



등록특허 10-2823291



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년06월19일
(11) 등록번호 10-2823291
(24) 등록일자 2025년06월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G16B 20/20 (2019.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 7/06* (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
G16B 50/00 (2019.01)
- (52) CPC특허분류
G16B 20/20 (2019.02)
A61K 39/001119 (2025.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7013061
- (22) 출원일자(국제) 2018년10월09일
심사청구일자 2021년10월08일
- (85) 번역문제출일자 2020년05월07일
- (65) 공개번호 10-2020-0067862
- (43) 공개일자 2020년06월12일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2018/077515
- (87) 국제공개번호 WO 2019/072871
국제공개일자 2019년04월18일

(30) 우선권주장
17195520.6 2017년10월09일
유럽특허청(EPO)(EP)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

- JONATHAN D BUHRMAN 외, 2012.08.31.,
IMMUNOLOGIC RESEARCH, pp.34-47, Vol.55(1).
WO2011140284 A1
- NOEDOMINGUEZ-ROMERO ALLAN 외, 2014.11.31.,
HUMAN VACCINES& IMMUNOTHERAPEUTICS,
pp.3201-3213, Vol.10(11).
- JOHN FIKES 외, 2004.01.01., HUMANA PRESS,
pp.11-17, ISBN: 978-1-58829-209-4.

전체 청구항 수 : 총 17 항

심사관 : 정태수

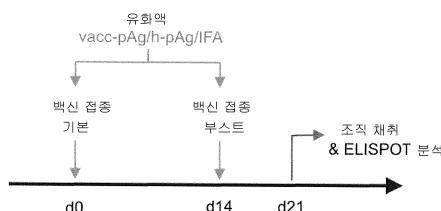
(54) 발명의 명칭 종양-관련된 항원 에피토프의 미생물 서열 변이체

(57) 요약

본 발명은 암 면역 요법, 특히 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 서열 변이체에 관한 것이다. 즉, 본 발명은 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체를 식별하는 방법을 제공한다. 이러한 미생물 서열 변이체는 자기 항원과 상이하여 강한 면역 반응을 유도할 수 있기 때문에 항암 약제의 제조에서 유용하다. 따라서,

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



미생물 서열 변이체를 포함하는 약제, 상기 약제의 제조 방법 및 상기 약제의 용도가 제공된다.

(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 7/06 (2013.01)

G01N 33/57484 (2013.01)

G01N 33/6878 (2013.01)

G16B 50/00 (2019.02)

G01N 2333/195 (2013.01)

(72) 발명자

보니 크리스토프

프랑스 75011 파리 불바르 블테르 153

체르비노 알레산드라

프랑스 77590 브와-르-르와 뤼 드 투르네지 3

멘데즈 셀리아

미국 매사추세츠주 02129 찰스타운 메인 스트리트
407

(30) 우선권주장

PCT/EP2017/075683 2017년10월09일

유럽특허청(EPO)(EP)

18305442.8 2018년04월11일

유럽특허청(EPO)(EP)

명세서

청구범위

청구항 1

- (i) 관심 종양-관련된 항원을 선택하는 단계,
- (ii) 상기 단계 (i)에서 선택된 종양-관련된 항원에 포함되는 하나 이상의 에피토프를 식별하고 이의 서열을 결정하는 단계,
- (iii) 상기 단계 (ii)에서 식별된 에피토프 서열의 하나 이상의 소화관 미생물 서열 변이체를 식별하는 단계, 및
- (iv) MHC 분자에 대한 하나 이상의 소화관 미생물 서열 변이체의 결합을 시험하고, 결합 친화도를 수득하며, MHC 분자에 대한 (각각의 기준) 에피토프의 결합을 시험하고, 결합 친화도를 수득하며, 소화관 미생물 서열 변이체에 대해 수득된 결합 친화도 및 각각의 기준 에피토프에 대해 수득된 결합 친화도를 비교하고, 각각의 기준 에피토프보다 높은 MHC에 대한 결합 친화도를 갖는 소화관 미생물 서열 변이체를 선택하는 단계

를 포함하는 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 소화관 미생물 서열 변이체를 식별하는 방법으로서,

상기 소화관 미생물 서열 변이체가 8 내지 12개의 아미노산의 길이를 갖는 웨티드이고,

소화관 미생물 서열 변이체의 코어 서열이 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 코어 서열과 동일하고, 상기 코어 서열이 N-말단에 가까운 3개의 아미노산 및 C-말단에 가까운 3개의 아미노산을 제외한 모든 아미노산으로 이루어지고, 소화관 미생물 서열 변이체가 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 비교하여 N-말단에 가까운 3개의 아미노산 또는 C-말단에 가까운 3개의 아미노산에 적어도 하나의 변경을 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

단계 (iii)이

- 단계 (ii)에서 선택된 에피토프 서열을 하나 이상의 미생물 서열과 비교함, 및
 - 상기 하나 이상의 미생물 서열이 상기 에피토프 서열의 하나 이상의 미생물 서열 변이체를 함유하는지를 식별함
- 을 포함하는, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

소화관 미생물 서열 변이체가 인간 미생물 서열 변이체이고, 종양-관련된 항원이 인간 종양-관련된 항원인, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

소화관 미생물 서열 변이체가 소화관 박테리아 서열 변이체인, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

소화관 미생물 서열 변이체 웨티드가 8 내지 10개의 아미노산, 또는 9 또는 10개의 아미노산의 길이를 갖는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

소화관 미생물 서열 변이체가 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 70% 이상, 또는 75% 이상의 서열 동일성을 공유하는, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

단계 (ii)에서 식별된 종양-관련된 항원 에피토프가 MHC I에 결합할 수 있는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

단계 (iii)이 하기 하위 단계를 포함하는, 방법:

(iii-a) 임의적으로, 단일 또는 다수의 개체의 샘플의 미생물 단백질 서열 또는 핵산 서열을 식별하는 단계,

(iii-b) 상기 단일 또는 다수의 개체의 미생물 단백질 서열 또는 핵산 서열을 포함하는 데이터베이스를 편집하는 단계, 및

(iii-c) 단계 (iii-b)에서 편집한 데이터베이스에서, 단계 (ii)에서 식별된 에피토프 서열의 하나 이상의 미생물 서열 변이체를 식별하는 단계.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 샘플은 대변 샘플인, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

MHC 문자가 MHC I 문자인, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

(v) 소화관 미생물 서열 변이체를 함유하는 소화관 미생물 단백질의 세포 국소화를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

단계 (v)가, 소화관 미생물 서열 변이체를 함유하는 소화관 미생물 단백질의 서열을 식별함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

소화관 미생물 서열 변이체를 함유하는 소화관 미생물 단백질의 서열의 식별이 세포 국소화 결정 전인, 방법.

청구항 14

제11항에 있어서,

단계 (iv) 후에 단계 (v)가 뒤따르거나, 단계 (v) 후에 단계 (iv)가 뒤따르는, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,
(vi) 소화관 미생물 서열 변이체의 면역원성을 시험하는 단계
를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,
(vii) 소화관 미생물 서열 변이체의 세포 독성을 시험하는 단계
를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,
종양-관련된 항원 에피토프 서열이 서열번호 1 내지 5, 55 내지 65 및 126 내지 131 중 어느 하나에 제시된 서
열인, 방법.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 암 면역 요법 분야, 특히 인간 미생물 유전체(microbiome)에서 인간 종양-관련된 항원의 에피토프의 박테리아 서열 변이체를 식별하는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 인간 미생물 유전체의 박테리아 서열

변이체를 포함하는 백신을 제공하는 방법, 및 상기 백신에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 백신에 의해 인간 개체를 치료하는 방법을 제공한다.

배경 기술

- [0002] 암은 전세계에서 사망의 주된 원인 중 하나이다. 세계 보건 기구에 따르면, 2012년에만, 1400만건의 신규 사례 및 820만건의 암-관련된 사망이 전세계에 보고되었고, 신규 암 사례의 수가 향후 20년 이내에 약 70%만큼 상승 할 것으로 예상된다. 지금까지, 전세계 연간 총 신규 사례 중 60% 초과가 아프리카, 아시아, 중미 및 남미에서 발생한다. 이를 지역은 또한 전세계 암 사망의 70%를 차지한다. 남성에서, 5개의 가장 흔한 암의 발생 부위는 폐, 전립선, 대장, 위 및 간인 반면에, 여성에서는 유방, 대장, 폐, 자궁경부 및 위이다.
- [0003] 암은 오랫동안, 수술, 방사선 요법, 세포 독성 화학 요법 및 내분비 조작에 의해 관리되어 왔고, 이는 전형적으로 질병을 가장 잘 통제하기 위해 순차적으로 조합된다. 그러나, 이를 표준 요법의 정확한 효능에 대한 주요 제한은, 치료에 의해 발생한 정상 조직의 부수적 손상을 야기하는 부정확한 특이성, 낮은 치유율 및 내재 약물 내성이다.
- [0004] 지난 몇 년 동안, 특히 종양 및 정상 세포의 발현 프로파일링의 큰 발전으로 인해 암 요법의 발달에서 큰 증가가 있었고, 면역 요법 또는 문자 표적화된 요법의 최근 연구 및 제1 임상 결과는 상기 질병에 대한 인식을 바꾸기 시작했다.
- [0005] 유망한 항암 면역 요법은 이제 현실이 되었고, 숙주 면역계가 종양 항원을 인식할 수 있다는 증거는 항암 약물의 개발을 야기하였고, 이는 규제 기관, 예컨대 미국 식약처(FDA) 및 유럽 의약품청(EMA)에 의해 현재 승인되어 있다. 다양한 치료 접근법은 특히 생체외 확장된 종양 침윤성 림프구의 입양 전달, 암 세포 백신, 면역 자극성 시토카인 및 이의 변이체, 패턴 인식 수용체(DDR) 작용제, 및 종양 항원 또는 면역 체크포인트를 표적화하는 면역 중재 단클론 항체를 포함한다(문헌[Galuzzi L. et al., Classification of current anticancer immunotherapies. Oncotarget. 2014 Dec 30;5(24):12472-508]).
- [0006] 불행히도, 상당한 비율의 환자가 일부 이들 면역 요법에 대한 내재 내성을 나타낼 수 있거나 심지어 치료 과정 동안 내성을 획득할 수 있다. 예를 들어, 3-년 생존율이 절제 불가능하거나 전이성인 흑색종에서 항-CTLA-4 항체인 이필루무맙(Ipilimumab)의 사용시 약 20%인 것으로 보고된 반면에(문헌[Snyder et al., Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. N Engl J Med. 2014 Dec 4;371(23):2189-2199]; [SSchadendorf D et al.. Pooled Analysis of Long-Term Survival Data from Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma. J Clin Oncol. 2015 Jun 10;33(17):1889-94]), PD1을 표적화하는 또 다른 체크포인트 억제제인 니볼루맙(Nivolumab)을 사용한 경우 3-년 생존율은 신장 세포 암종(RCC)에서 44%이고 NSCLC에서 18%인 것으로 보고되었다(문헌[McDermott et al., Survival, Durable Response, and Long-Term Safety in Patients With Previously Treated Advanced Renal Cell Carcinoma Receiving Nivolumab. J Clin Oncol. 2015 Jun 20;33(18):2013-20]; [Gettinger et al., Overall Survival and Long-Term Safety of Nivolumab (Anti-Programmed Death 1 Antibody, BMS-936558, ONO-4538) in Patients With Previously Treated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. J Clin Oncol. 2015 Jun 20;33(18):2004-12]).
- [0007] 따라서, 근본적인 약물 내성은 이들 면역 요법의 효능에 대한 고정된 장애물에 해당한다. 따라서, 암 치료에 대한 상이한 접근법이 이러한 장애물을 파괴하기 위해 필요하다.
- [0008] 이들 면역 요법으로 치료받는 다수의 개체에서 반응의 부재는 불충분한 항종양 면역 반응(APC에 의한 항원 제시 또는 T 세포에 의한 항원 인식의 부족)과 연관될 수 있다. 달리 말하면, 면역 요법에 대한 양성 반응은 인간 암 세포에 의해 발현되는 MHC 클래스 I-제한된 항원을 인식할 수 있는 특이적 림프구 서브세트를 발달시키는 면역계의 능력과 관련된다(문헌[Kvistborget et al., Human cancer regression antigens. Curr Opin Immunol. 2013 Apr;25(2):284-90]).
- [0009] 이러한 가설은, 종양 침윤성 림프구의 입양 전달에 대한 반응이 환자에게 주입된 CD8⁺ T 세포와 직접 관련된다는 것을 입증하는 데이터에 의해 강하게 지지된다(문헌[Besser et al., Adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with metastatic melanoma: intent-to-treat analysis and efficacy after failure to prior immunotherapies. Clin Cancer Res. 2013 Sep 1;19(17):4792-800]).
- [0010] 따라서, 강한 항종양 반응은 면역 반응성 펩티드의 제시, 및 이들 항원을 인식하도록 "훈련된" 충분한 수의 반응성 세포의 존재에 좌우될 것이다.

[0011] 종양 항원-기반 백신 접종은, 환자 자신의 면역계가 종양을 특이적이고 오래가는 방식으로 인식하고 공격하고 파괴하는 것을 요청할 수 있기 때문에, 상당한 관심을 얻고 있는 암 요법에 대한 독특한 접근법에 해당한다. 종양 세포는 면역계에 의해 인식되기 쉬운 다수의 웨პ티드 항원을 발현하는 것으로 공지되어 있다. 따라서, 이러한 항원을 기반으로 하는 백신은, 종양 항원의 낮은 독성 및 저분자량에 기인하여, 환자의 전체 생존율을 개선할 뿐만 아니라 면역 반응의 모니터링 및 GMP-등급 제품의 제조를 위한 좋은 기회를 제공한다. 종양 항원의 예는 특히 정상적 사일런트 유전자 또는 과발현된 유전자로부터 또는 종양 바이러스에 의해 발현된 단백질로부터 전사된 단백질의 부산물(문헌[Kvistborg et al., Curr Opin Immunol. 2013 Apr;25(2):284-90]), 및 세포 단백질의 점 돌연변이로부터 야기된 신생항원을 포함한다. 후자는, CTLA4 억제제로 치료받은 환자의 증가된 전체 생존율과 직접 연관된 것으로 나타났기 때문에 특히 관심의 대상이다(문헌[Snyder et al., Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. N Engl J Med. 2014 Dec 4;371(23):2189-2199]; [Brown et al., Neo-antigens predicted by tumor genome meta-analysis correlate with increased patient survival. Genome Res. 2014 May; 24(5):743-50]).

[0012] 그러나, 대부분의 종양-연관된 항원(TAA) 및 종양-특이적 항원(TSA)은 (기준) 인간 단백질이고, 따라서 자기 항원으로 간주된다. 흥선 선택 과정 동안, 충분한 친화도에 의해 웨პ티드/자기 MHC 복합체를 인식하는 T 세포는 클론성으로 고갈된다. 자가면역 질병에 대한 보호를 제공함으로써, T 세포 레퍼토리 선택의 이러한 메커니즘은 또한 종양-연관된 항원(TAA) 및 종양-특이적 항원(TSA)에 대한 면역력 발달의 가능성을 감소시킨다. 이는, 암-반응성 TCR이 일반적으로 약한 친화도의 것이라는 사실에 의해 예시된다. 또한, 현재까지, MHC에 대한 높은 결합 친화도에 의해 선택된 종양-연관된 항원(TAA) 및 종양-특이적 항원(TSA)을 사용하여 수행된 대부분의 백신 시험은 아마 흥선 선택의 결과를 반영하는 강한 면역력을 유도하는 것을 나타내지 않았다.

[0013] 따라서, 암 백신이 개발될 수 있는 인간 종양 항원은 제한된다. 또한, 돌연변이되거나 변형된 자기 단백질로부터 유래된 항원은 면역 관용 및/또는 바람직하지 않은 자가면역 부작용을 유발할 수 있다.

[0014] 따라서, 당분야에서 직면하는 한계, 특히 현재 이용가능한 면역 요법에 대한 내성을 극복할 수 있는 대안적인 암 치료법을 찾는 것이 당분야에서 필요하다.

발명의 내용

[0015] 상기의 관점에서, 본 발명의 목적은, 상기에 개괄된 현재의 암 면역 요법의 단점을 극복하고, 인간 종양-관련된 항원의 에피토프의 서열 변이체를 식별하는 방법을 제공하는 것이다. 특히, 본 발명의 목적은 종양-관련된 항원 에피토프의 서열 변이체의 공급원인 인간 미생물 유전체에서 박테리아 단백질을 식별하는 방법을 제공하는 것이다. 또한, 본 발명의 목적은 특정 MHC 분자에 의해 제시될 수 있는 이들 박테리아 단백질로부터 웨პ티드를 식별하는 방법을 제공하는 것이다.

[0016] 상기 목적은 하기 및 첨부된 특허청구범위에 제시된 내용에 의해 달성된다.

[0017] 본 발명은 하기에 상세히 기재되나, 본 발명은, 변할 수 있는, 본원에 기재된 특정 방법론, 프로토콜 및 시약에 제한되지 않는 것이 이해되어야 한다. 또한, 본원에 사용된 용어는 본 발명의 범위를 제한하지 않고, 이는 첨부된 특허청구범위에 의해서만 제한될 것임이 이해되어야 한다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 과학 및 기술 용어는 당업자에게 통상적으로 이해되는 의미를 갖는다.

[0018] 하기에서, 본 발명의 요소가 기재될 것이다. 이들 요소는 구체적 실시양태와 함께 열거되나, 임의의 방법으로 임의의 수로 조합되어 추가적 실시양태를 생성할 수 있음이 이해되어야 한다. 다양하게 기재된 예 및 바람직한 실시양태는 본 발명을 단지 명확히 기재된 실시양태에만 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 이러한 설명은 기재는 명확히 기재된 실시양태를 임의의 수의 개시되고/되거나 바람직한 요소와 조합하는 실시양태를 지지하고 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본원의 모든 기재된 요소의 임의의 치환 및 조합은 문맥상 달리 나타내지 않는 한 본원의 설명에 의해 개시된 것으로 간주되어야 한다.

[0019] 본원 및 특허청구범위에 걸쳐, 문맥상 달리 필요하지 않는 한, 용어 "포함하다" 및 이의 변형, 예컨대 "포함함"은, 임의의 다른 언급되지 않은 구성원, 정수 또는 단계의 배제가 아닌 언급된 구성원, 정수 또는 단계의 포함을 시사하는 것으로 이해될 것이다. 용어 "~로 이루어지다"는 용어 "포함하다"의 특정 실시양태로서, 여기에 임의의 다른 언급되지 않은 구성원, 정수 또는 단계는 배제된다. 본 발명에 있어서, 용어 "포함하다"는 용어 "~로 이루어지다"를 포괄한다. 따라서, 용어 "포함함"은 "비롯함" 및 "이루어짐"을 포괄하고, 예를 들어 X를 "포함하는" 조성물은 배타적으로 X로 이루어질 수 있거나 추가적 무언가를 포함할 수 있다(예를 들어 X + Y).

- [0020] 본 발명(특히 특허청구범위)을 기재함에 있어서 사용된 단수형 용어는, 본원에 달리 지시되거나 본원에 의해 분명히 반박되지 않는 한, 단수형 및 복수형 둘 모두를 포함하는 것으로 해석된다. 본원에서 값의 범위의 언급은 단지 상기 범위 내에 속하는 각각의 별개의 값을 개별적으로 나타내는 약칭 방법으로서 제공된 것으로 의도된다. 본원에서 달리 지시되지 않는 한, 각각의 별개의 값은 개별적으로 본원에 언급된 것과 같이 본원에 혼입된다. 본원의 어떤 표현도 본 발명의 실시에 필수적인 임의의 청구되지 않은 요소를 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다.
- [0021] 용어 "실질적으로"는 "완전히"를 배제하지 않는다, 예를 들어, Y를 "실질적으로 미함유하는" 조성물은 Y를 완전히 미함유할 수 있다. 필요에 따라, 용어 "실질적으로"는 본 발명의 정의로부터 생략될 수 있다.
- [0022] 수치 x와 관련된 용어 "약"은 x ± 10%를 의미한다.
- [0023] **종양-관련된 항원 에피토프의 박테리아 서열 변이체의 식별 방법**
- [0024] 본 발명은, 인간 미생물 유전체에서 발견되는 박테리아 단백질이 웨티드를 함유하고, 이는 인간 종양-관련된 항원의 에피토프의 서열 변이체라는 놀라운 사실을 기반으로 한다. 따라서, 본 발명자는 인간 미생물 유전체에서 인간 종양-관련된 에피토프의 "에피토프 의태(mimicry)"를 발견하였다. 흥미롭게도, 이러한 에피토프 의태는 자기 항원을 인식하는 T 세포의 클론 고갈에 기인하여 인간 T 세포의 래피토리 제한을 우회하는 가능한 방법을 제공한다. 특히, 자기 항원과 다르나 자기 항원과 서열 유사성을 공유하는 항원/에피토프는, (i) T 세포 수용체의 교차반응성 때문에 인식될 수 있고(예를 들어 문헌[Degauque et al., Cross-Reactivity of TCR Repertoire: Current Concepts, Challenges, and Implication for Allotransplantation. *Frontiers in Immunology*. 2016;7:89. doi:10.3389/fimmu.2016.00089]; [Nelson et al., T cell receptor cross-reactivity between similar foreign and self peptides influences naive cell population size and autoimmunity. *Immunity*. 2015 Jan 20;42(1):95-107] 참조); (ii) 이러한 항원/에피토프가 T 세포 교육 과정 동안 고갈되지 않은 T 세포/TCR에 의해 인식된다는 것이 예상된다. 따라서, 이러한 항원/에피토프는 강한 면역 반응을 유도하여 자기 항원과의 잠재적 교차 반응성을 갖는 T 세포의 클론적 확산을 야기할 수 있다. 이러한 메커니즘이 자가면역 질병의 일부를 설명하기 위해 현재 제안되었다.
- [0025] 수천의 상이한 박테리아 종으로 구성된 인간 미생물 유전체는 유전적 다양성의 큰 공급원이고 잠재적 항원 성분이다. 소화관(gut)은 미생물(microbiota)과의 접촉 및 교환의 가장 큰 영역으로서 간주될 수 있다. 결과적으로, 소화관은 체내 가장 큰 면역 기관이다. 현재 인간 소화관 상피에서 분화 및 흉선외 T 세포 성숙은 10년 이상 동안 공지되어 있었다. 소화관은, 미생물을 인식할 수 있고 조절 메커니즘에 의해 엄격히 제어되는 면역 세포의 큰 패널을 함유한다.
- [0026] 본 발명에 따라, 소화관에 존재하는 박테리아 종의 큰 래피토리는 인간 종양 항원과의 잠재적 유사성을 갖는 항원의 엄청난 공급원을 제공한다. 이들 항원은 TLR 활성제로서 면역 세포에 전달되는 많은 양의 공동-신호와 함께 복잡한 상황으로 분화된 세포에 제공된다. 결과적으로, 미생물은 최대 기능적 반응을 유도할 수 있고 큰 T 기억 서브세트의 성숙을 추진하거나 때때로 최대 클론 고갈 또는 소진을 야기할 수 있다. 인간 종양 항원과의 유사성을 공유하는 박테리아 성분의 식별은 종양-관련된 항원의 에피토프의 선택을 위한 새로운 공급원을 제공할 것이며, 이는 (i) T 세포 고갈 문제를 극복하고, (ii) 소화관의 면역계를 "프라이밍"하여 다른 공급원의 항원 및 인공적으로 돌연변이된 항원/에피토프과 비교하여 보다 강한 면역 반응을 제공해야 한다.
- [0027] 제1 양태에서, 본 발명은 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체를 식별하는 방법을 제공하되, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0028] (i) 관심 종양-관련된 항원을 선택하는 단계,
- [0029] (ii) 상기 단계 (i)에서 선택된 종양-관련된 항원에 포함되는 하나 이상의 에피토프를 식별하고 이의 서열을 결정하는 단계, 및
- [0030] (iii) 상기 단계 (ii)에서 식별된 에피토프 서열의 하나 이상의 미생물 서열 변이체를 식별하는 단계.
- [0031] 또한, 본 발명은 특히 종양-관련된 항원 에피토프의 미생물 서열 변이체를 식별하는 방법을 제공하되, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0032] (1) 미생물 서열을 종양-관련된 항원 에피토프의 서열과 비교하고, 종양-관련된 항원 에피토프의 미생물 서열 변이체를 식별하는 단계; 및

- [0033] (2) 임의적으로, 단계 (1)에서 미생물 서열 변이체가 식별된 종양-관련된 항원 에피토프를 포함하는 종양-관련된 항원을 결정하는 단계.
- [0034] 본원에 사용된 용어 "미생물 서열 변이체" 및 "종양-관련된 항원 에피토프 서열"("에피토프 서열"로도 지칭됨)은 (i) (폴리)펩티드 서열 및 (ii) 핵산 서열을 지칭한다. 따라서, "미생물 서열 변이체"는 (i) (폴리)펩티드 또는 (ii) 핵산 분자일 수 있다. 따라서, "종양-관련된 항원 에피토프 서열"("에피토프 서열"로도 지칭됨)은 (i) (폴리)펩티드 또는 (ii) 핵산 분자일 수 있다. 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 (폴리)펩티드이다. 따라서, 종양-관련된 항원 에피토프 서열("에피토프 서열"로도 지칭됨)이 (폴리)펩티드인 것이 또한 바람직하다.
- [0035] 본원에서 펩티드 또는 핵산 수준을 지칭할 수 있는 용어 "에피토프 서열"과 대조적으로, 본원에 사용된 용어 "에피토프"는 특히 펩티드를 지칭한다. 본원에 사용된 "에피토프"("항원 결정기"로도 공지됨)는 면역계, 특히 항체, T 세포 수용체 및/또는 B 세포 수용체에 의해 인식되는 항원의 부분(또는 단편)이다. 따라서, 하나의 항원은 하나 이상의 에피토프를 갖는다, 즉, 단일 항원은 하나 이상의 에피토프를 갖는다. "항원"은 전형적으로 적응 면역 반응의 수용체에 대한 표적, 특히 항체, T 세포 수용체 및/또는 B 세포 수용체에 대한 표적으로서 작용한다. 항원은 (i) 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질, (ii) 폴리사카라이드, (iii) 지질, (iv) 지질 단백질 또는 지질 펩티드, (v) 당 지질, (vi) 핵산, 또는 (vii) 소분자 약물 또는 독소일 수 있다. 따라서, 항원은 펩티드, 단백질, 폴리사카라이드, 지질, 지질 단백질 및 당 지질을 포함하는 이들의 조합, 핵산(예를 들어 DNA, siRNA, shRNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, decoy DNA, 플라스미드), 또는 소분자 약물(예를 들어 사이클로스포린 A, 파클리탁셀, 독소루비신, 메토트렉세이트, 5-아미노레볼린산), 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. 본 발명에 있어서, 항원은 전형적으로 (i) 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질, (ii) 지질 단백질 또는 지질 펩티드, 및 (iii) 당 단백질 또는 당 펩티드로부터 선택되고; 보다 바람직하게는, 항원은 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질이다.
- [0036] 용어 "종양-관련된 항원"("종양 항원"으로도 지칭됨)은 종양 세포에서 생산된 항원을 지칭하고 종양-연관된 항원(TAA) 및 종양-특이적 항원(TSA)을 포함한다. 고전적 정의에 따라, 종양-특이적 항원(TSA)은 임의의 다른 세포 내에/상에 존재하지 않고 종양 세포 내에/상에만 존재하는 항원인 반면에, 종양-연관된 항원(TAA)은 종양 세포 및 비-종양 세포("정상" 세포) 내에/상에 존재하는 항원이다. 종양-관련된 항원은 흔히 특정 종류의 암/종양에 대해 특이적이다(연관된다).
- [0037] 본 발명에 있어서, 즉, 본원에 걸쳐서, 용어 "펩티드", "폴리펩티드", "단백질" 및 이들 용어의 변형은 펩티드, 올리고펩티드, 폴리펩티드, 또는 바람직하게는 일반적 펩티드 결합 또는 대안적으로 변형된 펩티드 결합(예컨대 등전자 펩티드의 경우)에 의해 서로 연결된 2개 이상의 아미노산을 포함하는 단백질을 지칭한다. 특히, 용어 "펩티드", "폴리펩티드" 또는 "단백질"은 또한 "펩티도미메틱(peptidomimetic)"을 포함하고, 이는 비-펩티드 구조적 요소를 함유하는 펩티드 유사체로서 정의되고, 상기 펩티드는 천연 모 펩티드의 생물학적 작용을 모방하거나 길항작용할 수 있다. 펩티도미메틱은 통상적 펩티드 특징, 예컨대 효소에 의해 절단 가능한 펩티드 결합이 없다. 특히, 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질은 유전자 코드에 의해 정의된 20개의 아미노산에 더하여 이들 아미노산 이외의 아미노산을 포함할 수 있거나, 이는 유전자 코드에 의해 정의된 20개의 아미노산 이외의 아미노산으로 구성될 수 있다. 특히, 본 발명에 있어서 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질은 당업자에게 주지된 천연 과정, 예컨대 번역-후 성숙 과정 또는 화학적 과정에 의해 변형된 아미노산으로 동등하게 구성될 수 있다. 변형은 문헌에 상세히 기재되어 있다. 이들 변형은 폴리펩티드의 임의의 부분, 펩티드 골격, 아미노산 쇄 또는 심지어 카복시- 또는 아미노-말단 단부에서에서 출현할 수 있다. 특히, 펩티드 또는 폴리펩티드는 유비퀴틴화 후에 분지될 수 있거나, 분지 형성과 함께 또는 분지 형성 없이 환형일 수 있다. 이러한 유형의 변형은 당업자에게 주지된 천연 또는 합성 번역-후 과정의 결과일 수 있다. 본 발명에 있어서 용어 "펩티드", "폴리펩티드" 또는 "단백질"은 특히 또한 변형된 펩티드, 폴리펩티드 및 단백질을 포함한다. 예를 들어, 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질 변형은 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아미드화, 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체의 공유 결합 고정, 지질 또는 지질 유도체의 공유 결합 고정, 포스파티딜이노시톨의 공유 결합 고정, 공유 또는 비-공유 교차 결합, 환화, 다이설파이드 결합 형성, 탈메틸화, 페길화를 포함하는 글리코실화, 하이드록시화, 요오드화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 단백질 분해 공정, 포스포릴화, 프레닐화, 라세미화, 세넬로일화(senoylation), 황산화, 아미노산 첨가, 예컨대 아르기닐화, 또는 유비퀴틴화를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 문헌에 상세히 기재되어 있다(문헌[Proteins Structure and Molecular Properties (1993) 2nd Ed., T. E. Creighton, New York]; [Post-translational Covalent Modifications of Proteins (1983) B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York]; [Seifter et al. (1990) Analysis for protein modifications and

nonprotein cofactors, Meth. Enzymol. 182: 626-646] 및 [Rattan et al., (1992) Protein Synthesis: Post-translational Modifications and Aging, Ann NY Acad Sci, 663: 48-62]). 따라서, 용어 "펩티드", "폴리펩티드" 또는 "단백질"은 바람직하게는 예를 들어 지질 펩티드, 지질 단백질, 당 펩티드, 당 단백질 등을 포함한다.

[0038] 특히 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체는 "통상적" (폴리)펩티드이고, "통상적" (폴리)펩티드는 전형적으로 일반적 펩티드 결합에 의해 서로 연결된, 유전자 코드에 의해 정의된 20개의 아미노산으로부터 선택된 아미노산으로 구성된다.

[0039] 핵산은 바람직하게는 게놈 DNA, cDNA, RNA, siRNA, 안티센스 DNA, 안티센스 RNA, 리보자임, 발현 요소를 갖거나 갖지 않는 상보적 RNA/DNA 서열, 미니 유전자, 유전자 단편, 조절 요소, 프로모터 및 이들의 조합으로부터 선택되는, 단일가닥, 이중가닥 또는 부분적 이중가닥 핵산을 포함한다. 핵산(분자) 및/또는 폴리뉴클레오티드의 추가로 바람직한 예는 예를 들어 재조합 폴리뉴클레오티드, 벡터, 올리고뉴클레오티드, RNA 분자, 예컨대 rRNA, mRNA 또는 tRNA, 또는 상기에 기재된 DNA 분자를 포함한다. 따라서, 핵산(분자)이 바람직하게는 게놈 DNA; cDNA; rRNA; mRNA; 안티센스 DNA; 안티센스 RNA; 상보적 RNA 및/또는 DNA 서열; 발현 요소를 갖거나 갖지 않는 RNA 및/또는 DNA 서열, 조절 요소, 및/또는 프로모터; 벡터; 및 이들의 조합으로부터 선택된 DNA 분자 또는 RNA 분자인 것이 바람직하다.

[0040] 따라서, 용어 "미생물 서열 변이체"는 미생물에서 발견되는, 즉, 미생물 기원의 핵산 서열 또는 (폴리)펩티드 서열을 지칭한다(서열이 미생물에서 식별되는 경우, 이는 통상적으로 또한 당분야에 주지된 재조합 조치에 의해 수득될 수 있다). "미생물 서열 변이체"는 적어도 5개의 아미노산(15개의 뉴클레오티드), 바람직하게는 적어도 6개의 아미노산(18개의 뉴클레오티드), 보다 바람직하게는 적어도 7개의 아미노산(21개의 뉴클레오티드), 또는 보다 더 바람직하게는 적어도 8개의 아미노산(24개의 뉴클레오티드)의 길이를 갖는, 미생물에서 발견되는 완전한 (폴리)펩티드 또는 핵산, 또는 바람직하게는 (완전한) 미생물 (폴리)펩티드/단백질 또는 핵산 분자의 단편을 지칭한다. 또한, 미생물 서열 변이체가 50개 이하의 아미노산, 보다 바람직하게는 40개 이하의 아미노산, 보다 더 바람직하게는 30개 이하의 아미노산, 가장 바람직하게는 25개 이하의 아미노산의 길이를 갖는 것이 바람직하다. 따라서, 미생물 서열 변이체는 바람직하게는 5 내지 50개의 아미노산, 보다 바람직하게는 6 내지 40개의 아미노산, 보다 더 바람직하게는 7 내지 30개의 아미노산, 가장 바람직하게는 8 내지 25개의 아미노산, 예를 들어 8 내지 24개의 아미노산의 길이를 갖는다. 예를 들어, "미생물 서열 변이체"는 미생물 단백질/핵산 분자의 단편일 수 있고, 상기 단편은 9 또는 10개의 아미노산(27 또는 30개의 뉴클레오티드)의 길이를 갖는다. 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 상기에 기재된 미생물 단백질의 단편이다. 특히 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 8 내지 12개의 아미노산(펩티드의 경우; 핵산 분자의 경우 24 내지 36개의 뉴클레오티드에 해당함)의 길이를 갖고, 보다 바람직하게는 미생물 서열 변이체는 8 내지 10개의 아미노산(펩티드의 경우; 핵산 분자의 경우 24 내지 30개의 뉴클레오티드에 해당함)의 길이를 갖고, 가장 바람직하게는 미생물 서열 변이체는 9 또는 10개의 아미노산(펩티드의 경우; 핵산 분자의 경우 27 또는 30개의 뉴클레오티드에 해당함)의 길이를 갖는다. 이러한 길이를 갖는 펩티드는, 세포 독성 T 립프구(CTL) 반응에 중요한 MHC(주요 조직적합성 복합체) 클래스 I(MHC I)에 결합할 수 있다. 또한, 미생물 서열 변이체가 13 내지 24개의 아미노산(펩티드의 경우; 핵산 분자의 경우 39 내지 72개의 뉴클레오티드에 해당함)의 길이를 갖는 것이 바람직하다. 이러한 길이를 갖는 펩티드는 CD4+ T 세포(T 헬퍼 세포) 반응에 중요한 MHC(주요 조직적합성 복합체) 클래스 II(MHC II)에 결합할 수 있다.

[0041] 본원에 사용된 용어 "미생물"은, 오늘날까지 연구된 식물에서 동물에 이르는 모든 다세포 유기체 내에 및 상에 발견되는, 편리공생 미생물, 공생 미생물 및 병원성 미생물을 지칭한다. 특히, 미생물은 이의 숙주의 면역, 호르몬 및 대사 항상성에 중요한 것으로 밝혀졌다. 미생물은 박테리아, 고세균, 원생생물, 진균 및 바이러스를 포함한다. 따라서, 미생물 서열 변이체는 바람직하게는 박테리아 서열 변이체, 고세균 서열 변이체, 원생생물 서열 변이체, 진균 서열 변이체 및 바이러스 서열 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 보다 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 박테리아 서열 변이체 또는 고세균 서열 변이체이다. 가장 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 박테리아 서열 변이체이다.

[0042] 해부학적으로, 미생물은 피부, 결막, 유선, 질, 태반, 정액, 자궁, 난포, 폐, 타액, 구강(특히 구강 점막) 및 위장관(gastrointestinal tract), 특히 소화관을 포함하는 임의의 많은 조직 및 생체액 상에 또는 내에 산다. 본 발명에 있어서, 미생물 서열 변이체는 바람직하게는 위장관 미생물(위장관에 사는 미생물) 서열 변이체, 보다 바람직하게는 소화관 미생물(소화관에 사는 미생물) 서열 변이체이다. 따라서, 미생물 서열 변이체가 소화관 박테리아 서열 변이체(즉, 소화관에 사는 박테리아 서열 변이체)인 것이 가장 바람직하다.

[0043] 미생물이 많은 다세포 유기체(오늘날까지 연구된 식물에서 동물에 이르는 모든 다세포 유기체) 내에 및 상에 발

견될 수 있지만, 포유동물에 내에 및 상에 발견된 미생물이 바람직하다. 본 발명에서 고려되는 포유동물은 예를 들어 인간, 영장류, 가축, 예컨대 소, 양, 돼지, 말, 실험실 설치류 등을 포함한다. 인간 내에 및 상에 발견되는 미생물이 가장 바람직하다. 이러한 미생물은 본원에서 "포유동물 미생물" 또는 "인간 미생물"을 지칭한다(용어 포유동물/인간은 구체적으로 미생물의 국소화/거주를 나타낸다). 바람직하게는, 종양-관련된 항원 에피토프는, 그 안에/상에 (미생물 서열 변이체의) 미생물이 사는 동일 종의 것이다. 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 인간 미생물 서열 변이체이다. 따라서, 종양-관련된 항원이 인간 종양-관련된 항원인 것이 바람직하다.

[0044]

일반적으로, 본원에 사용된, 즉, 본원에 걸쳐, 용어 "서열 변이체"는 기준 서열과 유사하나(이는 특히 50% 이상의 서열 동일성을 의미함, 하기 참조), (100%) 동일한 것은 아닌 서열을 지칭한다. 따라서, 서열 변이체는 기준 서열과 비교하여 하나 이상의 변경을 함유한다. 즉, "미생물 서열 변이체"는, "종양-관련된 항원 에피토프 서열"인 이의 기준 서열과 비교하여 유사하나 하나 이상의 변경을 함유한다. 따라서, 미생물 서열 변이체는 "종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체"로 지칭된다. 달리 말하면, "미생물 서열 변이체"는 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 서열 변이체인 미생물 서열(미생물 기원의 서열)이다. 즉, "미생물 서열 변이체"는 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 비교하여 유사하나 하나 이상의 변경을 함유하는 미생물 서열(미생물 기원의 서열)이다. 따라서, "미생물 서열 변이체"는 미생물 서열이다(미생물 서열이 아닌 미생물 서열의 서열 변이체가 아니다). 일반적으로, 서열 변이체(즉, 미생물 서열)는 특히 서열의 전체 길이에 걸쳐, 기준 서열(종양-관련된 항원 에피토프 서열)과 50% 이상의 서열 동일성을 공유하고, 서열 동일성은 하기에 기재되는 바와 같이 계산될 수 있다. 바람직하게는, 서열 변이체는 특히 서열의 전체 길이에 걸쳐, 기준 서열과 60% 이상, 바람직하게는 70% 이상, 보다 바람직하게는 75% 이상, 보다 바람직하게는 80% 이상, 보다 더 바람직하게는 85% 이상, 보다 더 바람직하게는 90% 이상, 특히 바람직하게는 95% 이상, 가장 바람직하게는 99% 이상의 서열 동일성을 공유한다. 따라서, 미생물 서열 변이체가 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 60% 이상, 바람직하게는 70% 이상, 보다 바람직하게는 75% 이상, 보다 바람직하게는 80% 이상, 보다 더 바람직하게는 85% 이상, 보다 더 바람직하게는 90% 이상, 특히 바람직하게는 95% 이상, 가장 바람직하게는 99% 이상의 서열 동일성을 공유하는 것이 바람직하다. 특히 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산에서만, 보다 바람직하게는 1 또는 2개의 아미노산에서만 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 상이하다. 달리 말하면, 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 비교하여, 미생물 서열 변이체가 3개 이하의 아미노산 변경(즉, 1, 2 또는 3개의 아미노산 변경), 보다 바람직하게는 2개 이하의 아미노산 변경(즉, 1 또는 2개의 아미노산 변경)을 포함하는 것이 특히 바람직하다. 가장 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 비교하여 1개 또는 정확히 2개의(즉, 2개보다 적지도 많지도 않은) 아미노산 변경을 포함한다.

[0045]

바람직하게는, 서열 변이체는 기준 서열의 특이적 기능을 보존한다. 본 발명에 있어서, 상기 기능은 "에피토프"로서의 기능이다, 즉, 이는 면역계, 특히 항체, T 세포 수용체 및/또는 B 세포 수용체에 의해 인식될 수 있고, 바람직하게는, 이는 면역 반응을 유도할 수 있다.

[0046]

용어 "서열 변이체"는 뉴클레오티드 서열 변이체 및 아미노산 서열 변이체를 포함한다. 예를 들어, 아미노산 서열 변이체는, 기준 서열과 비교하여 아미노산 중 하나 이상이 결실되거나 치환되거나 기준 아미노산 서열과 비교하여 하나 이상의 아미노산이 삽입된 변경된 서열을 갖는다. 변경의 결과로서, 아미노산 서열 변이체는 기준 서열에 대해 50% 이상, 바람직하게는 60% 이상, 보다 바람직하게는 70% 이상, 보다 바람직하게는 75% 이상, 보다 더 바람직하게는 80% 이상, 보다 더 바람직하게는 85% 이상, 보다 더 바람직하게는 90% 이상, 특히 바람직하게는 95% 이상, 가장 바람직하게는 99% 이상 동일한 서열은 기준 서열의 100개의 아미노산 당 10개 이하의 변경(즉, 결실, 삽입 또는 치환의 임의의 조합)을 갖는다. 특히 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산에서만, 보다 바람직하게는 1 또는 2개의 아미노산에서만 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 상이하다. 달리 말하면, 미생물 서열 변이체가, 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 비교하여, 3개 이하의 아미노산 변경(즉, 1, 2 또는 3개의 아미노산 변경), 보다 바람직하게는 2개 이하의 아미노산 변경(즉, 1 또는 2개의 아미노산 변경)을 포함하는 것이 특히 바람직하다.

[0047]

본 발명에 있어서, 본 발명의 쿼리 아미노산 서열에 대해 적어도 예를 들어 95%의 "서열 동일성을 공유하는" 아미노산 서열은, 대상 아미노산 서열이 쿼리 아미노산 서열의 각각의 100개의 아미노산 당 5개 이하의 아미노산 변경을 포함할 수 있다는 것을 제외하고 대상 아미노산 서열의 서열이 쿼리 서열과 동일한 것을 의미하는 것으로 의도된다. 달리 말하면, 쿼리 아미노산 서열에 대해 95% 이상의 동일성의 서열을 갖는 아미노산 서열을 수득하기 위해, 대상 서열의 아미노산 잔기의 5%(100개 중 5개) 이하가, 바람직하게는 변이체 또는 단편의 상기

정의 내에서, 또 다른 아미노산에 의해 삽입되거나 치환되거나 삭제될 수 있다. 이는 또한 핵산 서열에 대해 유사하게 적용된다.

[0048] 정확한 연관성이 없는 (아미노산 또는 핵산) 서열의 경우, 제1 서열(예를 들어 서열 변이체)의 "% 동일성"은 제2 서열(예를 들어 기준 서열)과 관련하여 결정될 수 있다. 일반적으로, 비교할 2개의 서열은 이들 서열 사이의 최대 상관성을 제공하도록 정렬될 수 있다. 이는 정렬도를 증진시키기 위해 하나 또는 둘 모두의 서열에 "캡"의 삽입을 포함할 수 있다. % 동일성은 비교되는 서열 각각의 전체 길이에 걸쳐 결정될 수 있거나(이는 특히 동일하거나 유사한 길이의 서열에 적합함)(소위 "전반적 정렬"), 보다 짧은 한정된 길이에 걸쳐 결정될 수 있다(이는 동일하지 않은 길이의 서열에 보다 적합하다)(소위 "국소 정렬").

