1. Izoliuota stuburinio ląstelė, tinkama dominančio polipeptido rekombinantinei raiškai, kur stuburinio ląstelė yra pakeista taip, kad būtų susilpnintas matriptazės poveikis, kur matriptazės poveikis yra susilpnėjęs, nes matriptazės geno funkcinė raiška minėtoje ląstelėje yra sumažinta arba eliminuota, ir kur stuburinio ląstelė apima bent vieną heterologinį polinukleotidą, koduojantį dominantį polipeptidą, kur stuburinio ląstelė išskiria dominantį polipeptidą.

2. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal 1 punktą, kur matriptazės geno funkcinė raiška yra sumažinta arba eliminuota dėl geno išveiklinimo, geno mutacijos, geno pašalinimo, geno nuslopinimo arba bet kurių iš šių būdų derinio.

3. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal 1 ar 2 punktą, kur dėl matriptazės poveikio susilpnėjimo minėtoje ląstelėje sumažėja arba yra eliminuojamas dominančio išskiriamo polipeptido nukirpimas.

4. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal vieną ar daugiau iš 1–3 punktų, kur stuburinio ląstelės genomas yra pakeičiamas taip, kad būtų susilpninta endogeninės proteazės matriptazės funkcija ir (arba) kur bent viena ar visos matriptazės geno kopijos yra pašalintos arba funkciškai neaktyvios.

5. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal 4 punktą, turinti vieną arba daugiau iš šių savybių:

a) stuburinio ląstelė apima vieną ar daugiau bent vienos ar visų matriptazės geno kopijų mutacijas tam, kad būtų pateiktas nefunkcionalus ar mažiau funkcionalus raiškos produktas ir (arba)

b) stuburinio ląstelė apima vieną ar daugiau promotorių, 5‘UTR, 3‘UTR ir (arba) kitų reguliacinių matriptazės geno elementų mutacijų.

6. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal 5 punktą, kur minėta viena ar daugiau mutacijų yra apimamos matriptazės geno kodavimo srityje ir yra gaunamas nefunkcionalus ar mažiau funkcionalus raiškos produktas.

7. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal 6 punktą, kur viena ar daugiau mutacijų yra apimamos matriptazės geno polinukleotidų sekoje, kuri koduoja matriptazės 2 egzoną, ar kur viena arba daugiau mutacijų yra apimamos matriptazės geno polinukleotidų sekoje, kuri koduoja bent dalį matriptazės katalizinio domeno, tokiu būdu gaunant nefunkcionalų arba mažiau funkcionalų raiškos produktą.

8. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal vieną ar daugiau iš 1–7 punktų, kur

a) nepakeista endogeninė matriptazė yra bent 70 %, bent 80 %, bent 85 %, bent 90 %, bent 95 %, bent 96 %, bent 97 %, bent 98 % arba bent 99 % panaši į vieną ar daugiau iš aminorūgščių sekų, pateiktų sekoje Nr. 1–5 kaip matriptazės etaloninis baltymas, ir pasižymi tokiu pačiu proteolitiniu aktyvumu, kaip minėtas matriptazės etaloninis baltymas;

b) matriptazė nėra matriptazė-2 ir nėra matriptazė-3;

c) matriptazė yra matriptazė-1; ir (arba)

d) matriptazė yra endogeninė proteazės matriptazė.

9. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal vieną ar daugiau iš 1–8 punktų, kur stuburinio ląstelė yra žinduolio ląstelė, pasirinktinai, kur žinduolio ląstelė pasižymi viena ar daugiau iš tolesnių savybių:

a) žinduolio ląstelė yra žmogaus ląstelė;

b) žinduolio ląstelė yra graužiko ląstelė;

c) žinduolio ląstelė yra žiurkėno ląstelė, pageidautina – CHO ląstelė;

d) žinduolio ląstelė yra pateikiama kaip ląstelės klonas arba ląstelės linija; ir (arba)

e) stuburinio ląstelė yra:

(i) žmogaus ląstelė, atrinkta iš grupės, kurią sudaro HEK293 ląstelė, MCF-7 ląstelė, PerC6 ląstelė, CAP ląstelė, žmogaus hematopoetinės ląstelės ir HeLa ląstelė arba

(ii) beždžionės ląstelė, atrinkta iš grupės, kurią sudaro COS ląstelė, COS-1 ląstelė, COS-7 ląstelė ir Vero ląstelė.

10. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal 1 punktą, kur stuburinio ląstelė yra CHO ląstelė, kuri apima vieną arba daugiau rėmelio poslinkio mutacijų matriptazės geno vienos arba abiejų alelių 2 egzone.

11. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal vieną arba daugiau iš 1–10 punktų, kur dominantis polipeptidas pasižymi viena arba daugiau iš šių charakteristikų:

a) tai yra terapiniu požiūriu aktyvus ar diagnostinis polipeptidas;

b) jį lengvai nukerpa proteazės;

c) jis apima bent vieną matriptazės nukirpimo vietą;

d) tai yra glikopolipeptidas;

e) yra atrinktas iš grupės, kurią sudaro glikoproteinai, antikūnai, ne IgG baltymai, Fc sulieti baltymai, Fab fragmentai, baltymų kompleksai, peptidazės, signaliniai peptidai, nanokūnai, augimo faktoriai, hormonai, citokinai, kraujo faktoriai ir fermentai;

f) jis nėra matriptazė arba neapima matriptazės; ir (arba)

g) jis yra koduojamas bent vieno heterologinio polinukleotido, kurį apima raiškos kasetė.

12. Izoliuota stuburinio ląstelė pagal vieną arba daugiau iš 1–11 punktų, kur mažiausiai vienas heterologinis polinukleotidas, koduojantis dominantį polipeptidą, yra integruotas į minėtos ląstelės genomą ir kur pasirinktinai mažiausiai vienas heterologinis polinukleotidas, koduojantis pasirenkamą žymenį arba reporterinį polipeptidą, yra papildomai integruotas į minėtos ląstelės genomą.

13. Stuburinio ląstelės gamybos būdas pagal vieną ar daugiau iš 1–12 punktų, kuris apima stuburinio ląstelės pakeitimą taip, kad būtų susilpnintas matriptazės poveikis sumažinant arba eliminuojant matriptazės geno funkcinę raišką minėtoje ląstelėje, ir polinukleotido, koduojančio dominantį polipeptidą, įterpimą, kur minėtą dominantį polipeptidą išskiria stuburinio ląstelė.

14. Dominančio polipeptido gamybos būdas rekombinantiniu metodu, apimantis:

(a) stuburinių ląstelių šeimininkių pagal vieną arba daugiau iš 1–12 punktų auginimą sąlygomis, kurios įgalina dominančio polipeptido raišką ir išskyrimą į ląstelių kultūros terpę;

(b) dominančio polipeptido išskyrimą iš ląstelių kultūros terpės; ir

(c) pasirinktinai išskirto dominančio polipeptido apdorojimą.

15. Ląstelės šeimininkės, kuri rekombinantiniu būdu ekspresuoja dominantį polipeptidą, atrinkimo būdas, apimantis:

(a) stuburinių ląstelių pagal vieną iš 1–12 punktų pateikimą kaip ląstelių šeimininkių; ir

(b) vienos ar daugiau ląstelių šeimininkių, ekspresuojančių dominantį polipeptidą, atrinkimą.

16. Būdas pagal 15 punktą, pasižymintis viena arba daugiau iš šių charakteristikų:

(i) etapas (a) apima stuburinių ląstelių, kuriose endogeninės proteazės matriptazės funkcija yra susilpninta, transfekciją bent vienu polinukleotidu, koduojančiu dominantį polipeptidą tam, kad būtų pateiktos stuburinių ląstelės šeimininkės pagal vieną ar daugiau iš 1–12 punktų;

(ii) minėtos ląstelės šeimininkės etape (a) papildomai apima bent vieną heterologinį polinukleotidą, koduojantį pasirenkamą žymenį, ir etapas (b) apima minėtos ląstelių šeimininkių visumos auginimą selektyviomis sąlygomis pasirenkamo žymens atžvilgiu;

(iii) polinukleotidai yra įterpiami į stuburinių ląsteles transfekuojant vienu ar daugiau raiškos vektorių;

(iv) etapas (b) apima vieną ar daug atrankos žingsnių; ir (arba)

(v) etapas (b) apima srautinės citometrijos pagrindu atliekamą atranką.

17. Stuburinio ląstelės naudojimas rekombinantinei dominančio polipeptido, kuris išskiriamas iš stuburinio ląstelės, gamybai, kur naudojama ląstelė yra pakeista tam, kad būtų susilpnintas endogeninės proteazės matriptazės poveikis, kur matriptazės poveikis susilpnėja dėl to, kad matriptazės geno funkcinė raiška minėtoje ląstelėje yra sumažinta arba eliminuota, pasirinktinai, kur stuburinio ląstelė yra ląstelė pagal vieną ar daugiau iš 1–12 punktų.

18. Stuburinio ląstelės atrankos metodas rekombinantinei išskiriamo dominančio polipeptido gamybai, kuris apima analizę, ar endogeninės proteazės matriptazė yra funkciškai ekspresuota stuburinio ląstelėje, ir atrinkimą stuburinio ląstelės, kurioje tokios endogeninės matriptazės poveikis yra susilpnintas sumažinant arba eliminuojant matriptazės geno funkcinę raišką išskirto dominančio polipeptido rekombinantinei gamybai.

19. Metodas pagal 18 punktą, kur atrinkta stuburinio ląstelė yra ląstelė pagal vieną ar daugiau iš 1–12 punktų.