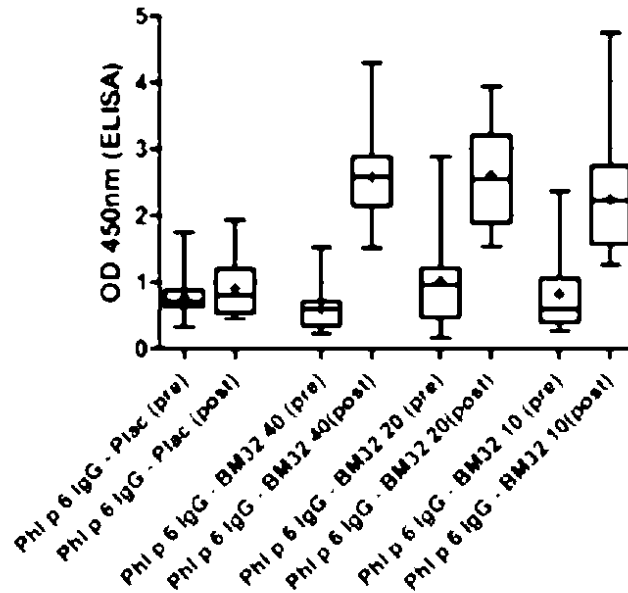


Phl p 5'e özgü toplam IgG



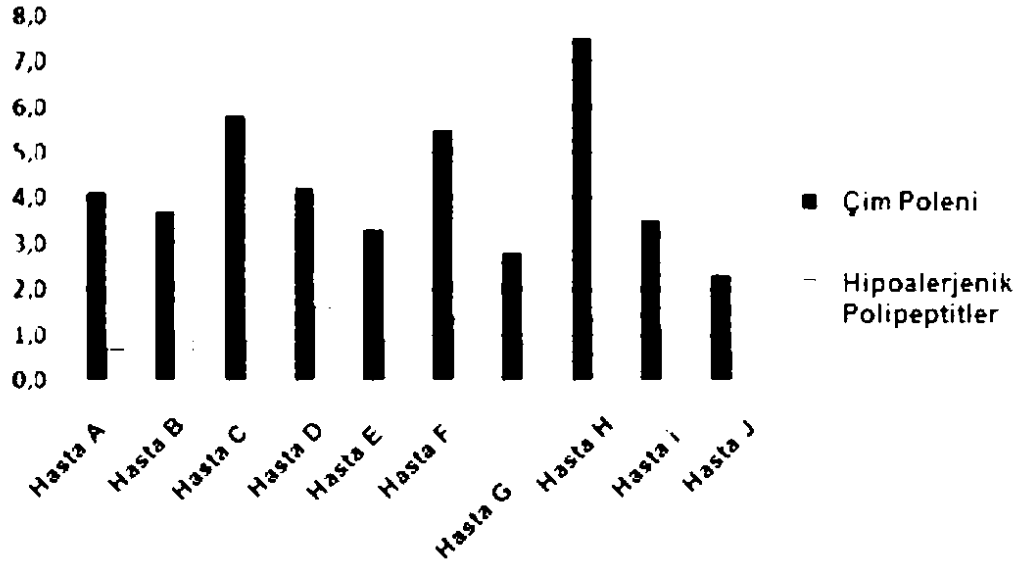
140

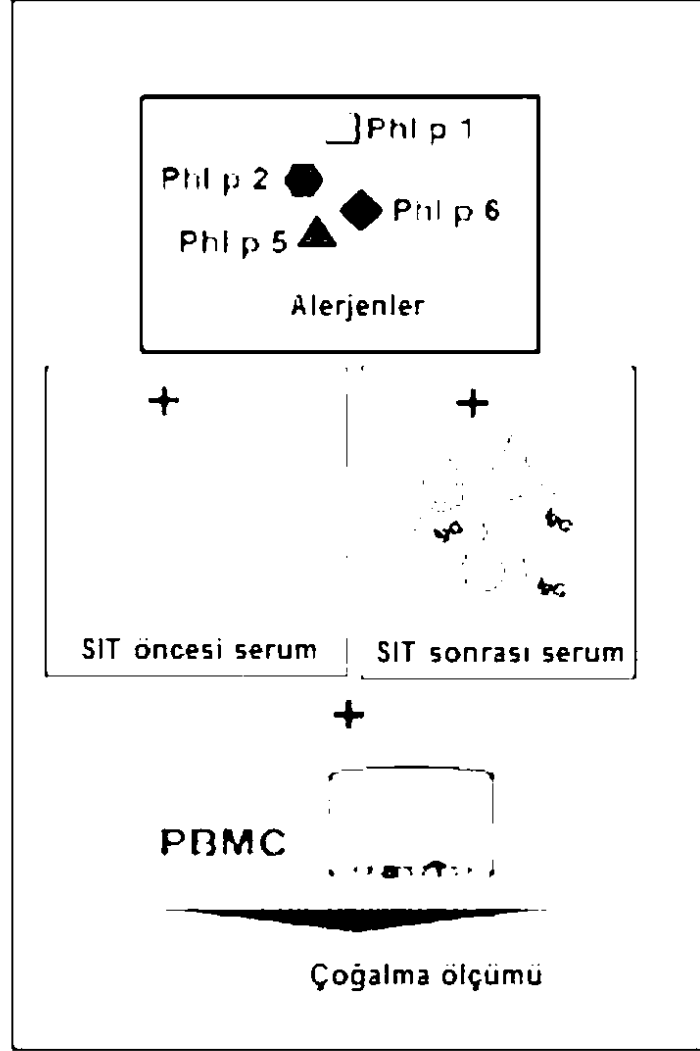
Phl p 6'e özgü toplam IgG