[0049] 2개 이상의 서열의 동일성(때때로 "유사성" 또는 "상동성"으로 지칭됨)의 비교 방법은 당분야에 주지되어 있다. 2개(이상)의 서열이 동일한지에 대한 백분율은 예를 들어 수학적 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다. 사용될 수 있는 수학적 알고리즘의 바람직하고 비제한적인 예는 문헌[Karlin et al. (1993), PNAS USA, 90:5873-5877]의 알고리즘이다. 이러한 알고리즘은 BLAST 프로그램 패밀리, 예를 들어 BLAST 또는 NBLAST 프로그램(또한, 월드 와이드 웹 사이트[ncbi.nlm.nih.gov] NCBI의 홈페이지를 통해 접근 가능한 문헌[Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215, 403-410] 또는 [Altschul et al. (1997), Nucleic Acids Res, 25:3389-3402]을 참조한다) 및 FASTA(문헌[Pearson (1990), Methods Enzymol. 183, 63-98]; [Pearson and Lipman (1988), Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 85, 2444-2448])에 통합된다. 다른 서열에 소정의 정도로 동일한 서열은 이를 프로그램에 의해 식별될 수 있다. 또한, 위스콘신 서열 분석 패키지 버전 9.1로 입수 가능한 프로그램(문헌[Devereux et al., 1984, Nucleic Acids Res., 387-395]), 예를 들어 프로그램 BESTFIT 및 GAP는 2개의 폴리뉴클레오티드 사이의 % 동일성 및 2개의 폴리펩티드 서열 사이의 % 동일성 및 % 상동성 또는 동일성을 결정하는데 사용될 수 있다. BESTFIT는 "국소 상동성" 알고리즘(문헌[Smith and Waterman (1981), J. Mol. Biol. 147, 195-197])을 사용하고 2개의 서열 사이의 유사성의 최고의 단일 영역을 찾는다.

[0050] 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 MHC 분자에 대한 일차 및/또는 이차 앵커 잔기에 있어서(만) 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 상이하다. 보다 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는, 이것이 MHC 분자에 대한 일차 및/또는 이차 앵커 잔기에 있어서(만) 아미노산 치환을 포함한다는 점에서(만) 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 상이하다. HLA 하위 유형에 대한 앵커 잔기는 당분야에 공지되어 있고, 단백질 데이터 은행의 기존의 p-HLA 복합체의 구조적 데이터의 대량 분석에 의해 정의되었다. 또한, MHC 하위 유형에 대한 앵커 모티프는 IEDB(URL: www.iedb.org; browse by allele) 또는 SYFPEITHI(URL: <http://www.syfpeithi.de/>)에서 찾아볼 수 있다. 예를 들어, 9개의 아미노산의 크기의 HLA.A2.01 웨პ티드의 경우, 주요 접촉 점을 제공하는, 웨პ티드 일차 앵커 잔기는 잔기 위치 P1, P2 및 P9에 위치된다.

[0051] 따라서, 미생물 서열 변이체의 코어 서열이 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 코어 서열과 동일한 것이 바람직 하되, 상기 코어 서열은 N-말단에 가까운 3개의 아미노산(the three most N-terminal amino acids) 및 C-말단에 가까운 3개의 아미노산(the three most C-terminal amino acids)을 제외한 모든 아미노산으로 이루어진다. 달리 말하면, 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 비교하여 미생물 서열 변이체의 임의의 변경은 바람직하게는 "코어 서열"(서열 중간의 아미노산)이 아닌 3개의 N-말단 내에 및/또는 3개의 C-말단 아미노산 내에 위치하는 것이 바람직하다. 달리 말하면, 미생물 서열 변이체에서, 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 비교한 변경(미스매치)은 바람직하게는 (적어도) 3개의 N-말단 아미노산 및/또는 (적어도) 3개의 C-말단 아미노산에서만 허용되고, 보다 바람직하게는 변경(미스매치)은 2개의 N-말단 아미노산 및/또는 2개의 C-말단 아미노산에서만 허용된다. 이는 셋 모두의 (바람직하게는 둘 모두의) N-말단 및/또는 C-말단 아미노산이 변경되어야 하나, 이는 아미노산이 변경될 수 있는 아미노산 위치에서만 존재함을 의미한다. 예를 들어, 9개의 아미노산의 웨პ티드에서, 3개의 중간 아미노산이 코어 서열을 나타낼 수 있고, 변경은 바람직하게는 임의의 3개의 N-말단 및 3개의 C-말단 아미노산 위치에서만 발생할 수 있고, 보다 바람직하게는 변경/치환은 임의의 2개의 N-말단 및/또는 2개의 C-말단 아미노산 위치에서만 발생할 수 있다.

[0052] 보다 바람직하게는, (종양-관련된 항원 에피토프 서열의) 코어 서열은 N-말단에 가까운 2개의 아미노산 및 C-말단에 가까운 2개의 아미노산을 제외한 모든 아미노산으로 이루어진다. 예를 들어, 9개의 아미노산의 웨პ티드(종양-관련된 항원 에피토프 서열)에서, 5개의 중간 아미노산이 코어 서열을 나타내고, 변경은 바람직하게는 (종양-관련된 항원 에피토프 서열의) 임의의 2개의 N-말단 및 2개의 C-말단 아미노산 위치에서만 발생할 수 있다.

[0053] 또한, (종양-관련된 항원 에피토프 서열의) 코어 서열은 N-말단에 가장 가까운 아미노산 및 C-말단에 가장 가까운 아미노산을 제외한 모든 아미노산으로 이루어지는 것이 바람직하다. 예를 들어, 9개의 아미노산의 웨პ티드

(종양-관련된 항원 에피토프 서열)에서, 7개의 가운데 아미노산은 코어 서열을 나타낼 수 있고, 변경은 바람직하게는 N-말단 위치(P1) 및 C-말단 아미노산 위치(P9)에서만 발생할 수 있다.

[0054] 가장 바람직하게는, (종양-관련된 항원 에피토프 서열의) 코어 서열은 N-말단에 가까운 2개의 아미노산 및 C-말단에 가까운 2개의 아미노산을 제외한 모든 아미노산으로 이루어진다. 예를 들어, 9개의 아미노산의 웹티드(종양-관련된 항원 에피토프 서열)에서, 가운데 6개의 아미노산은 코어 서열을 나타낼 수 있고, 변경은 바람직하게는 임의의 2개의 N-말단 위치(P1 및 P2) 및 C-말단 아미노산 위치(P9)에서만 발생할 수 있다.

[0055] 예를 들어, 9개의 아미노산의 길이를 갖는 미생물 서열 변이체가 위치 1(P1; N-말단에 가장 가까운 아미노산 위치)에서 페닐알라닌(F) 또는 리신(K)을 포함하는 것이 특히 바람직하다. 또한, 예를 들어 9개의 아미노산의 길이를 갖는 미생물 서열 변이체가 위치 2(P2)에서 류신(L) 또는 메티오닌(M)을 포함하는 것이 바람직하다. 또한, 예를 들어 9개의 아미노산의 길이를 갖는 미생물 서열 변이체가 위치 9(P9)에서 발린(V) 또는 류신(L)을 포함하는 것이 바람직하다. 가장 바람직하게는, 예를 들어 9개의 아미노산의 길이를 갖는 미생물 서열 변이체는 위치 1(P1; N-말단에 가장 가까운 아미노산 위치)에서 페닐알라닌(F) 또는 리신(K), 위치 2(P2)에서 류신(L) 또는 메티오닌(M) 및/또는 위치 9(P9)에서 발린(V) 또는 류신(L)을 포함한다.

[0056] 미생물 서열 변이체의 코어 서열은 또한 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 코어 서열과 상이할 수 있다. 이러한 경우, (종양-관련된 항원 에피토프 서열의 코어 서열과 비교되는 미생물 서열 변이체의 코어 서열에서) 임의의 아미노산 치환이 하기에 기재되는 보존적 아미노산 치환인 것이 바람직하다.

[0057] 일반적으로, 특히 MHC 분자에 대한 앵커 위치(예를 들어 MHC-I 하위 유형 HLA.A2.01의 경우 P1, P2 및 P9) 이외의 위치에서의 아미노산 치환은 바람직하게는 보존적 아미노산 치환이다. 보존적 치환의 예는 하나의 지방족 잔기를 또 다른 것으로 치환함, 예컨대 Ile, Val, Leu 또는 Ala를 또 다른 하나로 치환함; 또는 극성 잔기를 또 다른 것으로 치환함, 예컨대 Lys와 Arg 사이의 치환, Glu와 Asp 사이의 치환, 또는 Gln과 Asn 사이의 치환을 포함한다. 기타 상기 보존적 치환, 예를 들어 유사한 소수성 특성을 갖는 전체 영역의 치환은 주지되어 있다(문헌[Kyte and Doolittle, 1982, J. Mol. Biol. 157(1):105- 132]). 보존적 아미노산 치환의 예는 하기 표 1에 제시되어 있다:

표 1

| 원래 잔기 | 치환의 예 |
|---------|------------------------------|
| Ala (A) | Val, Leu, Ile, Gly |
| Arg (R) | His, Lys |
| Asn (N) | Gln |
| Asp (D) | Glu |
| Cys (C) | Ser |
| Gln (Q) | Asn |
| Glu (E) | Asp |
| Gly (G) | Pro, Ala |
| His (H) | Lys, Arg |
| Ile (I) | Leu, Val, Met, Ala, Phe |
| Leu (L) | Ile, Val, Met, Ala, Phe |
| Lys (K) | Arg, His |
| Met (M) | Leu, Ile, Phe |
| Phe (F) | Leu, Val, Ile, Tyr, Trp, Met |
| Pro (P) | Ala, Gly |
| Ser (S) | Thr |
| Thr (T) | Ser |
| Trp (W) | Tyr, Phe |
| Tyr (Y) | Trp, Phe |
| Val (V) | Ile, Met, Leu, Phe, Ala |

[0059] 특히, (미생물) 서열 변이체 및 이의 바람직한 실시양태의 상기 설명은, 선택된 종양-관련된 항원 에피토프의 미생물 서열 변이체가 식별되는 본 발명에 따른 방법의 단계 (iii)에 적용된다. 따라서, 본 발명에 따른 방법의 단계 (iii)의 식별은 미생물 서열 변이체에 대해 상기에 개괄된 원리를 기초로 한다.

- [0060] 본 발명에 따른 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체의 식별 방법의 단계 (i)에서, 관심 종양-관련된 항원이 선택된다. 이는 예를 들어 예방하고/하거나 치료할 암을 기초로 수행될 수 있다. 별개의 유형의 암에 관련된 항원이 당분야에 주지되어 있다. 적합한 암/종양 에피토프는 예를 들어 암/종양 에피토프 데이터베이스로부터, 예를 들어 데이터베이스 "탄티젠(Tantigen)"(탄티젠 버전 1.0, Dec 1, 2009; 다나-파버 캔서 인스티튜트(Dana-Farber Cancer Institute)의 암 백신 센터의 바이오인포메틱스 코어(Bioinformatics Core)에서 개발; URL: <http://cvc.dfcf.harvard.edu/tadb/>)으로부터 검색해볼 수 있다. 선택을 위한 단계 (i)에서 사용될 수 있는 종양-관련된 항원의 데이터베이스에 대한 추가적 예는 "펩티드 데이터베이스"(<https://www.cancerresearch.org/scientists/events-and-resources/peptide-database>) 및 "CT데이터베이스"(<http://www.cta.lncc.br/>)를 포함한다. 또한, 종양-관련된 항원은 당분야에 공지된 문헌, 예컨대 과학 기사를 기초로 선택될 수 있다.
- [0061] 항원의 데이터베이스를 제공하는 인터넷 자원(상기에 예시됨)을 문헌 조사와 병행하는 것이 특히 바람직하다. 예를 들어, 단계 (i)의 하위 단계 (i-a)에서, 하나 이상의 종양-관련된 항원은 데이터베이스, 예컨대 탄티젠, 펩티드 데이터베이스 및/또는 CT데이터베이스로부터 식별될 수 있고, 하위 단계 (i-b)에서, 데이터베이스로부터 하위 단계 (i-a)에서 선택된 하나 이상의 항원에 대한 구체적인 문헌이 확인되고 연구될 수 있다. 이러한 문헌은 구체적으로 항원의 특이적 종양 발현의 조사에 관한 것이며, 예컨대 문헌[Xu et al., An integrated genome-wide approach to discover tumor-specific antigens as potential immunologic and clinical targets in cancer. *Cancer Res.* 2012 Dec 15;72(24):6351-61]; [Cheevers et al., The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research. *Clin Cancer Res.* 2009 Sep 1;15(17):5323-37]이다.
- [0062] 이후, 선택의 추가적 회차는 하위 단계 (i-c)에서 수행될 수 있되, 여기서 데이터베이스로부터 하위 단계 (i-a)에서 선택된 하나 이상의 항원이 하위 단계 (i-b)의 문헌 연구의 결과를 기초로 선택(즉, 유지)될 수 있거나 "폐기"될 수 있다.
- [0063] 임의적으로, 선택 후에(예를 들어 이를 하위 단계가 수행되는 경우 하위 단계 (i-a) 또는 (i-c) 후에) 선택된 항원에 발현 프로필에 관하여 애노테이션(annotation)을 수행할 수 있다. 이를 위하여, 툴, 예컨대 Gent(<http://medicalgenome.kr/krbb.re.kr/GENT/>), metabolic gene visualizer(<http://merav.wi.mit.edu/>), 또는 protein Atlas(<https://www.proteinatlas.org/>)가 사용될 수 있다. 이로써, 하나 이상의 선택된 항원은 예를 들어 잠재적 지표, 가능한 부작용에 대한 이의 관련성 및/또는 "드라이버(driver)" 항원(암의 원인이되는 변경) 또는 "폐신자(passenger)" 항원(부수적인 변화 또는 암의 결과로서 발생하는 변화)인지 여부에 관하여 추가로 정의될 수 있다(예를 들어 문헌[Tang J, Li Y, Lyon K, et al. Cancer driver-passenger distinction via sporadic human and dog cancer comparison: a proof of principle study with colorectal cancer. *Oncogene.* 2014;33(7):814-822] 참조).
- [0064] 바람직하게는, 단계 (ii)에서 식별된 종양-관련된 항원 에피토프는 MHC 클래스 I에 의해 제시될 수 있다. 달리 말하면, 단계 (ii)에서 식별된 종양-관련된 항원 에피토프가 MHC 클래스 I에 결합할 수 있는 것이 바람직하다. MHC 클래스 I(주요 조직적합성 복합체 클래스 I, MHC-I)은 에피토프를 살해 T 세포(세포 독성 T 림프구(CTL)로도 지칭됨)에 제공한다. CTL은 TCR(T 세포 수용체) 이외에 CD8 수용체를 발현한다. CTL의 TCR이 MHC 클래스 I 분자 내의 에피토프에 맞는 경우, CTL의 CD8 수용체는 MHC 클래스 I 분자에 도킹하고, CTL은 세포가 세포 자멸에 의해 프로그래밍된 세포 사멸을 수행하는 것을 촉발시킨다. 이러한 경로는 암 세포가 직접 공격받기 때문에 암의 예방 및/또는 치료에 특히 유용하다. 인간의 경우, MHC 클래스 I은 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C 분자를 포함한다.
- [0065] 전형적으로, 8 내지 12개, 바람직하게는 8 내지 10개의 아미노산의 길이를 갖는 펩티드(에피토프)는 MHC I에 의해 제시된다. 항원의 어떤 에피토프가 MHC I에 의해 제시될 수 있는지/MHC I에 결합할 수 있는지를 상기에 예시된 데이터베이스에 의해 식별할 수 있다(예를 들어 탄티젠(탄티젠 버전 1.0, Dec 1, 2009; 다나-파버 캔서 인스티튜트의 암 백신 센터의 바이오인포메틱스 코어에서 개발; URL: <http://cvc.dfcf.harvard.edu/tadb/>)은 에피토프 및 해당 HLA 하위 유형의 목록을 제공한다). 바람직한 분석 툴은 "IEDB"(Immune Epitope Database and Analysis Resource, IEDB Analysis Resource v2.17, supported by a contract from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, a component of the National Institutes of Health in the Department of Health and Human Services; URL: <http://www.iedb.org/>)이고, 이는 예를 들어 MHC-I 처리 예측을 제공한다(http://tools.immuneepitope.org/analyze/html/mhc_processing.html). 이로써, 프로테아좀 절단, TAP 이동 및 MHC 클래스 I 분석 툴에 관한 정보는 펩티드 제시 예측과 조합될 수 있다. 또 다른 바람직한 데이터베이스

는 주요 조직적합성 복합체(MHC) 데이터 은행 SYFPEITHI(MHC 리간드 및 웹티드 모티프의 데이터베이스(버전 1.0, DFG-Sonderforschungsbereich 685 및 유럽 연합(EU BIOMED CT95-1627, BIOTECH CT95-0263 및 EU QLQ-CT-1999-00713)에 의해 후원됨; URL: www.syfpeithi.de)이고, 이는 MHC 분자로부터 용출된 웹티드를 편집한다. SYFPEITHI 데이터베이스가 공개된 보고서로부터 클래스 I 및 클래스 II MHC 분자에 결합하는 것으로 공지된 웹티드 서열만을 포함하기 때문에, SYFPEITHI 데이터베이스가 바람직하다. 특히 바람직하게는, 시험관내 데이터로부터 수득된 결과(예컨대 SYFPEITHI 데이터베이스 및 IEDB 데이터베이스에서 편집된 것)는 용출 분석으로부터 수득한 인간 선형 에피토프 및 MHC 클래스 I 제한을 포함하는 제한적인 검색에 의해 인실리코(*in silico*) 예측 MHC 결합 데이터베이스, 예를 들어 IEDB 데이터베이스에서 확장될 수 있다.

[0066] MHC I에 의해 제시되는 에피토프/MHC I에 결합하는 에피토프의 상기에 기재된 데이터베이스 선택에 부가적으로 또는 대안적으로, MHC 클래스 I에 대한 후보자 웹티드의 결합은 바람직하게는 시험관내 또는 인실리코 MHC 결합 시험에 의해 시험될 수 있다. 또한, 시험관내 또는 인실리코 결합 시험은 또한, 예를 들어 인실리코 결합 시험을 먼저 사용하여 제1 선택을 수득하고 나중 단계에서 시험관내 결합 시험을 사용하여 예를 들어 인실리코 결합 시험에 의해 수득된 결과를 확인함으로써 병행될 수 있다. 또한, 이는 일반적으로 적용된다: 웹티드, 예컨대 에피토프 또는 미생물 서열 변이체의 결합은 바람직하게는 본원에 기재된 시험관내 또는 인실리코 MHC 결합 시험에 의해 시험될 수 있다.

[0067] 이에 있어서, MHC 클래스 I에 대한 결합을 결정하기 위해, IEDB 솔루션즈 센터에 의해 제공된 임계값(컷오프)(cut-off))(URL: <https://help.iedb.org/hc/en-us/articles/114094151811>Selecting-thresholds-cut-offs-for-MHC-class-I-and-II-binding-predictions>)이 사용될 수 있다. 즉, MHC 클래스 I의 경우, URL[<https://help.iedb.org/hc/en-us/articles/114094151811>Selecting-thresholds-cut-offs-for-MHC-class-I-and-II-binding-predictions>]에 나타내고 하기 표 2에 나타낸 컷오프가 사용될 수 있다:

표 2

MHC 클래스 I 결합 예측에 대한 컷오프

| 대립유전자 | 대립유전자의 집단 빈도 | 대립유전자 특이적 친화도 컷오프 (IC50 nM) |
|--------|--------------|-----------------------------|
| A*0101 | 16.2 | 884 |
| A*0201 | 25.2 | 255 |
| A*0203 | 3.3 | 92 |
| A*0206 | 4.9 | 60 |
| A*0301 | 15.4 | 602 |
| A*1101 | 12.9 | 382 |
| A*2301 | 6.4 | 740 |
| A*2402 | 16.8 | 849 |
| A*2501 | 2.5 | 795 |
| A*2601 | 4.7 | 815 |
| A*2902 | 2.9 | 641 |
| A*3001 | 5.1 | 109 |
| A*3002 | 5 | 674 |
| A*3101 | 4.7 | 329 |
| A*3201 | 5.7 | 131 |
| A*3301 | 3.2 | 606 |
| A*6801 | 4.6 | 197 |
| A*6802 | 3.3 | 259 |
| B*0702 | 13.3 | 687 |
| B*0801 | 11.5 | 663 |
| B*1402 | 2.8 | 700 |
| B*1501 | 5.2 | 528 |
| B*1801 | 4.4 | 732 |
| B*2705 | 2 | 584 |
| B*3501 | 6.5 | 348 |
| B*3503 | 1.2 | 888 |
| B*3801 | 2 | 944 |
| B*3901 | 2.9 | 542 |
| B*4001 | 10.3 | 639 |
| B*4002 | 3.5 | 590 |
| B*4402 | 9.2 | 904 |
| B*4403 | 7.6 | 780 |
| B*4601 | 4 | 926 |
| B*4801 | 1.8 | 887 |
| B*5101 | 5.5 | 939 |
| B*5301 | 5.4 | 538 |
| B*5701 | 3.2 | 716 |

[0068]

[0069] MHC 클래스 I 결합의 예측(MHC 인실리코 결합 시험)을 공개적으로 입수 가능한 틀, 예컨대 "NetMHCpan", 예를 들어 "NetMHCpan 3.0 서버" 또는 "NetMHCpan 4.0 서버"(덴마크 기술 대학교 (DTU)의 생물학 서열 분석 센터; URL: <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCpan/>)를 사용하여 수행할 수 있다. NetMHCpan 방법, 특히 NetMHCpan 3.0 이상의 버전은 인간(HLA-A, B, C, E) 및 다른 종의 172개의 MHC 분자를 포함하는 180000 초과의 정량적 결합 데이터에 대해 학습된다. 일반적으로, 친화도는 강한 바인더 및 약한 바인더에 대한 기본 임계값을 남김으로써 예측될 수 있다. 예를 들어, HLA-A*0201의 경우, 50 nM 미만의 계산된 친화도는 "강한 바인더"를 나타내고, 50 내지 255 nM(또는 50 내지 300 nM)의 친화도는 "중간 바인더"를 나타낸다.

[0070]

NetMHCpan, 예를 들어 NetMHCpan 3.0 또는 NetMHCpan 4.0에서, 예측된 친화도의 순위는 400000개의 랜덤 천연 펩티드의 세트와 비교될 수 있고, 이는 %순위 결합 친화도의 척도로서 사용될 수 있다. 이러한 값은 보다 높거나 낮은 평균 예측 친화도에 대한 특정 문자의 고유한 편향에 의해 영향받지 않는다. 예를 들어(예를 들어

HLA-A*0201의 경우), 매우 강한 바인더는 0.5 미만의 %순위를 갖는 것으로 정의될 수 있고, 강한 바인더는 1.0 미만의 %순위를 갖는 것으로 정의될 수 있고, 중간 바인더는 1.0 내지 2.0의 %순위를 갖는 것으로 정의될 수 있고, 약한 바인더는 2.0 초과의 %순위를 갖는 것으로 정의될 수 있다.

[0071] 시험관내 시험 방법은 숙련가에게 주지되어 있다. 예를 들어, 숙련가는 문헌[Tourdot et al., A general strategy to enhance immunogenicity of low-affinity HLA-A2.1-associated peptides: implication in the identification of cryptic tumor epitopes. Eur J Immunol. 2000 Dec; 30(12):3411-21]에서 HLA-A*0201에 의해 제시된 펩티드에 대해 인증된 실험 프로토콜을 사용할 수 있다. 이에 있어서, 기준 펩티드, 예컨대 HIV pol 589-597이 추가적으로 시험에서 사용될 수 있다. 이는, 예를 들어 하기 수학식에 의해 기준 펩티드를 사용하여 관찰된 결합과 비교된 시험관내 친화도의 계산을 가능하게 한다:

[0072] 상대적 친화도 = HLA-A*0201의 발현의 20%를 유도하는 각각의 펩티드의 농도 / HLA-A*0201의 발현의 20%를 유도하는 기준 펩티드의 농도

[0073] 여기서, 100%는 기준 펩티드, 예를 들어 HIV pol 589-597을 예를 들어 100 μM 농도에서 사용시 검출된 HLA-A*0201 발현의 수준이다. 예를 들어, 1 미만의 상대적 친화도를 나타내는 펩티드는 "강한 바인더"로서 간주될 수 있고, 1 내지 2의 상대적 친화도를 나타내는 펩티드는 "중간 바인더"로서 간주될 수 있고, 3 초과의 상대적 친화도를 나타내는 펩티드는 "약한 바인더"로서 간주될 수 있다.

[0074] 또한, 단계 (ii)에서 식별된 종양-관련된 항원 에피토프가 MHC 클래스 II에 의해 제시될 수 있는 것이 바람직하다. 달리 말하면, 단계 (ii)에서 식별된 종양-관련된 항원 에피토프가 MHC 클래스 II에 결합할 수 있는 것이 바람직하다. MHC 클래스 II(주요 조직적합성 복합체 클래스 II, MHC-II)는 에피토프를 면역 세포, 예컨대 T 헬퍼 세포(CD4+ T 세포)에 제공한다. 이어서, 헬퍼 T 세포는 적절한 면역 반응 촉발을 보조하고, 이는 B 세포의 활성화에 기인하여 전력의 항체 면역 반응을 야기할 수 있다. 인간의 경우, MHC 클래스 II는 HLA-DP, HLA-DM, HLA-DOA, HLA-DOB, HLA-DQ 및 HLA-DR 분자를 포함한다.

[0075] 전형적으로, 13 내지 24개의 아미노산의 길이를 갖는 펩티드(에피토프)는 MHC II에 의해 제시될 수 있다. 항원의 어떤 에피토프가 MHC II에 의해 제시될 수 있는지/MHC II에 결합할 수 있는지를 MHC I에 대해 상기에 나타낸 데이터베이스에 의해 확인할 수 있다(단지 MHC II에 관련된 틀이 MHC I 대신에 사용될 수 있다). 부가적으로 또는 대안적으로, MHC 클래스 II에 대한 후보자 펩티드의 결합은 바람직하게는 본원에 기재된 시험관내 또는 인 실리코 MHC 결합 시험에 의해 시험될 수 있고, 이는 유사한 방식으로 MHC II에 적용된다.

[0076] 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체의 식별 방법의 단계 (iii)에서 에피토프 서열의 하나 이상의 미생물 서열 변이체의 식별은 바람직하게는 하기에 의해 수행된다:

[0077] - 단계 (ii)에서 선택된 에피토프 서열을 하나 이상의 미생물 서열과 비교함, 및

[0078] - 상기 하나 이상의 미생물 서열이 상기 에피토프 서열의 하나 이상의 미생물 서열 변이체를 함유하는지를 식별함(상기에 나타냄).

[0079] 달리 말하면, 본 발명에 따른 방법의 단계 (iii)은 바람직하게는 하기를 포함한다:

[0080] - 단계 (ii)에서 선택된 에피토프 서열을 하나 이상의 미생물 서열과 비교함, 및

[0081] - 상기 하나 이상의 미생물 서열이 상기 에피토프 서열의 하나 이상의 미생물 서열 변이체를 함유하는지를 식별함(상기에 나타냄).

[0082] 특히, 단계 (ii)에서 선택된 에피토프 서열은, 미생물 서열을 찾기 위해, 특히 (단계 (ii)에서 선택된 에피토프 서열과의 50% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 60% 이상 서열 동일성, 보다 바람직하게는 70% 이상 서열 동일성, 보다 더 바람직하게는 75% 이상 서열 동일성을 갖는) 유사한 서열을 포함하는 하나 이상의 미생물 서열을 식별하기 위해 쿼리 서열(인풋 서열/기준 서열)로서 사용될 수 있다.

[0083] 이에 있어서, 상기에 개괄된 미생물 서열 변이체, 및 특히 상기에 기재된 미생물 서열 변이체의 바람직한 실시 양태에 대한 기준(특히 유사성 및 % 서열 동일성에 관함)이 적용된다. 예를 들어, 제1 단계에서, 서열 유사성 검색, 예컨대 BLAST 또는 FASTA가 수행될 수 있다. 예를 들어, 단백질 BLAST(blastp)는 PAM30 단백질 치환 매트릭스를 사용하여 수행될 수 있다. PAM30 단백질 치환 매트릭스는 시간에 따른 부위 당 아미노산 변화를 설명하며, 35개 미만의 아미노산의 길이를 갖는 쿼리에 대해 권장된다. 단백질 BLAST의 추가적(부가적) 예시된 파라미터는 2의 단어 크기(짧은 쿼리에 대해 제안됨); 20000000의 예상 값(E)(가능한 매치의 수를 최대화하도록

조정됨); 및/또는 '0'으로 설정된 조성-기반 통계(이는 30개의 아미노산보다 짧은 인풋 서열이며 이는 캡이 없는 정렬만 허용한다)일 수 있다.

[0084] 이후, 결과는, 8 내지 12개의 아미노산의 길이를 갖는 서열(예를 들어 8개의 아미노산의 길이를 갖는 서열, 9개의 아미노산의 길이를 갖는 서열, 10개의 아미노산의 길이를 갖는 서열, 11개의 아미노산의 길이를 갖는 서열, 또는 12개의 아미노산의 길이를 갖는 서열), 바람직하게는 8 내지 10개의 아미노산의 길이를 갖는 서열, 가장 바람직하게는 9 또는 10 개의 아미노산의 길이를 갖는 서열만이 수득되도록, 서열 길이에 관해 필터링될 수 있다.

[0085] 또한, 결과는 상기에 기재된 바와 같이 코어 서열이 아닌 특정 위치, 바람직하게는 N- 및/또는 C-말단에서만 허용되도록 (추가적으로) 필터링될 수 있다. 구체적 예로서, 결과는, 9개의 아미노산의 길이를 갖고, 위치 P1, P2 및 P9에서만 허용되는 미스매치/치환을 갖고, 서열 당 최대 2개의 미스매치가 허용되는 서열이 수득되도록 필터링될 수 있다.

[0086] 에피토프 서열이 비교되는 하나 이상의 미생물 서열은 임의의 미생물 서열 또는 임의의 미생물 서열 편집본(예컨대 임의의 미생물 서열 데이터베이스)일 수 있다.

[0087] 바람직하게는, 단계 (iii)에서 미생물 서열 변이체는 미생물 (서열) 데이터베이스를 기초로 식별된다. 이러한 데이터베이스는 바람직하게는 다수의 개체(대상체)의 미생물 (서열) 데이터를 포함할 수 있다. 이러한 데이터 베이스의 예는 "인간 소화관 미생물 유전체의 통합된 참고 카탈로그(Integrated reference catalog of the human gut microbiome)"(버전 1.0, March 2014; Li et al. MetaHIT Consortium. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. Nat Biotechnol. 2014 Aug;32(8):834-41; URL: <http://meta.genomics.cn/meta/home>)이고, 이는 주요 인간 미생물 유전체 프로파일링 활동으로부터의 데이터(미국 국립보건원 인간 미생물 유전체 프로젝트(NIH-HMP) 및 유럽 인간 창자관 이니셔티브 메타게놈(MetaHIT))를 포함한다.

[0088] 또한, 미생물 데이터베이스가 다수의 개체가 아닌 단일 개체의 미생물 데이터를 포함하는 것이 바람직하다. 이러한 방식으로, 미생물 서열 변이체(또는 이를 포함하는 약제)는 개체에 대해 구체적으로 맞춰질 수 있다. 본 발명의 (방법에 의해 식별된) 미생물 서열 변이체가 자기 항원과 상이하여 면역계의 자기 관용을 피한다는 장점에 더하여, 개체에서 존재하는 미생물 서열 변이체는, 개체가 이러한 미생물 서열 변이체에 대해 "프라이밍"될 수 있다는 장점, 즉, 개체가 미생물 서열 변이체에 의해 프라이밍된 기억 T 세포를 가질 수 있다는 추가적 장점을 갖는다. 특히, 인간 중앙-관련된 항원 에피토프의 미생물 서열 변이체에 대한 기존 기억 T 세포는 미생물 서열 변이체의 도전으로 재활성화될 것이고, 항중양 반응의 수립을 강화시키고 가속화시켜 치료적 효능을 추가적으로 증가시킬 것이다.

[0089] 다수의 개체가 아닌 단일 개체의 미생물 데이터를 포함하는 데이터베이스는 예를 들어 개체의 하나 이상의 대변 샘플의 사용에 의해 편집될 수 있다. 예를 들어, 미생물(특히 박테리아) 핵산(예컨대 DNA) 또는 (폴리)펩티드는 대변 샘플로부터 추출될 수 있고 당분야에 공지된 방법에 의해 서열결정될 수 있다. 이어서, 서열은 미생물 데이터, 특히 서열만을 함유하는 데이터베이스로 편집될 수 있다. 이러한 데이터베이스를 편집하기 위해, 예를 들어 국제 인간 미생물 유전체 표준(IHMS) 프로젝트에 의해 개발되고 제공된 하나 이상의 표준 작업 절차(SOP)가 사용될 수 있다(URL: <http://www.microbiome-standards.org/#SOPs>). IHMS 프로젝트(URL: <http://www.microbiome-standards.org>)는 제7 프레임워크 프로그램(프로젝트 ID: 261376) 하에 유럽 위원회가 후원하며, 인간 미생물 유전체 필드에서 데이터 품질 및 비교가능성을 최적화하도록 설계된 표준 작업 절차(SOP)의 개발을 조정하였다. IHMS는 14개의 표준 작업 절차(SOP)(대변 샘플 수집, 식별 및 추출, 서열결정 및 데이터 분석을 위한 SOP를 포함함)을 개발하였다. 예를 들어, IHMS SOP는 데이터베이스 편집의 전체 공정에 사용될 수 있다(즉, 각각의 단계에서 SOP가 사용될 수 있다). 또 다른 예에서, 하나 이상의 단계는 하나 이상의 SOP를 사용할 수 있는 반면에, 다른 단계는 다른 방법을 사용한다. 특히 바람직한 예에서, 대변 샘플로부터 추출된 DNA의 서열결정은 예를 들어 Illumina HiSeq 상에서 4000만의 페어 엔드 리드(pair end read)에서 수행될 수 있다. 서열은 예를 들어 미생물 서열 변이체(예를 들어 박테리아 펩티드)를 발현하는 후보자 박테리아의 게놈 부분의 식별을 위한 바이오인포메틱스 파이프라인을 사용하여 분석될 수 있다.

[0090] 바람직하게는, 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체의 식별 방법의 단계 (iii)은 하기 하위 단계를 포함한다:

[0091] (iii-a) 임의적으로, 단일 또는 다수의 개체의 샘플의 미생물 단백질 서열 또는 핵산 서열을 식별하는 단계,

[0092] (iii-b) 상기 단일 또는 다수의 개체의 미생물 단백질 서열 또는 핵산 서열을 포함하는 데이터베이스를 편집하

는 단계, 및

- [0093] (iii-c) 단계 (iii-b)에서 편집한 데이터베이스에서, 단계 (ii)에서 식별된 에피토프 서열의 하나 이상의 미생물 서열 변이체를 식별하는 단계.
- [0094] 단계 (iii-a)의 샘플은 바람직하게는 대변 샘플이다. 편집할 데이터베이스가 단일 또는 다수의 개체에 관련되는지에 따라, 단일 또는 다수의 개체의 하나 이상의 대변 샘플이 사용될 수 있다.
- [0095] 식별 단계 (iii-a)는 바람직하게는 미생물(특히 박테리아) 핵산(예컨대 DNA) 또는 (폴리)펩티드를 샘플, 특히 대변 샘플로부터 추출하고, 예를 들어 상기에 기재된 바와 같이 이를 서열결정함을 포함하다. 임의적으로, 서열은 상기에 기재된 바와 같이 분석될 수 있다.
- [0096] 바람직하게는, 본 발명에 따른 방법은 하기 단계를 추가로 포함할 수 있다:
- [0097] (iv) MHC 분자, 특히 MHC I 분자에 대한 하나 이상의 미생물 서열 변이체의 결합을 시험하고, 결합 친화도를 수득하는 단계.
- [0098] MHC 분자, 특히 MHC I 또는 MHC II에 대한 하나 이상의 미생물 서열 변이체의 결합을 상기에 기재된 바와 같이 시험관내 또는 인실리코 MHC 결합 시험에 의해 시험할 수 있다. 따라서, 중간 바인더, 강한 바인더 및 매우 강한 바인더를 상기에 기재된 바와 같이 선택할 수 있다.
- [0099] 바람직하게는, MHC에 대한 결합을 하나 이상의 미생물 서열 변이체의 경우 MHC 분자에 대해, 및 추가적으로 (각각의 기준) 에피토프("상응하는" 종양-관련된 항원 에피토프 서열)의 경우 MHC 분자, 특히 MHC I 또는 MHC II 분자에 대해 (상기에 기재된 바와 같이 시험관내 및/또는 인실리코) 시험하고, 결합 친화도를 바람직하게는 둘 모두(에피토프 서열 및 이의 미생물 서열 변이체)에 대해 수득하였다.
- [0100] 결합 시험 후에, 바람직하게는 MHC, 특히 MHC I 또는 MHC II에 중간으로, 강하게 또는 매우 강하게 결합하는 미생물 서열 변이체만이 선택된다. 보다 바람직하게는 강한 바인더 및 매우 강한 바인더만이 선택되고, 가장 바람직하게는, MHC, 특히 MHC I 또는 MHC II에 대해 매우 강하게 결합하는 미생물 서열 변이체만이 선택된다.
- [0101] 보다 바람직하게는, MHC, 특히 MHC I 또는 MHC II에 강하게 또는 매우 강하게 결합하는 미생물 서열 변이체만이 선택되고, 여기서 (각각의 기준) 에피토프("상응하는" 종양-관련된 항원 에피토프 서열)는 MHC, 특히 MHC I 또는 MHC II에 중간으로, 강하게 또는 매우 강하게 결합한다. 보다 더 바람직하게는, MHC, 특히 MHC I 또는 MHC II에 대해 매우 강하게 결합하는 미생물 서열 변이체만이 선택되고, 여기서 (각각의 기준) 에피토프는 MHC, 특히 MHC I 또는 MHC II에 대해 중간으로, 강하게 또는 매우 강하게 결합한다. 가장 바람직하게는, MHC, 특히 MHC I 또는 MHC II에 매우 강하게 결합하는 미생물 서열 변이체만이 선택되고, 여기서 (각각의 기준) 에피토프는 MHC, 특히 MHC I 또는 MHC II에 대해 강하게 또는 매우 강하게 결합한다.
- [0102] 또한, 본 발명에 따른 방법에 따른 방법의 단계 (iv)가, 미생물 서열 변이체에 대해 수득된 결합 친화도 및 각각의 기준 에피토프에 대해 수득된 결합 친화도의 비교, 및 각각의 기준 에피토프보다, MHC, 특히 MHC I 또는 MHC II에 대해 높은 결합 친화도를 갖는 미생물 서열 변이체의 선택을 추가로 포함하는 것이 바람직하다.
- [0103] 바람직하게는, 본 발명에 따른 방법은 하기 단계를 추가로 포함한다:
- [0104] (v) 미생물 서열 변이체를 함유하는 미생물 단백질의 세포 국소화를 결정하는 단계.
- [0105] 이에 있어서, 미생물 서열 변이체를 함유하는 미생물 단백질이 (i) 분비되고/되거나 (ii) 막관통 도메인을 포함하는지가 바람직하게는 결정된다. 막 내에/상에 분비되거나 존재하는 미생물 단백질은 면역 반응을 유도할 수 있다. 따라서, 본 발명에 있어서, 미생물 단백질에 포함되거나 분비되거나(예를 들어 신호 웨პ티드를 포함한다) 막관통 도메인을 포함하는 미생물 서열 변이체가 바람직하다. 특히, 분비된 단백질(또는 신호 웨პ티드를 갖는 단백질)에 포함되는 미생물 서열 변이체가 바람직한데, 이는 분비된 엑소좀에 함유되는 분비된 성분 또는 단백질이 APC에 의해 보다 제시되기 쉽기 때문이다.
- [0106] 미생물 서열 변이체를 함유하는 미생물 단백질의 세포 국소화를 결정하기 위해, 단계 (v)는 바람직하게는 세포 국소화 결정 전에, 미생물 서열 변이체를 함유하는 미생물 단백질의 서열의 식별을 추가로 포함한다.
- [0107] 세포 국소화, 특히 단백질이 분비되거나 막관통 도메인을 포함하는지를 숙련가에게 주지된 방법에 의해 인실리코 또는 시험관내 시험할 수 있다. 예를 들어, "SignalP 4.1 서버"(텐마크 기술 대학교(DTU)의 생물학 서열 분석 센터; URL: www.cbs.dtu.dk/services/SignalP) 및/또는 "포비어스(Phobius)"(조합된 막관통 토플로지 및 신

호 웹티드 예측기, 스톡홀름 생물정보학 센터; URL: phobius.sbc.su.se)가 사용될 수 있다. 바람직하게는, 2개의 예측 툴(예를 들어 SignalP 4.1 서버 및 포비어스)가 조합될 수 있다.

[0108] 예를 들어, 단백질이 분비되는지를 시험하기 위해, 신호 웹티드의 존재가 평가될 수 있다. 신호 웹티드는 진핵 생물에서 세포질 막을 가로지르는 전좌를 위한 이의 폐신자(카고(cargo)) 단백질을 표적화하는 보편적인 단백질-분류 신호이다. 신호 웹티드의 존재를 시험하기 위해, 예를 들어 "SignalP 4.1 서버"(덴마크 기술 대학교(DTU)의 생물학 서열 분석 센터; URL: www.cbs.dtu.dk/services/SignalP) 및/또는 "포비어스"(조합된 막관통 토플로지 및 신호 웹티드 예측기, 스톡홀름 생물정보학 센터; URL: phobius.sbc.su.se)가 사용될 수 있다. 바람직하게는, 2개의 예측 툴(예를 들어 SignalP 4.1 서버 및 포비어스)이 조합될 수 있다.

[0109] 또한, 단백질이 막관통 도메인을 포함하는지가 결정될 수 있다. 신호 웹티드 및 막관통 도메인 둘 모두는 소수성이나, 막관통 나선은 전형적으로 보다 긴 소수성 영역을 갖는다. 예를 들어, SignalP 4.1 서버 및 포비어스는 막관통 도메인으로부터 신호 웹티드를 구별하는 능력을 갖는다. 바람직하게는, 최소 수의 2개의 예측된 막관통 나선은 막과 세포질 단백질 사이를 구별하도록 설정되어 최종 컨센서스 목록을 전달한다.

[0110] 바람직하게는, 본 발명에 따른 방법은 상기에 기재된 단계 (iv) 및 상기에 기재된 단계 (v)를 포함한다. 바람직하게는, 단계 (iv) 후에 단계 (v)가 뒤따른다. 또한, 단계 (v) 후에 단계 (iv)가 뒤따르는 것이 바람직하다.

[0111] 또한, 본 발명에 따른 방법이 하기 단계를 포함하는 것이 또한 바람직하다:

[0112] - 미생물 서열 변이체를 포함하는 미생물 단백질에 애노테이션을 수행하는 단계.

[0113] 애노테이션 단계는 기준 데이터베이스, 예를 들어 교토 유전자 및 게놈 백과사전(KEGG) 및/또는 미국 국립 생물 공학정보 센터(NCBI) 기준 서열 데이터베이스(RefSeq)에 대한 (BLAST-기반) 비교에 의해 수행될 수 있다. RefSeq는 게놈 DNA, 전사체 및 단백질을 포함하는, 통합되고 중복되지 않은 서열 세트를 제공한다. KEGG에서, KO(KEGG 오솔로지(Orthology)) 데이터베이스에 저장된 문자-수준 기능이 사용될 수 있다. 이러한 기능은 공통 선조로부터 진화한 상이한 종의 유전자에 의해 암호화되는 단백질을 함유하는 오쓰로그(orthologue)의 군으로 분류된다.

[0114] 상기에 기재된 바와 같이, 인간 항원 에피토프의 미생물 서열 변이체는, (완전) 인간 에피토프와 비교하여, 인간 웹티드를 정확히 인식할 수 있는 T 세포가 자기 항원을 인식하여 성숙 동안 고갈되었다는 점에서 유리하며, 이는 미생물 서열 변이체의 경우 그러하지 않다. 따라서, 미생물 서열 변이체는 증가된 면역원성을 제공한다. 또한, 당분야에 주지된 바와 같이, MHC(HLA) 결합(상기에 기재된 바와 같이 확인/시험될 수 있음)이 T 세포 면역원성에 대한 지표인 것이 당분야에 공지되어 있다.

[0115] 그러나, 미생물 서열 변이체의 면역원성은 (단독으로 또는 상응하는 인간 에피토프와 비교하여) 또한 (예를 들어 이의 증가된 면역원성을 확인하기 위해) (추가적으로) 시험될 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 방법이 하기 단계를 추가로 포함하는 것이 바람직하다:

[0116] (vi) 미생물 서열 변이체의 면역원성을 시험하는 단계.

[0117] 숙련가는, 인실리코, 시험관내 및 생체내/생체외 시험을 포함하는 다양한 면역원성 시험 방법에 친숙하다. 일반적으로, 면역원성 시험을 위한 분석의 예는 스크리닝 분석, 예컨대 ADA(항-약물 항체) 스크리닝, 확인 분석, 적정 및 동형 분석, 및 중화 항체를 사용하는 분석을 포함한다. 상기 분석에 대한 플랫폼/분석 포맷의 예는 ELISA 및 브리징(bridging) ELISA, 전자화학발광(ECL) 및 메조 스케일 디스커버리(Meso Scale Discovery; MSD), 유세포 분석법, SPEAD(산 해리를 동반한 고체 상 추출), 방사선 면역 침전(RIP), 표면 플라스몬 공명(SPR), 비드(bead)-기반 분석, 바이오레이어 간접 분석, 바이오센서 분석 및 바이오 분석(예컨대 세포 증식 분석)을 포함한다. 다양한 분석이 예를 들어 문헌[Review article Meenu Wadhwa, Ivana Knezevic, Hye-Na Kang, Robin Thorpe: Immunogenicity assessment of biotherapeutic products: An overview of assays and their utility, Biologicals, Volume 43, Issue 5, 2015, Pages 298-306, ISSN 1045-1056, <https://doi.org/10.1016/j.biologics.2015.06.004>]에 보다 상세히 기재되어 있고, 이는 본원에 참고로 포함된다. 또한, 면역원성 시험에 대한 가이드라인은 FDA에 의해 제공된다(Assay development and validation for immunogenicity testing for therapeutic protein products. Guidance for Industry. FDA, 2016). 인실리코 면역원성 시험(특히 면역 정보학 툴을 적용함)은 특히 상기에 기재된 인실리코 MHC(HLA) 결합 시험을 포함한다.

[0118] 구체적 예로서, 시험 물질(예를 들어 임의의 적합한 투여 형태의 미생물 서열 변이체)은 개체(동물 또는 인간)에게 면역을 위해 투여될 수 있다. 이후, 개체의 면역 반응은 다양한 방법으로 측정될 수 있다. 예를 들어,

면역 세포, 예컨대 비장 세포는 예를 들어 면역 세포(예를 들어 비장 세포)의 시토카인 방출(예를 들어 IFN γ)을 예를 들어 ELISA에 의해 측정함으로써 평가될 수 있다. 대안적으로, ADA(항-약물 항체)가 또한 평가될 수 있다.

[0119] 다른 주지된 분석의 예는 MHC 다양체 분석, 예컨대 사량체 분석(예를 들어 문헌[Altman JD, Moss PA, Goulder PJ, Barouch DH, McHeyzer-Williams MG, Bell JI, McMichael AJ, Davis MM. Phenotypic analysis of antigen-specific T lymphocytes. Science. 1996 Oct 4;274(5284):94-6]에 기재된 바와 같음) 또는 오량체 분석을 포함한다.

[0120] 바람직한 실시양태에서, 세포 독성 T 세포에 대한 면역원성(또는 세포 독성 T 세포 반응)은 구체적으로 세포 독성 T 세포 반응을 평가함으로써 시험된다. 특히, 세포 독성 분석이 수행될 수 있다. 예를 들어, 시험 물질(예를 들어 임의의 적합한 투여 형태의 미생물 서열 변이체)이 종양(미생물 서열 변이체에 상응하는 항원을 발현함)을 갖는 개체(동물 또는 인간)에게 투여될 수 있고, 종양 크기가 관찰/측정된다. 또한, 세포 독성은 예를 들어 종양 세포주(미생물 서열 변이체에 상응하는 항원을 발현함)를 사용함으로써 시험관내 시험될 수 있다.

[0121] 세포 독성 분석, 특히 T 세포 독성 분석은 상기에 기재된 면역원성 분석과 같이 또는 상기에 기재된 (다른) 면역원성 분석에 더하여 수행될 수 있다.

[0122] 따라서, 본 발명에 따른 방법은 하기 단계를 추가로 포함하는 것이 바람직하다:

[0123] (vi) 미생물 서열 변이체의 세포 독성을 시험하는 단계.

[0124] 바람직하게는, 미생물 서열 변이체의 T 세포 독성이 시험된다.

[0125] 바람직하게는, 미생물 서열 변이체에 상응하는 항원을 발현하는 특이적 세포에 관한 세포 독성이 (상기에 기재된 바와 같이) 시험된다.

[0126] 바람직하게는, 종양-관련된 항원 에피토프 서열(이의 미생물 서열 변이체가 식별됨)은 서열번호 1 내지 5, 55 내지 65 및 126 내지 131 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 예를 들어, 종양-관련된 항원 에피토프 서열(이의 미생물 서열 변이체가 식별됨)은 서열번호 58 또는 59에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 예를 들어, 종양-관련된 항원 에피토프 서열(이의 미생물 서열 변이체가 식별됨)은 서열번호 131에 설정된 아미노산 서열을 갖는다. 구체적 실시양태에서, 종양-관련된 항원 에피토프 서열(이의 미생물 서열 변이체가 식별됨)은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 갖는다.

약제의 제조 방법

[0128] 추가적 양태에서, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 바람직하게는 암의 예방용 및/또는 치료용 약제의 제조 방법을 제공한다:

[0129] (a) 상기에 기재된 본 발명에 따른 방법에 따라 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체를 식별하는 단계; 및

[0130] (b) 미생물 서열 변이체(즉, 웨티드 또는 핵산)를 포함하는 약제를 제조하는 단계.

[0131] 바람직하게는, 약제는 백신이다. 본 발명에 있어서 사용된 바와 같이, 용어 "백신"은 전형적으로 특정 질병, 바람직하게는 암에 대한 선천 및/또는 적응 면역력을 제공하는 생물학적 제제를 지칭한다. 따라서, 백신은 특히 치료받을 개체의 면역계의 선천 및/또는 적응 면역 반응을 지원한다. 예를 들어, 본원에 기재된 미생물 서열 변이체는 전형적으로 치료받을 환자의 적응 면역 반응을 야기하거나 지원한다. 백신은 선천 면역 반응을 야기하거나 지원할 수 있는 보조제를 추가로 포함할 수 있다.

[0132] 바람직하게는, 약제의 제조, 즉, 본 발명에 따른 약제의 제조 방법의 단계 (b)는 나노 입자에 미생물 서열 변이체, 또는 미생물 서열 변이체를 포함하는 폴리웨티드/단백질(또는 미생물 서열 변이체를 포함하는 핵산 분자)를 적재함을 포함하되, 상기 미생물 서열 변이체는 바람직하게는 상기에 기재된 웨티드이다. 특히, 나노 입자는 미생물 서열 변이체(미생물 서열 변이체를 포함하는 폴리웨티드/단백질/핵산)의 전달을 위해 사용되며, 임의적으로 또한 보조제로서 작용할 수 있다. 미생물 서열 변이체(미생물 서열 변이체를 포함하는 폴리웨티드/단백질/핵산)는 전형적으로 나노 입자 내에 캡슐화되거나 나노 입자의 표면("코팅")에 결합된다(장식된다). 특히 백신으로서 사용하기 위한 나노 입자는 당분야에 공지되어 있고, 예를 들어 문헌[Shao K, Singha S, Clemente-Casares X, Tsai S, Yang Y, Santamaria P (2015): Nanoparticle-based immunotherapy for cancer, ACS Nano 9(1):16-30]; [Zhao L, Seth A, Wibowo N, Zhao CX, Mitter N, Yu C, Middelberg AP (2014): Nanoparticle

vaccines, Vaccine 32(3):327-37]; 및 [Gregory AE, Titball R, Williamson D (2013) Vaccine delivery using nanoparticles, Front Cell Infect Microbiol. 3:13, doi: 10.3389/fcimb.2013.00013. eCollection 2013, Review]에 기재된 바와 같다. 종래의 접근법과 비교하여, 나노 입자는 페이로드(payload)(항원/보조제)를 주위 생물학적 환경으로부터 보호하거나 이의 반감기를 증가시키거나 이의 전신 독성을 최소화하거나 APC로의 이의 전달을 촉진하거나 심지어 TAA-특이적 T 세포의 활성화를 직접 촉발시킬 수 있다. 바람직하게는, 나노 입자는 300 nm 이하, 보다 바람직하게는 200 nm 이하, 가장 바람직하게는 100 nm 이하의 크기(직경)를 갖는다. 이러한 나노 입자는 순환에서의 높은 구조적 완전성 및 긴 순환 시간에 의해 적절하게 포식 세포 흡수로부터 보호되고 종양 성장의 부위에서 축적될 수 있고 종양 덩어리 내로 깊게 침투할 수 있다.

[0133] 나노 입자의 예는 중합체성 나노 입자, 예컨대 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG) 및 폴리(D,L-락트산코-글리콜산)(PLGA); 무기 나노 입자, 예컨대 금 나노 입자, 산화 철 비드, 산화 철 산화 아연 나노 입자, 탄소 나노 튜브 및 메조 다공성 실리카 나노 입자; 리포좀, 예컨대 양이온성 리포좀; 면역 자극 복합체(ISCOM); 바이러스 유사 입자(VLP); 및 자기-조립된 단백질을 포함한다.

[0134] 중합체성 나노 입자는 중합체, 예컨대 폴리(d,L-락티드-코-글리콜리드)(PLG), 폴리(d,L-락트산-코-글리콜산)(PLGA), 폴리(g-글루탐산)(g-PGA), 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG) 및 폴리스티렌을 기반으로 하는/포함하는 나노 입자이다. 중합체성 나노 입자는 항원(예를 들어 미생물 서열 변이체 또는 이를 포함하는 (폴리)펩티드)을 포착할 수 있거나 항원(예를 들어 미생물 서열 변이체 또는 이를 포함하는 (폴리)펩티드)에 결합/접합될 수 있다. 중합체성 나노 입자는 예를 들어 특정 세포로의 전달을 위해 사용될 수 있거나 이의 느린 생분해 속도로 인해 항원 방출을 지속시킬 수 있다. 예를 들어, g-PGA 나노 입자는 소수성 항원을 캡슐화시키는 데 사용될 수 있다. 폴리스티렌 나노 입자는 다양한 작용기에 의해 표면-변형될 수 있기 때문에 다양한 항원에 접합될 수 있다. 중합체, 예컨대 폴리(L-락트산)(PLA), PLGA, PEG, 및 천연 중합체, 예컨대 폴리사카라이드가 또한 일종의 나노 크기의 친수성 3-차원 중합체 네트워크인 하이드로겔 나노 입자를 합성하는 데 사용될 수 있다. 나노 겔은, 유연한 메쉬 크기, 다가 접합을 위한 큰 표면적, 높은 함수량, 및 항원에 대한 높은 적재 용량을 포함하는 유리한 특성을 갖는다. 따라서, 바람직한 나노 입자는 나노 겔, 예컨대 키토산 나노 겔이다. 바람직한 중합체성 나노 입자는 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG) 및 폴리(D,L-락트산-코-글리콜산)(PLGA)을 기반으로 하는/포함하는 나노 입자이다.

[0135] 무기 나노 입자는 무기 물질을 기반으로 하는/포함하는 나노 입자이며, 이러한 나노 입자의 예는 금 나노 입자, 산화 철 비드, 산화 철 산화 아연 나노 입자, 탄소 나노 입자(예를 들어 탄소 나노 튜브) 및 메조 다공성 실리카 나노 입자를 포함한다. 무기 나노 입자는 강성 구조 및 제어가능한 합성을 제공한다. 예를 들어, 금 나노 입자는 용이하게 상이한 모양, 예컨대 구, 막대, 큐브로 제조될 수 있다. 무기 나노 입자는 예를 들어 탄수화물에 의해 표면-변형될 수 있다. 탄소 나노 입자는 양호한 생체 적합성을 제공하고, 예를 들어 나노 튜브 또는 (메조 다공성) 구로서 제조될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체(또는 이를 포함하는 (폴리)펩티드)의 다수의 카페는 탄소 나노 입자, 예를 들어 탄소 나노 튜브에 접합될 수 있다. 메조 다공성 탄소 나노 입자는 경구 투여를 위해 바람직하다. 실리카-기반 나노 입자(SiNP)가 또한 바람직하다. SiNP는 생체 적합하고, 선택적 종양 표적화 및 백신 전달에 있어서 훌륭한 특성을 나타낸다. SiNP의 표면 상의 풍부한 실란 올기는, 추가적 기능, 예컨대 세포 인식, 특정 생체 분자의 흡수, 세포와의 상호작용의 개선, 및 세포 섭취의 증진을 도입하는 추가적 변형을 위해 사용될 수 있다. 메조 다공성 실리카 나노 입자가 특히 바람직하다.

[0136] 리포좀은 전형적으로 인지질, 예컨대 1,2-다이올레오일-3-트라이메틸암모늄 프로판(DOTAP)에 의해 형성된다. 일반적으로, 양이온성 리포좀이 바람직하다. 리포좀은 인지질 이중층 켈 및 수성 코어에 의해 자기-조립된다. 리포좀은 단일층상 소포체(단일 인지질 이중층을 가짐) 또는 다중층상 소포체(물의 층으로 분리된 여러 동심원 인지질 켈을 가짐)로서 생성될 수 있다. 따라서, 항원은 코어 내에 또는 상이한 층/셀 사이에 캡슐화될 수 있다. 바람직한 리포좀 시스템은 인간 사용을 위해 승인된 것, 예컨대 인플렉살(Inflexal, 등록상표) V 및 에파살(Epaxal, 등록상표)이다.

[0137] 면역 자극 복합체(ISCOM)는 약 40 nm(직경)의 케이지(cage) 유사 입자이며, 이는 사포닌 보조제 Quil A, 콜레스테롤, 인지질 및 (폴리)펩티드 항원(예컨대 미생물 서열 변이체 또는 이를 포함하는 폴리펩티드)로 이루어진 콜로이드성 사포닌 함유 미셀이다. 이들 구형 입자는 비극성 상호작용에 의해 항원을 포착할 수 있다. 2개의 유형의 ISCOM은 콜레스테롤, 인지질(전형적으로 포스파티딜에탄올아민 또는 포스-파티딜콜린) 및 사포닌(예컨대 Quil A)으로 구성된 것으로 기재되어 있다.

[0138] 바이러스 유사 입자(VLP)는 생체 적합한 캡시드 단백질의 자기-조립체에 의해 형성된 자기-조립성 나노 입자이

다. 자연적으로 최적화된 나노 입자 크기 및 반복적은 구조 순서 때문에, VLP는 강한 면역 반응을 유발할 수 있다. VLP는 20 내지 800 nm 범위, 전형적으로 20 내지 150 nm 범위의 크기의 다양한 바이러스로부터 유래될 수 있다. VLP는, 추가적 웨티드 또는 단백질을 발현하도록, 이들 웨티드/단백질을 입자에 융합시키거나 다수의 항원을 발현함으로써, 조작될 수 있다. 또한, 항원은 바이러스 표면에 화학적으로 커플링되어 생체 접합체 VLP를 생성할 수 있다.

[0139] 자기-조립된 단백질의 예는 페리틴(ferritin) 및 주요 볼트 단백질(major vault protein; MVP)을 포함한다. 페리틴은 거의 구형인 10 nm 구조 내로 자기-조립될 수 있는 단밸이다. MVP의 96개의 단위는 배럴-모양의 볼트 나노 입자 내로 자기-조립될 수 있으며, 크기는 약 40 nm의 너비 및 70 nm의 길이를 갖는다. 최소 상호작용 도메인과 유전적으로 융합하는 항원은 MVP와 혼합시 자기-조립 공정에 의해 볼트 나노 입자 내부에 패키징될 수 있다. 따라서, 항원(예컨대 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체를 포함하는 폴리웨티드의 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체)은 자기-조립성 단백질 또는 이의 단편/도메인, 예컨대 MVP의 최소 상호작용 도메인에 융합될 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 자기-조립성 단백질(또는 이의 단편/도메인) 및 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체를 포함하는 융합 단백질을 제공한다.

[0140] 일반적으로, 나노 입자(NP)의 바람직한 예는 산화 철 비드, 폴리스티렌 미소 구체, 폴리(γ -글루탐산)(γ -PGA) NP, 산화 철-산화 아연 NP, 양이온화된 젤라틴 NP, 플루로닉-안정화된 폴리(프로필렌 살파이드)(PPS) NP, PLGA NP, (양이온성) 리포좀, (pH-반응성) 중합체성 미셀, PLGA, 암 세포 막 코팅된 PLGA, 지질-칼슘-포스페이트(LCP) NP, 리포좀-프로타민-히알루론산(LPH) NP, 폴리스티렌 라텍스 비드, 자성 비드, 철-텍스트란 입자 및 양자점 나노 결정을 포함한다.

[0141] 바람직하게는, 단계 (b)는, 나노 입자에 보조제, 예를 들어 toll-유사 수용체(TLR) 작용제를 적재함을 추가로 포함한다. 이로써, 미생물 서열 변이체(미생물 서열 변이체를 포함하는 폴리웨티드/단백질/핵산)는 보조제와 함께 예를 들어 항원-제시 세포(APC), 예컨대 수지상 세포(DC)로 전달될 수 있다. 보조제는 나노 입자에 의해 캡슐화될 수 있거나 나노 입자의 표면에, 바람직하게는 유사하게 미생물 서열 변이체에 결합/접합될 수 있다.

[0142] 또한, 약제의 제조, 즉, 본 발명에 따른 약제의 제조 방법의 단계 (b)가, 박테리아 세포에 미생물 서열 변이체를 적재함을 포함하는 것이 바람직하다. 예를 들어, 박테리아 세포는 미생물 서열 변이체를 암호화하는 핵산 분자를 포함하고/하거나 (웨티드로서 또는 폴리웨티드/단백질에 포함된) 미생물 서열 변이체를 발현할 수 있다. 이를 위해, 단계 (b)는 바람직하게는 박테리아 세포를 (본원에 있어서 바람직하게는 핵산인) 미생물 서열 변이체(를 포함하는/암호화하는 핵산 분자)에 의해 변형하는 단계를 포함한다. 이러한 박테리아 세포는 "살아있는 박테리아 백신 벡터"로서 제공될 수 있고, 상기 살아있는 박테리아 세포(예컨대 박테리아 또는 박테리아 포자, 예를 들어 내생 포자, 외생 포자 또는 미생물 낭포)는 백신으로서 제공될 수 있다. 이의 바람직한 예는 문헌 [da Silva et al., J Microbiol. 2015 Mar 4;45(4):1117-29]에 기재되어 있다.

[0143] 박테리아 세포(예컨대 박테리아 또는 박테리아 포자, 예를 들어 내생 포자, 외생 포자 또는 미생물 낭포), 특히 (전체) 소화관 박테리아 종이 유리할 수 있는데, 이는 이들이 함유하는 (폴리)웨티드 또는 핵산보다 큰 면역 반응을 촉발하는 잠재력을 갖기 때문이다. 바람직하게는, 박테리아 세포는 소화관 박테리아 세포, 즉 소화관에 사는 (박테리아의) 박테리아 세포이다.

[0144] 대안적으로, 본 발명에 따른 박테리아 세포, 특히 소화관 박테리아는, 즉, 살아있는 소화관 박테리아의 프로바이오틱스(probiotics)의 형태로 존재할 수 있고, 따라서 이는 이것이 제공할 수 있는 건강상 이점 때문에 식품 보조제로서 사용될 수 있다. 이는 예를 들어 과립, 환약 또는 캡슐 내에 동결건조될 수 있거나 소비를 위한 유제품과 함께 직접 혼합될 수 있다.

[0145] 바람직하게는, 약제의 제조, 즉, 본 발명에 따른 약제의 제조 방법의 단계 (b)는 약학 조성물의 제조를 포함한다. 이러한 약학 조성물은 바람직하게는 하기를 포함한다:

[0146] (i) 미생물 서열 변이체,

[0147] (ii) 미생물 서열 변이체를 포함하는 (재조합) 단백질,

[0148] (iii) 미생물 서열 변이체를 포함하는 (면역원성) 화합물,

[0149] (iv) 미생물 서열 변이체가 적재된 나노 입자,

[0150] (v) 미생물 서열 변이체가 적재된 항원-제시 세포,

- [0151] (vi) 미생물 서열 변이체를 발현하는 숙주 세포, 예컨대 박테리아 세포, 또는
- [0152] (vii) 미생물 서열 변이체를 암호화하는 핵산 분자; 및
- [0153] 임의적으로, 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 보조제.
- [0154] 본 발명에 따른 약제, 특히 약학 조성물 및 백신의 제조에 있어서 유용한 제형화 공정 기술은 문헌["Part 5 of Remington's "The Science and Practice of Pharmacy", 22nd Edition, 2012, University of the Sciences in Philadelphia, Lippincott Williams& Wilkins"]에 제공된다.
- [0155] 본원에 사용된 재조합 단백질은 자연적으로 발생하지 않는 단백질, 예를 들어 미생물 서열 변이체 및 추가적 성분을 포함하는 융합 단백질이다.
- [0156] 용어 "면역원성 화합물"은 본원에 정의된 미생물 서열 변이체를 포함하는 화합물을 지칭하며, 이는 또한 이를 투여받은 개체에서 미생물 서열 변이체에 대한 면역학적 반응을 유발하거나 유지하거나 지원할 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역원성 화합물은 하나 이상의 미생물 서열 변이체, 또는 대안적으로 단백질, 예컨대 담체 단백질, 또는 보조제에 결합된 상기 미생물 서열 변이체를 포함하는 하나 이상의 화합물을 포함한다. 담체 단백질은 일반적으로 카고, 예컨대 미생물 서열 변이체를 수송할 수 있는 단백질이다. 예를 들어, 담체 단백질은 이의 카고를 막을 가로질러 수송할 수 있다.
- [0157] 추가적 성분으로서, 약학 조성물은 특히 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 비히클을 포함할 수 있다. 본 발명에 있어서, 약학적으로 허용되는 담체는 전형적으로 액체 또는 비-액체 기반의 본 발명의 약학 조성물을 포함한다. 본 발명의 약학 조성물이 액체 형태로 제공되는 경우, 담체는 전형적으로 무-발열원 물; 등장성 염수 또는 완충된 (수성) 용액, 예를 들어 포스페이트, 시트레이트 등의 완충된 용액일 것이다. 특히 본 발명의 약학 조성물의 주사를 위해, 나트륨 염, 바람직하게는 30 mM 이상의 나트륨 염, 칼슘 염, 바람직하게는 0.05 mM 이상의 칼슘 염, 및 임의적으로 칼륨 염, 바람직하게는 1 mM 이상의 칼륨 염을 함유하는, 물 또는 바람직하게는 완충액, 보다 바람직하게는 수성 완충액이 사용될 수 있다. 바람직한 실시양태에 따라, 나트륨 염, 칼슘 염, 및 임의적으로, 칼륨 염이 이들의 할로제나이드, 예를 들어 클로라이드, 요오다이드 또는 브로마이드의 형태, 또는 이들의 하이드록사이드, 카보네이트, 수소 카보네이트 또는 셀페이트 등의 형태로 발생할 수 있다. 비제한적으로, 나트륨 염의 예는 예를 들어 NaCl, NaI, NaBr, Na₂CO₃, NaHCO₃, Na₂SO₄를 포함하고, 임의적 칼륨 염의 예는 예를 들어 KCl, KI, KBr, K₂CO₃, KHCO₃, K₂SO₄를 포함하고, 칼슘 염의 예는 예를 들어 CaCl₂, CaI₂, CaBr₂, CaCO₃, CaSO₄, Ca(OH)₂를 포함한다. 추가적으로, 전술된 양이온의 유기 음이온이 완충액에 함유될 수 있다. 보다 바람직한 실시양태에 따라, 상기에 정의된 바와 같이 주사 목적에 적합한 완충액은 나트륨 클로라이드(NaCl), 칼슘 클로라이드(CaCl₂) 및 임의적으로 칼륨 클로라이드(KCl)로부터 선택된 염을 함유할 수 있되, 여기서 추가적 음이온이 클로라이드 외에 존재할 수 있다. 또한, CaCl₂는 또 다른 염, 예컨대 KCl로 대체될 수 있다. 전형적으로, 주사 완충액의 염은 30 mM 이상의 나트륨 클로라이드(NaCl), 1 mM 이상의 칼륨 클로라이드(KCl) 및 0.05 mM 이상의 칼슘 클로라이드(CaCl₂)의 농도로 존재한다. 주사 완충액은 특정 기준 매질에 관하여 고장성, 등장성 또는 저장성일 수 있다, 즉, 완충액은 특정 기준 매질에 관하여 높거나 같거나 낮은 염 함량을 가질 수 있고, 여기서 바람직하게는 삼투 또는 다른 농도 효과에 기인한 세포의 손상을 야기하지 않는 전술된 염의 농도가 사용될 수 있다. 기준 매질은 예를 들어 "생체내" 방법에서 발생하는 액체, 예컨대 혈액, 럼프액, 세포액 또는 다른 체액, 또는 예를 들어 "시험관내" 방법에서 기준 매질로서 사용될 수 있는 액체, 예컨대 통상적 완충액 또는 액체이다. 상기 통상적 완충액 또는 액체는 숙련가에게 공지되어 있다. 염수(0.9% NaCl) 및 링거-락테이트 용액이 액체 기재로서 특히 바람직하다.
- [0158] 또한, 하나 이상의 양립성 고체 또는 액체 충전제 또는 희석제 또는 캡슐화 화합물이 본 발명의 약학 조성물에 또한 사용될 수 있고, 이는 치료받을 개체에게 투여하기에 적합하다. 본원에 사용된 용어 "양립성"은 본 발명의 약학 조성물의 구성성분이, 전형적인 사용 조건 하에 본 발명의 약학 조성물의 약학적 효과를 실질적으로 감소시키는 상호작용이 발생하지 않도록, 본원에 정의된 미생물 서열 변이체와 혼합될 수 있음을 의미한다. 약학적으로 허용되는 담체, 충전제 및 희석제는 당연히 충분히 높은 순도 및 충분히 낮은 독성을 가져 이를 치료받을 개체에게 투여하기 위해 적합하도록 만들어야 한다. 약학적으로 허용되는 담체, 충전제 또는 이들의 구성성분으로서 사용될 수 있는 화합물의 몇몇 예는 당, 예컨대 락토스, 글루코스 및 수크로스; 전분, 예컨대 옥수수 전분 또는 감자 전분; 셀룰로스 및 이의 유도체, 예컨대 나트륨 카복시메틸셀룰로스, 에틸셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트; 분말화된 트라라칸트; 말트; 젤라틴; 탈로우; 고체 활택제, 예컨대 스테아르산, 스테아르산 마그네

슘; 칼슘 설페이트; 식물성 오일, 예컨대 땅콩 오일, 면실 오일, 참깨 오일, 올리브 오일, 옥수수 오일 및 테오브로마 오일; 폴리올, 예컨대 폴리프로필렌 글리콜, 글리세롤, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜; 알긴산이다.

[0159] 바람직하게는, 본원에 기재된 미생물 서열 변이체 또는 미생물 서열 변이체를 포함하는 폴리펩티드는, 예를 들어 공유 또는 비-공유 결합에 의해 면역-보조체 특성을 갖는, 예컨대 CD4+ Th1 세포의 자극을 제공하는 단백질/펩티드에 결합에 공동-투여되거나 결합될 수 있다. 본원에 기재된 미생물 서열 변이체는 바람직하게는 MHC 클래스 I에 결합하지만, CD4+ 헬퍼 에피토프가 효율적인 면역 반응을 제공하는 데 추가적으로 사용될 수 있다. Th1 헬퍼 세포는, 인터페론-감마(IFN- γ), 종양 과사 인자-알파(TNF- α) 및 인터류킨-2(IL-2)를 분비시키고 DC 및 T 세포 상의 공자극 신호의 발현을 증진시킴으로써 효율적인 수지상 세포(DC) 활성화 및 특이적 CTL 활성화를 지속시킬 수 있다(문헌[Galaine et al., Interest of Tumor-Specific CD4 T Helper 1 Cells for Therapeutic Anticancer Vaccine. Vaccines (Basel). 2015 Jun 30;3(3):490-502]).

[0160] 예를 들어, 보조체 펩티드/단백질은 바람직하게는 면역 기억을 상기시키거나 비-특이적 도움을 제공하는 비-종양 항원일 수 있거나, 특정 종양-유래된 헬퍼 펩티드일 수 있다. 여러 헬퍼 펩티드는 비특이적 T 세포 도움을 제공하기 위한 것으로 기재되어 있고 예컨대 파상풍 헬퍼 펩티드, 키홀 림펫(keyhole limpet) 혈색소 펩티드 또는 PADRE 펩티드이다(문헌[Adotevi et al., Targeting antitumor CD4 helper T cells with universal tumor-reactive helper peptides derived from telomerase for cancer vaccine. Hum Vaccin Immunother. 2013 May;9(5):1073-7]; [Slingluff.The present and future of peptide vaccines for cancer: single or multiple, long or short, alone or in combination? Cancer J. 2011 Sep-Oct;17(5):343-50]. 따라서, 파상풍 헬퍼 펩티드, 키홀 림펫 혈색소 펩티드 및 PADRE 펩티드는 상기 보조체 펩티드/단백질의 바람직한 예이다. 또한, 특정 종양-유래된 헬퍼 펩티드가 바람직하다. 특정 종양-유래된 헬퍼 펩티드는 전형적으로 MHC 클래스 II, 특히 HLA-DR, HLA-DP 또는 HLA-DQ에 의해 제시된다. 특정 종양-유래된 헬퍼 펩티드는 공유된 과발현된 종양 항원, 예컨대 HER2, NY-ESO-1, hTERT 또는 IL13RA2의 서열의 단편일 수 있다. 이러한 단편은 바람직하게는 10개 이상의 아미노산, 보다 바람직하게는 11개 이상의 아미노산, 보다 더 바람직하게는 12개 이상의 아미노산, 가장 바람직하게는 13개 이상의 아미노산의 길이를 갖는다. 특히, 13 내지 24개의 아미노산의 길이를 갖는, 공유된 과발현된 종양 항원, 예컨대 HER2, NY-ESO-1, hTERT 또는 IL13RA2의 단편이 바람직하다. 바람직한 단편은 MHC 클래스 II에 결합하고, 따라서 예를 들어 IEDB(Immune epitope database and analysis resource; Supported by a contract from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, a component of the National Institutes of Health in the Department of Health and Human Services ; URL: <http://www.iedb.org/>; <http://tools.iedb.org/mhcii/>)의 MHC 클래스 II 결합 예측 툴을 사용하여 식별될 수 있다.

[0161] 바람직한 헬퍼 펩티드의 추가적 예는 UCP2 펩티드(예를 들어 WO 2013/135553 A1 또는 문헌[Dosset M, Godet Y, Vauchy C, Beziaud L, Lone YC, Sedlik C, Liard C, Levionnois E, Clerc B, Sandoval F, Daguindau E, Wain-Hobson S, Tartour E, Langlade-Demoyen P, Borg C, Adotevi O: Universal cancer peptide-based therapeutic vaccine breaks tolerance against telomerase and eradicates established tumor. Clin Cancer Res. 2012 Nov 15;18(22):6284-95. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0896. Epub 2012 Oct 2]에 기재되어 있음) 및 BIRC5 펩티드(예를 들어 EP2119726 A1 또는 문헌[Widenmeyer M, Griesemann H, Stevanović S, Feyerabend S, Klein R, Attig S, Hennenlotter J, Wernet D, Kuprash DV, Sazykin AY, Pascolo S, Stenzl A, Gouttefangeas C, Rammensee HG: Promiscuous survivin peptide induces robust CD4+ T-cell responses in the majority of vaccinated cancer patients. Int J Cancer. 2012 Jul 1;131(1):140-9. doi: 10.1002/ijc.26365. Epub 2011 Sep 14]에 기재되어 있음)를 포함한다. 가장 바람직한 헬퍼 펩티드는 UCP2 펩티드(아미노산 서열: KSVWSKLQSIGIRQH; 서열번호 159, 예를 들어 WO 2013/135553 A1 또는 문헌[Dosset M, Godet Y, Vauchy C, Beziaud L, Lone YC, Sedlik C, Liard C, Levionnois E, Clerc B, Sandoval F, Daguindau E, Wain-Hobson S, Tartour E, Langlade-Demoyen P, Borg C, Adotevi O: Universal cancer peptide-based therapeutic vaccine breaks tolerance against telomerase and eradicates established tumor. Clin Cancer Res. 2012 Nov 15;18(22):6284-95. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0896. Epub 2012 Oct 2]에 기재된 바와 같음)이다.

[0162] 따라서, 약학 조성물, 특히 백신은, 이의 면역원성을 추가로 증가시키기 위해 하나 이상의 보조 물질, 바람직하게는 상기에 기재된 보조체를 추가적으로 함유할 수 있다. 상기에 정의된 미생물 서열 변이체 및 보조 물질(임의적으로, 본원에 기재된 본 발명의 백신에 함유될 수 있음)의 상승작용은 바람직하게는 이로써 달성된다. 다

양한 유형의 보조 물질에 따라, 다양한 메커니즘이 이와 관련하여 고려될 수 있다. 예를 들어, 수지상 세포(DC)의 성숙을 허용하는 화합물, 예를 들어 리포폴리사카라이드, TNF-알파 또는 CD40 리간드는 적합한 보조 물질의 제1 클래스를 형성한다. 일반적으로, 보조 물질로서, "위험 신호" 방식으로 면역계에 영향을 주는 임의의 제제(LPS, GP96 등), 또는 본 발명에 따른 면역 자극 보조제에 의해 생성된 면역 반응이 표적화된 방법으로 증진되고/되거나 영향을 받도록하는 시토카인, 예컨대 GM-CSF를 사용하는 것이 가능하다. 특히 바람직한 보조 물질은 시토카인, 예컨대 모노카인, 림포카인, 인터류킨 또는 케모카인(이는 추가로 선천 면역 반응을 촉진함), 예컨대 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IFN-알파, IFN-베타, IFN-감마, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, LT-베타 또는 TNF-알파, 성장 인자, 예컨대 hGH이다.

[0163] 가장 바람직하게는, 보조제는 몬타니드(Montanide), 예컨대 몬타니드 ISA 51 VG 및/또는 몬타니드 ISA 720 VG이다. 이들 보조제는 수계 항원 배지와 혼합될 때 안정한 유중수 유화액을 제공한다. 몬타니드 ISA 51 VG는 만니드 모노올레이트(mannide monooleate) 계면활성제 및 미네랄 오일의 블렌드를 기반으로 하는 반면에, 몬타니드 ISA 720 VG는 비-미네랄 오일을 사용한다(문헌[Aucouturier J, Dupuis L, Deville S, Ascarateil S, Ganne V. Montanide ISA 720 and 51: a new generation of water in oil emulsions as adjuvants for human vaccines. Expert Rev Vaccines. 2002 Jun;1(1):111-8]; [Ascarateil S, Puget A, Koziol M-E. Safety data of Montanide ISA 51 VG and Montanide ISA 720 VG, two adjuvants dedicated to human therapeutic vaccines. Journal for Immunotherapy of Cancer. 2015;3(Suppl 2):P428. doi:10.1186/2051-1426-3-S2-P428]).

[0164] 본 발명의 백신에 포함될 수 있는 추가적 첨가제는 유화제, 예컨대 트윈(Tween, 등록상표); 습윤제, 예컨대 나트륨 라우릴 설페이트; 착색제; 맛-전달제, 약학 담체; 정제-형성제; 안정화제; 산화방지제; 방부제이다.

[0165] 본 발명의 조성물, 특히 본 발명의 백신은 또한, 인간 Toll-유사 수용체 TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 또는 TLR10에 대한 결합 친화도(리간드로서) 때문에 또는 뮤린 Toll-like 수용체 TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 또는 TLR13에 대한 결합 친화도(리간드로서) 때문에 면역 자극성인 것으로 공지된 임의의 추가적 화합물을 추가로 함유할 수 있다.

[0166] 본 발명의 조성물, 특히 본 발명의 백신에 첨가될 수 있는 화합물의 또 다른 클래스는, 본원에 있어서, CpG 핵산, 특히 CpG-RNA 또는 CpG-DNA일 수 있다. CpG-RNA 또는 CpG-DNA는 단일가닥 CpG-DNA(ss CpG-DNA), 이중가닥 CpG-DNA(dsDNA), 단일가닥 CpG-RNA(ss CpG-RNA) 또는 이중가닥 CpG-RNA(ds CpG-RNA)일 수 있다. CpG 핵산은 바람직하게는 CpG-RNA의 형태, 보다 바람직하게는 단일가닥 CpG-RNA(ss CpG-RNA)의 형태이다. CpG 핵산은 바람직하게는 적어도 하나 이상의 (미토겐) 시토신/구아닌 다이뉴클레오티드 서열(CpG 모티프)을 함유한다. 제1 바람직한 대안에 따라, 이들 서열에 함유된 하나 이상의 CpG 모티프, 특히 CpG 모티프의 C(시토신) 및 G(구아닌)는 메틸화되지 않는다. 이들 서열에 임의적으로 함유되는 모든 추가적 시토신 또는 구아닌은 메틸화되거나 메틸화되지 않는다. 그러나, 추가적 바람직한 대안에서, CpG 모티프의 C(시토신) 및 G(구아닌)는 또한 메틸화된 형태로 존재할 수 있다.

[0167] 특히 바람직한 보조제는 폴리이노신산:폴리시티딜산("폴리 I:C"로도 지칭됨) 및/또는 이의 유도체 폴리-ICLC이다. 폴리 I:C는 미스매치된 이중가닥 RNA로서, 하나의 가닥이 이노신산의 종합체이고, 나머지 가닥이 시티딜산의 종합체이다. 폴리 I:C는 toll-유사 수용체 3(TLR3)과 상호작용하는 것으로 공지된 면역 자극제이다. 폴리 I:C는 TLR3의 "천연" 자극제인 이중가닥 RNA와 구조적으로 유사하다. 따라서, 폴리 I:C는 이중가닥 RNA의 합성 유사체로서 간주된다. 폴리-ICLC는 카복시메틸셀룰로스, 폴리이노신산-폴리시티딜산, 및 폴리-L-리신 이중가닥 RNA의 합성 복합체이다. 폴리 I:C와 유사하게, 폴리-ICLC가 또한 TLR3에 대한 리간드이다. 폴리 I:C 및 폴리-ICLC는 전형적으로 세포 독성 시토카인의 방출을 자극한다. 폴리-ICLC의 바람직한 예는 힐토놀(Hiltonol, 등록상표)이다.

미생물 서열 변이체 및 이를 포함하는 약제

[0168] 추가적 양태에서, 본 발명은 또한 바람직하게는 상기에 기재된 미생물 서열 변이체의 식별 방법에 의해 수득되는 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체를 제공한다.

[0169] 따라서, 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체의 특징, 정의 및 바람직한 실시양태는 미생물 서열 변이체의 식별 방법에 의해 수득되는 미생물 서열 변이체에 대해 상기에 기재된 것에 상응한다. 예를 들어, 미생물 서열 변이체

체는 50개 이하의 아미노산, 보다 바람직하게는 40개 이하의 아미노산, 보다 더 바람직하게는 30개 이하의 아미노산, 가장 바람직하게는 25개 이하의 아미노산의 길이를 갖는 것이 바람직하다. 따라서, 미생물 서열 변이체는 바람직하게는 5 내지 50개의 아미노산, 보다 바람직하게는 6 내지 40개의 아미노산, 보다 더 바람직하게는 7 내지 30개의 아미노산, 가장 바람직하게는 8 내지 25개의 아미노산, 예를 들어 8 내지 24개의 아미노산의 길이를 갖는다. 예를 들어, 미생물 서열 변이체는 바람직하게는 상기에 기재된 바와 같이 8 내지 12개의 아미노산, 보다 바람직하게는 8 내지 10개의 아미노산, 예컨대 9 또는 10개의 아미노산의 길이를 갖는 (박테리아) 웨티드이다. 또한, 미생물 서열 변이체는 바람직하게는 70% 이상, 보다 바람직하게는 75% 이상, 보다 바람직하게는 80% 이상, 보다 더 바람직하게는 85% 이상, 보다 더 바람직하게는 90% 이상, 특히 바람직하게는 95% 이상, 가장 바람직하게는 99% 이상의 서열 동일성을 상기에 기재된 바와 같이 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 공유한다. 특히 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산, 보다 바람직하게는 1 또는 2개의 아미노산에서만 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 상이하다. 달리 말하면, 미생물 서열 변이체가, 종양-관련된 항원 에피토프 서열과 비교하여, 3개 이하의 아미노산 변경(즉, 1, 2 또는 3개의 아미노산 변경), 보다 바람직하게는 2개 이하의 아미노산 변경(즉, 1 또는 2개의 아미노산 변경)을 포함하는 것이 특히 바람직하다. 또한, 상기에 기재된 바와 같이, 미생물 서열 변이체의 코어 서열은 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 코어 서열과 동일하되, 상기 코어 서열은 N-말단에 가까운 3개의 아미노산 및 C-말단에 가까운 3개의 아미노산을 제외한 모든 아미노산으로 이루어지는 것이 바람직하다. 또한, 상기에 기재된 바와 같이 미생물 서열 변이체의 식별 방법에 의해 수득된 미생물 서열 변이체에 대해 나타낸 바람직한 실시양태는 그에 맞춰 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체에 적용된다.

[0171] 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체의 특정 예는 서열번호 6 내지 18 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 (폴리)웨티드, 및 상기 (폴리)웨티드를 암호화하는 핵산 분자를 포함한다. 이들 예는 IL13RA2의 에피토프의 미생물 서열 변이체에 관한 것이다. 인터류킨-13 수용체 서브유닛 알파-2(IL-13R α 2 또는 IL13RA2)는, 인간에서 IL13RA2 유전자에 의해 암호화되는 막 결합된 단백질이다. 철저한 방식으로, IL13RA2는 잠재적 면역 요법 표적으로서 보고되었다(문헌[Beard et al.; Clin Cancer Res; 72(11); 2012] 참조). IL13RA2의 높은 발현은 추가로 대장암의 침윤, 간 전이 및 불량한 예후와 연관된다(문헌[Barderas et al.; Cancer Res; 72(11); 2012]). 바람직하게는, 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체는 서열번호 6 또는 18에 따른 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나, 서열번호 6 또는 18에 따른 아미노산 서열을 암호화한다. 보다 바람직하게는, 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체는 서열번호 18에 따른 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나, 서열번호 18에 따른 아미노산 서열을 암호화한다.

[0172] IL13RA2의 에피토프의 미생물 서열 변이체의 추가로 바람직한 예는 서열번호 132 내지 141 및 158 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 (폴리)웨티드, 및 상기 (폴리)웨티드를 암호화하는 핵산 분자를 포함한다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체 서열번호 139에 따른 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나, 서열번호 139에 따른 아미노산 서열을 암호화한다.

[0173] 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체의 다른 바람직한 예는 서열번호 66 내지 84 및 126 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 (폴리)웨티드, 및 상기 (폴리)웨티드를 암호화하는 핵산 분자를 포함한다. 이들 예는 FOXM1(포크헤드 박스(forkhead box) M1)의 에피토프의 미생물 서열 변이체에 관한 것이다. FOXM1은 세포 독성 T 림프구 에피토프로서 식별된 에피토프를 포함하고 다양한 종양 및 암(췌장 종양, 난소암 및 대장암)에서 과발현된다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체는 서열번호 75에 따른 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나, 서열번호 75에 따른 아미노산 서열을 암호화한다.

[0174] 또한, 미생물 서열 변이체는 서열번호 33(IISAVVGIA), 34(ISAVVGIV) 또는 35(LFYSLADLI) 중 어느 하나에 제공된 아미노산 서열로 이루어지지 않거나 이를 포함하지 않는 것이 바람직하다. 보다 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 서열번호 33 내지 35, 36(ISAVVGIAV), 37(SAVVGIAVT), 38(YIISAVVGI), 39(AYIISAVVG), 40(LAYIISAVV), 41(ISAVVGIAA), 42(SAVVGIAAG), 43(RIIISAVVGI), 44(QRIISAVVG), 45(AQRIISAVV), 46(SAVVGIVV), 47(AISAVVGI), 48(GAISAVVG), 49(AGAISAVV) 또는 50(LLFYSALDL) 중 어느 하나에 제공된 아미노산 서열로 이루어지지 않거나 이를 포함하지 않는다. 보다 더 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는 서열번호 51(ISAVVG) 및/또는 서열번호 52(SLADLI)에 제시된 아미노산 서열을 포함하지 않는다. 가장 바람직하게는, 미생물 서열 변이체는, 서열번호 53(IISAVVGIL; Her2/neu의 에피토프) 또는 서열번호 54(LLYKLADLI; ALDH1A1의 에피토프)에 제시된 아미노산 서열을 갖는 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 서열 변이체(본원에 정의된 바와 같음)가 아니다.

[0175] 추가적 양태에서, 본 발명은 또한 상기에 기재된 바와 같은 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체를 포함하는 약

제를 제공하며, 이는 바람직하게는 상기에 기재된 바와 같은 본 발명에 따른 약제의 제조 방법에 의해 수득가능하다.

[0176] 따라서, 본 발명에 따른 약제의 특징, 정의 및 바람직한 실시양태는 약제의 제조 방법에 의해 제조된 약제에 대해 상기에 기재된 것에 상응한다. 예를 들어, 본 발명에 따른 약제는 바람직하게는 상기에 기재된 바와 같은 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체가 적재된 상기에 기재된 바와 같은 나노 입자를 포함한다. 특히, 상기 나노 입자에 상기에 기재된 바와 같은 보조제를 추가로 적재할 수 있다. 또한, 약제는 바람직하게는 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체를 발현하는 상기에 기재된 바와 같은 박테리아 세포를 포함한다.

[0177] 바람직하게는, 약제는 하기를 포함한다:

[0178] (i) 상기에 기재된 바와 같은 미생물 서열 변이체,

[0179] (ii) 상기에 기재된 바와 같은 미생물 서열 변이체를 포함하는 (재조합) 단백질,

[0180] (iii) 상기에 기재된 바와 같은 미생물 서열 변이체를 포함하는 (면역원성) 화합물,

[0181] (iv) 상기에 기재된 바와 같은 미생물 서열 변이체가 적재된 나노 입자,

[0182] (v) 미생물 서열 변이체가 적재된 항원-제시 세포,

[0183] (vi) 미생물 서열 변이체를 발현하는, 상기에 기재된 바와 같은 숙주 세포, 예컨대 박테리아 세포, 또는

[0184] (vii) 미생물 서열 변이체를 암호화하는 핵산 분자; 및

[0185] 임의적으로, 상기에 기재된 바와 같은 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 보조제.

[0186] 바람직하게는, 약제는 약학 조성물이다(약학 조성물의 형태로 존재하거나 약학 조성물로서 제형화된다). 보다 바람직하게는, 약제는 상기에 기재된 바와 같은 백신이다. 또한, 상기에 기재된 바와 같은 약제의 제조 방법에 의해 제조된 약제에 대해 상기에 나타낸 바람직한 실시양태는 그에 맞춰 본 발명에 따른 약제에 적용된다.