140

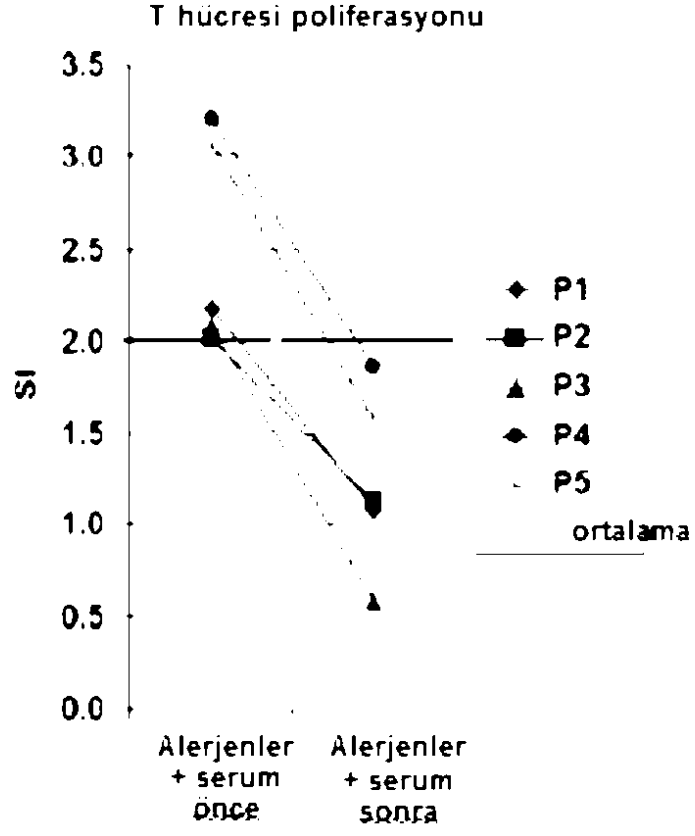
Çim poleni ile stimülasyona kıyasla aşı formülasyonunun hipoaalerjenik polipeptitleri ile stimüle edildikten sonra T hücresi proliferasyonu