[0187] 본 발명의 조성물, 특히 본 발명의 백신은 또한 본 발명의 약학 조성물에 대해 상기에 정의된 바와 같은 약학적으로 허용되는 담체, 보조제 및/또는 비히클을 포함할 수 있다. 특정한 본 발명의 조성물에 있어서, 특히 본 발명의 백신에 있어서, 약학적으로 허용되는 담체의 선택은 본 발명의 조성물, 특히 본 발명의 백신이 투여되는 방식에 의해 원칙적으로 결정된다. 본 발명의 조성물, 특히 본 발명의 백신은 예를 들어 전신으로 또는 국소적으로 투여될 수 있다. 전신 투여 경로는 일반적으로 예를 들어 경피, 경구, 비경구 경로(피하, 정맥내, 근육내, 동맥내, 피내 및 복강내 주사를 포함함) 및/또는 비강내 투여 경로를 포함한다. 국소 투여 경로는 예를 들어 국소 투여 경로, 뿐만 아니라 피내, 경피, 피하 또는 근육내 주사, 또는 병변내, 두개내, 폐내, 심장내, 절내(intranodal) 및 설하 주사를 포함한다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 조성물, 특히 백신은 피내, 피하, 절내 또는 경구 투여될 수 있다. 보다 더 바람직하게는, 본 발명의 조성물, 특히 백신은 피하, 절내 또는 경구 경로로 투여될 수 있다. 특히 바람직하게는, 본 발명의 조성물, 특히 백신은 피하 또는 경구 경로로 투여될 수 있다. 가장 바람직하게는, 본 발명의 조성물, 특히 백신은 경구 경로로 투여될 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물, 특히 본 발명의 백신은 바람직하게는 액체 또는 고체 형태로 제형화된다.

[0188] 본 발명의 조성물, 특히 본 발명의 백신의 투여하기에 적합한 양은 동물 모델을 사용한 통상적 실험에 의해 결정될 수 있다. 이러한 모델은 비제한적으로 토끼, 양, 마우스, 래트, 개 및 비-인간 영장류 모델을 포함한다. 주사를 위해 바람직한 단위 투여량 형태는 물, 생리 식염수 또는 이들의 혼합물의 멀균 용액을 포함한다. 이러한 용액의 pH는 약 7.4로 조정되어야 한다. 주사를 위해 적합한 담체는 하이드로겔, 제어되거나 지연된 방출을 위한 장치, 폴리락트산 및 콜라겐 매트릭스를 포함한다. 국소 도포를 위해 적합한 약학적으로 허용되는 담체는 로션, 크림, 젤 등에서 사용하기에 적합한 것을 포함한다. 본 발명의 조성물, 특히 본 발명의 백신이 경구로 투여되는 경우, 정제, 캡슐 등이 바람직한 단위 투여량 형태이다. 경구 투여를 위해 사용될 수 있는 단위 투여량 형태의 제조를 위한 약학적으로 허용되는 담체는 종래 분야에 주지되어 있다. 이의 선택은 이차 고려사항, 예컨대 맛, 비용 및 저장성에 좌우될 것이며, 이는 본 발명의 목적을 위해 중요하지 않고, 어려움 없이 당업자에 의해 고려될 수 있다.

[0189] 또한, 상기에 정의된 본 발명의 약학 조성물은 임의의 경구로 허용가능한 투여량 형태(비제한적으로 캡슐, 정제, 수성 혼탁액 또는 용액을 포함함)로 경구로 투여될 수 있다. 경구 사용을 위한 정제의 경우, 통상적으로 사용되는 담체는 락토스 및 옥수수 전분을 포함한다. 또한, 윤활제, 예컨대 스테아르산 마그네슘이 전형적으로 첨가된다. 캡슐 형태의 경구 투여의 경우, 유용한 희석제는 락토스 및 건조된 옥수수 전분을 포함한다. 수성

현탁액이 경구 사용에 필요한 경우, 활성 성분, 즉, 상기에 정의된 본 발명의 수송 카고 접합 분자는 유화제 및 현탁제와 조합된다. 필요에 따라, 특정 감미제, 향미제 또는 착색제가 또한 첨가될 수 있다.

[0190] 본 발명의 약학 조성물은 또한, 특히 치료의 표적이 국소 도포에 의해 용이하게 접근가능한 부분 또는 기관을 포함하는 경우(예를 들어 피부 또는 임의의 다른 접근가능한 상피 조직의 질병을 포함함), 국소적으로 투여될 수 있다. 적합한 국소 제형은 이들 부분 또는 기관 각각에 대해 용이하게 제조될 수 있다. 국소 도포를 위해, 본 발명의 약학 조성물은 본 발명의 면역 자극성 조성물, 특히 하나 이상의 담체에 현탁되거나 용해된 상기에 정의된 바와 같은 이의 성분을 함유하는 적합한 연고로 제형화될 수 있다. 국소 투여를 위한 담체는 비제한적으로 미네랄 오일, 액체 바셀린, 백색 바셀린, 프로필렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌, 폴리옥시프로필렌 화합물, 유화성 왁스 및 물을 포함한다. 대안적으로, 본 발명의 약학 조성물은 적합한 로션 또는 크림으로 제형화될 수 있다. 본 발명에 있어서, 적합한 담체는 비제한적으로 미네랄 오일, 소르비탄 모노스테아레이트, 폴리소르베이트 60, 세틸 에스터 왁스, 세테아릴 알코올, 2-옥틸도데칸올, 벤질 알코올 및 물을 포함한다.

[0191] 본 발명의 약학 조성물의 멸균 주사가능한 형태는 수성 또는 유지성 현탁액일 수 있다. 이들 현탁액은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 당분야에 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 또한, 멸균 주사가능한 제제는 비독성의 비경구적으로 허용가능한 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사가능한 용액 또는 현탁액, 예를 들어 1,3-부탄다이올 중의 용액일 수 있다. 사용될 수 있는 허용가능한 비허클 및 용매는 물, 릅거 용액 및 등장성 나트륨 클로라이드 용액이다. 또한, 멸균의 지방유가 통상적으로 용매 또는 현탁 매질로서 사용된다. 이러한 목적을 위해, 합성 모노- 및 다이-글리세리드를 포함하는 임의의 완하성 지방유가 사용될 수 있다. 지방산, 예컨대 올레산 및 이의 글리세리드 유도체는 천연의 약학적으로 허용되는 오일, 예컨대 올리브 오일 또는 피마자유, 특히 이들의 폴리옥시에틸화된 버전과 같이 주사제의 제조에 유용하다. 또한, 이들 오일 용액 또는 현탁액은 약학적으로 허용되는 투여량 형태(유화액 및 현탁액을 포함함)의 제형화에서 통상적으로 사용되는 장쇄 알코올 희석제 또는 분산제 예컨대 카복시메틸 셀룰로스 또는 유사한 분산제를 함유할 수 있다. 또한, 통상적으로 사용되는 다른 계면활성제, 예컨대 트윈, 스판(Span), 및 약학적으로 허용되는 고체, 액체 또는 투여량 형태의 제조에서 통상적으로 사용되는 다른 유화제 또는 생체 이용률 증진제가 본 발명의 약학 조성물의 제형화를 위해 사용될 수 있다.

[0192] 정맥내, 피부 또는 피하 주사, 또는 고통 부위의 주사를 위해, 활성 성분은 바람직하게는 무-발열원이며 적합한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 비경구적으로 허용가능한 수용액의 형태로 존재할 수 있다. 당업자는 예를 들어 등장성 비허클을 사용하는 적합한 용액, 예컨대 나트륨 클로라이드 주사, 릅거 주사, 락테이티드 릅거 주사를 제조할 수 있다. 방부제, 안정화제, 완충액, 산화방지제 및/또는 다른 첨가제가 필요에 따라 포함될 수 있다. 개체에게 투여할 것이 폴리펩티드, 웨პ티드 또는 핵산 분자, 또는 본 발명에 따른 다른 약학적으로 유용한 화합물인지에 상관 없이, 투여는 바람직하게는 (경우에 따라) 개체에게 이익을 나타내기에 충분한 "예방적 유효량" 또는 "치료적 유효량"으로 사용된다. 투여되는 실제 양 및 투여의 속도 및 시간 코스는 치료할 것의 성질 및 심각도에 좌우될 것이다.

[0193] 이에 있어서, 상기 약제가 사용될 때 치료 처방전, 예를 들어 투여량의 결정 등은 전형적으로 일반의 및 다른 의사의 책임 하에 놓이며, 전형적으로 치료할 장애, 개별적 환자의 상태, 전달 부위, 투여 방법 및 의사에게 공지된 다른 인자를 고려한다. 상기에 언급된 기술 및 프로토콜의 예는 문헌[REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 16th edition, Osol, A. (ed), 1980]에서 찾아볼 수 있다.

[0194] 따라서, 본 발명의 약학 조성물은 전형적으로 "안전하고 유효한 양"의 본 발명의 약학 조성물의 성분, 특히 본원에 정의된 미생물 서열 변이체를 포함한다. 본원에 사용된 "안전하고 유효한 양"은 질병 또는 장애의 궁정적 변형을 유의미하게 유발하기에 충분한 본원에 정의된 미생물 서열 변이체의 양, 즉, 추구되는 조직, 시스템, 동물 또는 인간에서의 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 본원에 정의된 미생물 서열 변이체의 양을 의미한다. 유효량은 치료할 질병 또는 질환의 증상의 완화를 위한 "치료적 유효량" 및/또는 치료할 질병 또는 질환의 증상의 예방을 위한 "예방적 유효량"일 수 있다. 또한, 상기 용어는 질병의 진행을 감소시키거나 종양 성장 또는 감염을 현저히 감소시키거나 억제하여 추구하는 반응을 유도하는 데 충분한 활성 미생물 서열 변이체의 양을 포함하며, 특히 상기 반응은 미생물 서열 변이체에 대한 면역 반응일 수 있다(즉, "억제 유효량"). 그러나, 동시에, "안전하고 유효한 양"은 심각한 부작용을 피하기에, 즉, 유리점과 위험성 사이의 합리적인 관계를 가능하게 하기에 충분히 적다. 이들 제한의 결정은 전형적으로 합리적인 의학적 판단의 범위 내에 있다. 또한, 본 발명의 약학 조성물의 성분, 특히 본원에 정의된 미생물 서열 변이체의 "안전하고 유효한 양"은 의사의 지식 및 경험 내에서, 치료할 특정 질환, 뿐만 아니라 치료 받을 환자의 나이 및 신체적 상태, 체중, 일반적 건강, 성별, 식단, 투여 시간, 배설 속도, 약물 조합, 본원에 정의된 특정 미생물 서열 변이체의 활성, 질환의

심각도, 치료 기간, 수반하는 요법의 성질, 사용되는 특정한 약학적으로 허용되는 담체 및 유사한 인자와 관련하여 변할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 인간 및 가축 의학 용도, 바람직하게는 인간 의학 용도를 위해, 일반적으로 약학 조성물로서 또는 백신으로서 사용될 수 있다.

- [0195] 본 발명에 따른 약학 조성물, 특히 백신 조성물, 또는 제형은 본원에 기재된 임의의 형태의 본원에 정의된 미생물 서열 변이체를 함유할 수 있는 약학 제형으로서 투여될 수 있다.
- [0196] 본 발명에 있어서 사용된 용어 "약학 제형" 및 "약학 조성물"은, 활성 성분의 생물학적 활성이 명백히 효과적이도록 하는 형태로 존재하고 제형을 투여 받을 개체에게 독성인 추가적 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다.
- [0197] 본 발명에 있어서, 치료의 "효능"은 질병 동안 본 발명에 따른 사용 또는 방법에 반응에 대한 변화를 기반으로 측정될 수 있다. 예를 들어, 암 치료의 효능은 종양 부피의 감소 및/또는 무진행 생존 시간의 증가 및/또는 원발암의 절제후 재발의 감소된 위험성에 의해 측정될 수 있다. 면역 요법에 의해 치료되는 암의 경우 보다 구체적으로, 효능의 평가는, 고령암 반응 평가 기준(RECIST) 및 세계 보건 기구(WHO) 기준으로부터 개직된 새로운 면역-관련된 반응 기준(irRC)을 통한 면역 요법제에 대한 항종양 반응의 임상적 패턴의 스펙트럼에 의해 이루어질 수 있다(문헌[J. Natl. Cancer Inst. 2010, 102(18): 1388-1397]).
- [0198] 또한, 본 발명에 따른 약학 조성물, 특히 백신 조성물, 또는 제형은 본원에 기재된 임의의 형태로 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체가 적재된 항원 제시 세포를 함유할 수 있는 약학 제형으로서 투여될 수 있다.
- [0199] 또한, 본 발명에 따른 백신 및/또는 조성물은 통상적으로 사용되는 보조제, 면역 중재 물질, 또는 상기 및 하기 예에 기재되는 담체, 희석제 또는 부형제와 함께 약학 조성물 및 이의 단위 투여량으로서 제형화될 수 있고, 이러한 형태에서, 고체, 예컨대 정제 또는 충전된 캡슐, 또는 액체, 예컨대 용액, 혼탁액, 유화액, 엘리시르 또는 이로 충전된 캡슐로서, 경구 사용을 위해, 또는 주사 또는 연속 주입에 의한 비경구(피하 및 피내를 포함함) 사용을 위한 멸균 주사가능한 용액의 형태로 사용될 수 있다.
- [0200] 본 발명에 있어서, 특히 본 발명에 따른 약학 조성물 및 백신에 있어서, 주사가능한 조성물은 전형적으로 주사 가능한 멸균 염수 또는 포스페이트-완충된 염수 또는 당분야에 공지된 다른 주사가능한 담체를 기반으로 한다. 이러한 약학 조성물 및 단위 이의 투여량 형태는, 추가적 활성 화합물 또는 원리의 유무에 관계 없이, 성분들을 통상적인 비율로 포함할 수 있고, 이러한 단위 투여량 형태는 사용하도록 의도된 일일 투여량 범위에 상응하는 임의의 적합한 유효량의 활성 성분을 함유할 수 있다.
- [0201] 조성물, 특히 본 발명에 따른 약학 조성물 및 백신은, 비제한적으로 수성 또는 유성 혼탁액, 용액, 유화액, 시럽 및 엘리시르를 포함하는 액체 제형일 수 있다. 또한, 조성물은, 사용전 물 또는 다른 적합한 비허클에 의한 재구성을 위한 건조 제품으로 제형화될 수 있다. 이러한 액체 제제는, 비제한적으로 혼탁제, 유화제, 비수성 비허클 및 방부제를 포함하는 첨가제를 함유할 수 있다. 혼탁제는 비제한적으로 소르비톨 시럽, 메틸셀룰로스, 글루코스/당 시럽, 젤라틴, 하이드록시에틸 셀룰로스, 카복시메틸 셀룰로스, 알루미늄 스테아레이트 젤, 및 수소화된 식용 지방을 포함한다. 유화제는 비제한적으로 레시틴, 소르비탄 모노올레아이트 및 아카시아를 포함한다. 방부제는 비제한적으로 메틸 또는 프로필 p-하이드록시벤조아이트 및 소르브산을 포함한다. 분산제 또는 습윤제는 비제한적으로 폴리(에틸렌 글리콜), 글리세롤, 소 혈청 알부민, 트윈(등록상표), 스판(등록상표)을 포함한다.
- [0202] 또한, 조성물, 특히 본 발명에 따른 약학 조성물 및 백신은 데포 제제로서 제형화될 수 있고, 이는 주입 또는 근육내 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0203] 또한, 조성물, 특히 본 발명에 따른 약학 조성물 및 백신은 고체 조성물일 수 있고, 이는 종래 방법으로 제형화된 정제 또는 로젠지의 형태일 수 있다. 예를 들어, 경구 투여를 위한 정제 및 캡슐은 비제한적으로 결합제, 충전제, 윤활제, 봉해제 및 습윤제를 포함하는 종래의 부형제를 함유할 수 있다. 결합제는 비제한적으로 시럽, 아카시아, 젤라틴, 소르비톨, 트리아칸트, 전분 풀 및 폴리비닐파리돈을 포함한다. 충전제는 비제한적으로 락토스, 당, 미정질 셀룰로스, 옥수수 전분, 칼슘 포스페이트 및 소르비톨을 포함한다. 윤활제는 비제한적으로 스테아르산 마그네슘, 스테아르산, 활석, 폴리에틸렌 글리콜 및 실리카를 포함한다. 봉해제는 비제한적으로 감자 전분 및 나트륨 전분 글리콜레이트를 포함한다. 습윤제는 비제한적으로 나트륨 라우릴 설레이트를 포함한다. 정제는 당분야에 주지된 방법에 따라 코팅될 수 있다.
- [0204] 또한, 조성물, 특히 본 발명에 따른 약학 조성물 및 백신은 서방형 형태로 또는 서방형 약물 전달 시스템으로부터 투여될 수 있다.

[0205] 또한, 조성물, 특히 본 발명에 따른 약학 조성물 및 백신은 반복된 투여에 의한 전달에 적합할 수 있다.

의학적 치료

[0207] 추가적 양태에서, 본 발명은 암의 예방 및/또는 치료에서 사용하기 위한 상기에 기재된 미생물 서열 변이체/약제를 제공한다. 따라서, 본 발명은, 암을 예방하고/하거나 치료하거나, 항종양 반응을 개시하거나 증진시키거나 연장시키는 것이 필요한 개체에서 암을 예방하고/하거나 치료하거나, 항종양 반응을 개시하거나 증진시키거나 연장시키는 방법을 제공하되, 이는 상기 개체에게 상기에 기재된 미생물 서열 변이체/본 발명에 따른 약제를 투여여하는 단계를 포함한다.

[0208] 본원에 사용된 용어 "암"은 악성 신생물을 지칭한다. 특히, 본원에서 용어 "암"은, 제어되지 않는 세포 분열, 및 침윤을 통한 인접 조직 내로의 직접 성장 또는 전이에 의한 면 부위 내로의 전이에 의한 다른 조직을 침입하는 이들 세포의 능력을 특징으로 하는 질병 또는 장애의 클래스의 임의의 구성원을 지칭한다. 전이는 암 세포가 혈류 또는 림프 시스템을 통해 이동하는 단계로서 정의된다.

[0209] 바람직하게는, 약제는 항암제, 보다 바람직하게는 면역 체크포인트 조절제와 조합으로 투여된다.

[0210] 본 발명은 본 발명에 따른 약제의 투여를 포괄하되, 여기서 상기 약제는 암의 치료 및/또는 안정화, 및/또는 암 재발의 예방에 유용한 다른 치료 양생법 또는 공동-제제(예를 들어 다수의 약물 양생법) 전에, 이와 동시에 또는 이와 순차적으로 치료적 유효량으로 개체에게 투여된다. 본 발명에 따른 약제는 동일하거나 상이한 조성물로, 및 상기 공동-제제와 동일하거나 상이한 투여 경로로 투여될 수 있다.

[0211] 상기 다른 치료 양생법 또는 공동-제제는 방사선 요법, 화학 요법, 수술, 표적화된 요법(소분자, 웨티드 및 단클론 항체를 포함함) 및 항혈관신생 요법으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 항혈관신생 요법은 종양-연관된 맥관 구조를 직접적으로 또는 간접적으로 표적화하는 제제의 투여로서 본원에서 정의된다. 바람직한 항암제는 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제를 포함한다.

[0212] 종래의 화학 요법제는 세포 독성을 갖는다, 즉, 이는 신속하게 분열하는 세포(대부분의 암 세포의 주요 특성 중 하나임)를 살해함으로써 작용한다. 본원에 정의된 미생물 서열 변이체와의 조합에 대해 바람직한 화학 요법제는 암 치료를 위해 숙련가에게 공지된 화학 요법제이다. 조합에 대해 바람직한 화학 요법제는 5-플루오로우라실(5-FU), 카페시타빈(젤로다(Xeloda, 등록상표)), 이리노테칸(캄프토사르(Camptosar, 등록상표)) 및 옥살리플라틴(엘록사틴(Eloxatin, 등록상표))을 포함한다. 또한, 본원에 정의된 미생물 서열 변이체는 바람직하게는 (i) FOLFOX(5-FU, 류코보린 및 옥살리플라틴); (ii) CapeOx(카페시타빈 및 옥살리플라틴); (iii) 5-FU 및 류코보린; (iv) FOLFOXIRI(류코보린, 5-FU, 옥살리플라틴 및 이리노테칸); 및 (v) FOLFIRI(5-FU, 류코보린 및 이리노테칸)로부터 선택된 조합된 화학 요법과 조합되는 것이 바람직하다. 확산되지 않은 암에서, (i) FOLFOX(5-FU, 류코보린 및 옥살리플라틴); (ii) CapeOx(카페시타빈 및 옥살리플라틴); 또는 (iii) 5-FU 및 류코보린과의 조합이 바람직하다. 확산된 암의 경우, (iv) FOLFOXIRI(류코보린, 5-FU, 옥살리플라틴 및 이리노테칸); (i) FOLFOX(5-FU, 류코보린 및 옥살리플라틴); 또는 (v) FOLFIRI(5-FU, 류코보린 및 이리노테칸)와의 조합이 바람직하다.

[0213] 본원에 정의된 미생물 서열 변이체와의 조합을 위한 표적화된 약물은 VEGF-표적화된 약물 및 EGFR-표적화된 약물을 포함한다. VEGF-표적화된 약물의 바람직한 예는 베바시주맙(아바스타틴(Avastin, 등록상표)), 라무시루맙(시람자(Cyramza, 등록상표)) 또는 지브-아플리베르셉트(잘트랩(Zaltrap, 등록상표))를 포함한다. EGFR-표적화된 약물의 바람직한 예는 세툭시맙(에르비툭스(Erbitux, 등록상표)), 파니투무맙(벡티빅스(Vectibix, 등록상표)) 또는 레고라페닙(스티바르가(Stivarga, 등록상표))을 포함한다.

[0214] 본원에 정의된 미생물 서열 변이체와의 조합을 위한 면역 요법제는 백신, 키메라 항원 수용체(CAR), 체크포인트 조절제 및 종양 분해 바이러스 요법을 포함한다.

[0215] 본원에 정의된 미생물 서열 변이체와의 조합을 위해 바람직한 백신은 TroVax, OncoVax, IMA910, ETBX-011, MicOryx, EP-2101, MKC1106-PP, CDX-1307, V934/V935, MelCancerVac, Imprime PGG, FANG, Tecemotide, AlloStim, DCVax, GI-6301, AVX701, OCV-C02를 포함한다.

[0216] 인공 T 세포 수용체(키메라 T 세포 수용체, 키메라 면역 수용체, 키메라 항원 수용체(CAR)로도 공지됨)는 면역 효과기 세포에 임의의 특이성을 접목하는 조작된 수용체이다. 인공 T 세포 수용체(CAR)는 입양 세포 수송에 있어서 바람직하다. 이를 위해, T 세포는 환자로부터 제거되고 변형되어 이들은 암에 특이적인 수용체를 발현한다. 암 세포를 인식하고 살해할 수 있는 T 세포가 환자 내로 재도입된다.

- [0217] 바람직하게는, 본원에 정의된 미생물 서열 변이체와의 조합을 위한 면역 체크포인트 조절제는 CD27, CD28, CD40, CD122, CD137, OX40, GITR, ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CD40, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, TIM-3, VISTA, CEACAM1, GARP, PS, CSF1R, CD94/NKG2A, TDO, GITR, TNFR 및/또는 FasR/DcR3로부터 선택된 하나 이상의 면역 체크포인트 포인트 분자의 활성제 또는 억제제; 또는 이들의 하나 이상의 리간드의 활성제 또는 억제제이다.
- [0218] 보다 바람직하게는, 면역 체크포인트 조절제는 (공-)자극성 체크포인트 분자의 활성제 또는 억제성 체크포인트 분자의 억제제, 또는 이들의 조합이다. 따라서, 면역 체크포인트 조절제는 보다 바람직하게는 (i) CD27, CD28, CD40, CD122, CD137, OX40, GITR 및/또는 ICOS의 활성제, 또는 (ii) A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CD40, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, PDL-1, PD-L2, TIM-3, VISTA, CEACAM1, GARP, PS, CSF1R, CD94/NKG2A, TDO, TNFR 및/또는 FasR/DcR3의 억제제이다.
- [0219] 보다 더 바람직하게는, 면역 체크포인트 조절제는 억제성 체크포인트 분자의 억제제이다(바람직하게는 자극성 체크포인트 분자의 억제제는 아니다). 따라서, 면역 체크포인트 조절제는 보다 더 바람직하게는 A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, PDL-1, PD-L2, TIM-3, VISTA, CEACAM1, GARP, PS, CSF1R, CD94/NKG2A, TDO, TNFR 및/또는 DcR3 또는 이들의 리간드의 억제제이다.
- [0220] 또한, 면역 체크포인트 조절제가 자극성 또는 공자극 체크포인트 분자의 활성제인 것이 바람직하다(바람직하게는 억제성 체크포인트 분자의 활성제는 아니다). 따라서, 면역 체크포인트 조절제는 보다 바람직하게는 CD27, CD28, CD40, CD122, CD137, OX40, GITR 및/또는 ICOS 또는 이들의 리간드의 활성제이다.
- [0221] 면역 체크포인트 조절제가 CD40 경로, IDO 경로, LAG3 경로, CTLA-4 경로 및/또는 PD-1 경로의 조절제인 것이 보다 더 바람직하다. 특히, 면역 체크포인트 조절제는 바람직하게는 CD40, LAG3, CTLA-4, PD-L1, PD-L2, PD-1 및/또는 IDO의 조절제이고, 보다 바람직하게는 면역 체크포인트 조절제는 CTLA-4, PD-L1, PD-L2, PD-1, LAG3, 및/또는 IDO의 억제제, 또는 CD40의 활성제이고, 보다 더 바람직하게는 면역 체크포인트 조절제는 CTLA-4, PD-L1, PD-1, LAG3 및/또는 IDO의 억제제이고, 보다 더 바람직하게는 면역 체크포인트 조절제는 LAG3, CTLA-4 및/또는 PD-1의 억제제이고, 가장 바람직하게는 면역 체크포인트 조절제는 CTLA-4 및/또는 PD-1의 억제제이다.
- [0222] 따라서, 본원에 정의된 미생물 서열 변이체와의 조합을 위한 체크포인트 조절제는 CTLA-4 경로 또는 PD-1 경로의 공지된 조절제로부터 선택될 수 있다. 바람직하게는, 본원에 정의된 미생물 서열 변이체와의 조합을 위한 체크포인트 조절제는 CTLA-4 경로 또는 PD-1 경로의 공지된 조절제로부터 선택될 수 있다. 특히 바람직하게는, 면역 체크포인트 조절제는 PD-1 억제제이다. CTLA-4 경로 및 PD-1 경로의 바람직한 억제제는 단클론 항체 여보이(Yervoy, 등록상표)(이필리무맙; 브리스톨 메이어스 스큅(Bristol Myers Squibb)) 및 트레멜리무맙(화이자(Pfizer)/메드이뮨(MedImmune)), 뿐만 아니라 옵디보(Opdivo, 등록상표)(니볼루맙; 브리스톨 메이어스 스큅), 케이트루다(Keytruda, 등록상표)(펩브롤리주맙; 메르크(Merck)), 두르발루맙(메드이뮨/아스트라제네카(AstraZeneca)), MEDI4736(아스트라제네카; WO 2011/066389 A1 참조), MPDL3280A(로슈(Roche)/제넨테크(Genentech); US 8,217,149 B2 참조), 피딜리주맙(CT-011; 큐어테크(CureTech)), MEDI0680(AMP-514; 아스트라제네카), MSB-0010718C(메르크), MIH1(어피메트릭스(Affymetrix)) 및 람브롤리주맙(예를 들어 WO 2008/156712; 문헌[Hamid et al., 2013; N. Engl. J. Med. 369: 134-144]에서 hPD109A 및 이의 인간화된 유도체 h409A11, h409A16 및 h409A17로서 개시됨). 보다 바람직한 체크포인트 억제제는 CTLA-4 억제제 여보이(등록상표)(이필리무맙; 브리스톨 메이어스 스큅) 및 트레멜리무맙(화이자/메드이뮨), 뿐만 아니라 PD-1 억제제 옵디보(등록상표)(니볼루맙; 브리스톨 메이어스 스큅), 케이트루다(펩브롤리주맙; 메르크), 피딜리주맙(CT-011; 큐어테크), MEDI0680(AMP-514; 아스트라제네카), AMP-224 및 람브롤리주맙(예를 들어 WO 2008/156712; 문헌[Hamid O. et al., 2013; N. Engl. J. Med. 369: 134-144]에서 hPD109A 및 이의 인간화된 유도체 h409A11, h409A16 및 h409A17로서 개시됨)을 포함한다.
- [0223] 또한, 본원에 정의된 미생물 서열 변이체와의 조합을 위한 면역 체크포인트 조절제는 펩브롤리주맙, 이필리무맙, 니볼루맙, MPDL3280A, MEDI4736, 트레멜리무맙, 아벨루맙, PDR001, LAG525, INCB24360, 바를릴루맙, 우렐루맙, AMP-224 및 CM-24로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하다.
- [0224] 종양 분해 바이러스는 종양에서 복제에 의해 세포 용해를 야기하여 항종양 면역 반응을 활성화시키도록 조작된다. 본원에 정의된 미생물 서열 변이체와의 조합을 위한 종양 분해 바이러스 요법은 바람직하게는 JX594(티미딘 키나제-비활성화된 백시니아 바이러스), ColoAd1(아데노 바이러스), NV1020(HSV-유래됨), ADXS11-001(약화된 리스테리아 백신), 레올리신(Reolysin, 등록상표)(인간 레오 바이러스의 특별한 제형), PANVAC(재조합 백시니아-바이러스 CEA-MUC-1-TRICOM), Ad5-hGCC-PADRE(재조합 아데노 바이러스 백신) 및 vvDD-CDSR(백시니아-

바이러스)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0225] 바람직하게는, (i) 미생물 서열 변이체, 및 (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제가 거의 동시에 투여된다.

[0226] 본원에 사용된 "거의 동시에"는 특히 동시 투여; 또는 (i) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제의 투여 직후에, (ii) 미생물 서열 변이체가 투여되거나, (i) 미생물 서열 변이체의 투여 직후에, (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제가 투여되는 것을 의미한다. 숙련가는, "직후"가 제2 투여를 준비하는 데 필요한 시간, 특히 제2 투여를 위한 위치의 노출 및 소독, 및 "투여 장치"(예를 들어 시린지, 펌프 등)의 적절한 준비에 필요한 시간을 포함함을 이해 한다. 동시 투여는 또한 (i) 미생물 서열 변이체의 투여 및 (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제의 투여의 기간이 중첩되는 경우, 또는 예를 들어 하나의 성분이 보다 긴 시간, 예컨대 30분, 1시간, 2시간 이상 동안 예를 들어 주입에 의해 투여되고, 나머지 성분이 상기 긴 기간 중 언젠가 투여되는 경우를 포함한다. 거의 동시에 (i) 미생물 서열 변이체의 투여 및 (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제의 투여는 특히 상이한 투여 경로 및/또는 상이한 투여 부위가 사용되는 경우 바람직하다.

[0227] 또한, (i) 미생물 서열 변이체, 및 (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제가 연속적으로 투여되는 것이 또한 바람직하다. 이는 (i) 미생물 서열 변이체가 (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제 전에 또는 후에 투여됨을 의미한다. 연속적 투여에서, 제1 성분의 투여 및 제2 성분의 투여 사이의 시간은 바람직하게는 1주일 이하, 보다 바람직하게는 3일 이하, 보다 더 바람직하게는 2일 이하, 가장 바람직하게는 24시간 이하이다. 특히, (i) 미생물 서열 변이체, 및 (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제가 동일한 날에 투여되며, 제1 성분(미생물 서열 변이체의 체크포인트 조절제)의 투여와 제2 성분(미생물 서열 변이체의 체크포인트 조절제의 나머지)의 투여 사이의 시간은 바람직하게는 6시간 이하, 보다 바람직하게는 3시간 이하, 보다 더 바람직하게는 2시간 이하, 가장 바람직하게는 1시간 이하인 것이 바람직하다.

[0228] 바람직하게는, (i) 미생물 서열 변이체, 및 (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제는 동일한 투여 경로를 통해 투여된다. 또한, (i) 미생물 서열 변이체, 및 (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제는 별개의 투여 경로로 투여되는 것이 바람직하다.

[0229] 또한, (i) 미생물 서열 변이체, 및 (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제는 바람직하게는 별개의 조성물로 제공된다. 대안적으로, (i) 미생물 서열 변이체, 및 (ii) 화학 요법제, 표적화된 약물 및/또는 면역 요법제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제는 바람직하게는 동일한 조성물로 제공된다.

[0230] 따라서, 본 발명은 암의 치료 및/또는 안정화, 및/또는 암 재발의 예방을 위해 유용한 하나 이상의 공동-제제와 조합된 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 제형을 제공한다.

[0231] 또한, 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체는, 고형 종양이 재발 및/또는 전이에 대한 예방으로서 제거되는 수술 후에 투여될 수 있다.

[0232] 또한, 본 발명에 따른 방법 및 사용에서 이미지화 또는 진단 조성물의 투여는 단독으로 또는 암의 이미지화 및/또는 진단에 유용한 공동-제제와 조합으로 수행될 수 있다.

[0233] 본 발명은 암을 앓거나 암이 발병할 위험이 높은 임의의 개체에게 적용될 수 있다. 특히, 상기 미생물 서열 변이체의 치료적 효과는 기준 종양-관련된 항원 에피토프에 대한 면역 반응, 특히 CD8⁺ 세포 독성 T 세포에 의존적이고/하거나 MHC 클래스 I 분자에 의해 매개되는 반응을 유도하는 것일 수 있다.

[0234] 추가적 양태에서, 본 발명은 또한 본원에 기재된 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체가 개체에서 존재하는지를 결정하는 (시험판내) 방법을 제공하되, 이는 본원에 기재된 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체가 개체의 (단리된) 샘플에 존재하는지를 결정하는 단계를 포함한다. 바람직하게는, (단리된) 샘플은 대변 샘플 또는 혈액 샘플이다. 본원에 있어서, 미생물 서열 변이체는 바람직하게는 본원에 기재된 본 발명에 따른 미생물 서열 변이체의 식별 방법에 의해 식별된다/수득된다.

[0235] 예를 들어, 미생물 서열 변이체의 존재의 결정은, 상기 미생물 서열 변이체를 갖는 미생물, 예컨대 박테리아의

검출을 기반으로 수행될 수 있다. 이를 위해, 대변 샘플을 채취할 수 있고, 핵산 및/또는 단백질/(폴리)펩티드는 대변 샘플로부터 단리될 수 있다. 이어서, 단리된 핵산 및/또는 단백질/(폴리)펩티드는 서열결정될 수 있다. 예를 들어, 국제 인간 미생물 유전체 표준(IHMS) 프로젝트에 의해 개발되고 제공된 하나 이상의 표준 작업 절차(SOP)가 상기에 기재된 바와 같이 사용될 수 있다(URL: <http://www.microbiome-standards.org/#SOPs>). 구체적 예로서, 대변 샘플로부터 추출된 DNA의 서열결정은 4000만의 페어 엔드 리드에서 Illumina HiSeq 상에서 수행될 수 있다. 서열은 박테리아 웹티드를 발현하는 후보자 박테리아의 계놈 부분의 식별을 위한 바이오인포메틱스 파이프라인을 사용하여 분석될 수 있다. 또 다른 접근법은 특이적으로 설계된 PCR 프라이머 쌍 및 실시간 PCR의 사용에 의한 미생물 서열 변이체의 단일 검출일 수 있다.

[0236] 또한, 미생물 서열 변이체의 존재의 결정은 예를 들어 면역 반응 및/또는 미생물 서열 변이체를 인식할 수 있는 기존 기억 T 세포를 기반으로 수행될 수 있다. 이를 위해, 면역 반응은 단리된 혈액 샘플에서 예를 들어 미생물 서열 변이체(펩티드)와 정제된 말초혈 단핵 세포(PBMC)의 공동-항온처리 및 ELISPOT 분석에 의한 면역 반응의 평가에 의해 다뤄질 수 있다. 이러한 분석은 당분야에 주지되어 있다(문헌[Calarota SA, Baldanti F. Enumeration and characterization of human memory T cells by enzyme-linked immunospot assays. Clin Dev Immunol. 2013;2013:637649]). 대안적으로, 기억 T 세포, 및 램프구 증식 반응에 의한 T 세포 활성화의 평가, 또는 세포내 염색이, 미생물 서열 변이체, 또는 상기 미생물 서열 변이체를 인식할 수 있는 기존 기억 T 세포의 존재를 결정하는 데 사용될 수 있다.

[0237] 따라서, 상기에 기재된 바와 같이 본 발명에 따른, 암의 예방 및/또는 치료 또는 항종양 반응의 개시, 증진 또는 연장이 필요한 개체에서 암을 예방하고/하거나 치료하거나, 항종양 반응을 개시하거나 증진시키거나 연장시키는 방법은, 상기 개체에게 투여할 약제에 포함된 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체가 상기 개체에서 존재하는지를 결정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 결정은 상기에 기재된 바와 같이 수행될 수 있다.

[0238] 바람직하게는, 상기에 기재된 바와 같이 본 발명에 따른, 암의 예방 및/또는 치료 또는 항종양 반응의 개시, 증진 또는 연장이 필요한 개체에서 암을 예방하고/하거나 치료하거나, 항종양 반응을 개시하거나 증진시키거나 연장시키는 방법에서, 투여할 약제에 포함된 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체는 개체에서 존재한다. 임의의 이론에 구애받지 않고, 환자가 미생물 서열 변이체에 의해 프라이밍된 기억 T 세포를 가질 수 있는 것이 가능하다. 이어서, 미생물 서열 변이체에 대한 존재하는 기억 T 세포는 미생물 서열 변이체를 포함하는 투여된 약제의 도전으로 재활성화될 수 있고 항종양 반응의 수립을 강화시키고 가속화시킬 것이다.

[0239] 또한, 상기에 기재된 바와 같이 본 발명에 따른, 암의 예방 및/또는 치료 또는 항종양 반응의 개시, 증진 또는 연장이 필요한 개체에서 암을 예방하고/하거나 치료하거나, 항종양 반응을 개시하거나 증진시키거나 연장시키는 방법에서, 투여할 약제에 포함되는 종양-관련된 항원 에피토프 서열의 미생물 서열 변이체는 개체에서 존재하지 않는 것이 바람직하다. 임의의 이론에 구애받지 않고, 소화관에서 특정 미생물 서열 변이체의 과발현 및 미생물 서열 변이체의 매우 높은 친화도는 이러한 미생물 서열 변이체를 인식할 수 있는 T 세포 래퍼토리의 소진을 야기할 수 있고 임상적 효능을 감소시킬 수 있는 것이 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0240] 하기에, 첨부된 도면의 간단한 설명이 제공된다. 도면은 본 발명을 보다 상세히 예시하도록 의도된다. 그러나, 이는 본 발명의 주제를 어떠한 방식으로도 제한하려는 것은 아니다.

도 1은 실시예 6에 사용된 면역 계획의 개략도를 보여준다.

도 2는 군 1(IL13RA2-B) 및 군 2(IL13RA2-A)에 대한 실시예 6의 ELISPOT-IFN γ 결과를 보여준다. 백신 접종에 사용된 웹티드(각각의 군 아래에 팔호 사이에 나타냄) 및 ELISPOT 배양에 사용된 자극(X-축)은 그래프 상에 표시되어 있다. (A) 특정 ELISPOT-IFN γ 스팟의 수(배지 조건 감합). 각각의 도트는 상응하는 조건의 4회 실험으로부터의 하나의 개체/마우스에 대한 평균 값을 나타낸다. (B) 각각의 개체에 대해, 특정 ELISPOT-IFN γ 반응의 수준을 ConA 자극(값: 100%)과 비교한다. 통계 분석: 군 내 비교를 위한 대응 t-검정 및 군 간 비교를 위한 비대응 t-검정; * p<0.05.

도 3은 실시예 7의 결과를 보여준다.

도 4는, FOXM1-B2로 백신 접종시킨 마우스에 대한 실시예 12 ELISPOT-IFN γ 결과를 보여준다. 백신 접종 및 비장 세포의 생체의 자극에 사용된 웹티드는 그래프 상에 표시되어 있다. 본 도면은 특정 ELISPOT-IFN γ 스팟의

수를 보여준다(배지 조건 감함). 각각의 도트는 상응하는 조건의 2회 실험으로부터의 하나의 개체/마우스에 대한 평균 값을 나타낸다.

도 5는, 실시예 14에서, 박테리아 펩티드 IL13RA2-BL(서열번호 139)이 HLA-A*0201에 강하게 결합하는 반면에, 상응하는 인간 펩티드는 HLA-A*0201에 결합하지 않음을 보여준다.

도 6은 HHD DR3 형질전환된 마우스에 대한 실시예 15의 결과를 보여준다. HHD DR3 형질전환된 마우스를 IL13RA2-BL(FLPFGFILPV; 서열번호 139)로 면역시켰다. 제21일에, 마우스를 안락사시키고, 비장을 채취하였다. 비장 세포를 준비하고 IL13RA2-BL(FLPFGFILPV; 서열번호 139) 또는 IL13RA2-H(WLPFGFILIL; 서열번호 1)로 시험관내 자극시켰다. Elispot를 전체 비장 세포에 대해 수행하였다. 데이터를 비장 세포 혼합물의 T 세포의 수에 대해 정규화시켰다. 각각의 도트는 상응하는 조건의 2회 실험으로부터의 하나의 개체/마우스에 대한 평균 값을 나타낸다.

도 7은 HHD DR1 형질전환된 마우스에 대한 실시예 15의 결과를 보여준다. HHD DR1 형질전환된 마우스를 IL13RA2-BL(FLPFGFILPV; 서열번호 139)로 면역시켰다. 제21일에, 마우스를 안락사시키고, 비장을 채취하였다. 비장 세포를 준비하고 IL13RA2-BL(FLPFGFILPV; 서열번호 139) 또는 IL13RA2-HL(WLPFGFILIL; 서열번호 131)로 시험관내 자극시켰다. Elispot를 전체 비장 세포에 대해 수행하였다. 각각의 도트는 상응하는 조건의 3회 실험으로부터의 하나의 개체/마우스에 대한 평균 값을 나타낸다.

도 8은 박테리아 펩티드 H2 Db B2 또는 뮤린 기준 펩티드 H2 Db M2로 생체외 자극시킨, H2 Db B2로 백신 접종시킨 C57BL/6 마우스 및 대조군 마우스(OVA + IFA로 백신 접종시킴)에 대한 실시예 16 ELISPOT-IFN γ 결과를 보여준다. 본 도면은 특정 ELISPOT-IFN γ 스팟의 수를 보여준다(배지 조건 감함). 각각의 도트는 상응하는 조건의 3회 실험으로부터의 하나의 개체/마우스에 대한 평균 값을 나타낸다.

도 9는 박테리아 펩티드 H2 Ld B5 또는 뮤린 기준 펩티드 H2 Ld M5로 생체외 자극시킨, H2 Ld B5로 백신 접종시킨 BALB/c 마우스 및 대조군 마우스(OVA + IFA로 백신 접종시킴)에 대한 실시예 16의 ELISPOT-IFN γ 결과를 보여준다. 본 도면은 특정 ELISPOT-IFN γ 스팟의 수를 보여준다(배지 조건 감함). 각각의 도트는 상응하는 조건의 3회 실험으로부터의 하나의 개체/마우스에 대한 평균 값을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0241]

실시예

[0242]

하기에, 본 발명의 다양한 실시양태 및 양태를 예시하는 특정 실시예가 제시된다. 그러나, 본 발명은 본원에 기재된 특정 실시양태에 의해 그 범위가 제한되지 않아야 한다. 하기 제조 및 실시에는 당업자가 본 발명을 보다 명확하게 이해하고 실시할 수 있도록 제공된다. 그러나, 본 발명은 발명의 단일 양태의 예시로서 의도된 예시된 실시양태에 의해 범위가 제한되지 않으며, 기능적으로 동등한 방법은 본 발명의 범위 내에 있다. 본원에 기재된 것에 추가하여 본 발명의 다양한 변형은 전술한 설명, 수반되는 도면 및 하기 실시예로부터 당업자에게 용이하게 명백해질 것이다. 이러한 모든 변형은 첨부된 특허청구범위의 범위 내에 속한다.

[0243]

실시예 1: 인간 미생물 유전체에서 종양-관련된 에피토프의 박테리아 서열 변이체의 식별

[0244]

1. 종양-연관된 항원(TAA) 및 종양-특이적 항원(TSA)의 선택

[0245]

고전적 정의에 따라, 종양-특이적 항원(TSA)은 임의의 다른 세포 유형이 아닌 종양 세포 상에만 존재하는 항원(단백질)으로부터 기인하는 반면에, 종양-연관된 항원(TAA)은 일부 종양 세포 및 또한 일부 "정상" (비-종양) 세포 상에 존재한다. 본원에 사용된 용어 "종양-관련된 항원"은 종양-연관된 항원(TAA) 및 종양-특이적 항원(TSA)을 포괄한다.

[0246]

종양-관련된 단백질/항원의 선택을 문헌, 특히 TAA 및 TSA의 주지된 목록을 기반으로 수행하였다. 예를 들어, 많은 수의 잠재적 TAA 및 TSA가 데이터베이스, 예컨대 종양 T 세포 항원 데이터베이스("탄티젠"; <http://cvc.dfc1.harvard.edu/tadb/>), 펩티드 데이터베이스 (<https://www.cancerresearch.org/scientists/events-and-resources/peptide-database>) 또는 CT데이터베이스 (<http://www.cta.lncc.br/>)로부터 수득될 수 있다. 이들 데이터베이스로부터 수득된 데이터를, 실현가능한 종양-관련된 항원을 식별하기 위해 최신 문헌과 수동으로 비교할 수 있다. 예를 들어, 종양에서 항원의 특이적 발현과 관련된 문헌, 예컨대 문헌[Xu et al., An integrated genome-wide approach to discover tumor-specific antigens as potential immunologic and clinical targets in cancer. Cancer Res. 2012 Dec

15;72(24):6351-61]; [Cheevers et al., The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research. Clin Cancer Res. 2009 Sep 1;15(17):5323-37]은, 관심 항원을 우선적으로 처리하는 데 유용할 수 있다. 600개 초과의 후보자 항원의 목록이 식별되었다. 모든 선택된 항원에, 이용가능한 툴, 예컨대 Gent (<http://medicalgenome.kribb.re.kr/GENT/>), metabolic gene visualizer(<http://merav.wi.mit.edu/>), protein Atlas(<https://www.proteinatlas.org/>) 또는 GEPIA(<http://gepia.cancer-pku.cn>)를 사용하여 발현 프로필에 대해 애노테이션을 수행하였다. 또한, 각각의 항원에 대해, 잠재적 지표, 가능한 부작용에 대한 관련성, 및 드라이버 항원 대 패신저 항원을 명시하였다.

[0247]

600개의 항원 중에서, 인터류킨-13 수용체 서브유닛 알파-2(IL-13R α 2 또는 IL13RA2)를 하기 사실을 기반으로 선택하였다: (i) IL13RA2는 CTL(세포 독성 T 림프구) 에피토프로서 식별된 에피토프를 포함한다(문헌[Okano F, Storkus WJ, Chambers WH, Pollack IF, Okada H. Identification of a novel HLA-A*0201-restricted, cytotoxic T lymphocyte epitope in a human glioma-associated antigen, interleukin 13 receptor alpha2 chain. Clin Cancer Res. 2002 Sep;8(9): 2851-5]); (ii) IL13RA2는 종양 T 세포 항원 데이터베이스 및 CT 데이터베이스에서, 뇌 종양에서 과발현된 유전자로서 언급된다; (iii) IL13RA2의 과발현 및 선택적 발현은, 유전자 발현으로부터 데이터를 분석하는, Gent, Metabolic gene visualizer 및 protein Atlas를 툴로서 사용하여 확인되었다(마이크로 어레이 연구); 및 (iv) 과발현은 또한 문헌에서, 뇌 종양에서(문헌[Debinski et al., Molecular expression analysis of restrictive receptor for interleukin 13, a brain tumor-associated cancer/testis antigen. Mol Med. 2000 May;6(5):440-9]), 두경부 종양에서(문헌[Kawakami et al., Interleukin-13 receptor alpha2 chain in human head and neck cancer serves as a unique diagnostic marker. Clin Cancer Res. 2003 Dec 15;9(17):6381-8]), 및 흑색종에서(문헌[Beard et al., Gene expression profiling using nanostring digital RNA counting to identify potential target antigens for melanoma immunotherapy. Clin Cancer Res. 2013 Sep 15;19(18):4941-50]) 보고되었다.

[0248]

특히, IL13RA2의 과발현 및 선택적 발현의 확인(상기 포인트 (iii))을 하기와 같이 수행하였다: TCGA("The Cancer Genome Atlas"; <https://cancergenome.nih.gov/>에서 입수가능)에 의해 생성된 tissue atlas(RNA-seq 데이터 37개의 정상 조직 및 17개의 암 유형)로부터의 mRNA 데이터의 분석은, 정상 조직에서(고환 제외) IL13RA2 mRNA의 낮은 기저 수준 및 여러 종양 유형에서 IL13RA2 mRNA 발현의 높은 수준을 강조하며, 최고 발현은 교종 샘플에서 관찰되었다. IL13RA2 mRNA 발현을 Metabolic gEne RApid Visualizer(<http://merav.wi.mit.edu/>에서 입수가능, 국제 게놈 컨소시엄 및 NCBI GEO 데이터세트로부터 데이터를 분석함)를 사용하여 수행하였을 때, 동일한 결과를 수득하였고, 여기서 고환을 제외한 대부분의 정상 조직에서 매우 낮은 기저 발현, 및 흑색종 샘플, 교아종, 및 갑상선 및 췌장의 원발성 종양의 일부 샘플에서 강한 발현이 관찰되었다.

[0249]

IL13RA2는 IL13RA2 유전자에 의해 인간에서 암호화되는 막 결합된 단백질이다. 비전면 방식으로, IL13RA2는 잠재적 면역 요법 표적으로서 보고되었다(문헌[Beard et al.; Clin Cancer Res; 72(11); 2012] 참조). IL13RA2의 높은 발현은 대장암에서 침윤, 간 전이 및 불량한 예후와 추가로 연관되었다(문헌[Barderas et al.; Cancer Res; 72(11); 2012]). 따라서, IL13RA2는 드라이버 종양 항원으로서 간주될 수 있다.

[0250]

2. 선택된 종양-관련된 항원에서 하나 이상의 관심 에피토프의 선택

[0251]

다음 단계에서, 특이적으로 MHC-I에 의해 제시되는 선택된 종양-관련된 항원의 에피토프를 식별하였다. 이를 위해, (IL13RA2의) 종양-관련된 항원 서열을 프로테아좀 절단, TAP 수송, 및 웨티드 제시의 예측을 위한 MHC 클래스 I 분석 툴을 조합한 "면역 에피토프 데이터베이스 및 분석 리소스"(IEDB; <http://www.iedb.org/>; MHC-I 분석의 경우 특히: http://tools.immuneepitope.org/analyze/html/mhc_processing.html - IL13RA2 분석을 위해 사용됨, 또한 <http://tools.immuneepitope.org/processing/> 참조)에 의해 분석하였다. 즉, IL13RA2의 단백질 서열을 HLA.A2.1에 의해 제시될 수 있는 잠재적 에피토프의 식별을 위한 IEDB 분석 툴에 제출하였다. 이로써, HLA A2.1 결합 특성을 갖는 371개의 잠재적 에피토프의 목록을 수득하였다. 목록의 2개의 에피토프는 잠재적 에피토프로서 이전에 기재되었다: WLPFGFIL1(서열번호 1)(오카노(Okano) 등에 의해 기재되고 기능적으로 입증되었다)(문헌[Okano F, Storkus WJ, Chambers WH, Pollack IF, Okada H. Identification of a novel HLA-A*0201-restricted, cytotoxic T lymphocyte epitope in a human glioma-associated antigen, interleukin 13 receptor alpha2 chain. Clin Cancer Res. 2002 Sep;8(9): 2851-5]) 및 LLDTNYNLF(서열번호 2)(흑색종 웨티드(peptidome) 연구에서 밝혀진 바와 같이 IEDB 데이터베이스에서 보고됨)(문헌[Gloge et al., Mass spectrometric analysis of the HLA class I peptidome of melanoma cell lines as a promising tool for the

identification of putative tumor-associated HLA epitopes. Cancer Immunol Immunother. 2016 Nov;65(11):1377-1393].

[0252] 종양 세포의 표면에서 MHC에 의해 효율적으로 제시될 수 있는 좋은 기회를 갖는 에피토프를 식별하기 위해, HLA A2.1 결합 특성을 갖는 371개의 잠재적 에피토프의 목록에서, HLA A2.1에 대한 371개의 후보자 에피토프의 인실리코 친화도를 NetMHCpan 3.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCpan/>)을 사용하여 계산하였다(이때 최대 허용되는 친화도(IC50)는 3000 nM이다). 이로써, 54개의 IL13RA2 에피토프의 목록을 수득하였다.

[0253] 3. 인간 미생물 유전체에서 선택된 에피토프의 박테리아 서열 변이체의 식별

[0254] 최종적으로, 54개의 선택된 IL13RA2-에피토프를, 54개의 선택된 인간 IL13RA2-에피토프의 미생물 서열 변이체를 식별하기 위해 "인간 소화관 미생물 유전체의 통합된 참고 카탈로그"(<http://meta.genomics.cn/meta/home>에서 입수 가능)와 비교하였다. 이를 위해, 단백질 BLAST 조사(blastp)를 "PAM-30" 단백질 치환 매트릭스를 사용하여 수행하였으며, 이는 시간에 따른 부위 당 아미노산 변화의 비를 기술하고 35개 이하의 아미노산의 길이를 갖는 쿼리에 대해 권장된다; 2의 단어 크기(또한 짧은 쿼리에 대해 제안됨); 20000000의 예상 값(E)(가능한 매치의 수를 최대화하도록 조정됨); '0'으로 설정된 조성-기반-통계(이는 30개의 아미노산보다 짧은 인풋 서열이며 이는 캡이 없는 정렬만 허용한다). 이후에, blastp 결과를 필터링하여 인간 웨티드의 시작부 및/또는 말단부에서만 미스매치를 허용하는, (HLA-A2.1에 대한 결합을 위한) 9개의 아미노산의 길이를 갖는 미생물 웨티드 서열을 베타적으로 수득하였고, 여기서 서열 당 최대 2개의 미스매치가 허용된다. 이로써, 514개의 박테리아 서열의 목록(노나웨티드, 9개의 아미노산의 길이를 필터로서 사용하였다)을 수득하였고, 이는 인간 미생물 유전체에서 선택된 IL13RA2 에피토프의 박테리아 서열 변이체로 이루어졌다.

실시예 2: MHC에 대한 선택된 박테리아 서열 변이체의 결합 시험

[0255] MHC 분자에 대한 미생물 모방체의 결합이 세포 독성 T 세포에 대한 항원 제시에 필수적이기 때문에, MHC 클래스 I HLA.A2.01에 대한 514개의 박테리아 서열의 친화도를 NetMHCpan 3.0 툴(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCpan/>)을 사용하여 계산하였다. 이러한 툴은 인간(HLA-A, B, C, E) 및 다른 종의 172개의 MHC 분자를 포함하는 180000개 초과의 정량적 결합 데이터에 대해 훈련되어 있다. 514개의 박테리아 서열(실시예 1의 blastp 결과)를 인풋으로서 사용하였고, 친화도를 강한 바인더 및 약한 바인더에 대한 기본 임계값을 설정함으로써 예측하였다. 400000개의 랜덤 친연 웨티드 세트와 비교한 예측된 친화도의 순위를 결합 친화도의 척도로서 사용하였다. 이러한 값은 높거나 낮은 평균 예측된 친화도에 대한 특정 분자의 고유한 편향에 영향을 받지 않는다. 매우 강한 바인더는 0.5 미만의 %순위를 갖는 것으로 정의되고, 강한 바인더는 0.5 이상 내지 1.0 미만의 %순위를 갖는 것으로 정의되고, 중간 바인더는 1.0 이상 내지 2.0 이하의 %순위를 갖는 것으로 정의되고(특히, 중간 바인더는 1.0 이상 내지 1.5 미만의 %순위를 갖는 것으로 정의되는 "중간 내지 강한" 바인더를 포함한다), 약한 바인더는 2.0 미만의 %순위를 갖는 것으로 정의된다. 즉, 514개의 박테리아 서열로부터, 매우 강한 친화도(%순위 < 0.5)를 나타내는 것만이 선택되었고, 여기서 인간 기준 에피토프는 (인간 웨티드에 대해) 적어도 중간 내지 강한 친화도(%순위 < 1.5)를 나타내고, 바람직하게는 여기서 인간 기준 에피토프는 (인간 웨티드에 대해) 적어도 강한 친화도(%순위 < 1)를 나타낸다.

[0256] 이로써, 하기 13개의 박테리아 서열 변이체(웨티드 1 내지 웨티드 13)가 식별되었다(표 3).

표 3

| 박테리아 웨티드, 서열 번호 | 인간 기준 에피토프, 서열 번호 | 친화도 인간 웨티드 %순위 | 친화도 인간 웨티드 [nM] | 친화도 박테리아 웨티드 %순위 | 친화도 박테리아 웨티드 [nM] |
|-----------------|-------------------|----------------|-----------------|------------------|-------------------|
| 6 | 3 | 1.3 | 143.467 | 0.18 | 13.5048 |
| 7 | 3 | 1.3 | 143.467 | 0.06 | 6.6623 |
| 8 | 3 | 1.3 | 143.467 | 0.20 | 16.0441 |
| 9 | 4 | 0.5 | 35.5261 | 0.01 | 2.8783 |
| 10 | 4 | 0.5 | 35.5261 | 0.02 | 3.6789 |
| 11 | 4 | 0.5 | 35.5261 | 0.04 | 5.0586 |
| 12 | 4 | 0.5 | 35.5261 | 0.05 | 5.8467 |
| 13 | 4 | 0.5 | 35.5261 | 0.18 | 13.3325 |
| 14 | 4 | 0.5 | 35.5261 | 0.40 | 25.3124 |
| 15 | 5 | 0.09 | 8.0315 | 0.04 | 5.5211 |
| 16 | 5 | 0.09 | 8.0315 | 0.40 | 26.9535 |

| | | | | | |
|----|---|------|---------|------|---------|
| 17 | 5 | 0.09 | 8.0315 | 0.40 | 26.9535 |
| 18 | 1 | 0.8 | 66.1889 | 0.08 | 7.4445 |

[0259] 실시예 3: 선택된 박테리아 서열 변이체를 포함하는 박테리아 단백질의 애노테이션 및 세포 국소화의 결정

[0260] 다음으로, 선택된 박테리아 에피토프 서열 변이체를 함유하는 박테리아 단백질의 애노테이션을 수행하였다. 이를 위해, 교토 유전자 및 게놈 백과사전(KEGG)(<http://www.genome.jp/kegg/>) 및 미국 국립 생물공학정보 센터(NCBI) 기준 서열 데이터베이스(RefSeq)(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>) 둘 모두에 대한 blast-기반 비교를 수행하였다. RefSeq는 게놈 DNA, 전사체 및 단백질을 포함하는, 통합되고 중복되지 않은 서열 세트를 제공한다. KEGG에서, KO(KEGG 오솔로지) 데이터베이스에 저장된 분자-수준 기능이 사용될 수 있다. 이러한 기능은 공통 선조로부터 진화한 상이한 종의 유전자에 의해 암호화되는 단백질을 함유하는 오쏘로그의 군으로 분류된다.

[0261] 다음 단계에서, 선택된 박테리아 에피토프 서열 변이체를 함유하는 박테리아 단백질의 세포 국소화의 예측을 2개의 상이한 절차를 사용하여 수행하였고, 이후에 컨센서스 예측을 포함하는, 웨티드-함유 단백질의 목록을 전달한다. 먼저, 신호 웨티드의 존재의 예측을 기반으로 세포내 또는 세포외 단백질을 식별하는 둘로 갈리는 조사 전략을 수행하였다. 신호 웨티드는 진핵생물에서 세포질 막을 가로지르는 전좌를 위한 이의 패신저 단백질을 표적화하는 보편적인 단백질-분류 신호이다. 이에 있어서, SignalP 4.1(www.cbs.dtu.dk/services/SignalP) 및 포비어스 서버(phobius.sbc.su.se) 둘 모두를 사용하여 컨센서스 예측을 전달한다. 신호 웨티드의 존재가 2개의 접근법에 의해 검출되는 경우, 이는 단백질이 세포외 또는 세포질에 존재할 가능성이 있는 것으로 해석되었다. 그렇지 않은 경우, 단백질은 아마 외막/내막에 속하거나 세포질에 존재한다. 두번째로, 막관통 토플로지의 예측이 수행된다. 신호 웨티드 및 막관통 도메인 둘 모두는 소수성이나, 막관통 나선은 전형적으로 보다 긴 소수성 영역을 갖는다. SignalP 4.1 및 포비어스는 신호 웨티드를 막관통 도메인과 구별하는 능력을 갖는다. 2개의 예측된 막관통 나선의 최소 수는 막과 세포질 단백질 사이를 구별하도록 설정되어 최종 컨센서스 리스트를 전달한다. 박테리아 단백질의 잠재적 세포 국소화에 관한 데이터는 면역원성 웨티드는 선택에 관심이 있으며, 분비된 엑소좀에 함유되는 분비된 성분 또는 단백질이 APC에 의해 보다 제시되기 쉬운 것을 추정한다.

[0262] 표 4는 표 4에 나타낸 13개의 박테리아 웨티드를 함유하는 박테리아 단백질의 서열번호, 이의 애노테이션 및 세포 국소화를 보여준다.

표 4

| 박테리아 펩티드, 서 열번호 | 박테리아 단백질 서 열번호 | 문 | 속 | 종 | Kegg 오출 로지 | 컨센서스 세포 국소화 |
|-----------------------|----------------------|----------------------------|--|---|---------------|----------------|
| 6 | 19 | 후벽균 (Firmicutes) | 라크노클로스 트리듐 (Lachnoclostridi um) | 라크노클로스 트리듐 피토페 르멘타스 (Lachnoclostridi um phytofermentans) | K01190 | 막관통 없음 |
| 7 | 20 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 막관통 없음 |
| 8 | 21 | 후벽균 | 락토바실러스 (Lactobacillus) | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 막관통 |
| 9 | 22 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 막관통 없음 |
| 10 | 23 | 후벽균 | 루미노코커스 | 루미노코커스 종 5_1_39BFAA | K07315 | 막관통 없음 |
| 11 | 24 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 막관통 없음 |
| 12 | 25 | 후벽균 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K19002 | 막관통 없음 |
| 13 | 26 | 의간균 (Bacteroidetes) | 박테로이데스 (Bacteroides) | 박테로이데스 프라길리스 (Bacteroides fragilis) | 공지되지 않음 | 막관통 없음 |
| 14 | 27 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K01992 | 막관통 |
| 15 | 28 | 후벽균 | 코프로바실러 스 (Coprobacillus) | 코프로바실러 스 종 8_1_38FAA | K07636 | 막관통 없음 |
| 16 | 29 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 막관통 없음 |
| 17 | 30 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 막관통 없음 |
| 18 | 31 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K19427 | 막관통 |

[0263]

[0264] 표 3 및 4의 데이터를 기반으로, 서열번호 1에 따른 인간 IL13RA2 기준 에피토프(WLPFGFIL, 표 2 참조; 본원에서 "IL13RA2-H"로도 지칭됨)의 서열 변이체인, 서열번호 18에 따른 박테리아 펩티드(아미노산 서열: FLPFGFILV; 본원에서 "IL13RA2-B"로도 지칭됨)를 추가적 연구를 위해 선택하였다. 실질적으로, 인간 기준 에피토프는 중간 친화도를 가지며, 종양 세포의 표면에서 제시된다. 이러한 MHC 제시를 여러 공개된 연구에서 확인하였다(문헌 [Okano et al., Identification of a novel HLA-A*0201-restricted, cytotoxic T lymphocyte epitope in a human glioma-associated antigen, interleukin 13 receptor alpha2 chain. Clin Cancer Res. 2002 Sep;8(9):2851-5]).

[0265]

박테리아 서열 변이체(서열번호 18)는 HLA.A2.01에 대한 매우 강한 결합 친화도를 갖는다. 또한, 이러한 박테리아 펩티드 서열 변이체는 박테리아 단백질에 포함되며, 이는 막관통 수준에서 발현되어, MHC 제시를 위한 항원-제시 세포(APC)에 의해 포착될 액소좀의 부분으로 정의되는 확률을 증가시키는 것으로 예측된다.

[0266]

실시예 4: 박테리아 펩티드 IL13RA2-B(서열번호 18)는 인간 에피토프 IL13RA2-H(서열번호 1)보다 우수한 HLA-A*0201 대립유전자에 대한 시험관내 친화도를 갖는다.

[0267]

본 실시예는 서열번호 18의 박테리아 펩티드(FLPFGFILV; 본원에서 "IL13RA2-B"로도 지칭됨)가 HLA-A*0201 대립 유전자에 대한 높은 시험관내 친화도를 가지는 반면에, IL13RA2로부터 유래된 상응하는 기준 인간 펩티드(WLPFGFIL, 서열번호 1, 본원에서 "IL13RA2-H"로도 지칭됨)는 낮은 친화도를 갖는 것을 입증한다.

[0268]

A. 재료 및 방법

[0269] A.1. T2 세포주에 대한 펩티드의 친화도 측정

[0270] 실험 프로토콜은 HLA-A*0201에 의해 제시된 펩티드에 대해 인증된 것과 유사하다(문헌[Tourdot et al., A general strategy to enhance immunogenicity of low-affinity HLA-A2.1-associated peptides: implication in the identification of cryptic tumor epitopes. Eur J Immunol. 2000 Dec; 30(12):3411-21]). 펩티드의 친화도 측정을 HLA-A*0201 분자를 발현하나 TAP1/2 음성이고 내인성 펩티드를 제시할 수 없는 인간 종양 세포 T2를 사용하여 수행하였다.

[0271] T2 세포($2 \cdot 10^5$ 세포/웰)를 $100 \text{ ng}/\mu\text{l}$ 의 인간 $\beta 2\text{m}\alpha$ 보충된 AIMV 배지에서 37°C 에서 16시간 동안 펩티드의 농도를 $100 \mu\text{M}$ 에서 $0.1 \mu\text{M}$ 로 감소시키면서 항온처리하였다. 이어서, 세포를 2회 세척하고 PE에 커플링된 항-HLA-A2 항체로 표시하였다(클론 BB7.2, 비디 파밍겐(BD Pharmingen)).

[0272] 분석을 FACS(구아바 이지 사이트(Guava Easy Cyte))에 의해 수행하였다. 각각의 펩티드 농도에 대하여, 관심 펩티드에 연관된 라벨링의 기하 평균을 백그라운드 노이즈로부터 감하고 $100 \mu\text{M}$ 의 농도에서 기준 펩티드 HIV pol 589-597에 대해 수득된 HLA-A*0202 라벨링의 기하 평균의 백분율로서 보고하였다. 이어서, 상대 친화도를 하기와 같이 결정한다:

[0273] 상대 친화도 = HLA-A*0201의 발현의 20%를 유발하는 각각의 펩티드의 농도 / HLA-A*0201의 발현의 20%를 유발하는 기준 펩티드의 농도.

[0274] A.2. 펩티드의 가용화

[0275] 각각의 펩티드를 아미노산 조성을 고려하여 가용화시켰다. 임의의 시스테인, 메티오닌 또는 트립토판을 포함하지 않는 펩티드의 경우, DMSO의 첨가가 전체 부피의 10% 이하까지 가능하다. 다른 펩티드는 물 또는 PBS(pH 7.4)에 재현탁된다.

[0276] B. 결과

[0277] T2 세포의 경우: 다양한 펩티드 농도에 대한 평균 형광 강도: 커플 IL13RA2 펩티드(IL13RA2-H 및 IL13RA2-B)에 관하여, 인간 펩티드는 HLA-A*0201에 결합하지 않는 반면에, 박테리아 펩티드 IL13RA2-B는 HLA-A*0201에 강하게 결합한다: $100 \mu\text{M}$ 에서 $112.03 \text{ vs } 18.64$; $10 \mu\text{M}$ 에서 $40.77 \text{ vs } 11.61$; $1 \mu\text{M}$ 에서 $12.18 \text{ vs } 9.41$; $0.1 \mu\text{M}$ 에서 $9.9 \text{ vs } 7.46$. 또한, $4.4 \mu\text{M}$ 에서 IL13RA2-B는 HLA-A*0201의 발현의 20%를 유발한다(IL13RA2-H의 경우 $100 \mu\text{M}$).

[0278] 유사한 결과를 제2의 별개의 T2 세포 클론으로부터 수득하였다.

[0279] 실시예 5: 박테리아 펩티드 IL13RA2-B(서열번호 18)는 HLA-A*0201 대립유전자에 대한 우수한 시험관내 친화도를 갖는다.

[0280] 본 실시예는, 서열번호 18의 박테리아 펩티드(FLPFGFILV; 본원에서 "IL13RA2-B"로도 지칭됨)가 IL13RA2로부터 유래된 상응하는 기준 인간 펩티드(WLPFGFILI, 서열번호 1, 본원에서 "IL13RA2-H"로도 지칭됨)의 다른 서열 변이체보다 높은 HLA-A*0201 대립유전자에 대한 친화도를 갖는 것을 입증한다. 본 실험에서, 서열번호 18의 박테리아 펩티드(FLPFGFILV; 본원에서 "IL13RA2-B"로도 지칭됨)를 하기와 비교하였다:

[0281] - 문헌[Eguchi Junichi et al., 2006, Identification of interleukin-13 receptor alpha 2 peptide analogues capable of inducing improved antglioma CTL responses. Cancer Research 66(11): 5883-5891]에 기재된 바와 같은, 서열번호 1의 위치 1의 트립토판이 알라닌으로 치환되고(1A), 서열번호 1의 위치 9의 이소류신이 발린으로 치환된(9V), 펩티드 "1A9V";

[0282] - 서열번호 1의 위치 1의 트립토판이 이소류신으로 치환되고(1I) 서열번호 1의 위치 9의 이소류신이 알라닌으로 치환된(9A), 펩티드 "1I9A"; 및

[0283] - 서열번호 1의 위치 1의 트립토판이 페닐알라닌으로 치환되고(1F) 서열번호 1의 위치 9의 이소류신이 메티오닌으로 치환된(9M), 펩티드 "1F9M".

[0284] A. 재료 및 방법

[0285] 실험 프로토콜, 재료 및 방법은 실시예 4에 개괄된 것에 상응하나, 상기 언급된 항원 펩티드를 사용한 점만이 다르다.

[0286] B. 결과

[0287] 하기 시험관내 결합 친화도를 수득하였다(표 5).

표 5

[0288]

| 펩티드 | 시험관내 결합 친화도 |
|---------------------|-------------|
| IL13RA2-B (서열번호 18) | 0.49 |
| 1A9V | 3.06 |
| 119A | 2.22 |
| 1F9M | 2.62 |

[0289]

따라서, 본 발명에 따른 항원 펩티드(IL13RA2-B(서열번호 31))는 시험된 모든 다른 펩티드보다 상당히 높은 HLA-A*0201에 대한 결합 친화도를 나타낸 반면에, 문헌[Eguchi Junichi et al., 2006, Identification of interleukin-13 receptor alpha 2 peptide analogues capable of inducing improved antglioma CTL responses. Cancer Research 66(11): 5883-5891]에 기재된 바와 같은 펩티드 "1A9V"는 시험된 펩티드 중 최저 친화도를 나타냈다.

[0290]

실시예 6: 마우스를 박테리아 펩티드 IL13RA2-B(서열번호 18)에 의해 백신 접종시키는 것은 ELISPOT-IFN γ 분석에서 개선된 T 세포 반응을 유발한다.

[0291]

A. 재료 및 방법

[0292]

A.1. 마우스 모델

[0293]

사용된 모델의 특징을 하기 표 6에 개괄하였다.

표 6

[0294]

| | |
|--------|--|
| 마우스 모델 | C57BL/6J B2m ^{tm1Unc} IAb ^{-/-} Tg(HLA-DRA HLA-DRB1*0301) ^{#Gjh} Tg(HLA-A/H2-D/B2M) ^{1Bpe} |
| 두문자어 | β /A2/DR3 |
| 설명 | 면역적격, 마우스 클래스 I 및 클래스 II MHC 없음 |
| 하우징 | SOPF 조건(ABSL3) |
| 마우스의 수 | 다 자란 24마리(8주령 초과) |

[0295]

이들 마우스는 여러 보고서에 기재되어 있다(문헌[Koller et al., Normal development of mice deficient in beta 2M, MHC class I proteins, and CD8+ T cells. Science. 1990 Jun 8;248(4960):1227-30]; [Cosgrove et al., Mice lacking MHC class II molecules. Cell. 1991 Sep 6;66(5):1051-66]; [Pascolo et al., HLA-A2.1-restricted education and cytolytic activity of CD8(+) T lymphocytes from beta2 microglobulin (beta2m) HLA-A2.1 monochain transgenic H-2Db beta2m double knockout mice. J Exp Med. 1997 Jun 16;185(12):2043-51]).

[0296]

A.2. 면역 계획

[0297]

면역 계획은 도 1에 도시되어 있다. 간략히, 14마리의 β /A2/DR3 마우스를 무작위로 (마우스 성별 및 연령을 기준으로) 2개의 실험군에 배정하고, 각각을 공통 헬퍼 펩티드(h-pAg)와 조합된 특정 백신 접종 펩티드(vacc-pAg)로 면역시켰다(하기 표 7에 개괄됨). vacc-pAg를 커플로 비교하였다(군 1 대 군 2). 이로써, 단일 펩티드의 천연 및 최적화된 버전 모두를 각각의 파에서 비교하였다.

표 7

[0298]

실험군 조성. h-pAg: '헬퍼' 펩티드; vacc-pAg: 백신 접종 펩티드. 부스트 주사의 수는 괄호 안에 표시되어 있다.

| 군 | 펩티드 (vacc-pAg) | 헬퍼 (h-pAg) | 기본 | 부스트 | 동물 수 |
|---|--------------------------------|-------------------------------|----|--------|------|
| 1 | IL3RA2-B (100 μ g) 서열번호 18 | HHD-DR3 (150 μ g) 서열번호 32 | + | + (1X) | 6 |

| | | | | | |
|---|----------------------------------|----------------------------------|---|--------|---|
| 2 | IL3RA2-H (100 μ g) 서열번호 1 | HHD-DR3 (150 μ g) 서열번호 32 | + | + (1X) | 6 |
|---|----------------------------------|----------------------------------|---|--------|---|

[0299] 웹티드를 하기와 같이 제공하였다:

[0300] · vacc-pAg의 커플: IL13RA2-H 및 IL13RA2-B; 모두 4 mg/ml(4 mM) 농도로 생산되고 제공됨;

[0301] · h-pAg: HHD-DR3 웹티드(서열번호 32); 동결건조되고(50.6 mg; 유로젠텍(Eurogentec) 배취 1611166) 순수한 증류수에 10 mg/mL 농도로 재현탁된 상태로 제공됨.

[0302] 동물을 제0일(d0)에 기본 주사로 면역시키고 d14에 부스트 주사로 면역시켰다. 각각의 마우스에게 하기를 함유하는 100 μ L의 유성 유화액을 꼬리 맨 아래 부분에 피하 주사하였다:

[0303] · 100 μ g의 vacc-pAg(마우스 당 25 μ L의 4 mg/mL 스톡);

[0304] · 150 μ g의 h-pAg(마우스 당 15 μ L의 10 mg/mL 스톱);

[0305] · 50 μ L의 총 부피에 도달시키는 10 μ L의 PBS(마우스 당);

[0306] · 1:1(v:v) 비로 첨가된 불완전 프로이드 보조제(IFN)(마우스 당 50 μ L).

[0307] 하기와 같이, 별개의 유화액을 각각의 vacc-pAg에 대해 제조하였다: IFN 시약을 15 mL 투브에서 vacc-pAg/h-pAg/PBS 혼합물에 첨가하고 농후한 유화액을 형성할 때까지 볼텍스 상에서 1분의 반복된 주기 동안 혼합하였다.

A.3. 마우스 분석

[0309] 부스트 주사 7일 후에(즉, d21에), 동물을 안락사시키고, 비장을 채취하였다. 비장 세포를, 기관의 기계적 분열 후에, 70 μ m-여과 및 Ficoll 밀도 구배 정제에 의해 준비하였다.

[0310] 비장 세포를 ELISPOT-IFN γ 분석에서 즉시 사용하였다(표 8). 실험 조건을, 웰 당 2×10^5 개의 총 비장 세포를 사용하여, 4회 실험으로 반복하고, vacc-pAg(10 μ M) 또는 콘카나발린 A(ConA, 2.5 μ g/mL)의 존재 하에, 또는 배지만 존재 하에 배양하여 이의 IFN γ 분비 능력을 평가하였다. 상업적 ELISPOT-IFN γ 키트(디아클론 키트 뮤즈린(Diaclone Kit MuJrine) IFN γ ELISPOT)를 제조사의 지시에 따라 사용하고, 분석을 약 16시간의 항온처리 후에 수행하였다.

표 8

ELISPOT-IFN γ 분석의 셋업

| 군 | 자극 | 웰 | 동물 | 총 |
|---|--------------------------------|---|----|----|
| 1 | IL13RA2-B (10 μ M) 서열번호 18 | 4 | 6 | 24 |
| | IL13RA2-H (10 μ M) 서열번호 1 | 4 | 6 | 24 |
| | ConA(2.5 μ g/ml) | 4 | 6 | 24 |
| | 배지 | 4 | 6 | 24 |
| 2 | IL13RA2-B (10 μ M) 서열번호 18 | 4 | 6 | 24 |
| | IL13RA2-H (10 μ M) 서열번호 1 | 4 | 6 | 24 |
| | ConA(2.5 μ g/ml) | 4 | 6 | 24 |
| | 배지 | 4 | 6 | 24 |

[0312] 스팟을, 이뮤노스팟(ImmunoSpot) 5.4 소프트웨어에 접속된 그랜드 이뮤노스팟(Grand ImmunoSpot, 등록상표) S6 얼티밋 UV 이미지 애널라이저(Ultimate UV Image Analyzer)(CTL-유럽) 상에 계수하였다. 데이터 플로팅 및 통계 분석을 프리즘-5 소프트웨어(그래프패드 소프트웨어 인코포레이티드(GraphPad Software Inc.))를 사용하여 수행하였다.

[0313] 세포 혼탁액을 T 세포수 정규화를 위해 유세포 분석법에 의해 분석하였다. 단클론 항체 칵테일(데이터는 제시되지 않음)을 정제된 백혈구 상에 뮤린(1:10 희석된 '항-mCD16/CD32 CF11 클론' - 내부 소스) Fc 수용체를 표적화하는 Fc-차단 시약의 존재 하에 적용하였다. 항온처리를 96-웰 플레이트에서 암(dark)에서 4°C에서 15 내지 120분 동안 수행하였다. 세포를 염색 후에 원심분리에 의해 세척하여 과량의 단클론 항체 칵테일을 제거하고, 데이터 획득을 위해 PBS에 재현탁하였다.

[0314] 모든 데이터 획득을 FACS-Diva 소프트웨어에 접속된 LSR-II Fortessa 유세포 측정기(비디 바이오사이언스(BD Bioscience))를 사용하여 수행하였다. 데이터 분석을 게이팅(gating) 전략(나타내지 않음)을 사용하는 FlowJo-9 소프트웨어(트리스타 인코포레이티드(TreeStar Inc.))를 사용하여 수행하였다.

표 9

FACS 패널 EXP-1

| 표적 | 라벨 | 클론 | 제공업체 | 희석 |
|----------|------|----------|-------------------|-------|
| mCD3 ε γ | FITC | 145-2C11 | 바이오레전드(Biolegend) | 1/100 |
| mCD4 | PE | RM4-5 | 바이오레전드 | 1/100 |
| mCD8 α | APC | 53-6, 7 | 바이오레전드 | 1/100 |

[0316] B. 결과

[0317] 총 14마리의 β/A2/DR3 마우스를 본 실험에서 사용하였다(표 8 참조). 희생시, 비장 T 세포 집단을 유세포 분석법에 의해 분석하였고, 이는 대부분이 CD4+ T 세포 서브세트에 속해 있음을 보여준다.

표 10

개별적 마우스 특징(군 1 및 2). 각각의 마우스는 고유의 귀 태그 ID 번호에 의해 확인된다. ^a 백신 접종 프로토콜의 개시시 연령(단위: 주); ^b 전체 백혈구에서 T 세포의 백분율; ^c 전체 T 세포에서 CD4+ 또는 CD8+ T 세포의 백분율; ^d 플레인트(P) 번호.

| 마우스 ID | 성별 | 연령 ^a (주) | 군(pAg) | T 세포 ^b (%) | T4 ^c (%) | T8 ^c (%) | 주 ^d |
|--------|----|---------------------|---------------|-----------------------|---------------------|---------------------|----------------|
| 826 | M | 14 | 1 (IL13RA2-B) | 18.6 | 72.0 | 13.7 | P1/2 |
| 827 | M | 14 | 1 (IL13RA2-B) | 21.1 | 82.5 | 8.7 | P1/2 |
| 828 | M | 14 | 1 (IL13RA2-B) | 20.9 | 78.4 | 8.6 | P1/2 |
| 829 | F | 15 | 1 (IL13RA2-B) | 23.8 | 67.0 | 17.5 | P1/2 |
| 830 | F | 15 | 1 (IL13RA2-B) | 29.2 | 73.3 | 12.5 | P1/2 |
| 831 | F | 15 | 1 (IL13RA2-B) | N.A. | N.A. | N.A. | ID 태그 분실(배제됨) |
| 17 | M | 9 | 1 (IL13RA2-B) | 8.3 | 83.7 | 10.4 | P5 |
| 832 | F | 15 | 2 (IL13RA2-H) | 28.3 | 83.4 | 5.7 | P1/2 |
| 833 | F | 15 | 2 (IL13RA2-H) | N.A. | N.A. | N.A. | ID 태그 분실(배제됨) |
| 834 | F | 15 | 2 (IL13RA2-H) | 27.5 | 79.7 | 7.2 | P1/2 |
| 835 | M | 13 | 2 (IL13RA2-H) | 33.8 | 84.2 | 8.5 | P1/2 |
| 836 | M | 13 | 2 (IL13RA2-H) | 31.4 | 84.7 | 6.3 | P1/2 |
| 837 | M | 15 | 2 (IL13RA2-H) | 30.8 | 83.4 | 5.4 | P1/2 |
| 18 | M | 9 | 2 (IL13RA2-H) | 11.2 | 85.9 | 9.2 | P5 |

[0318]

[0319] 적절한 자극과 함께 플레이팅하고 항온처리한 후에, IFN γ-생산 세포가 표면화되었고, 이를 계수하였다. 이어서, 데이터를 10^6 개의 총 T 세포 당 특정 스팟의 수('배지만 존재' 조건에서 수득된 평균 수를 감함)로서 정규화하였다.

[0320] 개별적 평균 값(4회 실험으로부터 수득됨)을 다음으로 군 평균 값을 플로팅하는 데 사용하였다(도 3A 참조). T 세포의 기능적 능력이 개체마다 다를 수 있는 것과 같이, 데이터를 또한 개체 당 ConA 반응의 백분율로서 표현하였다(도 3B 참조).

[0321] 종합적으로, IL13RA2-B pAg 박테리아 웹티드에 의한 백신 접종은, IL13RA2-H pA(기준 인간)-백신 접종시킨 동물(군 2)과 비교하여, ELISPOT-IFN γ 분석에서 개선된 T 세포 반응을 유발하였다. 군 1(IL13RA2-B)의 경우, IL13RA2-B pAg에 의한 생체외 재자극은 IL13RA2-H pAg에 의한 것보다 높은 반응을 촉진하였다. 군 2(IL13RA2-

H)의 경우는 그렇지 않았다. 각각의 조건에 대한 ConA-유발된 반응의 백분율(평균 +/- SEM)은 하기와 같았다:

- 군 1 (IL13RA2-B) / IL13RA2-B pAg: 56.3% +/- 18.1
- 군 1 (IL13RA2-B) / IL13RA2-H pAg: 32.3% +/- 11.8
- 군 2 (IL13RA2-H) / IL13RA2-B pAg: 2.0% +/- 0.8
- 군 2 (IL13RA2-H) / IL13RA2-H pAg: 1.1% +/- 0.8

따라서, 이러한 결과는, IL13RA2를 표적화하는 종양-항원 면역 요법이 생체내 T 세포 반응을 개선할 수 있고, 실시예 1 내지 3에 개발된 바와 같이 식별되는 IL13RA2-B 박테리아 펩티드(서열번호 18)가 이러한 목적을 위해 특히 효율적인 것의 실험 증거를 제공한다.

[0327] 실시예 7: 박테리아 펩티드 IL13RA2-B(서열번호 18)는 종양 세포에 대한 시험관내 세포 독성을 제공한다.

본 실시예는, 서열번호 18의 박테리아 펩티드(FLPFGFILV; 본원에서 "IL13RA2-B"로도 지칭됨)가, IL13RA2를 발현하는 종양 세포인 U87 세포에 대한 시험관내 세포 독성을 제공한다는 증거를 제공한다. 대조적으로, IL13RA2로부터 유래된 상응하는 기준 인간 펩티드(WLPGFIL, 서열번호 1, 본원에서 "IL13RA2-H"로도 지칭됨)는 U87 세포에 대한 시험관내 세포 독성을 제공하지 않는다.

[0329] A. 방법

간략히, IL13RA2-H 또는 IL13RA2-H로 면역시킨 마우스의 CD8 T 세포를 사용하였다. 이들 세포를, 면역시킨 마우스의 비장 세포의 분류 후에 수득하였고, U87 세포(IL13RA2를 발현하는 종양 세포)의 상부에 위치시켰다.

보다 상세히, CD3⁺ T 세포를, IL13RA2-H(WLPGFIL, 서열번호 1) 또는 IL13RA2-B(FLPFGFILV, 서열번호 18)로 면역시킨 HHD 마우스의 비장 세포로부터 정제하였다. 이를 위해, B6 β2m^{ko} HHD/DR3 마우스에게, 실시예 6에 기재된 바와 같이, 제0일 및 제14일에 백신 접종 펩티드 + 헬퍼 펩티드 + CFA(완전 프로이드 보조제)를 함유하는 100 μL의 유성 유화액으로 꼬리 맨 아래 부분에 피하 주사하였다. d21에, 부스트 주사 7일 후에, 동물을 안락 사시키고, 비장을 채취하였다. 비장 세포를 기관의 기계적 분열에 의해 준비하였다. CD3+ 정제를 권고되는 절차를 사용하여 마우스 전체 T 세포 단리 키트(밀테나이 바이오테크(Miltenyi biotec))를 사용하여 수행하였다. 세포의 효율적인 정제 및 생존능을 생존능에 대한 적절한 마커 CD8, CD4, CD3 및 CD45를 사용하여 세포 분석법에 의해 입증하였다.

[0332] U87-MG 세포를 6×10^5 세포/웰로 평저 24-웰 배양 플레이트에 시팅하고 24시간 동안 37°C에서 FCS(fetal calf serum) 및 항생제를 함유하는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium)에서 항온처리하였다. 24시간 후에, 배양 배지를 제거하고 정제된 T CD3+ 세포를 함유하는 배지로 교체하였다. 하기 비의 T 세포 대 U87-MG 세포가 사용되었다: 1/0.5, 1/1 및 1/5.

[0333] U87-MG 세포 및 CD3+ T 세포의 공동-배양 72시간 후에, 웰의 모든 세포를 채취하고, 특정 U87-MG 세포 사멸을 CD45 음성 세포를 DAPI 및 형광 아렉신(annexin) V에 의해 면역 염색시킨 후에 평가한 후에, 세포 분석하였다.

[0334] B. 결과

결과를 도 3에 나타냈다. 일반적으로, U87 세포 용해가 IL13RA2-H에 의한 처리가 아닌 IL13RA2-B에 의한 처리 후에 관찰되었다.

[0336] 실시예 8: 인간 미생물 유전체에서 종양-관련된 항원 FOXM1의 에피토프의 박테리아 서열 변이체의 식별

본 실시예에서, 600개의 항원 중에서, 포크헤드 박스 M1(FOXM1)을 하기 사실을 기반으로 선택하였다: (i) FOXM1은 CTL(세포 독성 T 럼프구) 에피토프로서 식별되는 에피토프를 포함한다(문헌Yokomine K, Senju S, Nakatsura T, Irie A, Hayashida Y, Ikuta Y, Harao M, Imai K, Baba H, Iwase H, Nomori H, Takahashi K, Daigo Y, Tsunoda T, Nakamura Y, Sasaki Y, Nishimura Y. The forkhead box M1 transcription factor as a candidate of target for anti-cancer immunotherapy. Int J Cancer. 2010 May 1;126(9):2153-63. doi: 10.1002/ijc.24836]); (ii) FOXM1은 유전자 발현으로부터 데이터를 분석하는 여러 데이터베이스(GEPIA, Gent, Metabolic gene visualizer 및 protein Atlas를 포함함)에서 많은 종양에서 과발현되는 것으로 밝혀졌다(마이크로 어레이 연구); 및 (iii) 과발현은 또한 뇌 종양에서(문헌[Hodgson JG, Yeh RF, Ray A, Wang NJ, Smirnov I, Yu M, Hariono S, Silber J, Feiler HS, Gray JW, Spellman PT, Vandenberg SR, Berger MS, James CD

Comparative analyses of gene copy number and mRNA expression in glioblastoma multiforme tumors and xenografts. Neuro Oncol. 2009 Oct;11(5):477-87. doi: 10.1215/15228517-2008-113], 훼장 종양에서(문헌[Xia JT, Wang H, Liang LJ, Peng BG, Wu ZF, Chen LZ, Xue L, Li Z, Li W. Overexpression of FOXM1 is associated with poor prognosis and clinicopathologic stage of pancreatic ductal adenocarcinoma. Pancreas. 2012 May;41(4):629-35. doi: 10.1097/MPA.0b013e31823bcef2]), 난소암에서(문헌[Wen N, Wang Y, Wen L, Zhao SH, Ai ZH, Wang Y, Wu B, Lu HX, Yang H, Liu WC, Li Y. Overexpression of FOXM1 predicts poor prognosis and promotes cancer cell proliferation, migration and invasion in epithelial ovarian cancer. J Transl Med. 2014 May 20;12:134. doi: 10.1186/1479-5876-12-134]), 대장암에서(문헌[Zhang HG, Xu XW, Shi XP, Han BW, Li ZH, Ren WH, Chen PJ, Lou YF, Li B, Luo XY. Overexpression of forkhead box protein M1 (FOXM1) plays a critical role in colorectal cancer. Clin Transl Oncol. 2016 May;18(5):527-32. doi: 10.1007/s12094-015-1400-1]), 및 많은 다른 암에서 보고되었다.