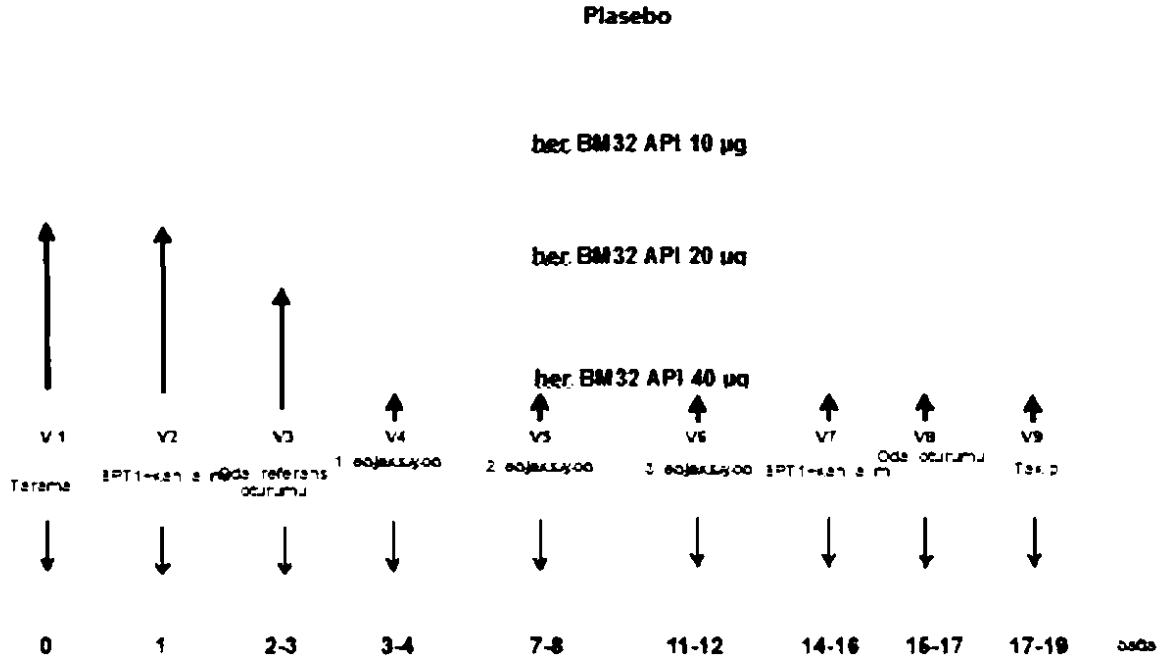


Şekil 16A





Şekil 16B



Şekil 17

**HBV Der p2-2xP2-2xP4**

HGSEPCIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHGSEPCIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKGG  
WSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWPAAANQVGVGAFGP  
GLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASINRQSGRQPTPI SPPLRDSHPQAMQWNSTAF  
HQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPVTNEVDVPGIDPNACHYM  
KCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENEVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPK  
IAPKSEN

Şekil 18A

**HBV Der p2-3xP2-3xP4**

HGSEPCIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHGSEPCIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHG  
SEPCIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFG  
ANSNNPDWDFNPIKDHWPAAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPAST  
NRQSGRQPTPI SPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIAS  
HISSISARTGDPVTNEVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENEVDV  
GIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENEVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQY  
DIKYTWIVPKIAPKSEN

Şekil 18B

**HBV Der p23-2xP4-2xP5**

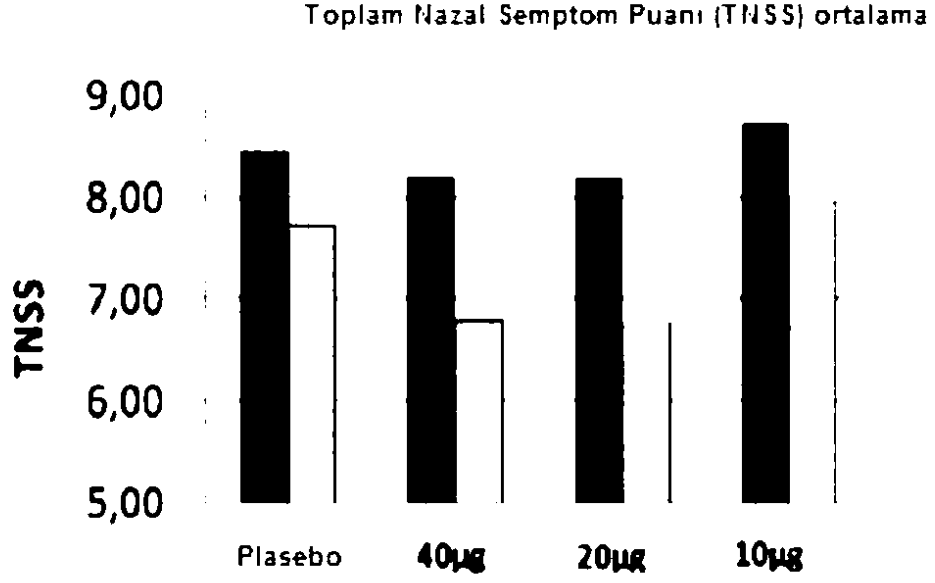
GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTGYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTGGWS  
SKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWPAAANQVGVGAFGPCL  
TPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPI SPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQ  
ALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPVTNKFYICSNWEAVHKDCPG  
NTRWNEDEETCTKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEETCT

Şekil 18C

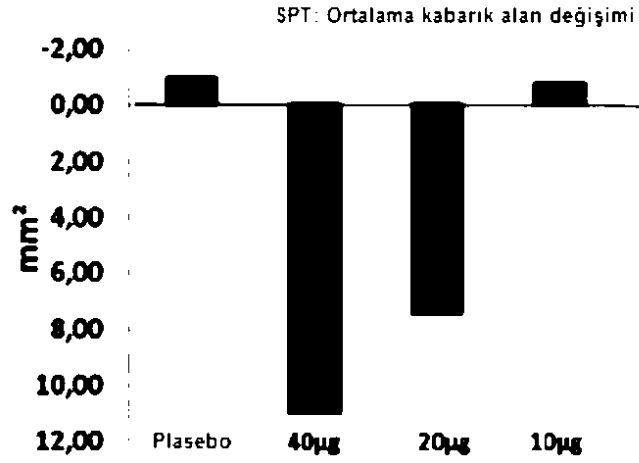
**HBV Der p23-4xP6**

GYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETSTIGYFADPKDPHKFYISSNWEAVHK  
ESPGNTRWNEDEETSTGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFN  
IKDHWPAAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPI S  
PPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDP  
VTNGYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETSTIGYFADPKDPHKFYISSNWEA  
VHKDSPGNTRWNEDEETST

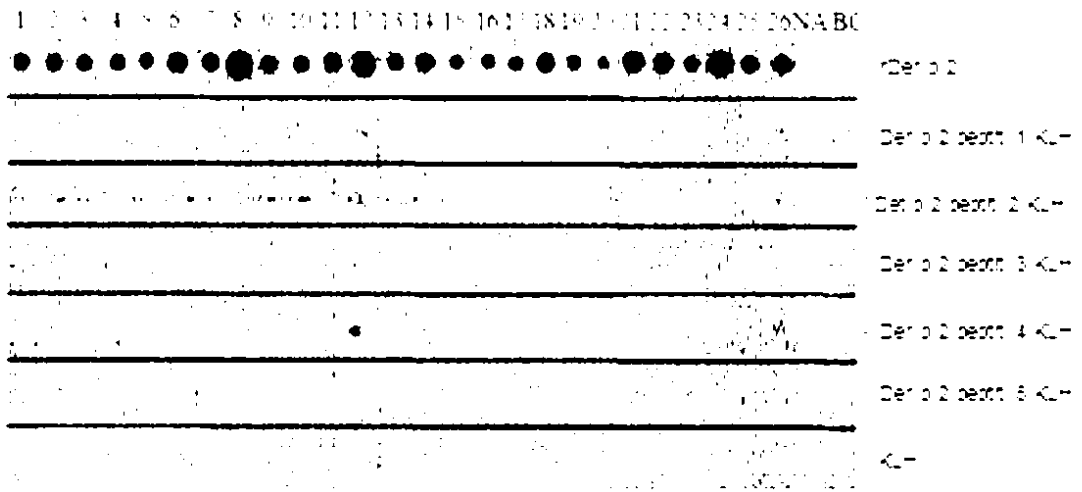
Şekil 18D



Şekil 19 A



Şekil 19 B



Susun 1-25 air entozo akan beres dan nastanin serum ar  
NA beres ditayan btey n serum  
BC tambon kontrol