[0338] 특히, 상기에 기재된 바와 같은 종양/암에서 FOXM1의 과발현 및 선택적 발현의 확인을 하기와 같이 수행하였다: "TCGA"(<https://cancergenome.nih.gov/>에서 입수가능)에 의해 생성된 tissue atlas(RNA-seq 데이터 37개의 정상 조직 및 17개의 암 유형)로부터의 mRNA 데이터의 분석은 정상 조직에서(고환 제외) FOXM1 mRNA 의 낮은 기저 수준 및 여러 종양 유형에서 FOXM1 mRNA 발현의 높은 수준을 강조한다. FOXM1 mRNA 발현을 Metabolic gEne RApid Visualizer(<http://merav.wi.mit.edu/>에서 입수가능, 국제 게놈 컨소시엄 및 NCBI GEO 데이터세트의 데이터를 분석함)을 사용하여 수행하였을 때 동일한 결과를 수득하였고, 여기서 시험된 대부분의 정상 조직(배아 제외)에서 매우 낮은 기저 발현, 및 유방암 샘플, 식도암 샘플, 폐암 샘플, 흑색종 샘플, 대장 샘플 및 교아종 샘플을 포함하는 많은 종양 샘플에서 강한 발현이 관찰되었다.

[0339] FOXM1은 FOXM1 유전자에 의해 인간에서 암호화되는 G1-S 및 G2-M 진행에 수반되는 전사 인자이다. 비전면 방식으로, FOXM1은 잠재적 면역 요법 표적으로서 제안되었다(문헌[Yokomine K, Senju S, Nakatsura T, Irie A, Hayashida Y, Ikuta Y, Harao M, Imai K, Baba H, Iwase H, Nomori H, Takahashi K, Daigo Y, Tsunoda T, Nakamura Y, Sasaki Y, Nishimura Y; The forkhead box M1 transcription factor as a candidate of target for anti-cancer immunotherapy. Int J Cancer. 2010 May 1;126(9):2153-63. doi: 10.1002/ijc.24836]). FOXM1의 높은 발현은, 예를 들어 종양 성장, 혈관신생, 이동, 침윤, 상피-간충직 전이, 전이 및 화학 요법 약물 내성에 참여하는 발암성 변화에 추가로 연관되었다(문헌[Wierstra I. FOXM1 (Forkhead box M1) in tumorigenesis: overexpression in human cancer, implication in tumorigenesis, oncogenic functions, tumor-suppressive properties, and target of anticancer therapy. Adv Cancer Res. 2013;119:191-419. doi: 10.1016/B978-0-12-407190-2.00016-2]). 따라서, FOXM1은 드라이버 종양 항원으로서 간주될 수 있다.

[0340] 다음 단계에서, 특이적으로 MHC-I에 의해 제시되는 선택된 종양-관련된 항원의 에피토프를 식별하였다. 이를 위해, (FOXM1의) 종양-관련된 항원 서열을 프로테아좀 절단, TAP 수송, 및 웨티드 제시의 예측을 위한 MHC 클래스 I 분석 툴을 조합한, "면역 에피토프 데이터베이스 및 분석 리소스"(IEDB; <http://www.iedb.org/>; MHC-I 분석의 경우 특히: http://tools.immuneepitope.org/analyze/html/mhc_processing.html - FOXM1 분석의 경우 사용됨, 또한 <http://tools.immuneepitope.org/processing/> 참조)에 의해 분석하였다. 즉, FOXM1의 단백질 서열을 HLA.A2.1에 의해 제시될 수 있는 잠재적 에피토프의 식별을 위한 IEDB 분석 툴에 제출하였다. 이로써, HLA A2.1 결합 특성을 갖는 756개의 잠재적 에피토프의 목록을 수득하였다. 상기 목록의 3개의 에피토프는 잠재적 에피토프로서 이전에 기재되었다: YLVPIQFPV(서열번호 55), SLVLQPSVKV(서열번호 56)/LVLQPSVKV(서열번호 57) 및 GLMDLSTTPL(서열번호 58)/LMDLSTTPL(서열번호 59)(요코미네(Yokomine) 등에 의해 기재되고 기능적으로 입증되었다)(문헌[Yokomine K, Senju S, Nakatsura T, Irie A, Hayashida Y, Ikuta Y, Harao M, Imai K, Baba H, Iwase H, Nomori H, Takahashi K, Daigo Y, Tsunoda T, Nakamura Y, Sasaki Y, Nishimura Y. The forkhead box M1 transcription factor as a candidate of target for anti-cancer immunotherapy. Int J Cancer. 2010 May 1;126(9):2153-63. doi: 10.1002/ijc.24836]).

[0341] 종양 세포의 표면에서 MHC에 의해 효율적으로 제시될 수 있는 좋은 기회를 갖는 에피토프를 식별하기 위해, HLA A2.1 결합 특성을 갖는 756개의 잠재적 에피토프의 목록에서, HLA A2.1에 대한 756개의 후보자 에피토프의 인실리코 친화도를 NetMHCpan 4.0 툴(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCpan/>)을 사용하여 계산하였다(이때, 최대 허용되는 친화도(IC50)는 3000 nM이다). 이로써, 35개의 FOXM1 에피토프의 목록을 수득하였다.

[0342] 최종적으로, 35개의 선택된 FOXM1-에피토프를, 35개의 선택된 인간 FOXM1-에피토프의 미생물 서열 변이체를 식별하기 위해 "인간 소화관 미생물 유전체의 통합된 참고 카탈로그"(<http://meta.genomics.cn/meta/home>에서 입수가능)와 비교하였다. 이를 위해, 단백질 BLAST 조사(blastp)를 "PAM-30" 단백질 치환 매트릭스를 사용하여

수행하였으며, 이는 시간에 따른 부위 당 아미노산 변화의 비를 기술하고 35개 이하의 아미노산의 길이를 갖는 쿼리에 대해 권장된다; 2의 단어 크기(또한 짧은 쿼리에 대해 제안됨); 20000000의 예상 값(E)(가능한 매치의 수를 최대화하도록 조정됨); '0'으로 설정된 조성-기반-통계(이는 30개의 아미노산보다 짧은 인풋 서열이며 이는 캡이 없는 정렬만 허용한다). 이후에, blastp 결과를 필터링하여 인간 웨티드의 시작부 및/또는 말단부에서만 미스매치를 허용하는, (HLA-A2.1에 대한 결합을 위한) 9 또는 10개의 아미노산의 길이를 갖는 미생물 웨티드 서열을 수득하였고, 여기서, 서열 당 최대 2개의 미스매치가 허용된다(상기 최대 2개의 미스매치에 더하여, 제3 미스매치가 유사한 특성을 갖는 아미노산에 대해 허용되었다(즉, 상기에 기재된 보존적 아미노산 치환)). 이로써, 573개의 박테리아 서열의 목록을 수득하였고, 이는 인간 미생물 유전체에서 선택된 FOXM1 에피토프의 박테리아 서열 변이체로 이루어졌다.

[0343] 실시예 9: MHC에 대한 선택된 박테리아 서열 변이체의 결합 시험

MHC 분자에 대한 미생물 모방체의 결합이 세포 독성 T 세포에 대한 항원 제시에 필수적이기 때문에, MHC 클래스 I HLA.A2.01에 대한 573개의 박테리아 서열의 친화도를 NetMHCpan 4.0 툴 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCpan/>)을 사용하여 계산하였다. 573개의 박테리아 서열(실시예 8의 blastp 결과)을 인풋으로서 사용하였고, 친화도를 강한 바인더 및 약한 바인더에 대한 기본 임계값을 설정함으로써 예측하였다. 400000개의 랜덤 천연 웨티드 세트와 비교한 예측된 친화도의 순위를 결합 친화도의 척도로서 사용하였다. 이러한 값은 높거나 낮은 평균 예측된 친화도에 대한 특정 분자의 고유한 편향에 영향을 받지 않는다. 매우 강한 바인더는 0.5 미만의 %순위를 갖는 것으로 정의되고, 강한 바인더는 0.5 이상 내지 1.0 미만의 %순위를 갖는 것으로 정의되고, 중간 바인더는 1.0 이상 내지 2.0 이하의 %순위를 갖는 것으로 정의되고, 약한 바인더는 2.0 미만의 %순위를 갖는 것으로 정의된다. 즉, 573개의 박테리아 서열로부터, 매우 강한 친화도(%순위 < 0.5)를 나타내는 것만이 선택되었고, 여기서 인간 기준 에피토프는 (인간 웨티드에 대해) 적어도 강한 친화도(%순위 < 1)를 나타낸다.

이로써, 하기 20개의 박테리아 서열 변이체를 식별하였다(표 11).

표 11

| 인간 기준 에피토프, 서열번호 | 박테리아 웨티드, 서열번호 | 친화도 인간 웨티드 [nM] | 친화도 인간 웨티드 %순위 | 친화도 박테리아 웨티드 [nM] | 친화도 박테리아 웨티드 %순위 |
|------------------|----------------|-----------------|----------------|-------------------|------------------|
| 60 | 66 | 33.8685 | 0.5 | 36.7574 | 0.5 |
| 61 | 67 | 35.0299 | 0.5 | 24.6073 | 0.4 |
| 61 | 68 | 35.0299 | 0.5 | 18.9641 | 0.25 |
| 62 | 69 | 22.1919 | 0.3 | 3.4324 | 0.015 |
| 62 | 70 | 22.1919 | 0.3 | 5.4835 | 0.04 |
| 62 | 71 | 22.1919 | 0.3 | 32.5867 | 0.5 |
| 55 | 72 | 2.0623 | 0.01 | 10.1452 | 0.125 |
| 55 | 73 | 2.0623 | 0.01 | 18.7154 | 0.25 |
| 59 | 74 | 36.1922 | 0.5 | 28.9885 | 0.4 |
| 59 | 75 | 36.1922 | 0.5 | 20.6064 | 0.3 |
| 63 | 76 | 58.7874 | 0.7 | 1.7952 | 0.01 |
| 63 | 77 | 58.7874 | 0.7 | 4.8682 | 0.04 |
| 63 | 78 | 58.7874 | 0.7 | 20.2275 | 0.3 |
| 63 | 79 | 58.7874 | 0.7 | 2.5715 | 0.01 |
| 63 | 80 | 58.7874 | 0.7 | 3.0709 | 0.01 |
| 63 | 81 | 58.7874 | 0.7 | 2.1973 | 0.01 |
| 64 | 82 | 39.9764 | 0.6 | 35.5715 | 0.5 |
| 65 | 83 | 4.1604 | 0.025 | 14.2518 | 0.175 |
| 62 | 84 | 22.1919 | 0.3 | 8.3115 | 0.09 |

[0347] 실시예 10: 선택된 박테리아 서열 변이체를 포함하는 박테리아 단백질의 애노테이션 및 세포 국소화의 결정

다음으로, 선택된 박테리아 에피토프 서열 변이체를 함유하는 박테리아 단백질의 애노테이션을 수행하였다. 이를 위해, 교토 유전자 및 게놈 백과사전(KEGG) (<http://www.genome.jp/kegg/>) 및 미국 국립 생물공학정보 센터 (NCBI) 기준 서열 데이터베이스(RefSeq) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>) 둘 모두에 대한 blast-기반

비교를 수행하였다. RefSeq는 게놈 DNA, 전사체 및 단백질을 포함하는, 통합되고 중복되지 않은 서열 세트를 제공한다. KEGG에서, KO(KEGG 오솔로지) 데이터베이스에 저장된 문자-수준 기능이 사용될 수 있다. 이러한 기능은 공통 선조로부터 진화한 상이한 종의 유전자에 의해 암호화되는 단백질을 함유하는 오쏘로그의 군으로 분류된다.

[0349]

다음 단계에서, 선택된 박테리아 에피토프 서열 변이체를 함유하는 박테리아 단백질의 세포 국소화의 예측을 2개의 상이한 절차를 사용하여 수행하였고, 이후에 컨센서스 예측을 포함하는, 웹티드-함유 단백질의 목록을 전달한다. 먼저, 신호 웹티드의 존재의 예측을 기반으로 세포내 또는 세포외 단백질을 식별하는 둘로 갈리는 조사 전략을 수행하였다. 신호 웹티드는 진핵생물에서 세포질 막을 가로지르는 전좌를 위한 이의 패신저 단백질을 표적화하는 보편적인 단백질-분류 신호이다. 이에 있어서, SignalP

4.1.(www.cbs.dtu.dk/services/SignalP) 및 포비어스 서버(phobius.sbc.su.se) 둘 모두를 사용하여 컨센서스 예측을 전달한다. 신호 웹티드의 존재가 2개의 접근법에 의해 검출되는 경우, 이는 단백질이 세포외 또는 세포질에 존재할 가능성이 있는 것으로 해석되었다. 그렇지 않은 경우, 단백질은 아마 외막/내막에 속하거나 세포질에 존재한다. 두번째로, 막관통 토플로지의 예측이 수행된다. 신호 웹티드 및 막관통 도메인 둘 모두는 소수성이나, 막관통 나선은 전형적으로 보다 긴 소수성 영역을 갖는다. SignalP 4.1. 및 포비어스는 신호 웹티드를 막관통 도메인과 구별하는 능력을 갖는다. 2개의 예측된 막관통 나선의 최소 수는 막과 세포질 단백질 사이를 구별하도록 설정되어 최종 컨센서스 리스트를 전달한다. 박테리아 단백질의 잠재적 세포 국소화에 관한 데이터는 면역원성 웹티드는 선택에 관심이 있으며, 분비된 엑소좀에 함유되는 분비된 성분 또는 단백질이 APC에 의해 보다 제시되기 쉬운 것을 추정한다.

[0350]

표 12는 표 11에 나타낸 박테리아 웹티드를 함유하는 박테리아 단백질의 서열번호, 이의 애노테이션 및 세포 국소화를 보여준다.

표 12

| 박테리아 펩티드, 서 열번호 | 박테리아 단백질 서 열번호 | 문 | 속 | 종 | Kegg 오출 로지 | 컨센서스 세포 국소화 |
|-----------------------|----------------------|-------------|--|--|---------------|----------------|
| 66 | 85 | 의간균 | 바르네시엘라 (<i>Barnesiella</i>) | 공지되지 않음 | K00347 | 막관통 |
| 67 | 86 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 68 | 87 | 후벽균 | 공지되지 않음 | 훈가텔라 하데 웨이 (<i>Hungatella hathewayi</i>) | K02335 | 세포질 |
| 68 | 88 | 후벽균 | 공지되지 않음 | 훈가텔라 하데 웨이 | K02335 | 세포질 |
| 69 | 89 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 70 | 90 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 71 | 91 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K03310 | 막관통 |
| 72 | 92 | 공지되지 않 음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K02355 | 세포질 |
| 73 | 93 | 의간균 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K02355 | 세포질 |
| 74 | 94 | 후벽균 | 코프로코커스 (<i>Coprococcus catus</i>) | 코프로코커스 카터스 (<i>Coprococcus catus catus</i>) | K10117 | 세포질 |
| 74 | 95 | 후벽균 | 블라우티아 (<i>Blautia</i>) | 공지되지 않음 | K10117 | 세포질 |
| 74 | 96 | 후벽균 | 블라우티아 | 공지되지 않음 | K10117 | 분비됨 |
| 74 | 97 | 후벽균 | 블라우티아 | 공지되지 않음 | K10117 | 분비됨 |
| 74 | 98 | 후벽균 | 코프로코커스 | 공지되지 않음 | K10117 | 분비됨 |
| 74 | 99 | 후벽균 | 유박테리움 (<i>Eubacterium hallii</i>) | 유박테리움 헬 리 (<i>Eubacterium hallii</i>) | K10117 | 분비됨 |
| 74 | 100 | 후벽균 | 블라우티아 | 블라우티아 오 베움 (<i>Blautia obeum</i>) | K10117 | 분비됨 |
| 74 | 101 | 후벽균 | 블라우티아 | 공지되지 않음 | K10117 | 세포질 |
| 74 | 102 | 후벽균 | 블라우티아 | 공지되지 않음 | K10117 | 세포질 |
| 74 | 103 | 후벽균 | 유박테리움 라 뮬러스 (<i>Eubacterium ramulus</i>) | 유박테리움 라 뮬러스 (<i>Eubacterium ramulus</i>) | K10117 | 세포질 |
| 74 | 104 | 후벽균 | 도레아(<i>Dorea</i>) | 공지되지 않음 | K10117 | 세포질 |
| 74 | 105 | 후벽균 | 블라우티아 | 공지되지 않음 | K10117 | 분비됨 |
| 75 | 106 | 후벽균 | 페칼리박테리 움 (<i>Faecalibacterium</i>) | 페칼리박테리 움 (<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>) | K10117 | 세포질 |
| 74 | 107 | 후벽균 | 블라우티아 | 공지되지 않음 | K10117 | 분비됨 |
| 74 | 108 | 후벽균 | 블라우티아 | 공지되지 않음 | K10117 | 세포질 |
| 74 | 109 | 후벽균 | 코프로코커스 | 공지되지 않음 | K10117 | 세포질 |

[0351]

| | | | | | | |
|-----|-----|-------------------------------|-------------------|---------|---------|-----|
| 74 | 110 | 후벽균 | 블라우티아 | 공지되지 않음 | K10117 | 분비됨 |
| 75 | 111 | 후벽균 | 페칼리박테리움 | 공지되지 않음 | K10117 | 세포질 |
| 75 | 112 | 후벽균 | 페칼리박테리움 | 공지되지 않음 | K10117 | 분비됨 |
| 75 | 113 | 후벽균 | 페칼리박테리움 | 공지되지 않음 | K10117 | 분비됨 |
| 75 | 114 | 후벽균 | 페칼리박테리움 프라우스니치 | K10117 | 분비됨 | |
| 75 | 115 | 후벽균 | 페칼리박테리움 | 공지되지 않음 | K10117 | 세포질 |
| 126 | 116 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 76 | 117 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 77 | 118 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K05569 | 막관통 |
| 78 | 119 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K01686 | 세포질 |
| 79 | 120 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 80 | 121 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K06147 | 막관통 |
| 81 | 122 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K07089 | 막관통 |
| 82 | 123 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | K03654 | 세포질 |
| 83 | 124 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 84 | 125 | 후벽균 <i>(Oscillibacter)</i> | 오실리박터 종 | K03324 | 세포질 | |

[0352]

[0353] 표 11 및 12의 데이터를 기반으로, 서열번호 59에 따른 인간 FOXM1 기준 에피토프(LMDLSTTPL; "FOXM1-H2"로도 지칭됨)의 서열 변이체인, 서열번호 75에 따른 박테리아 펩티드(아미노산 서열: LMDLSTTEV; "FOXM1-B2"로도 지칭됨)를 추가적 연구를 위해 선택하였다. 실질적으로, 인간 기준 에피토프는 중간/높은 친화도를 가지며, 종양 세포의 표면에 제시된다. 이러한 MHC 제시를 여러 공개된 연구에서 확인하였다(문헌[Yokomine K, Senju S, Nakatsura T, Irie A, Hayashida Y, Ikuta Y, Harao M, Imai K, Baba H, Iwase H, Nomori H, Takahashi K, Daigo Y, Tsunoda T, Nakamura Y, Sasaki Y, Nishimura Y. The forkhead box M1 transcription factor as a candidate of target for anti-cancer immunotherapy. Int J Cancer. 2010 May 1;126(9):2153–63. doi: 10.1002/ijc.24836]).

[0354]

서열번호 75(LMDLSTTEV)의 박테리아 서열 변이체는 HLA-A2.01에 대한 강한 결합 친화도를 갖는다. 또한, 이러한 박테리아 펩티드 서열 변이체는 박테리아 단백질에 포함되며, 이는 분비되어 MHC 제시를 위한 항원-제시 세포(APC)에 의해 포착될 확률을 증가시키는 것으로 예측된다.

[0355]

실시예 11: 박테리아 펩티드 FOXM1 B2(서열번호 75)는 HLA-A*0201 대립유전자에 시험관내 결합하며 인간 에피토프보다 우수한 HLA-A*0201 대립유전자에 대한 시험관내 친화도를 갖는다.

[0356]

본 실시예는, 서열번호 75의 박테리아 펩티드(LMDLSTTEV; 본원에서 "FOXM1-B2"로도 지칭됨)가 HLA-A*0201 대립유전자에 시험관내 결합하고 HLA-A*0201 대립유전자에 대해 시험관내 높은 친화도를 가지는 반면에, FOXM1-H2로부터 유래된 상응하는 기준 인간 펩티드(LMDLSTTPL, 서열번호 59, 본원에서 "FOXM1-H2"로도 지칭됨)는 약간 낮은 친화도를 갖는다는 것을 입증한다.

[0357]

A. 재료 및 방법

[0358]

A.1. T2 세포주에 대한 펩티드의 친화도 측정

[0359]

실험 프로토콜은 HLA-A*0201에 의해 제시되는 펩티드에 대해 인증된 것과 유사하다(문헌[Tourdot et al., A general strategy to enhance immunogenicity of low-affinity HLA-A2.1-associated peptides: implication in the identification of cryptic tumor epitopes. Eur J Immunol. 2000 Dec; 30(12):3411–21]). 펩티드의 친화도 측정을, HLA-A*0201 분자를 발현하나 TAP1/2 음성이고 내인성 펩티드를 제시할 수 없는 인간 종양 세포 T2를 사용하여 수행하였다.

- [0360] T2 세포($2 \cdot 10^5$ 세포/웰)를 100 ng/ μ l의 인간 β 2m α 보충된 AIMV 배지에서 37°C에서 16시간 동안 펩티드의 농도를 100 μ M에서 0.1 μ M로 감소시키면서 항온처리하였다. 이어서, 세포를 2회 세척하고 PE에 커플링된 항-HLA-A2 항체로 표시하였다(클론 BB7.2, 비디 파밍겐).
- [0361] 분석을 FACS(구아바 이지 사이트)에 의해 수행하였다. 각각의 펩티드 농도에 대하여, 관심 펩티드에 연관된 라벨링의 기하 평균을 백그라운드 노이즈로부터 감하고 100 μ M의 농도에서 기준 펩티드 HIV pol 589-597에 대해 수득된 HLA-A*0202 라벨링의 기하 평균의 백분율로서 보고한다. 이어서, 상대 친화도를 하기와 같이 결정한다:
- [0362] 상대 친화도 = HLA-A*0201의 발현의 20%를 유발하는 각각의 펩티드의 농도 / HLA-A*0201의 발현의 20%를 유발하는 기준 펩티드의 농도.
- [0363] A.2. 펩티드의 가용화
- [0364] 각각의 펩티드를 아미노산 조성을 고려하여 가용화시켰다. 임의의 시스테인, 메티오닌 또는 트립토판을 포함하지 않는 펩티드의 경우, DMSO의 첨가가 전체 부피의 10% 이하까지 가능하다. 다른 펩티드는 물 또는 PBS(pH 7.4)에 재현탁된다.
- [0365] B. 결과
- [0366] T2 세포의 경우: 다양한 펩티드 농도에 대한 평균 형광 강도: 박테리아 펩티드 FOXM1-B2(서열번호 75) 및 인간 펩티드 FOXM1-H2(서열번호 59) 모두는 HLA-A*0201에 결합한다. 그러나, 박테리아 펩티드 FOXM1-B2(서열번호 75)는 인간 펩티드 FOXM1-H2(서열번호 59)보다 양호한 HLA-A*0201에 대한 결합 친화도를 갖는다, 즉, 100 μ M에서 105 vs 77.6; 25 μ M에서 98.2 vs 65.4; 및 3 μ M에서 12.7 vs 0.9. 또한, 박테리아 펩티드 FOXM1-B2는 HLA-A*0201의 발현의 20%를 유발하는 반면에, 동일한 발현을 위해, 보다 높은 농도, 즉, 12.6 μ M의 인간 펩티드 FOXM1-H2가 필요하다.
- [0367] 유사한 결과를 제2 실험으로부터 수득하였다. 이를 데이터는, 박테리아 펩티드 FOXM1-B2가 상응하는 인간 펩티드 FOXM1-H2보다 명백히 우수함을 보여준다.
- [0368] 실시예 12: 마우스에게 박테리아 펩티드 FOXM1-B2(서열번호 75)로 백신 접종시키는 것은 ELISPOT-IFN γ 분석에서 개선된 T 세포 반응을 유발한다.
- [0369] A. 재료 및 방법
- [0370] A.1. 마우스 모델
- [0371] 사용된 모델의 특징을 하기 표 13에 개괄하였다.

표 13

| | |
|--------|--|
| 마우스 모델 | C57BL/6J B2m ^{tm1Unc} IAb ^{-/-} Tg(HLA-DRA HLA-DRB1*0301) ^{#Gjh} Tg(HLA-A/H2-D/B2M) ^{1Bpe} |
| 두문자어 | β /A2/DR3 |
| 설명 | 면역적격, 마우스 클래스 I 및 클래스 II MHC 없음 |
| 하우징 | SOPE 조건(ABSL3) |
| 마우스의 수 | 다 자란 15마리(8주령 초과) |

- [0373] 이를 마우스는 여러 보고서에 기재되어 있다(문헌[Koller et al., Normal development of mice deficient in beta 2M, MHC class I proteins, and CD8+ T cells. Science. 1990 Jun 8;248(4960):1227-30]; [Cosgrove et al., Mice lacking MHC class II molecules. Cell. 1991 Sep 6;66(5):1051-66]; [Pascolo et al., HLA-A2.1-restricted education and cytolytic activity of CD8(+) T lymphocytes from beta2 microglobulin (beta2m) HLA-A2.1 monochain transgenic H-2Db beta2m double knockout mice. J Exp Med. 1997 Jun 16;185(12):2043-51]).

- [0374] A.2. 면역 계획

- [0375] 면역 계획은 도 1에 도시되어 있다. 간략히, 15마리의 β /A2/DR3 마우스를 공통 헬퍼 펩티드(h-pAg)와 조합된 특정 백신 접종 펩티드(vacc-pAg)로 면역시켰다(하기 표 14에 개괄됨). vacc-pAg를 커플로 비교하였다(군 1 대

군 2). 이로써, 단일 웨티드의 천연 및 최적화된 버전 모두를 각각의 파에서 비교하였다.

표 14

[0376] 실험군 조성. h-pAg: '헬퍼' 웨티드; vacc-pAg: 백신 접종 웨티드. 부스트 주사의 수는 괄호 안에 표시되어 있다.

| 군 | 웨티드 (vacc-pAg) | 헬퍼 (h-pAg) | 기본 | 부스트 | 동물 수 |
|---|------------------------|-----------------------|----|--------|------|
| 1 | FOXM1-B2 (100 μ g) | HHD-DR3 (150 μ g) | + | + (1X) | 15 |

[0377] 웨티드를 하기와 같이 제공하였다:

[0378] · vacc-pAg의 커플: FOXM1-B2 and FOXM1-H2; 모두 4 mg/ml(4 mM) 농도로 생산되고 제공됨;

[0379] · h-pAg: HHD-DR3 웨티드 (서열번호 32); 동결건조되고(50.6 mg; 유로젠텍 배취 1611166) 순수한 증류수에 10 mg/mL 농도로 재현탁된 상태로 제공됨.

[0380] 동물을 제0일(d0)에 기본 주사로 면역시키고 d14에 부스트 주사로 면역시켰다. 각각의 마우스에게 하기를 함유하는 100 μ L의 유성 유화액을 꼬리 맨 아래 부분에 피하 주사하였다:

[0381] · 100 μ g의 vacc-pAg(마우스 당 25 μ L의 4 mg/mL 스톡);

[0382] · 150 μ g의 h-pAg(마우스 당 15 μ L의 10 mg/mL 스톡);

[0383] · 50 μ L의 총 부피에 도달시키는 10 μ L의 PBS(마우스 당);

[0384] · 1:1(v:v) 비로 첨가된 불완전 프로이드 보조제(IFN)(마우스 당 50 μ L).

[0385] 하기와 같이, 별개의 유화액을 각각의 vacc-pAg에 대해 제조하였다: IFN 시약을 15 mL 튜브에서 vacc-pAg/h-pAg/PBS 혼합물에 첨가하고 농후한 유화액을 형성할 때까지 볼텍스 상에서 1분의 반복된 주기 동안 혼합하였다.

A.3. 마우스 분석

[0387] 부스트 주사 7일 후에(즉, d21에), 동물을 안락사시키고, 비장을 채취하였다. 비장 세포를, 기관의 기계적 분열 후에, 70 μ m-여과 및 Ficoll 밀도 구배 정제에 의해 준비하였다.

[0388] 비장 세포를 ELISPOT-IFN γ 분석에서 즉시 사용하였다(표 15). 실험 조건을 웰 당 2×10^5 개의 총 비장 세포를 사용하여, 2회 실험으로 반복하고, vacc-pAg(10 μ M) 또는 콘카나발린 A(ConA, 2.5 μ g/mL)의 존재 하에, 배지만 존재 하에 배양하여 이의 IFN γ 분비 능력을 평가하였다. 상업적 ELISPOT-IFN γ 키트(디아클론 키트 뮤즈린 IFN γ ELISPOT)를 제조사의 지시에 따라 사용하고, 분석을 약 16시간의 항온처리 후에 수행하였다.

표 15

ELISPOT-IFN γ 분석의 셋업

| 군 | 자극 | 웰 | 동물 | 총 |
|---|-----------------------|---|----|----|
| 1 | FOXM1-H2 (10 μ M) | 2 | 15 | 30 |
| | FOXM1-B2 (10 μ M) | 2 | 15 | 30 |
| | ConA (2.5 μ g/ml) | 2 | 15 | 30 |
| | 배지 | 2 | 15 | 30 |

[0390] 스팍을, 이뮤노스팟 5.4 소프트웨어에 접속된 그랜드 이뮤노스팟(등록상표) S6 열티밋 UV 이미지 애널라이저(CTL-유럽) 상에 계수하였다. 데이터 플롯팅 및 통계 분석을 프리즘-5 소프트웨어(그래프패드 소프트웨어 인코포레이티드)를 사용하여 수행하였다.

[0391] 세포 혼탁액을 T 세포수 정규화를 위해 유세포 분석법에 의해 분석하였다. 단클론 항체 칵테일(데이터는 제시되지 않음)을 정제된 백혈구 상에 뮤린(1:10 희석된 '항-mCD16/CD32 CF11 클론' - 내부 소스) Fc 수용체를 표적화하는 Fc-차단 시약의 존재 하에 적용하였다. 항온처리를 96-웰 플레이트에서 암에서 4°C에서 15 내지 120분 동안 수행하였다. 세포를 염색 후에 원심분리에 의해 세척하여 과량의 단클론 항체 칵테일을 제거하고, 데이터

획득을 위해 PBS에 재현탁하였다.

- [0392] 모든 데이터 획득을 FACS-Diva 소프트웨어에 접속된 LSR-II Fortessa 유세포 측정기(비디 바이오사이언스)를 사용하여 수행하였다. 데이터 분석을 게이팅 전략(나타내지 않음)을 사용하는 FlowJo-9 소프트웨어(트리스타 인코포레이티드)를 사용하여 수행하였다.

표 16

FACS 패널 EXP-1

| 표적 | 라벨 | 클론 | 제공업체 | 희석 |
|----------|------|----------|--------|-------|
| mCD3 ε γ | FITC | 145-2C11 | 바이오레전드 | 1/100 |
| mCD4 | PE | RM4-5 | 바이오레전드 | 1/100 |
| mCD8 α | APC | 53-6, 7 | 바이오레전드 | 1/100 |

- [0394] B. 결과

- [0395] 총 14마리의 β/A2/DR3 마우스를 본 실험에서 사용하였다(표 15 참조). 회생시, 비장 T 세포 집단을 유세포 분석법에 의해 분석하였고, 이는 대부분이 CD4+ T 세포 서브세트에 속해 있음을 보여준다.

표 17

- [0396] 개별적 마우스 특징(군 1 및 2). 각각의 마우스는 고유의 귀 태그 ID 번호에 의해 확인된다. ^a 백신 접종 프로토콜의 개시시 연령(단위: 주); ^b 전체 백혈구에서 T 세포의 백분율; ^c 전체 T 세포에서 CD4+ 또는 CD8+ T 세포의 백분율; ^d 플레이트(P) 번호.

| 번호 | 마우스 Id | 성별 | 연령 (주) ^a | T 세포 (%) ^b | T4 (%) ^c | T8(%) ^d |
|----|--------|----|---------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|
| 1 | 731 | M | 22 | 16.9 | 80.6 | 9.58 |
| 2 | 736 | M | 27 | 19.9 | 70.8 | 15 |
| 3 | 744 | F | 24 | 24.1 | 71.9 | 12.3 |
| 4 | 753 | F | 24 | 19.2 | 63.2 | 17.9 |
| 5 | 758 | F | 24 | 23.2 | 68.3 | 17.7 |
| 11 | 733 | M | 22 | 25.4 | 71.2 | 12.6 |
| 12 | 738 | M | 24 | 30.9 | 74.9 | 12.2 |
| 13 | 746 | F | 22 | 25.7 | 70.9 | 10.8 |
| 14 | 755 | F | 24 | 20.5 | 68.4 | 14.8 |
| 15 | 756 | F | 26 | 15.8 | 70.7 | 14.1 |
| 21 | 740 | M | 24 | 22.1 | 77.6 | 13.7 |
| 22 | 742 | F | 22 | 25.6 | 70.3 | 16.5 |
| 23 | 748 | F | 22 | 17.1 | 55.1 | 16.3 |
| 24 | 749 | F | 23 | 14 | 65.5 | 17.5 |
| 25 | 752 | F | 24 | 15.4 | 60.3 | 20.1 |

- [0397] 적절한 자극과 함께 플레이팅하고 항온처리한 후에, IFN γ-생산 세포가 표면화되었고, 이를 계수하였다. 이어서, 데이터를 10^6 개의 총 T 세포 당 특정 스팟의 수('배지만 존재' 조건에서 수득된 평균 수를 감함)로서 정규화하였다.

- [0398] 개별적 평균 값(4회 실험으로부터 수득됨)을 다음으로 군 평균 값을 플롯팅하는 데 사용하였다(도 4 참조). 종합적으로, FOXM1-B2 pAg 박테리아 웹티드(서열번호 75)에 의한 백신 접종은 ELISPOT-IFN γ 분석에서 강한 T 세포 반응을 유발하였다. FOXM1-B2 pAg에 의한 생체외 재자극은 인간 FOXM1-H2 pAg 웹티드에 의한 것보다 높은 반응을 촉진하였다. 그러나, T 세포의 효율적인 활성화가 FOXM1-H2에 의한 생체외 재자극 후에 관찰될 수 있고, 이는 FOXM1-B2 웹티드에 의한 백신 접종이 인간 종양-연관된 항원 FOXM1-H2를 인식하는 T 세포의 활성화를 촉진시켜 인간에서 백신 접종을 위한 FOXM1-B2의 사용을 지원함을 보여준다.

- [0399] 따라서, 이러한 결과는, FOXM1을 표적화하는 종양-항원 면역 요법이 생체내 T 세포 반응을 개선할 수 있고, 실

시예 8 및 9에 개발된 바와 같이 식별된 FOXM1-B2 박테리아 웨티드(서열번호 75)가 이러한 목적을 위해 특히 효율적인 것의 실험 증거를 제공한다.

[0400] 실시예 13: 인간 미생물 유전체에서 종양-관련된 에피토프의 10 aa 박테리아 서열 변이체의 확인

하기에서, 본 발명에 따라 식별된 10개의 아미노산(10 aa)의 길이를 갖는 박테리아 서열이 종양-연관된 에피토프에 대한 면역 활성화를 유발할 수 있음이 입증된다.

[0402] 인터류킨-13 수용체 서브유닛 알파-2(IL-13RA2 또는 IL13RA2)는 본질적으로 실시예 1에 기재된 바와 동일한 이유로 종양-연관된 항원으로서 선택되었다. 간략히, IL13RA2 선택은 하기 사실을 기반으로 한다: (i) IL13RA2는 CTL(세포 독성 T 림프구) 에피토프로서 식별된 에피토프를 포함한다(문헌[Okano F, Storkus WJ, Chambers WH, Pollack IF, Okada H. Identification of a novel HLA-A*0201-restricted, cytotoxic T lymphocyte epitope in a human glioma-associated antigen, interleukin 13 receptor alpha2 chain. Clin Cancer Res. 2002 Sep;8(9): 2851-5]); (ii) IL13RA2는 뇌 종양에서 과발현되는 유전자로서 종양 T 세포 항원 데이터베이스 및 CT 데이터베이스에서 언급된다; (iii) IL13RA2의 과발현 및 선택적 발현은 유전자 발현으로부터 데이터를 분석하는 Gent, Metabolic gene visualizer 및 protein Atlas를 툴로서 사용하여 확인되었다(마이크로 어레이 연구); (iv) 과발현은 또한 문헌에서 뇌 종양에서(문헌[Debinski et al., Molecular expression analysis of restrictive receptor for interleukin 13, a brain tumor-associated cancer/testis antigen. Mol Med. 2000 May;6(5):440-9]), 두경부 종양에서(문헌[Kawakami et al., Interleukin-13 receptor alpha2 chain in human head and neck cancer serves as a unique diagnostic marker. Clin Cancer Res. 2003 Dec 15;9(17):6381-8]) 및 흑색종에서(문헌[Beard et al., Gene expression profiling using nanostring digital RNA counting to identify potential target antigens for melanoma immunotherapy. Clin Cancer Res. 2013 Sep 15;19(18):4941-50]) 보고되었다; 및 (v) IL13RA2 에피토프(서열번호 1)에 대한 T 세포 활성화를 유발할 수 있는 9 aa 박테리아 서열(서열번호 18)는 이미 식별되었다(실시예 1 내지 7).

[0403] 10개의 아미노산의 길이를 갖고 특이적으로 MHC-I에 의해 제시되는 IL13RA2의 에피토프를 식별하였다. 이를 위해, (IL13RA2의) 종양-관련된 항원 서열을 프로테아좀 절단, TAP 수송, 및 웨티드 제시의 예측을 위한 MHC 클래스 I 분석 툴을 조합한 "면역 에피토프 데이터베이스 및 분석 리소스"(IEDB: <http://www.iedb.org/>; MHC-I 분석의 경우 특히: http://tools.immuneepitope.org/analyze/html/mhc_processing.html - IL13RA2 분석을 위해 사용됨, 또한 <http://tools.immuneepitope.org/processing/>(참조)에 의해 분석하였다. 즉, IL13RA2의 단백질 서열을, HLA.A2.1에 의해 제시될 수 있는 잠재적 에피토프의 식별을 위한 IEDB 분석 툴에 제출하였다. MHC 친화도에 의해 효율적으로 제시될 수 있는 좋은 기회를 갖는 에피토프를 식별하기 위해, HLA A2.1에 대한 후보자 에피토프의 인실리코 친화도를 NetMHCpan 3.0 툴(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCpan/>)을 사용하여 계산하였다(이때 사용되는 최대 친화도(IC50)는 3000 nM이다). 이로써, 10개의 아미노산 길이의 19개의 잠재적 IL13RA2 에피토프의 목록을 수득하였다.

[0404] 19개의 선택된 IL13RA2-에피토프를 미생물 서열 변이체를 식별하기 위해 "인간 소화관 미생물 유전체의 통합된 참고 카탈로그"(<http://meta.genomics.cn/meta/home>에서 입수가능)와 비교하였다. 이를 위해, 단백질 BLAST 조사(blastp)를, "PAM-30" 단백질 치환 매트릭스를 사용하여 수행하였으며, 이는 시간에 따른 부위 당 아미노산 변화의 비를 기술하고 35개 이하의 아미노산의 길이를 갖는 쿼리에 대해 권장된다; 2의 단어 크기(또한 짧은 쿼리에 대해 제안됨); 20000000의 예상 값(E)(가능한 매치의 수를 최대화하도록 조정됨); '0'으로 설정된 조성-기반-통계(이는 30개의 아미노산보다 짧은 인풋 서열이며 이는 캡이 없는 정렬만 허용한다). 이후에, blastp 결과를 필터링하여, 인간 웨티드의 시작부 및/또는 말단부에서만 미스매치를 허용하는, (HLA-A2.1에 대한 결합을 위한) 10개의 아미노산의 길이를 갖는 미생물 웨티드 서열을 배타적으로 수득하였고, 여기서 서열 당 최대 3개의 미스매치가 허용된다. 또한, 매우 강한 친화도(%순위 < 0.5)를 나타내는 박테리아 서열만이 선택되었고, 여기서 인간 기준 에피토프는 (인간 웨티드에 대해) 적어도 강한 친화도(%순위 < 1.5)를 나타냈다. 이로써, 5개의 IL13RA2 종양-연관된 웨티드와 유사성을 갖는 11개의 박테리아 웨티드의 목록이 식별되었다.

표 18

인간 IL13RA2의 에피토프와 유사성을 갖는 10aa 박테리아 웨티드

| 박테리아 웨티드, 서열 번호 | 인간 기준 에피토프, 서열 번호 | 친화도 인간 웨티드 %순위 | 친화도 인간 웨티드 [nM] | 친화도 박테리아 웨티드 %순위 | 친화도 박테리아 웨티드 [nM] |
|-----------------|-------------------|----------------|-----------------|------------------|-------------------|
| 132 | 127 | 0.7 | 54.6434 | 0.4 | 24.6345 |

| | | | | | |
|-----|-----|-------|---------|------|---------|
| 133 | 127 | 0.7 | 54.6434 | 0.06 | 6.4119 |
| 134 | 127 | 0.7 | 54.6434 | 0.4 | 23.1945 |
| 135 | 128 | 0.125 | 9.6997 | 0.25 | 17.3756 |
| 136 | 129 | 0.7 | 51.5016 | 0.05 | 5.5782 |
| 137 | 129 | 0.7 | 51.5016 | 0.05 | 5.5782 |
| 138 | 130 | 0.7 | 50.2853 | 0.4 | 25.6338 |
| 139 | 131 | 1.3 | 136.856 | 0.03 | 4.4932 |
| 140 | 131 | 1.3 | 136.856 | 0.06 | 6.4084 |
| 158 | 131 | 1.3 | 136.856 | 0.05 | 5.8225 |
| 141 | 130 | 0.7 | 50.2853 | 0.4 | 26.8938 |

[0406] 다음으로, 표 18에 나타낸 박테리아 웨티드를 함유하는 박테리아 단백질을 식별하였다. 또한, 선택된 박테리아 에피토프 서열 변이체의 박테리아 단백질의 애노테이션을 상기에 기재된 바와 같이 수행하였다. 결과를 표 19에 나타냈다.

[0407] 표 19는 표 18에 나타낸 박테리아 웨티드를 함유하는 박테리아 단백질의 서열번호, 이의 애노테이션 및 세포 국소화를 보여준다.

표 19

| 박테리아 웨티드, 서열번호 | 박테리아 단백질 서열번호 | 문 | 속 | 컨센서스 세포 국소화 |
|----------------|---------------|---------|-----------|-------------|
| 132 | 22 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 133 | 142 | 후벽균 | 훈가텔라 | 막관통 |
| 134 | 143 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 135 | 144 | 후벽균 | 공지되지 않음 | 막관통 |
| 136 | 28 | 후벽균 | 코프로바실러스 | 막관통 |
| 137 | 145 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 막관통 |
| 138 | 146 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 139 | 147 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |
| 139 | 148 | 후벽균 | 블라우티아 | 막관통 |
| 139 | 149 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 막관통 |
| 139 | 150 | 후벽균 | 블라우티아 | 막관통 |
| 139 | 151 | 후벽균 | 블라우티아 | 막관통 |
| 140 | 152 | 후벽균 | 클로스트리듐 | 막관통 |
| 140 | 153 | 후벽균 | 클로스트리듐 | 막관통 |
| 140 | 154 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 막관통 |
| 158 | 155 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 막관통 |
| 140 | 156 | 후벽균 | 라크노클로스트리듐 | 막관통 |
| 141 | 157 | 공지되지 않음 | 공지되지 않음 | 세포질 |

[0408]

표 19는 서열번호 139에 따른 박테리아 웨티드(FLPFGFILPV; 본원에서 "IL13RA2-BL"로도 지칭됨)가 인간 미생물에서 발현되는 대부분의 별개의 박테리아 단백질에서, 즉, 5개의 별개의 박테리아 단백질에서 식별되었음을 보여준다. 이러한 이유로, 서열번호 139(FLPFGFILPV)에 따른 박테리아 웨티드를 시험관내 및 생체내 실험을 위해 선택하였다. 상응하는 인간 IL13RA2 에피토프 WLPFGFILIL(IL13RA2-HL, 서열번호 131)은 IL13RA2-H 웨티드의 서열(서열번호 1)을 포괄한다.

[0410] 실시예 14: 박테리아 웨티드 IL13RA2-BL(서열번호 139)는 HLA-A*0201 대립유전자에 시험관내 결합하고 상응하는 인간 에피토프보다 우수한 HLA-A*0201 대립유전자에 대한 시험관내 친화도를 갖는다.

[0411] 본 실시예는, 서열 서열번호 139의 박테리아 웨티드(FLPFGFILPV; 본원에서 "IL13RA2-BL"로도 지칭됨)가 HLA-A*0201 대립유전자에 시험관내 결합하고 HLA-A*0201 대립유전자에 대한 시험관내 높은 친화도를 갖는 반면에, IL13RA2로부터 유래된 상응하는 기준 인간 웨티드는 낮은 친화도를 나타냄의 증거를 제공한다.

[0412]

A. 재료 및 방법

- [0413] A.1. T2 세포주에 대한 펩티드의 친화도 측정
- [0414] 실험 프로토콜은 HLA-A*0201에 의해 제시되는 펩티드에 대해 인증된 것과 유사하다(문헌[Tourdot et al., A general strategy to enhance immunogenicity of low-affinity HLA-A2.1-associated peptides: implication in the identification of cryptic tumor epitopes. Eur J Immunol. 2000 Dec; 30(12):3411-21]). 펩티드의 친화도 측정을 HLA-A*0201 분자를 발현하나 TAP1/2 음성이고 내인성 펩티드를 제시할 수 없는 인간 종양 세포 T2를 사용하여 수행하였다.
- [0415] T2 세포($2 \cdot 10^5$ 세포/웰)를 $100 \text{ ng}/\mu\text{l}$ 의 인간 $\beta 2\text{m}^+$ 보충된 AIMV 배지에서 37°C 에서 16시간 동안 펩티드의 농도를 $100 \mu\text{M}$ 에서 $0.1 \mu\text{M}$ 로 감소시키면서 항온처리하였다. 이어서, 세포를 2회 세척하고 PE에 커플링된 항-HLA-A2 항체로 표시하였다(클론 BB7.2, 비디 파밍겐).
- [0416] 분석을 FACS(구아바 이지 사이트)에 의해 수행하였다. 각각의 펩티드 농도에 대하여, 관심 펩티드에 연관된 라벨링의 기하 평균을 백그라운드 노이즈로부터 감하고 $100 \mu\text{M}$ 의 농도에서 기준 펩티드 HIV pol 589-597에 대하여 수득된 HLA-A*0202 라벨링의 기하 평균의 백분율로서 보고한다. 이어서, 상대 친화도를 하기와 같이 결정한다:
- [0417] 상대 친화도 = HLA-A*0201의 발현의 20%를 유발하는 각각의 펩티드의 농도 / HLA-A*0201의 발현의 20%를 유발하는 기준 펩티드의 농도.
- [0418] A.2. 펩티드의 가용화
- [0419] 각각의 펩티드를 아미노산 조성을 고려하여 가용화시켰다. 임의의 시스테인, 메티오닌 또는 트립토판을 포함하지 않는 펩티드의 경우, DMSO의 첨가가 전체 부피의 10% 이하까지 가능하다. 다른 펩티드는 물 또는 PBS(pH 7.4)에 재현탁된다.
- [0420] B. 결과
- [0421] T2 세포의 경우: 다양한 펩티드 농도에 대한 평균 형광 강도: 박테리아 펩티드 IL13RA2-BL(서열번호 139)은 HLA-A*0201에 결합하는 반면에, 상응하는 인간 펩티드는 HLA-A*0201에 결합하지 않는다. 박테리아 펩티드 IL13RA2-BL(서열번호 139)은 HLA-A*0201에 대한 강한 결합 친화도를 나타낸다(즉, $100 \mu\text{M}$ 에서 최대 HIV pol 589-597 결합 활성의 69%; $25 \mu\text{M}$ 에서 96%; 및 $6.25 \mu\text{M}$ 에서 43%). 또한, 결과를 도 5에 나타냈다.
- [0422] 실시예 15: 마우스를 박테리아 펩티드 IL13RA2-BL(서열번호 139)로 백신 접종시키는 것은 ELISPOT-IFN γ 분석에서 개선된 T 세포 반응을 유발한다.
- [0423] A. 재료 및 방법
- [0424] A.1. 마우스 모델
- [0425] 2개의 상이한 마우스 모델을 연구를 위해 사용하였다. 사용된 모델의 특징을 하기 표 20에 개괄하였다.

표 20

| | | |
|--------|-------------|---|
| [0426] | 모델 1 | C57BL/6J B2m ^{tmb1Unc} IA ^{b/-} Tg(HLA-DRA HLA-DRB1*0301) ^{#Gjh} Tg(HLA-A/H2-D/B2M) ^{1Bpe} |
| | 두문자어 | $\beta/\text{A2/DR3 HHDDR3}$ |
| | 설명 | 면역적격, 마우스 클래스 I 및 클래스 II MHC 없음 |
| | 모델 2 | C57BL/6JB2m ^{tmb1Unc} IAb ^{-/-} Tg(HLA-DRA, HLA-DRB1*0101) ^{#Gjh} Tg(HLA-A/H2-D/B2M) ^{1Bpe} |
| | 두문자어 | $\beta/\text{A2/DR1 HHDDR1}$ |
| | 설명 | 면역적격, 마우스 클래스 I 및 클래스 II MHC 없음 |

- [0427] 이들 마우스는 여러 보고서에 기재되어 있다(문헌[Koller et al., Normal development of mice deficient in beta 2M, MHC class I proteins, and CD8+ T cells. Science. 1990 Jun 8;248(4960):1227-30]; [Cosgrove et al., Mice lacking MHC class II molecules. Cell. 1991 Sep 6;66(5):1051-66]; [Pascolo et al., HLA-A2.1-restricted education and cytolytic activity of CD8(+) T lymphocytes from beta2 microglobulin (beta2m) HLA-A2.1 monochain transgenic H-2Db beta2m double knockout mice. J Exp Med. 1997 Jun 16;185(12):2043-51]).

[0428] A.2. 면역 계획

[0429] 면역 계획은 도 1에 도시되어 있다. 마우스를 공통 헬퍼 펩티드(h-pAg)와 조합된 특정 백신 접종 펩티드(vacc-pAg)로 면역시켰다.

[0430] 펩티드를 하기와 같이 제공하였다:

[0431] · vacc-pAg: IL13RA2-BL; 모두 4 mg/ml(4 mM) 농도로 생산되고 제공됨;

[0432] · h-pAg: HHD-DR3 펩티드(서열번호 32); β /A2/DR3 HHDDR3 마우스의 면역을 위해 4 mg/ml(4 mM) 농도로 제공됨;

[0433] · h-pAg: UCP2 펩티드(서열번호 159); β /A2/DR1 HHDDR1 마우스의 면역을 위해 4 mg/ml(4 mM) 농도로 제공됨.

[0434] 동물을 제0일(d0)에 기본 주사로 면역시키고 d14에 부스트 주사로 면역시켰다. 각각의 마우스에게 하기를 함유하는 100 μ L의 유성 유화액을 꼬리 맨 아래 부분에 피하 주사하였다:

[0435] · 100 μ g의 vacc-pAg(마우스 당 25 μ L의 4 mg/mL 스톡);

[0436] · 150 μ g의 h-pAg(마우스 당 15 μ L의 10 mg/mL 스톱);

[0437] · 50 μ L의 총 부피에 도달시키는 10 μ L의 PBS(마우스 당);

[0438] · 1:1(v:v) 비로 첨가된 불완전 프로이드 보조제(IF)(마우스 당 50 μ L).

[0439] 하기와 같이, 별개의 유화액을 각각의 vacc-pAg에 대해 제조하였다: IFA 시약을 15 mL 튜브에서 vacc-pAg/h-pAg/PBS 혼합물에 첨가하고 농후한 유화액을 형성할 때까지 볼텍스 상에서 1분의 반복된 주기 동안 혼합하였다.

[0440] A.3. 마우스 분석

[0441] 부스트 주사 7일 후에(즉, d21에), 동물을 안락사시키고, 비장을 채취하였다. 비장 세포를, 기관의 기계적 분열 후에, 70 μ m-여과 및 Ficoll 밀도 구배 정제에 의해 준비하였다.

[0442] 비장 세포를 ELISPOT-IFN γ 분석에서 즉시 사용하였다(표 21). 실험 조건을, 웰 당 2×10^5 개의 총 비장 세포를 사용하여, 4회 실험으로 반복하고, vacc-pAg(10 μ M) 또는 콘카나발린 A(ConA, 2.5 μ g/mL)의 존재 하에, 또는 배지만 존재 하에 배양하여 이의 IFN γ 분비 능력을 평가하였다. 상업적 ELISPOT-IFN γ 키트(디아클론 키트 뮤즈린 IFN γ ELISPOT)를 제조사의 지시에 따라 사용하고, 분석을 약 16시간의 항온처리 후에 수행하였다.

표 21

[0443] ELISPOT-IFN γ 분석의 셋업

| 군 | 백신 접종 펩티드(vacc-pAg) | 자극 | 웰 | 동물 | 총 |
|---------------------------|---|-----------------------|---|----|----|
| 1 HHD DR3 마우스 (15마리의 마우스) | IL13RA2 BL(vacc-pAg) + HHDDR3 헬퍼(h-pAg) + IFA | 배지 | 2 | 15 | 30 |
| | | ConA (2.5 μ g/ml) | 2 | 15 | 30 |
| | | IL13RA2-BL | 2 | 15 | 30 |
| | | IL13RA2-L | 2 | 15 | 30 |
| 2 HHD DR1 마우스 (5마리의 마우스) | IL13RA2 BL(vacc-pAg) + UCP2 헬퍼(h-pAg) + IFA | 배지 | 3 | 5 | 15 |
| | | ConA (2.5 μ g/ml) | 3 | 5 | 15 |
| | | IL13RA2-BL | 3 | 5 | 15 |
| | | IL13RA2-HL | 3 | 5 | 15 |

[0444] 스팟을, 이뮤노스팟 5.4 소프트웨어에 접속된 그랜드 이뮤노스팟(등록상표) S6 얼티밋 UV 이미지 애널라이저(CTL-유럽) 상에 계수하였다. 데이터 플롯팅 및 통계 분석을 프리즘-5 소프트웨어(그래프페드 소프트웨어 인코포레이티드)를 사용하여 수행하였다.

[0445] 결과는 도 6 및 7에 나타나 있다. 결과는 IL13RA2-BL 펩티드(서열번호 139)로 마우스를 면역시키는 것이 마우스에서 IL13RA2-BL 및 IL13RA2-HL(서열번호 131)에 대한 비장 세포의 강한 반응을 야기하는 것을 보여준다. 따라서, IL13RA2-BL은 강하게 면역원성이며 인간 펩티드 IL13RA2-HL에 대한 효과적인 면역 반응을 추진할 수

있다.

[0446] 실시예 16: 마우스 모델에서 미생물 서열 변이체의 식별 방법의 확인

본 발명은, 미생물, 예컨대 편리공생 박테리아로부터 발현되고 관심 종양-특이적 항원에 대한 면역 반응을 촉진 할 수 있는 웨티드의 식별에 관한 것이다. 특히, 상기 방법은, 종양-연관된 웨티드의 서열 변이체이고 인간 MHC(예컨대 HLA.A2.01)에 결합할 수 있는 서열 변이체인 박테리아 웨티드의 식별을 가능하게 한다. 본원에 기재된 본 실시예는, 본 발명에 따른 방법이 MHC(예를 들어 HLA.A2)에 대한 강한 결합 친화도를 갖는 에피토프의 미생물 서열 변이체의 식별을 가능하게 하고 에피토프의 미생물 서열 변이체에 의한 백신 접종이 각각의 기준 에피토프에 대한 면역원성을 유발할 수 있음의 증거를 제공한다.

[0448] 임의의 이론에 구애받지 않고, 본 발명자는, ("자기로부터의") 기준 에피토프가 흥선 선택 동안 특정 T 세포 클론 소진을 야기함을 추정한다. 또한, 임의의 이론에 구애받지 않고, 본 발명자는 또한 면역계가 편리공생 박테리아의 박테리아 단백질/웨티드에 의해 프라이밍되었고/되었거나 편리공생 박테리아의 박테리아 단백질/웨티드에 더 잘 반응하는 능력을 갖는 것을 추정한다.

[0449] 상기에 기재된 바와 같은 생체내 실험을 클래스 1 및 클래스 2 MHC를 발현하는 HLA 형질전환된 마우스(HHD DR3 마우스)에서 인간 미생물로부터 식별된 박테리아 웨티드, 및 인간 종양으로부터 식별된 종양-연관된 항원의 에피토프를 사용하여 수행하였다. 그러나, 편리공생 박테리아 종은 인간에서 및 마우스에서 상이하며, 인간 종양-특이적 항원의 에피토프 서열은 마우스 게놈에서 언제나 완전한 상동성을 갖는 것은 아니다. 따라서, 인간 종양 항원의 에피토프는 마우스에서 보다 면역원성의 "비-자기" 서열을 나타낼 수 있는 반면에, 이는 인간에서 덜 면역원성의 "자기" 서열을 나타낼 수 있다.

[0450] 이러한 관점에서, 본 실시예에서, 에피토프의 미생물 서열 변이체는 마우스 편리공생 박테리아 단백질에서 식별되었다. 이러한 마우스 미생물 서열 변이체는 암생형 마우스에서 마우스 항원의 에피토프에 대한 면역원성을 유도한다.

[0451] 1. 뮤린 미생물 유전체에서 박테리아 서열 변이체의 식별

[0452] 뮤린 단백질의 에피토프를 식별하기 위해, 마우스 애노테이션 수행된 단백질을 기준 서열로서 사용하였다. 2개의 관심 마우스 기준 에피토프를 선택하였다(즉, BALB/c 마우스의 경우 마우스 유전자 Phtf1의 "H2 Ld M5"(VSSVFLTL; 서열번호: 160), 및 C57BL/6 마우스의 경우 마우스 유전자 Stra6의 "H2 Db M2"(INMLVGAIM; 서열번호: 161). Phtf1은 마우스 고환에서 고도로 발현되나 대부분의 마우스 조직에서 낮은 수준으로 발현되는 추정상 호메오도메인 전사 인자 1을 암호화한다. Stra6(레티노산 6에 의해 자극됨)은, 마우스 태반에서 고도로 발현되나 마우스 난소, 신장, 뇌, 유선, 장 및 지방 패드에서 중간 수준으로 발현되는 단백질인 레티놀 흡수 수용체를 암호화한다.

[0453] 이의 뮤린 미생물 서열 변이체를 식별하기 위해, BALB/c 및 C57BL/6 마우스의 대변 샘플을 마우스 편리공생 미생물 서열결정을 위해 채취하였다. 채취 후에, 미생물 DNA를 IHMS 절차(국제 인간 미생물 유전체 기준; URL: <http://www.microbiome-standards.org/#SOPs>)를 사용하여 추출하였다. 서열결정을 Illumina(NextSeq500) 기술을 사용하여 수행하고, 마우스 소화관 유전자 카탈로그를 생성하였다.

[0454] 상기에 기재된 뮤린 기준 에피토프의 뮤린 미생물 서열 변이체를 인간 소화관 미생물 유전체과 관련하여 상기 실시예에서와 본질적으로 동일한 동일성 기준을 사용하여 식별하였다. 특히, 인간 미생물 및 인간 종양-연관된 에피토프에 있어서 상기 실시예에서 사용된 기준을 재현하기 위해, 웨티드를 뮤린 기준 서열에 대한 분자 의태를 기반으로 추가로 선택하였고, 이는 선택된 뮤린 기준 웨티드가 낮은 수준 내지 중간 수준으로 상이한 마우스 기관에서 발현되고 중하 수준으로 마우스 MHC 클래스 1에 결합하는 능력을 가짐을 추정한다.

[0455] 표 22는 2개의 박테리아 웨티드 후보자가 생체내 연구를 우해 선택되었음을 보여준다.

표 22

| 마우스 품종 | BALB/c | C57BL/6 |
|-------------|----------|-----------|
| 마우스 유전자/단백질 | Phtf1 | Stra6 |
| 뮤린 에피토프 | VSSVFLTL | INMLVGAIM |
| 서열번호 | 160 | 161 |
| 웨티드 명칭 | H2 Ld M5 | H2 Db M2 |
| 마우스 순위 | 2.5 | 3.5 |

| | | |
|--------|-----------|-----------|
| 미생물 서열 | KPSVFLLTL | GAMLVGAVL |
| 서열번호 | 162 | 163 |
| 펩티드 명칭 | H2 Ld B5 | H2 Db B2 |
| 미생물 순위 | 0.07 | 0.6 |

[0457] 박테리아 펩티드 H2 Ld B5(서열번호 162)는 BALB/c 마우스의 미생물에서 발견되는 단백질의 단편이다. H2 Ld B5는 Phtf1 펩티드(H2 Ld M5; 서열번호 160)의 서열 변이체이다.

[0458] 박테리아 펩티드 H2 Db B2(서열번호 163)는 C57BL/6 마우스의 미생물에서 발견되는 단백질의 단편이다. H2 Db B2는 Stra6 펩티드(H2 Db M2; 서열번호 161)의 서열 변이체이다.

[0459] 2. 박테리아 펩티드 H2 Ld B5(서열번호 162) 및 H2 Db B2(서열번호 163)는 면역원성을 유발하고 마우스 상동 펩티드에 대해 반응하는 T 세포의 활성화를 허용한다.

[0460] A. 재료 및 방법

[0461] A.1. 마우스 모델

[0462] 7주령의 건강한 암컷 BALB/c 마우스($n = 12$) 및 건강한 암컷 C57BL/6J 마우스($n = 11$)를 찰스 리버(Charles River, 프랑스 소재)로부터 입수하였다. 동물을 개별적으로 식별하고 FELASA 가이드라인에 따라 SPF 건강 상태를 유지하였다.

[0463] A.2. 면역 계획

[0464] 면역 계획은 도 1에 도시되어 있다. 간략히, BALB/c마우스 및 C57BL/6 마우스를 각각의 마우스 품종에 대해 2개의 실험군으로 무작위로 할당하고, 각각의 군을 하기 표 23에 나타낸 바와 같이 공통의 헬퍼 펩티드(OVA 323-339 펩티드; 서열: ISQAVHAAHAEINEAGR; 서열번호 164) 및 불완전 프로이드 보조제(IFA)와 조합된 특정 백신 접종 펩티드(vacc-pAg)로 면역시켰다.

표 23

실험군

| 군 | 마우스 | 펩티드 (vacc-pAg) | 헬퍼 (h-pAg) | 기본 | 부스트 | 동물 수 |
|---|---------|-------------------|---------------|----|--------|------|
| 1 | BALB/c | 없음 | OVA 323-339 | + | + (1X) | 6 |
| 2 | BALB/c | H2 Ld B 5 | OVA 323-339 | + | + (1X) | 6 |
| 3 | C57BL/6 | 없음 | OVA 323-339 | + | + (1X) | 5 |
| 4 | C57BL/6 | H2 Db B 2 | OVA 323-339 | + | + (1X) | 6 |

[0466] 펩티드를 하기와 같이 제공하였다:

[0467] · vacc-pAg의 커플: H2 Ld B5 및 H2 Db B2; 모두 4 mg/ml(4 mM) 농도로 생산되고 제공됨; 및

[0468] · h-pAg: OVA 323-339(서열번호 164); 4 mg/ml(4 mM) 농도로 제공됨.

[0469] 동물을 제0일(d0)에 기본 주사로 면역시키고 d14에 부스트 주사로 면역시켰다. 각각의 마우스에게 하기를 함유하는 100 μ L의 유성 유화액을 꼬리 맨 아래 부분에 피하 주사하였다:

[0470] · 100 μ g의 vacc-pAg(마우스 당 25 μ L의 4 mg/mL 스톡);

[0471] · 150 μ g의 h-pAg(마우스 당 15 μ L의 10 mg/mL 스톱);

[0472] · 50 μ L의 총 부피에 도달시키는 10 μ L의 PBS(마우스 당);

[0473] · 1:1(v:v) 비로 첨가된 불완전 프로이드 보조제(IFA)(마우스 당 50 μ L).

[0474] 하기와 같이, 별개의 유화액을 각각의 vacc-pAg에 대해 제조하였다: IFA 시약을 15 mL 투브에서 vacc-pAg/h-pAg/PBS 혼합물에 첨가하고 농후한 유화액을 형성할 때까지 볼텍스 상에서 1분의 반복된 주기 동안 혼합하였다.

[0475] A.3. 마우스 분석

[0476]

부스트 주사 7일 후에(즉, d21에), 동물을 안락사시키고, 비장을 채취하였다. 비장 세포를, 기관의 기계적 분열 후에, 70 μm -여과 및 Ficoll 밀도 구배 정제에 의해 준비하였다. 비장 중량, 비장 세포수 및 생존능을 즉시 평가하였다(표 24).

표 24

ELISPOT-IFN γ 분석의 셋업

| 군 | 마우스 품종 | 백신 접종 | 동물 번호 | 비장 중량 (mg) | 수 (백만) | 생존능 (%) |
|----|---------|----------------------|-------|------------|--------|---------|
| 1 | BALB/c | OVA + IFA | 6 | 126.0 | 101.8 | 97.1 |
| | | | 7 | 125.1 | 135.4 | 96.9 |
| | | | 8 | 137.9 | 132.8 | 97.0 |
| | | | 9 | 144.2 | 79.2 | 96.7 |
| | | | 10 | 111.2 | 69.5 | 97.3 |
| | | | 11 | 111.6 | 74.5 | 97.8 |
| 2 | BALB/c | OVA + IFA + H2 Ld B5 | 42 | 135.0 | 95.9 | 98.4 |
| | | | 43 | 166.0 | 116.2 | 97.6 |
| | | | 44 | 161.8 | 78.5 | 98.2 |
| | | | 45 | 159.0 | 91.3 | 98.7 |
| | | | 46 | 231.0 | 133.1 | 98.7 |
| | | | 47 | 148.3 | 108.8 | 98.1 |
| 3 | C57BL/6 | OVA + IFA | 54 | 93.8 | 129.1 | 98.4 |
| | | | 55 | 91.6 | 89.0 | 98.2 |
| | | | 56 | 125.1 | 123.1 | 97.9 |
| | | | 57 | 97.6 | 81.3 | 98.4 |
| | | | 58 | 110.6 | 90.2 | 98.2 |
| | | | 59 | 101.5 | 85.6 | 98.9 |
| 11 | C57BL/6 | OVA + IFA + H2 Db B2 | 60 | 103.9 | 75.5 | 98.9 |
| | | | 61 | 97.5 | 82.0 | 99.1 |
| | | | 62 | 134.3 | 88.0 | 98.1 |
| | | | 63 | 105.7 | 96.6 | 99.0 |
| | | | 64 | 90.7 | 90.5 | 99.1 |

[0477]

비장 세포를 ELISPOT-IFN γ 분석에서 사용하였다(표 X). 실험 조건을, 웰 당 $2*10^5$ 개의 총 비장 세포를 사용하여, 4회 실험으로 반복하고, vacc-pAg($10 \mu\text{M}$), 마우스 웨პ티드 상동체 또는 양성 대조군(1 ng/ml 의 포르볼(Phorbol) 12-미리스테이트 13-아세테이트(PMA) 및 500 ng/ml 의 이노마이신)의 존재 하에, 또는 배지만 존재 하에 배양하여 IFN γ 를 분비하는 이의 능력을 평가하였다.

[0479]

상업적 ELISPOT-IFN γ 키트(디아클론 키트 뮤즈린 IFN γ ELISPOT)를 제조사의 지시에 따라 사용하고, 분석을 약 16시간의 항온처리 후에 수행하였다.

표 25

ELISPOT-IFN γ 분석의 셋업

| 군 | 마우스 | 자극 | 웰 | 동물 | 총 |
|---|--------|----------------------|---|----|----|
| 1 | BALBc | H2 Lb B5 (KPSVFLLTL) | 3 | 6 | 18 |
| | | PMA + 이노마이신 | 3 | 6 | 18 |
| | | 배지 | 3 | 6 | 18 |
| 2 | BALBc | H2 Lb B5 (KPSVFLLTL) | 3 | 6 | 18 |
| | | H2 Ld M5 (VSSVFLLTL) | 3 | 6 | 18 |
| | | PMA + 이노마이신 | 3 | 6 | 18 |
| | | 배지 | 3 | 6 | 18 |
| 3 | C57BL6 | H2 Db B2 (GAMLVGAVL) | 3 | 5 | 15 |
| | | PMA + 이노마이신 | 3 | 5 | 15 |
| | | 배지 | 3 | 5 | 15 |
| 4 | C57BL6 | H2 Db B2 (GAMLVGAVL) | 3 | 6 | 18 |
| | | H2 Db M2 (INMLVGAIM) | 3 | 6 | 18 |
| | | PMA + 이노마이신 | 3 | 6 | 18 |
| | | 배지 | 3 | 6 | 18 |

[0480]

[0481] 스팟을, 이뮤노스팟 5.4 소프트웨어에 접속된 그랜드 이뮤노스팟(등록상표) S6 열티밋 UV 이미지 애널라이저 (CTL-유럽) 상에 계수하였다. 데이터 플로팅 및 통계 분석을 프리즘-5 소프트웨어(그래프패드 소프트웨어 인코포레이티드)를 사용하여 수행하였다.

B. 결과

[0483] 결과를 도 8(C57BL/6 마우스의 경우) 및 도 9(BALB/c 마우스의 경우)에 나타냈다. 종합적으로, 박테리아 웨티드 H2 Db B2(서열번호 163) 및 H2 Ld B5(서열번호 162)에 의한 백신 접종은 ELISPOT-IFN γ 분석에서 개선된 T 세포 반응을 유발하였다. 또한, 박테리아 웨티드 H2 Db B2 및 H2 Ld B5에 의한 백신 접종은 또한 각각 뮤린 기준 에피토프 H2 Db M2 및 H2 Ld M5에 대한 ELISPOT-IFN γ 분석에서 개선된 T 세포 반응을 유발하였다. 대조군 마우스에서(OVA 323-339 + IFA로 백신 접종시킴), T 세포 반응의 비특이적 유발이 ELISPOT-IFN γ 분석에서 박테리아 웨티드 H2 Db B2 및 H2 Ld B5에 의한 생체외 자극에 대한 반응으로 관찰되지 않았다.

[0484] 요약하면, 이들 결과는, 상기에 기재된 바와 같은 미생물 서열 변이체의 식별 방법이 숙주 기준 웨티드에 대해 T 세포의 활성화를 유발하는 미생물 서열 변이체를 식별하는 데 효율적이라는 것의 실험 증거를 제공한다.

[0485]

서열 및 서열번호(서열 목록)의 표

| 서열번호 | 서열 | 비고 |
|---------|------------------------|----------------------------|
| 서열번호 1 | WLPFGFILI | IL13RA2 에피토프, IL13RA2-H |
| 서열번호 2 | LLDTNYNLF | IL13RA2 에피토프 |
| 서열번호 3 | CLYTFLIST FLISTTFGC | IL13RA2 에피토프 |
| 서열번호 4 | FLISTTFGC VLLDTNYNL | IL13RA2 에피토프 |
| 서열번호 5 | VLLDTNYNL | IL13RA2 에피토프 |
| 서열번호 6 | YLYTFLIST | 서열 변이체 |
| 서열번호 7 | KLYTFLISI | 서열 변이체 |
| 서열번호 8 | CLYTFLIGV | 서열 변이체 |
| 서열번호 9 | FLISTTFTI | 서열 변이체 |
| 서열번호 10 | FLISTTFAA | 서열 변이체 |
| 서열번호 11 | TLISTTFGV | 서열 변이체 |
| 서열번호 12 | KLISTTFIGI | 서열 변이체 |
| 서열번호 13 | NLISTTFIGI | 서열 변이체 |
| 서열번호 14 | FLISTTFFAS | 서열 변이체 |
| 서열번호 15 | VLLDTNYEI | 서열 변이체 |
| 서열번호 16 | ALLDTNYNA | 서열 변이체 |
| 서열번호 17 | ALLDTNYNA | 서열 변이체 |
| 서열번호 18 | FLPFGFILV | 서열 변이체, IL13RA2-B |

[0486]

| | | |
|---------|---|----------|
| 서열번호 19 | QYTNVKYPFPYDPPYVPNENPTGLYHQKFHLSKEQKQY QQFLNFEGVDSCFYLYVNKTFGYSQVSHSTSEFDITPFT VEGQNELHVIVLKWCDSYLEDQDKFRMSGIFRDVYLM FRPENYVWDYNIRTSLSNENSKAIEVFIMNQQQLKNPH YQLLNSEGIVLWEQYTKDTSFQFEVSNPILWNAEAPYLT FLISTEEVIVQQLGIREVSISEGVLLINGKPIKLKGVNHRD MDPVGTFTISYEQAKKDMTLMKEHNINAIRTSHYPNAPW FPILCNEYGFYVIAEADLEAHGAVSFYGGGYDKTYGDIV QRPMFYEAILDNRERNLMRDKNNPSIFMWSMGNEAGYS KAFEDTGRYLKELDPTRLVHYEGSIHETGGHKNDTSMID VFSRMYASVDEIRDYLSKPNKKPFVLCEFIHAMGNPGD EDYLSLFYEMDRIAGGFVWEWSDHGIYMGKTEEGIKKY YYGDDDFDIYPNDSNFCVDGLTSPDRIPHQGLLEYKNAIRP IRAALKSAIYPYEVTLINCLDFTNAKDLVELNIELLKNGE VVANQRVECPDIPPRCSTNIKIDYPHFKGVWQEGDYVHI NLTYLQKVAKPLTPRNHSGLFDQLLVNEPSRKEFWSVG EFDIQNRTPIDNNEEISIEDLGNKIQLHHTNFHYVYNKFTG LFDSIVWNQKSRLTKPMEFNIWRALIDNDKKHADDWKA AGYDRALVRVYKTSLTKNPDTGGIAIVSEFSILTAVHIQRL EGSIEWNIDRDGVLTTFHVDAKRNLSMPFLPREFGIRCFLPS AYEEVSYLGFGPRESYIDKHRASYFGQFHNLVERMYEDN IKPQEENSSHCGCRFVSLQNNAKDQIYVASKEAFSFQASRY TQEELLEKKRHNYELVKDEDTILCLDYKMSGIGSAACGP LAEQYQLKEEEIKFSLQIRFDRS | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 20 | MKTIRKLYTFLISIFVILSLCSCYNNDTHIITWQNEDGTILAV DEVANGQIPVFQGSTPTKDSSSQYEYSF | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 21 | MATLYCLYTFLIGVLYHSAWFLTQAFYYLLLFLIRLILSHQ IRTSCNSSLPLTRLKTCLMIGWLLLLFTPILSGMТИLPHQES STTHFSQNVLVVALYTFINLGTVLRGFAKPRRATVLLKT DKNVVMVTMMTSLYNLQTLMLAAYSHDKSYTQLMTMT TGLVIIVITIGLALWMIIESRHKIKQLANNAG | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 22 | ICAKNNNGPNTSSTNYAFLISTTIFTINKGFVDVYSELNHAI YSYDTVTFSGGTHIARTGSSASSSYRPIRLGLNSSNPIVINA PTFTLDSLQSDGSAMTTYSDVSNDVKVTLLAASGSSAN HYAKLTSEFPPTVSTTGTSGVTVSVKTDGQQYLFIA DSTGHILLELQQRLRGEEAILKAEFTFPTVSP | 박테리아 단백질 |

| | | |
|---------|---|----------|
| 서열번호 23 | MEHKRKKWILIIMLLTVCVSVFVVYAGREWMFTNPFKPYTFSSVSYASGDGDGCTYVIIDDSNRKILKISADGRLLWRA CASDKSFLSAERVVADGDGNVYLHDVRIEQGVQIASEGI VKLSSKGKYISTVASVEAEKGSRNIVGMVPTEHGVVY MQKEKEGILVSNTEQGSSKVFSVADAQDRILCCAYDRDS DSLFFYVTYDGKIYKTDSGQDELLYDSDTVDGSIQPEISY SDGVLYSADIGLRDIIRIPCDMENTGSTDRLTVEESLKERE IAYHVSAPGTLVSSTNYSVILWDGEDYEQFWDVPLSGKL QVNCLLWAACAVIVAABLFFAVTLLKILVKKFSFYAKIT MAVIGHIVGVAALFIGTLFPQFQSLLVDETYTREKFAASAV TNRLPADAQRLEKPSDFMNEDYRQVRQVVRDVFFSDS DSSQDLYCVLYKVKDGTIVLVTYLEDICVAPPYDWYEYEG TDLQEVMEQGATKTYATNSSAGGFVFIHSPIRDKGDIIGII EVGTDMNSLTEKSREIQVSLIINLIAIMVVFFMLTFEVIYFI KGRQELKRRKQEEEDNSRNPVEIFRFIVFLVFFTNLTCAIL PIYAMKISEKMSVQGLSPAMLAAPISAEVLSGAIFSAALG GKVIHKLGAKRSVVFVSSVLLTAGLGLRVVPNIWLLTLSAL LLGAGWGVLVLLVNLMIVELPDEEKNRAYAYYSVSSLG ANCAVFGGFLLQWMSYTALFAVTAVLSVLLFLVANKYM SKYTSDEEENCETEDTHMNIVQFIFRPRISFFLMMIPL LICGYFLNYMPPIVGSEWGLSETTYIGTYLLNGIFVLLGT PLTEFFSNRGWKHLGLAVAIFIYAAAFLEVTLQNPISLLI ALALIGVADSGIPLLTSYFTDLKVERFGYDRGLGVYSL FENGAQSLGSFVFGYVVLGVGRGLIFVLLVSVLSAFLISTTFAAHRDKRRSKNMEKRRKLNLVELIKFLGSMLVVGV LMLLGSSLVNNRQYRKLYNDKALEIAKTVSDQVNQDFIE ECLKEIDTEEFEQIQLKEAVADDEQPIDWLKEKGMYQNY ERINEYLSHQADMNIEYLYIQMIDHSSVYLFDPSSGYLT LGYKEELSERFDKLKGNERLEPTVSRTEFGWLSSAGEPV LSSDGEKCAVAFVDIDMTEIVRNTRFTVLMVCLCILI AGMDISRKIKKRISRPIELLTEATHKFGNGEEGYDENNIVD LDIHTRDEIEELYHATQSMQKSIINYMDNLTRVTAEKERIG AELNVATQIQASMLPCIFPAFPDRDEMIDIYATMTPAKEVG GDFYDDFMVDDRHMAIVMADVSQKGVPAAFLMVIGKTL IKDHTQPGRDLGEVFTEVNNILCESNENGMFITAFEGVLD LVTGEFRYVNAGHEMPFVYRRETNTYEAYKIRAGFVLAG IEDIVYKEQKLQLNIGDKIFQYTDGVTEATDKDRQLYGM DRLDHVNLNQQCLSSNPEETKLVKAIDAFVGDNDQFDD ITMLCLEYTKKMENQRLNNC | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 24 | MAACAAACR WLMNEKTLISTTFGVGVQLTLNAVEHKAKQDCY | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 25 | MAKLNIGIFTDTYFPQLNGVATSQVQLRRELEKRGHQVYIFTPYDPRQQQETDDHFRLPSMPFIVKKNYRACFVCPPHILRKIHQLKLDIHTQTEFSLGFLGKLISTTFCGIPMVHTYHTM YEDYVHYIAGGHLISAEGAREFSRIFCNTAMAVIAPTQKT ERLLLSYGVNKPISIPTGIDTSFRKSNYDPAEILELRHSL GLKADTPVLSIGRIAKEKSIDVIIGALPKLLEKLPNTMMV IVGEGMEIENLKKYADSLGIGDHILLFTGGKPWEIGKYY QLGDVFCASLSETQGLTFAEAMAGGIPVVARRDDCIVNF MTHGETGMFFDDPAELPDLLYRVLTDKPLREHLSTTSQN TMESLSVETFGNHVEELYEKVVRAFQNAESIPLHSLPYIK GTRVVHRISKIPKKLAHRSRSYSSQIAERLPFLPRHRS | 박테리아 단백질 |

| | | |
|---------|---|----------|
| 서열번호 26 | MIILNAMKLINLISTTFGIGVQDLLLKESFNEVECFRLPR PFCVIADDINLFYAQILDDCQFDFLYCCNSEITNSLHSITD VENFVSHISDKLASLDNDPDDIEVVNSFSILVKJRKERER VLNIYDFIALCNYWNDLTWENRLFVLSKEELKRGIVFYL LEDDJCSFKTEGFYFSHNREEKPHIVNCLEDIRENVWGN LDVYKLTPLYFHITQRSNVENIFQETFDVLSAVFSLCSILDI VSLNAKDGLVYKLCGYKNINGELNIDNSFSLLKNTENE YFKIFRWIYIGECKTDKIGIARNVLSLFIANDNIAEDNV FISIQSSFKTYLKENLDKYVAIRNQIYQELDAISSLSSAVKK DFLEGFKHNLLACITFFSTIVLEVGGNSKSYFLFTKEVC ILCYAVFFISFLYLLWMRGDIEVEKKNISNRVVLKKRYS DLLIPKEDIILRNGEELKEQMGYIDLVKKYTAWLICSL TLCVIVTVLSPIGNMFAGMIFAFKSIIVFGLLIFLVRLGSF IL | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 27 | MNVFAGIQFGIRKGLRYKVNTYSWFLADLALYASVILMY FLISTTFASFGAYTKTEMGLYISTYFINNLFAVLFAVSE YGASILNGSFSSYYQLTPVGPLRSLLNNFNFAAMLSTPALL AMNIYFVVQLFTTPVQVILYYLGVLFACGTMLFVFQTISA LLLFGVRSSAIASAMTQLFSIAEKPDMVFHPAFRKVFTFVI PAFLFSAVPSKVMLGTAAVSEIAALFLSPLFFYALFRILEAA GCRKYQHAGF | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 28 | MNKALFKYFATVILVLLFSSSVSMVILSDQMMQITRKD MYYTVKLVENQIDYQKPLDNQVEKLNLDLAYTKDTRLTII DKDGNVLAQSDKEGIQENHSGRSEFKEALSDQFGYATRY SSTVKKNMVYVAYYHGRGVVRIAIPYNGIFDNGIPPLLEPL FISAALSLCVALALSYRFSRTLTKEQADTIRKTLLKNERLKINS ILDKMNEGFVLLDTNYEILMVNKKAKQLFGDKMEVNQP IQDFIFDHQIIDQLENIGVEPKIVTLKKDEEVYDCHLAKVE YGVVLLFVNITDSVNATKMRQEFFFNSNVSHELKTPMTSIRG YSELLQTGMIDDPKARKQALDKIQKEVDQMSSLISDILMI SRLENKDIIEVQHPVHLQPIVDDILESLKVEIEKKEIKVTC DLTPQTYLANHQHVQQLMNNLINNAVKYNKQKGSLNIH SYLVDQDYIIEVSDTGRGISLIDQGRVERFFRCDAGRDK ETGGTGLGLAIVKHIVQYYKGTIHLESELGKGTTFKIVLPI NKDSL | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 29 | MSISLAEAKVGMADKVDDQQVVDEFRRASLLDMLFDD AVSPGTGGSTLTGYTCLKTPSTAVRELNTETPNEAKR EKKTADLKIFGGGSYQIDRVIAQTSGAVNEVEFQMREKIK AANYFHMLVINGTGAGSGAGYVTNTFDGLKKILSGSDTE YTAEDVDISTSALLDTNYNAFLDAVDTIFISKLAEPDILM MNTEMLTKVRSAARRAGYYDRSKDDGRAVETYNGIKL LDAGYYNGSTTEPVVAIETDGSTAIYGIKIGLNAFHIGVS PKGDKIIAQHLPDFSQAGAVKEGDVEMVAATVLKNSKM AGVLKGKIKPTE | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 30 | MPVTLAEAKVGMADKVDDQQVIDEFRRSSLLLDMLTFDD SVSPGTGGSTLTGYVRLKTPSTAVRSINSEYTANEAKR EKATANVILGGSFEVDRVIANTSAGAVDEIDFQLKEKTKA GANYFHMLVINGTSAASGAGFVVNTFDGLKKILSGSDTE YTSESDISTSALLDTNYNAFLDELDASFILKLAEPDILM NEMLTKTRAARRAGFYERSVDFGFRTEVKYNGIPMMD AGQYYNGSATDVIENTSTPSTSAYGETDIYAVKLGNAFH GISVDGSKMITHYLPLDQAPGAVKKGVELLAGAILKNS KMAGRILKGKIKPCTTAGG | 박테리아 단백질 |

| | | |
|---------|---|------------|
| 서열번호 31 | MVFVFSLLFSPFFALFFLLLLYRYKIKKIHALSVFLVAIFI GIYWYPWGDNQTHFAIYLYDIVNNYYSLALSSSHWLYD YVIYHIASLTGQYIWGYYFWLFVPFLFFSLLVWQIVDEQE VPNKEKWLLILLILFLGIRELLDLNRNTNAGLLLAIATLL WQKNKAISITCVIVSLLLHDHSVRYFIPFLPFGFILVKQSQR KTDLIIITIIISGFLIKVIAPLVVSEARNAMYLEVGRRGVG SGFMVLQGYVNILIGHQYLIIIRRNKSVIAKPLYVYYIVSILI AAALSSMWVGGRERFLVSNILATSIIIWSKRLVEGVK VLRNFQLIIGSYSMKIIINLLVYSAHYVFNSATTDNQKEF SIVARSFYMPMTMLFDIENYGFSDKKFMNLYDRVSTDIDG E | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 32 | MAKTIAYDEEARGLERGLN | HHD-DR3 |
| 서열번호 33 | IISAVVGIA | 펩티드 |
| 서열번호 34 | ISAVVGIV | 펩티드 |
| 서열번호 35 | LFYSLADLI | 펩티드 |
| 서열번호 36 | ISAVVGIAV | 펩티드 |
| 서열번호 37 | SAVVGIAVT | 펩티드 |
| 서열번호 38 | YIISAVVGI | 펩티드 |
| 서열번호 39 | AYIISAVVG | 펩티드 |
| 서열번호 40 | LAYIISAVV | 펩티드 |
| 서열번호 41 | ISAVVGIAA | 펩티드 |
| 서열번호 42 | SAVVGIAAG | 펩티드 |
| 서열번호 43 | RIISAVVGI | 펩티드 |
| 서열번호 44 | QRRIISAVVG | 펩티드 |
| 서열번호 45 | AQRRIISAVV | 펩티드 |
| 서열번호 46 | SAVVGIVV | 펩티드 |
| 서열번호 47 | AISAVVGI | 펩티드 |
| 서열번호 48 | GAISAVVG | 펩티드 |
| 서열번호 49 | AGAISAVV | 펩티드 |
| 서열번호 50 | LLFYSLADL | 펩티드 |
| 서열번호 51 | ISAVVG | 펩티드 |
| 서열번호 52 | SLADLI | 펩티드 |
| 서열번호 53 | IISAVVGIL | 펩티드 |
| 서열번호 54 | LLYKLADLI | 펩티드 |
| 서열번호 55 | YLVPIQFPV | FOXM1 애피토프 |
| 서열번호 56 | SLVLQPSVKV | FOXM1 애피토프 |

| | | |
|---------|------------|-------------|
| 서열번호 57 | LVLQPSVKV | FOXM1 에 피토프 |
| 서열번호 58 | GLMDLSTTPL | FOXM1 에 피토프 |
| 서열번호 59 | LMDLSTTPL | FOXM1 에 피토프 |
| 서열번호 60 | NLSLHDMFV | FOXM1 에 피토프 |
| 서열번호 61 | KMKPLLPRV | FOXM1 에 피토프 |
| 서열번호 62 | RVSSYLVPI | FOXM1 에 피토프 |
| 서열번호 63 | ILLDISFPG | FOXM1 에 피토프 |
| 서열번호 64 | LLDISFPGL | FOXM1 에 피토프 |
| 서열번호 65 | YMAMIQFAI | FOXM1 에 피토프 |
| 서열번호 66 | SLSLHDMFL | 서열 변이체 |
| 서열번호 67 | KLKPLLPWI | 서열 변이체 |
| 서열번호 68 | KLKPLLPFL | 서열 변이체 |
| 서열번호 69 | MLSSYLVPI | 서열 변이체 |
| 서열번호 70 | LLSSYLVPI | 서열 변이체 |
| 서열번호 71 | FVSSYLVPT | 서열 변이체 |
| 서열번호 72 | KVVPIQFPV | 서열 변이체 |
| 서열번호 73 | KIVPIQFPI | 서열 변이체 |
| 서열번호 74 | LMDLSTTNV | 서열 변이체 |
| 서열번호 75 | LMDLSTTEV | 서열 변이체 |
| 서열번호 76 | WLLDISFPL | 서열 변이체 |
| 서열번호 77 | HLLDISFPA | 서열 변이체 |
| 서열번호 78 | ELLDISFPA | 서열 변이체 |
| 서열번호 79 | VLLDISFEL | 서열 변이체 |
| 서열번호 80 | VLLDISFKV | 서열 변이체 |
| 서열번호 81 | IMLDISFLL | 서열 변이체 |
| 서열번호 82 | LLDISFPSL | 서열 변이체 |
| 서열번호 83 | YQAMIQFLI | 서열 변이체 |
| 서열번호 84 | RLSSYLVFI | 서열 변이체 |

[0491]

| | | |
|---------|---|----------|
| 서열번호 85 | MFQSVFEGFESFLFVNNTTSRSGVIIHDSIDSKRTMTVVI VALLPALLFGMYNVGYQHYLAIGELAQTSFWSLFLFGFL AVLPKIVVSYVVGGLGIEFTAQLRHHEIPEGFLVSGMLIP MIVPVDTPLWMIAVATAFAVIFAKEVFGGTGMMNIFNIALV TRAFLFFAYPSKMSGDEVFVRTGDTFGLGAGQIVEGFSG ATPLGQAATHTGGGALHLDILGNSSLHDMFLGFIPGSI GETSTLAILIGAVILLVTGIASWRVVMLSVFAGGIVMSLICN WCANPDIYPAAQLSPLEQICLGGFAFAAVFMATDPVTGA RTNTGKYIFGFLVGVLAILRVFNNSGYPEGAMLA VLLMN AFAPLIDYFVVEANIRHRLKRAKNLT | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 86 | MEGLEGEDAITCFNDSFNHLKDRPDWDGYITLKEANEW YRSGNGEPLFADINKIDFDNYVSWGEKYVGETYVINYLJ HIGRNQTHIGAKVAGQGTAFNNIYGKKKLKPPLPKWI | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 87 | MDKEKLVLIIDGHSIMSRASYGVPELTNSEGLHTNAVYGF LNIMFKILEEEQADHVAVAFLKEPTFRHQMFQYKGMR KPMPEELHEQVDLMKEVLGAMEVPILTMAFGEADDILG TVAKESQAKGVVVVVSGDRDQLLADEHKIRIPKTSR GGTEIKDYYPEDVKNEYHVTPEFIDMKALMGDSSDNIP GVPSIGEKTAACIIEAYGSIENAYAHIEEKPPRAKKSLEEN YSLAQLSKELAAINTNCGIEFSYDDAKTDSLTPAAYQY MKRLEFKSLLSRFSDTPEVSPSAEHFRMVTFGEAEAV FASCRKGAKIGLELVIEDHELTAMALCTGEATYCFVPQG FMRAYLVEKARDLCRTCERVSVLKLKPPLPFLKAESDS PLFDAGVAGYLLNPLKDTYDYLARDYLLGTVPSRAG LIGKQSVKMALETDEKKAFTCVCYMGIYAFMSADRLLTE ELKRTEMYSLFTDIEMPLIYLFHMEQVGIKAERVRLKEY GDRLKVQIAVLEQKIYEETGETFNINSPKQLGEVLFDHM KLPGKKTGSYSTAADVLDKLAPDYPVQVQMLDYRQL TKLNSTYAEGLAVYIGPDERIHGTFNQTATGRIS단계NL QNIPVRMELGREIRKIFVPEGDYVVFIDADYSQIELRVLAH MSGDERLIGAYRHAEDIHAITASEVFHTPLDEVTPLQRNN AKAVNFGIVYGISSFGLSEGLSISRKEATEYINKYFETYPG VKEFLDRLVADAKETGYAVSMFGRRRPVPELK SANFMQ RSFGERVAMNSPIQGTAADIMKIAMIRVDRALKAKGLKS RIVLQVHDELLIETRKDEVEAVKALLVDEMKAADLSVS LEVEANVGDSWFDK | 박테리아 단백질 |

[0492]

| | | |
|---------|--|----------|
| 서열번호 88 | MDKEKIVLIDGHSIMSRAFYGVPELTNSEGLHTNAVYGF LNIMFKILEEEQADHVAVAFDRKEPTFRHKMFEPYKGTR KPMPELHEQVDLMKEVLGAMEVPILTMAGYEADDILG TVAKESQAKGVVEVVVSGDRDLLQLADEHICRIPKTSR GGTEIKDYYPEDVKNEYHVTPTEFIDMKALMGDSSDNIP GVPSIGEKTAACIIEAYGSIENAYAHIEEIKPPRAKKSELEN YSLAQLSKELATININCIGIEFSYDDAKADNLYTPAAYQY MKRLEFKSLLSRSDFPVEPSAEAHFQMVTDFGEAEAIF AACKAGAKIGLELVIEDHETAMALCTGEEATYCFVPQG FMRAEYLVEKARDLCSRSCERVSVLKLKPLLPFLKAESDS PLFDASVAGYLLNPPLKDTDYDDLARDYLGMTVPSRAD LLGKQTICKALESDEKKAFTCICYMGIYIAFMSADRLEEE LKKAEMYSLFTDIEMPLIYSLFHMEQVGIIKAERERLKEY GDRLKVQIVALEQKIYEETGETFNINSPKQLGEVLFDHM KLPNGKKTSGYSTAADVLDKLAPDYPVVQMLDYZRQL TKLNSTYAEGLAGVYIGPDERIHGTNFNTATGRIS단계NL QNIPIVRMELGREIRKIFVPEDGCVFIDADYSQIELRVLAH MSGDERLIGAYRHADDIHAITASEVFHTPLNEVTPLQRNN AKAVNFGIVYGISSFGLSISRKEATEYINKYFETYYPG VKEFLDRLVADAKETGYAVSMGRRRPVPELKSTNFMQ RSFGERVAMNSPIQGTAADIMKIAMIRVDRALKAKGLKS RIVLQVHIDELLIFTQKDEVAVKALLVDEMKAADLSVS LEVEANVGDSWFDAAK | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 89 | MHTDQFFKEPKRGGRESMLDNTQRIVSIADANASSSAM DTENADTLDDYEVITKLQKKKTVIVPRVQSMQDYILKHH KRMILAEINRQLDGGTLQEIAQDAQHPVTLHVGDCRFG DMIFWRYDARVLLTDVIISAYIHTGEATQTYDLYCELWV DMSKGMTTCGECGFLEDKPCRNWLWMLSSYLVPILRKD EVEQGAEEELLRYCPKALEDLREHDAYRLADRMACGW NVIRFTERKAPSACFSSVRVK | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 90 | MFRIDSDTQTYPNAFTSDNMEEDENPRLDRTQEKTVVVP RIQSMKNYILKHHKRMILSELNRQIDGGTLQEIQATAKGC VTLNAQNCTFPDMNFWRYDTYTLLAEVLVCVNIEIDGIL QTYDLYCELIVDMRKSMDKFGYGECKFLDKPERDLWL SSYLVPIRKDEVHQGAEEELLRYCPNALTDRKHEHNAYV LAENMGLHVERYPLYRQSATLSVLFFCDGYVVAEEQDEE GRGLDTPYTVKVSAGTIINTNAVHKDCCQLEIYHECIHY DWHYMFKLQDMHNSDIRNLKTKRIVLIRDKSVTNPTQ WMEWQARRGSFGMLMMPLCMMEPLVDTMRMERVNNG QHPGKEFDISIARTIARDYKLPKFRVKARLLQMGYIAAKG ALNYVDGRYIEPFFAFSAEENGSGNNSFVIDRKSAFAIYQEN EAFRKQIQSGRYVYADGHICMNDSKYVCETNNGLMLTS WANAHDTCCLRFTSNYEPCGISDYCFGVMNSDEEYNRH YMAFANAKKELTEKEKLAAMTRILYSLPASFPEALSYLM KQAHITIEKLEEKACISSRTISRLTEERRDYSLDQ | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 91 | RDALGKKKLGILFASLLTFCYMLAFNMLQANNMSTAFE YFIPNYRSGIWPWVIGIVFSGLVACVVFGGIYRISFVSSYL VPTMASVYLLVGLYIIITNITEMPRILGIIFKDAFDFQSITG GFAGSVVLLGIKRGLLSNEAGMGSAPNSAATADTSHPAK QGVMQILSVGIDTILICSTSAFIILLSKTPMDPKMEGIPLM QAAISSQVGVWGRYFTVSIICAFSAVIGNFGISEPNVLFI KDSKKVLNTLK | 박테리아 단백질 |

| | | |
|---------|--|----------|
| 서열번호 92 | MKVYKTNEIKNISLLGSKGSKTTLAESMLYECGVINRR GSIANNNTVCDYFPVEKEYGYSVFSTVFYAEFNNKKLNVIDCPGMDDFVGNAVTALNITDAGVIVVNSQYGVEVGTQNIYRTAAKINKPVIFALNKMDAENVYDNLINQLKEAFGNKVPIQFPVATGPDFNSIVDVLIMKQLTWGPEGGAPTTIDIAPEYQDRAAEMNQALVEMAAENDETLMDKFFEKGALSEDEMREGIRKGGLIDRSICPVFCVSALKDMGVRRMMEF LGNVVPFVNNEVKAPVNTEGVIEKPDANGPLSVFFFKTTVEPHIGEVSYFKVMSGTLKAGMDLNNVDRGSKERLAQISEVCGQIKTPVEALEAGDIGAVKLKDVRTGNTLNDKGV EYRFDFIKYPAPKYQRAIRPVNESEIEKLGAIINRMHEEDPTWKIEQSKELKQTIVSGQGEFHLRTLKWRIENNEKVQIEYLEPKIYPRETTKVARADYRHKKQSGGSGQFGEVHLLIVEAYKEGMEEPGTYKFGNQEKFMSVKDKQFIALEWGGKIVIYNCIVGGAIDARFIPAIVKGIMDRMEQGPVTGSYARDVRVCYDGKMHPVDSNEISFRLAARHAFSEAFNAASPKVLEPVYDAEVLMPADCMGDVMSDLQGRRAIIMGMEEANGLQKINAKVPLKEMASYSTALSSITGGRASFTMKFASYELVPTDIQEKLHKEYLEASKDDE | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 93 | MKVYETKEIKNIALLGSKGSKTTLAEAMILLECGVIKRGSVENKNTVSDYFPVEKEYGYSVFSTVFYAEFLNKKLNVIDCPGSDDFVGSAITALNVTDTGVILIDGQYGVVEVGTQNIFRATEKLQKPVIFAMNQIDGEKADYDNVLQQMREIFGNKIVPIQFPSCGPFGNSMIDVLLMKMYSWGPDGPTTISDIPDEYMDKALEMHQGLVEAAAENDESLMEKFFDQGTLSEDEMERSGIRKGGLIGRQIFPVFCVSALKDMGVRRMMEFLGVNVPPVEDMPAPEDTNGDEVKPDKGPLSLFVFKTTVEPHIGEVSYFKVMSGTLNVGEDLTNMNRGGKERIAQIYCVCGQIKTNV | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 94 | MKMKKWSRVLAVLLALVAVLILSACGGKRAEKEDAETITVYLWSTKLYDKYAPYIQEQLPDINVEFVVGNNLDFYKFLKENGGLPDIITCCRFLSHDASPLKDSLMDLSTTNVAGAVYDTYLNFMNEDGGSVNWLPCVADAHGFFVNKDLFEKYDILPTDYKSFSVACQAFDKVGIRGFTADYYDYTCMETLQGLSASELSSVDGRKWRTTYSDPDNTKREGLDNTIVWPKAFAERMEQFIQDTGLSQDDLLDMNYDDIVEEMYSGKLAMYFGSSSGVKMFQDQGINTTFLPFFQENGEKWLMTTPYFQVALNRDLTQDETTRKKANKVLNIMLSEDAQTQIUYEGQDLLSYSQDVDMQLTEYLKDVKPVIEENHMYIRIASNDFFSVSKDVsVSKMISGEYDAEQAYESFNTQLLEEESHIESVVLDSQKSYSNRFHSSGGNAAYSVMANTLRGIYGTDVLIATGNSFTGNVILKAGYTEKIMAGDMIMPNDLAAYSSTMNGAELKETVKNFVEGYEGGFIPFNRGSLPVFGSISVEVKETEDGYTLSKVTKDGGKKVQDNDTFTVTCCLAIPKHMETYLADENIVFDGGDTSVKDTWTGTYSDGEAILVEPEDYINVR | 박테리아 단백질 |

[0494]

| | | |
|---------|---|----------|
| 서열번호 95 | MEKKKWNRVLSVLFVMVTALSLSGCGGKRAEKEDKE TITVYLWTNLYEKYAPYIQQQLADINIEFVGNNDLDFY KFLKENGGLPDIITCCRFSLHDASPLKDSLMDLSTTNAG AVYDTYLNQFQNEDGSVNWLPCADAHGFLVNKDLFEK YDIPPLPTDYESFVSACEAFDKVGIRGFTSDYFYDTCME TLQGLSASELSSPDGRKWRTGYSDPDNTKIEGLDRTVWP EAERMEQFIRDGLSRDDLDMDYDAVRDMFKSGKLA MYFGSSADVKKMMEQQGINTTFLPFFQENGEKWIMTPY FQVALNRDLISKDDTRRKAMKILSTMLSEDAQKRIISDG QDLLSQSVDVKLTQYLNNDVPMQENHMYIRIASNDF FSVSKDVVSKMISGEYDAGQAYQVFHSQLEEEASENI VLDSQSKSYNSNRFHSSGGNEAYSVMVNTLRGIYGTDVLI TGNSFTGNVLKAGYTEKMAGDMIMPNGL SAYSSKMSGT ELKETLRNFVEGYEGGFIPFNRGSLPVVSGISVEIRETDG YTLGKVTKDGKQVQDNDIVTVCLALPKHMEAYPADD NIVFGGEDTSVKDTWLEYISEGDAILAEPEDYMTLR | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 96 | MKKKKWNKILAVLLAMVTAVSLLSGCGGKSAEKDAET ITVYLWSTNLYEKYAPYIQQQLPDINVEFVGNNDLDFY KFLEENGGGLPDIITCCRFSLHDASPMKDSLMDLSTTNVA GAVYDTYLRNFMNEDGSVNWLPCADAHGFLVNKDLF EKYDIPPLPTDYESFVSACQVFEEMGIRGFAADYYYDYTC METLQGLSASELSSADGRRWRITYSDPDSTKREGLDSTV WPEAERMEQFIQDGTLSQDDLMNYDDIVEMYQSGKL AMYFGSSFGVKMFQDQGINTTFLPFFQENGEKWLMTTP YFQVALNRDLTKDETRRKKAMEVLSTMLSEDAQNRIISE GQDMLSYSQDVDMQLTEYLKDVKSVIEENHMYIRIASN DFFSISKDVVSKMISGEYDAEQAYQSFNSQLLEEKATSEN VVLNSQSKSYNSNRFHSSGGNAAYSVMANTLRGIYGTDVLI ATGNSFTGSVLKAGYTEKMAGDMIMPNVLLAYNSKMS GAEKLKETVRNFVEGYQGGFIPFNRGSLPVVSGISVEVKET ADGYTLSKIIKDGKKIQDNDTFVTCLMMPHQHMEAYPA DGNITNGGDTSVKDTWLEYISEGDAILAEPEDYMTLK | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 97 | MKRKKWNKVFSLVMMTAVSLLSGCGGKSAEKDAEII TVYLWSTSLYEKYAPYIQQQLPDINVEFVGNNDLDFYR FLEENGGGLPDIITCCRFSLHDASPLKDSLMDLSTTNVAGA VYDTYFSNFMNEDGSVNWLPCADAHGFLVNKDLF EKYDIPPLPTDYESFVSACQAFDKVGIRGFTADYYYDYTCME TLQGLSASKLSSVEGRKWRITYSDPDNTKKEGLDSTVWP EAERMEQFIKDTGLSRDDLMNYDDIAKMYQSGRLA MYFGSSFGVKMFQDQGINTTFLPFFQENGEKWIIMTPYF QAALNRDLTKDETRRKKAIVLSTMLSEDAQKRIISEGQ DLLSYSQDVDIHLTEYLKDVKPVIEENHMYIRIASNDFFS VSKDVVSKMISGEYDARQAYQSFNSQLKEESTLEAIVL DSQSKSYNSNRFHSSGGNAAYSVMANTLRSIYGTDVLIATA NSFTGNVLKAGYTEKMAGNMIMPNDLFAYSSKLSGAE KETVKNFVEGYEGGFIPFNRGSLPVVSGISVEVKETEDG YTLSKVTKEGKQIRDEDIFTVTCLATLKHMEAYPTGDNI VFDGENTSVKDTWTGYISNGDAVLAEPEDYINVR | 박테리아 단백질 |

| | | |
|----------|---|----------|
| 서열번호 98 | MKKKKWSRVLAVILLAMVTAISLLSGCGGKSAEKEDAGITTVYLWSTKLYEKYAPYIQEQLPDINVEFVVGNNDLDFYKFLDENGLPDIITCCRFSLHDASPLKESLMDLSTTNAGAVYDTYLSNFMNEDGSVNWLPCADAHGFVVNKDLFEKYDIPPLTDYESFVSACQAFDKVGIRGFTADYYYYDYTCMETLQGLSASELSSVDGRKWRTTYSDPDNTKREGLDSTWPGAFERMEQFIRDTGLSRDDLNYYDDIVEMYQSGKLAMYFGSSSGVKMFQDQGINNTFLPFFQENGEKWLMTAPYFQVALNRDLTQDETRLKKANKVLNIMLSEDAQTQILYEQDLLSYSQDVDMQLTEYLKDVKPVIEENHMYIRIASNDFFSVSKDVVKMISGEYDAEQAYASFNTQLLEESASESVVLDSQKSYSNRFHSSGGNAAYSVMANTLRGIYGTDVLTGNSFTGNVLKAGYTEKMAGDMIMPNDLSAYSSKMSGVELKKTVKNFVEGYEGGFIPFNRGSLPVFSGISLEVEETDNGYTLSKVIKDGKEVQDNDTFTVTCLAIPKHMEAEPADENRFDRGDTTVKGWTGYTSDEAILAEPEPDYINVR | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 99 | MRKKKKWNRLAVLMMVMMSISLLSGCGSKSAEKEDAEITTVYLWSTNLYEKYAPYIQEQLPDINVEFIVGNNDLDFYKFLNENGGLPDIITCCRFSLHDASPLKDNLMDSLSTTNAGAVYDTYLSNFMNEDGSVNWLPCADAHGFVVNKDLFEKYDIPPLTDYESFVSACQAFDKVGIRGFTADYYYYDYTCMETLQGLSASELSSVDGRKWRTTYSDPDNTKREGLDSTVWPKAERMEQFIQDTGLSQDDLDNMNYDDIVEMYQSGKLAMYFGTSAGVKMFQDQGINNTFLPFFQENGEKWIMTPYFQVALNSNLTKDETRRKKAMKVLDTMLSADAQNRIVYDGDQLLSYSQDVDMQLTEYLKDVKPVIEENHMYIRIASNDFFSVSKDVVKMISGEYDAGQAYQSFDSQLLEEKSTSEKVVLDSSQKSYSNRFHSSGGNAAYSVMANTLRGIYGSDVLIATGNSFTGNVLKAGYTEKMAGDMIMPNELSAYSSKMSGAELKEAVKNFVEGYEGGFIPFNRGSLPVLSGISVEVKETDDDYTL SKVTKDGKQIQDNDTFTVTCLAIPKHMEAEPADDNIVFDGGNTSVDDTWGYISDGDAVLAEPEDYMTLR | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 100 | FVMKKKKWNRLAVLMMVMMSISLLSGCGGKSTEKEDAEITTVYLWSTNLYEKYAPYIQEQLPDINVEFVVGNNDLDFYKFLKKNNGGLPDIITCCRFSLHDASPLKDSLMDLSTTNVAGAVYDTYLSNFMNEDGSVNWLPCADAHGFVVNKDLFEKYDIPPLTDYESFVSACQAFDKVGIRGFTADYYYYDYTCMETLQGLSASELSSVDGRKWRTTYSDPDNTKREGLDSTVWPKAERMEQFIQDTGLSQDDLDNMNYDDIVEMYQSGKLAMYFGTSAGVKMFQDQGINNTFLPFFQENGEKWLMTTPYFQVALNRDLTQDETRRKKAMKVLDTMLSADAQNEQRISDGQLLSYSQDVDMQLTEYLKDVKPVIEENHMYIRIASNDFFSVSKDVVKMISGEYDAEQAYQSFSNQLLEEEAISENIVLDSSQKSYSNRFHSSGGNAAYSVMANTLRGIYGSDVLIATGNSFTGNVLKAGYTEKMAGDMIMPNELSAYSSKMSGAELKETVKNFVEGYEGGFIPFNRGSLPVFSGISVEIKETDDGYTL SKVNTMDGKKVQDNIDTFTVTCLAIPKHMEAEPDENIVFDGGDISVDDTWAYVSDGDAILAEPEPDYMLR | 박테리아 단백질 |

| | | |
|----------|--|----------|
| 서열번호 101 | MKRKLRGGFIMKKKKWNRLAVILLAMVTAITLLSGCGG KSAEKEDAETITVYLWSTNLYEKYAPYIQLPDINVEFV VGNNDLDFYRFLKENGLPDIITCCRFLSLHDASPLKDSL MDLSTTNVAGAVYDTYLSMNEGSVNWLPCADAH GFVVKNDLFKEKYDIPPTDYESFVSACEAFEEVGIRGFTA DYYDYTCTMETLQGLSASELSSVDGRKWRTAYSDPDNT KREGLDSTVWPKAERMEQFIQDTGLSQDDLDNMNYDD VEMYQSGKLAMYFGSSAGVKMFQDQGINTTFLPFQEN GEKWIMTPYFQVALNRDLTKDETRRKAMKVLTNMLS ADAQNRIVYDGQDLLSYSDVDLKLTETYLKDVKPVIEE NHMYIRIASNDFFSVSDVVSKMISGEYDAEQAYQSFNS QLLEEEASASEDIVLDSQKSYSNRFHSSGGNAAYSVMANT LRGIYGTDVLIATGNSFTGNVLKAGYTEKMAGDMIMP GLSAYSSKMSGAELKETVRNFVEGYEGGFIPNCGLSPV FSGISVEIKKTDDGYTLSKVTKDQKIQDQDDTFTVCLAT PQHMEAYPTDDNIVFDGGDTSVKDTWTGYISNGNAVLA EPEDYINVR | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 102 | MRTISEGGLLMKMKRSRVLASFVMAVILLLAGCAG NSAEKEEKAETITVYLWSTNLYEKYAPYIQLPDINV EFVVGNNNDLFYKFLKENGLPDIITCCRFLSLHDASPLK DSLMDLSTTNVAGAVYDTYLNBNFMNKDGSVNWIPIVCA DAHGVVVKNDLFETYDIPPTDYASFVSACQAFDKAGIR GFTADYSYDYZTCMETLQGLSAAELSSVEGRKWRAYSD PDNTKKEGLDSTVWPFAERMDQFIDTGLSRDDLDMD YDADMDFKSGKLAMYFGSSAGVKMFQDQGIDTFLPF FQQNGEKWLMTPYFQVALNRDLTKDETRREKAMKVL NTMLSEDAQNRIISDGQDLLSYSDVDMHLLTKYLKDV PVIEENHMYIRIASNDFFSVSKDVVSKMISGEYDAGQAYQ SFHSQNLNEKSTSEKVVLDSPKSYSNRFHSSGGNAAYSVM MANTRGIYGTDVLIATGNSFTGNVLKAGYTEKMAGSM IMPNSLISAYSCKMTGAEKETVRNFVEGYEGGLTPFNRG SLPVVSGISVEIKETDDGYTLKEVKKDGTQDKDITTV TCLATPQHMEAYPADEHVGFAGNSFVKDTWTDYVSD GNAVLAKPEDYMLR | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 103 | MITKSGKQVGRVVMKKKKWNKLAVFLVMATVLSLLA GCGGKRAEKEDAETITVYLWSTSLYEAYAPYIQLPDIN IEFVVGNNNDLFYRFLKENGLPDIITCCRFLSLHDASPLK DSLMDLSTTNVAGAVYNTYLNBNFMNEGSVNWLPCVA DAHGVVVKNDLFETYDIPPTDYESFVSACQAFDKAGIR GFTADYFYDYZTCMETLQGLSASELSSVDGRKWRAYSD PGNTTREGGLDSTVWPFAERMERFIRDGLSRDDLEMN YDDIVELYQSGKLAMYFGTSAGVKMFQDQGINTTFLPF QENGEKWLMTTPYFQVALNRDLTQDETTRRTKAMKVLST MLSSEDAQNRIISDGQDLLSYSDVDMHLLTKYLKDV ENHMYIRIASNDFFSVSKDVVSKMISGEYDAGQAYQSFQ TQLLDEKTTSEKVVNSEKSYSNRFHSSGGNEAYSVM NTLRGIYGTDVLIATGNSFTGNVLKAGYTEKMAGDMIM PNGLSAYSCKMNGAELKETVRNFVEGYPGGFLPFNRGSL PVFSGISVELMETEDGYTVRKVTKDQKVKQDNDTFTV CLATPQHMEAYPADQNMVFAGGETSVKDTWTAYVSDG NAILAEPEDEYINVR | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 104 | MENNFTRESILKKEKMEQLPNINVEFVVGNNNDLFYKFL KENGLPDIITCCRFLSLHDASPLKDSLMDLSTTNVAGAVY DTYLNBNFMNEGSVNWLPCADAHGFVVKNDLFQ | 박테리아 단백질 |

[0497]

| | | |
|----------|---|----------|
| 서열번호 105 | MKKKKWNKILAVLLAMVTAISLLSGCGSKSAEKEDAETITVYLWSTNLYEKYAPYIQLPDINVEFVVGNNDLDFYKFLKENGGLPDIITCCRFSLHDASPLKDSLMDLSTTNVAGAVYDTY | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 106 | RFSLNDAAPLAEHLMDLSTTEVAGTFYSSYLNNSQEPDGAIWLPMAEVGDGTAAANVDLFAQHNIPLPTNYAEFVAADIACEAVGIKGYQADWRYDYTCTEMQGCAIPELMSLEGTTWRMNEYSETEDSSTGLDDVVWPKEGL | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 107 | MKKKAWNKLAAQLVVMVTAISLLSGCGGKSVEKEDAETITVYLWSTKLYEKYAPYIQLPDINIEFVVGNNDLDFYRFLDENGGLPDIITCCRFSLHDASPLKDSLMDLSTTNVAGAVYDTYLNNSFMNEDGSVNWLPCADVHGFFVNRLDFEKYDIPLPTYESFVSACRAFEVGIR | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 108 | KDSLMDLSTTNVAGAVYDTYLSNFMNEDGSVNWLPCADAHGFFVNKDLFEKYDIPPLPTYESFVSACQVFDEVGIRGFTADYYYDYTCTMETLQGLSASELSSVDGRKWRTAYSDPDNTRREGLDSTVWPAAFEHMEQFIRDTGLSRDDLDMNYDDIVEMYQSGKLAAMYFGSSGVKMFDQDQGINTTFLPFFQKDGEKWLMTTPYFQVALNSDLAK | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 109 | MQRKLRRGGFVMEKKKKWKKVLSVSFVMTAISLLSGCGGKSAEKEDAETITVYLWSTNLNEKYAPYIQLPDINVEFVVGNNDLDFYKFLNENGGLPDITCCRFSLHDASPLKDSLMDLSTTNVALGAVYDTYLNNSFMNEDGSVNWLPCADAHGFFVNKDLFEKYDIPPLPTYESFVSACAEFEEVGIRGFTADYYYDYTCTMETLQGLSASELSSVDGRKWRTYSAPDNTKREGLDSTVWPKAERMEQFIQDTGLSQDDLDMNYDDI | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 110 | MKKKKWNRVLA VLLMMVMSISLLSGCGGKSTEKEDAEITVYLWSTNLYEKYAPYIQLPDINVEFVVGNNDLDFYKFLKENGGLPDIITCCRFSLHDASPLKDSLMDLSTTNVAGAVYDTYLSFVNWLPCADAHGFFVNKDLFEKYDIPPLPTYESFVSACAEFEEVGIRGFTADYYYDYTCTMETLQGLSASELSSVDGRKWRTYSAPDNTKREGLDSTVWPKAERMEQFIQDTGLSQDDLDMNYDDI | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 111 | GGFLCFANASCLQSTRFFALAMQKQLETLLQWYNKIVPLWENQRKAQCGQAASAGIPMWCVRTATAALRSAALRYCEEGIYMMKKISRRSFLQACGVAAATAALTACGGGKAESDKSSSQNGKIQITFYLWDRSMMKELTPEYEFHFIQGFNTMDYYRDLLNRAEQLPDITCRRFSLNDAAPLAEHLMDSLTTVEAGTFYSSYLNNSQEPDGAIWLPMAEVDTAAANVDLFAQHNIPLPTNYAEFVAADIAFEAVGIKGYQADWRYDYTCTEMQGCAIPELMSLEGTTWRMNEYSETEDGSTGLDDVVWPKVFEK | 박테리아 단백질 |

| | | |
|----------|---|----------|
| 서열번호 112 | MMKKISRRSFLQVCGITAATAALTACGGKADSGKGSQN GRIQITFYLWDRSMMKELTWPWLEQKFPEYEYFNFIQGFNTI MDYYRDLLNRAEQLPDIITCRRLSLNDAAPLAELMDLS STTEVAGTFYSSYLNNNQEPDGAIRWLPMCAEVVDGTAAN VDLFAQYNIPLPTNYAEFVAAINAFEAVGIGKYQADWR DYTCLETMQGSAIPELMSLEGTTWRMNYESETEDGSTG LDDVVWPKVFEKYEQFLRDVRVQPGDDRLELNPIAKPFY ARQTAMIRTTAGIADVMPDQYGFNASILPYFGETANDSW LLTYPMCQAASNTVAQDEAKLAAVLKVLGAVYSAEGQ SKLASGGAVLSYNKEVNITSSASLEHVEDVISANHLYMR LASTEFRISEDVGHKMITGEYDARAGYDAFNEQLVTPK ADPEAELFTQNTAYSLDMTDHGSAASSLMNALRAAY DASVAVGYSPLVTSIYCGDYSKQQLLWVMAGNYAVSQ GEYTGAELRQMMWEVLNVKDNGANPIRHRYNMPVTSG MEYKVTEYEQGKFRLEELTINGPLDDTAAYTVFVAGTD VWIENEVYCNCMPENLTKRTEYAIKADSRCLKDSL AVSKQFPAPSEYLTVQGE | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 113 | MMNKISRRSFLQAAGVAAAAALTACGGKTEADKGSSQ NGKIQITFYLWDRSMMKELTWPWLEQKFPEYEYFNFIQGFN TMDYYRDLLNRAEQLPDIITCRRLSLNDAAPLAELMDL STTEVAGTFYSSYLNNNQEPDGAIRWLPMCAEVVDGTA NVDLFAQYNIPLPTNYAEFVAIIDAFEAVGIGKYQADWR DYTCLETMQGCAIPELMSLEGTTWRMNYESETEDGST GLDDVVWPKVFEKYEQFLKDVRVQPGDDRLELNPIAKP FYARQTAMIRTTAGIADVMLDLHGFNASILPYFGETANDS WLLTYPMCQAASNTVAQDEAKLAAVLKVLGAVYSAEG QSKLAAGGAVLSYNKEVNITSSLEHVADVISANHLYM RLASTEFRISEDVGHKMITGEYDAKAGYEAFFNEQLVTP KADPETEILFTQNTAYSLDMTDHGSAASSLMALRTTY DASIAIGYSPLVTSIYCGDYSKQQLLWVMAGNYAVSQ EYTGAELRQMMWEVLNVKDNGANPIRHRYNMPVTSG EYKVTEYEQGKFRLEELTVNGAPLDDTATYTVFVAGTD WIENEVYCNCMPENLTKRTEYAIKADSRCLKDSL VSKQFPAPSEYLTVQGE | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 114 | MMKKISRRSFLQACGIIATAALTACGGKAESGKGSSQ NGKIQITFYLWDRSMMKALTPWLEEKFPEYEFTFIQGFN TMDYYRDLLNRAEQLPDIITCRRLSLNDAAPLAELMDL STTEVAGTFYSSYLNNNQEPDGAIRWLPMCAEVVDGTA NVDLFAQHNIPLPTNYAEFVAIIDAFEAVGIGKYQADWR DYTCLETMQGCAIPELMSLEGTTWRMNYESETEDGST GLDDVVWPKVFKKYEQFLKDVRVQPGDARLELNPIAEP FYARQTAMIRTTAGIADVMDLHGFNTSILPYFGETANDS WLLTYPMCQAASNTVAQDEAKLAAVLKVLGAVYSAEG QNKMAVGAAVLSYNKEVNITSSLEHVADIISANHLYM RLASTEFRISEDVGHKMITGEYDAKAAYDAFNEQLVTPR VDPEAEVLFTQNTAYSLDMTDHGSAASSLMNALRTY DASIAIGYSPLVTSIYCGDYSKQQLLWVMAGNYAVSQ DYTGAELRQMMWEVLNVKDNGANPIRHRYNMPVTSG MEYKVTEYEQGKFRLEELTINGAPLDDTATYTVFVAGTD VWMEDKAYCNCMPENLKAKRTEYAIKADSRCLKDSL LAISKQFPAPSEYLTVQGE | 박테리아 단백질 |

[0499]

| | | |
|----------|---|----------|
| 서열번호 115 | MCHFSLFPVSEIQNLPDFSKILQDVQNQLETLLLQWYN NTVILWENQRKAQCGQAASAGIPVGCVRATAALRYCAC AVLPSTTVRKYICMMKKISRSSLQVCGITATAALTACG SGKAEGDKSSSQNGKIQITFYLWDRSMMKALTPWEEK FPEYEFNFIQGFNTMDYYRDLLNRAEQLPDIITCRRFSLN DAAPLAEHLMDLSTTEVAGTFYSSYLNNNQEPDGAIW LPMCAEVDGTAANVDLFAQYNIPLPTNYAEVAAINAFE AVGIKGYQADWRYDYTCLETMQGSAIPELMSLEGGTWR RNYESETEDGSTGLDDVVWPKVFEKYEQFLKDVRVQPG DDRLELNPIAKPFYARQTAMIRTTAGIADVMPDQYGFNA SILPYFGETANDSWLLTYPMCQAAVSNTVAQDEAKLAAV LKVLLEAVSYAEGQSKMAGGAAVLSYNKEINITSTSLEQ VADIISANHLYMRLASTEIFRISEDVGHKMITGEYDAKAA YDAFNEQLVTPRADPEAEVLFTQNTAYSIDMTDHGSAAA SSLMNALRATYDASIAVGYSPLVSTSIYCGEYSKQQILWV MAGNYAVSQGEYTGAELRQMMEWLVNVKDNGANPIRH RNYMPVTSGMEYKVTEYEQGKFRLEELTINGAPLDDTAI YTVFVAGTDVWIENEVYCNCPPENLAKRTEYAIPEGAE SRSCLKDSLAVSKQFPAPSEYLTVQGE | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 116 | MKLLAVTFVVASFVSCSKGIAEADKLDLSTTPVQTVDD VFAVQTKNMGEMLMRMEAVRLERYNKDGKTKDLPAGV SVFGYNEEGLLESVIVADKAETHTVPSGDFEWKAYGNVI LHNVLKQETMETDTIFWDSSKKEIYTDYVVKMYSRDMF AQGYGMRSDDRMNRNAKLNSPFNGYVVTVRDTTAVIIDS VNYIGPFPKK | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 117 | GMTLMHSPPMLYSRAAKTHRVPFWLLDISFPLSMKKA LCPKNGQRA | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 118 | MLKQWFKLTCLLYILWLILSGHFEAKYLILGLGSALIGY FCLPALTTSSIGKRDFHLLDISPAFCGYWLWLLKEIIKSS LSVSAAILSPKMKNIPVIIIDYIFNNPAAVTVFVNShLTPG TVTIDVKDERYFYVHALTDSAALGLMDGERQRRISRVFER | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 119 | MKHITFSNGDKVCTIGQGTWNMGRNPLCEKSEANALLTG GIDLGMNMIDTAEMYGNEKFIGKVIKSCRDKVFLVSKVH PENADYQGTIKACEESLRRLGIEVLDLYLLHWKSRYPLSE TVEAMCRLQRDGKIRLGWVSNLDVDDMELIDDIPNGCS CDANQVLYNLQERGVYDLYAQQRDIPVIAVSPVGE KLLRHPVLRITAEKHNATPAQIALSWIIRNPVGVMAIPKAG SAEHVKENFGSVSITLDTEDIELLDISFPAPQHKIQLAGW | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 120 | MMKPDEIAKAFLHEMNPTNWNGQGEMPAGFDTRTMEFI TDMPDVLLDISFELCMEDDGTFQWEHYCELVQESSDTIV DCAHGYGINSVQNLTDTSQQLLEVNVK | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 121 | MRENLSGIRVVRAFAEKYQEDKFEGINNRLTNQQMFN QRTFNFLSPIMYLVMYFLTLGIYFIGANLINGANMGDKIV LFGNMIVFSSYAMQVIMSFLMLAMIFMMLPRASVSARR NEVLDTPISVKEGNVTMNNNSDIKGCVEFKNVSFKYPDAD EYVLLDISFKVNKGETIAFIGSTGSGKSTLINLIPRFYDATS GEILIDGINVRDYSFEYLNNIIGYV | 박테리아 단백질 |

| | | |
|----------|--|--------------|
| 서열번호 122 | MILFRHWCWSFLGVVIESLPIVIGAIISTIIQFYISEDIICKRIVPRRRGLAFLVAFIGLVPVCCECAIVPVARSLIKKGVPIGITIFMLSPIVNPVITSTYYAFEANLTIVLIRVVGGILCSIVGMLITYIFKDSTIESIISDGYLDLSCTCCSSNKKYYISKLDKLITIVCQASNEFLNISVYVILGAFISSIFGSJNEELNDYTFNNILAVIIMLDISFLSLCSEADAFVGSKFLNNFGIPAVSAMFILGPMMMDLKNAILTGLFKRKFATILIITILLVVTAFSICLFSI | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 123 | MMTAAQTKEYWGYDGFRPMQEIISSALEGRDTLAILPTGGGKSCIFQVPAMMRDGIALVVTPALMKDQVQNLEARGIRAIHAVAGMNRREVDTALNNAAYGDYKFLYVSPERLGTSLFKSYLEVLDVNFIVVDEAHCISQWGYDFRPDYL RIGEMRKVLKAPLIALTATATPEVARDIMQKLVRPGTPSQVERNLENFTLLRSGFERPNLSYIVRECEDKTGQLLNICGS VPGSGIVYVMRNRKCEEVAALLSGSGVSASFYHAGLGALTRTERQEAWKKGEIRVMVCTNAFGMGIDKPDVRFVLHLGLPDSPEAYFQEAGRAGRQSRWAALLWNKTDIRRRLR QLLDISPSLEYIEDIQKIHFNKIPYEGGEGRALKFDLEAFARNYSLRSAAVHYAIRYLEMSDHLYTYEDADISTQVKIL VDRQALYEVSLPDPMMLRLLDALMRAYPGIFSYTVPVDEERLAHLCGVSVPVLRQLLYNLSLEHVIRYVPCDKATVIFLHHGRLMPGNLNLRKDKYAFKESAEKRAGAMEEYVTQTEMCRSRYLLAYFGQTESRDCGCCDVCRSRAARERTEKLILGYASSHPGFTLKEFKAWCDDPGNALPSDVMIEYRDML DKGKLLYHLPDES | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 124 | MPKPGSSLEDAREQKFSSAVTEYGDLNPSEGIVQVMSIDWDGDGFKEDDDGGMFKKDGFEYQAMIQFLIDPNGKYDTYIIKNGEYILDGSRIKVTVNGKPAHVQNSTPYVIYMDIQFLIGSGGKGLDRELASGRAYQSSVNAYALCNNLIDEELLGNDYTAKSLNQLQLRSLAVRLAELVGKEIKVEKKVEGKYNDAITFSTIAPGERVVVVGPRLLGGMSEYLPVKEPVGTQTLVVKANCFRPVRKYVFKSEKTTLREGEFKNYVDGQYIWYRN | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 125 | MDIFSUVFTLCGGLAFFLYGMTVMSKSLEKMAAGKLERMLKRMTSPPFKSLLGAGITIAIQSSSAMTVMLVGLVNSGMELROTIGIMGSNIGTTAWILSLTGIESENVFVNLLKPENFSPLIALAGILLIMGSKRQRRRDVGRIMMGFAILYGMELMSGAVSPLAEMPQFAGLITAFCENPLLGVLVGAVFTGIIQSSAASVAILQALAMTGSITYGMAIPIIMGQNIGTCVTALI SSIGVNRNAKRVAVVHSFNVIGTAVCLLJFYGGDMILHFTFLNQAVGAVGIAFCHTAFNVFTTILLPFSRQLEKLLARRLVRTEDTRESFAFLDPLLLRTPGAAVSESVAMAGRMGQAARENICLATDQLSQYSRERETQILQNEDKLDIYEDRLSSYLVETSQHGISMQDMRTVSRLLHAIGDFERIGDHAVNIQESAQELHDKELRFSDSAREELQVLLSALDDILDLTIRSFIQAADEVETARRVPELEETIDQLIIEIRSRIHQRLQAGQCTIQLGFVLSDLLTNIERASDHCSNIAVSVIEECGGPGRHAYLQEVKAGGAFGEDLRRDRKKYHLP | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 126 | KLDLSTTPV | 서열 변이체 |
| 서열번호 127 | FLISTTFGCT | IL13RA2 애피토프 |
| 서열번호 128 | YLYLQWQPPL | IL13RA2 애피토프 |
| 서열번호 129 | GVLLDTNYNL | IL13RA2 애피토프 |
| 서열번호 130 | FQLQNIVKPL | IL13RA2 애피토프 |

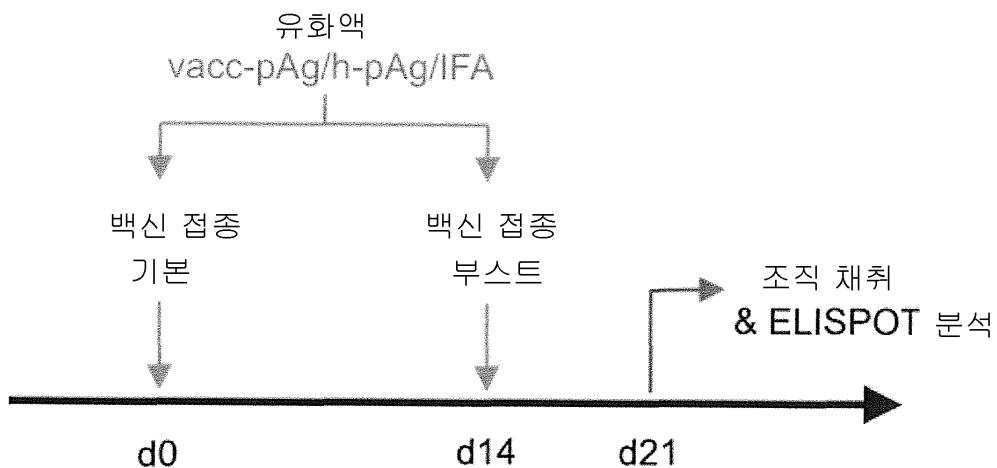
| | | |
|----------|--|---------------|
| 서열번호 131 | WLPFGFILIL | IL13RA2 에 피토프 |
| 서열번호 132 | FLISTTFTIN | 서열 변이체 |
| 서열번호 133 | FMISTTFMRL | 서열 변이체 |
| 서열번호 134 | QMISTTFGNV | 서열 변이체 |
| 서열번호 135 | WLYLQWQPSV | 서열 변이체 |
| 서열번호 136 | FVLLDTNYEI | 서열 변이체 |
| 서열번호 137 | FILLDTNYEI | 서열 변이체 |
| 서열번호 138 | YELQNIVLPI | 서열 변이체 |
| 서열번호 139 | FLPFGFILPV | 서열 변이체 |
| 서열번호 140 | FMPFGFILPI | 서열 변이체 |
| 서열번호 141 | FMLQNIVKNL | 서열 변이체 |
| 서열번호 142 | MGGRWMGYILIGIYVLLVLYHLVKDINGDVKWMAMVYIT FGFLFYLCMHCEYLNTYDLSNNAQYAYYNPMWDKSFT LYYLFLTMMRLGQIAEISFVNWWWTLAGAFLIIIAVKIHR RFNPHHFLVFFMMYYIINLYTGLKFFYFCIYLLASGFLL RGGRKNKLLYVFLTAVAGGMHVMYAFILFALINTDMPA SMEECSLNITYSHIRRHHIAVLVIASLTLSFVRLSGSANE LSRVFSFIDSMDYLSLSTNGGFYIPVIMQLLSSLYLAFI IKKQSKRASLLNQQYTDVLYYFNLLQVIFYPLFMISTTFM RLITATSMVTIAAGGYNKFEIKQRKRFKIIGASFLIVAASL FRQLVLGHWWETAVVPLFH | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 143 | MEKQKIIIFDVDPGVDDCMALILSFYEPSIDVQMI VSVEQITTKNALFIVQNFADKDYPVYKGAAQGLNSPIHD AEEVHGKNGLGNKIIAHDVTKQIANPGYGAIEAMRDVI LKNPNEIIILVAVGPVTNVATLFNTYPETIDKLKGLVLMVG SIDGKGSITPYASFNAYCDPDAIQVVLDKAKKLPPIILSTKE NGITTCYFEDDQRERFAKCGRLGPLFYDLCDGYVVDKILLP GQYALHDTCALFSILKDEEFFTREKVSMKINTTFDEKRA QTKFRKCASSNITLLTGVDKQKVIKRKIEKILKRT | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 144 | PGAQGRGSAAGGDDMWELLVQLAAFGATVGF APPREFVWAGVTGAVGWGCYWLYLQWQPSVASLLAS LMLALLSRVFSVRRCPATVFLISGIFALVPGAGIYYTAYY FIMGDNAMEAKGVETFKIAVALAVGIVLVLALPGRLE AFAPCAGKKKGER | 박테리아 단백질 |

[0502]

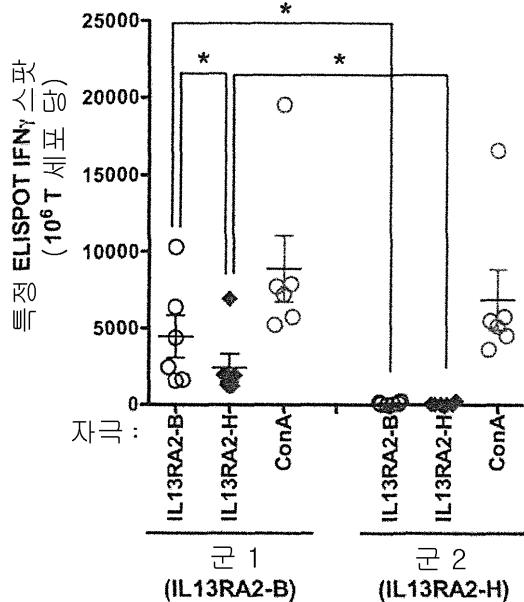
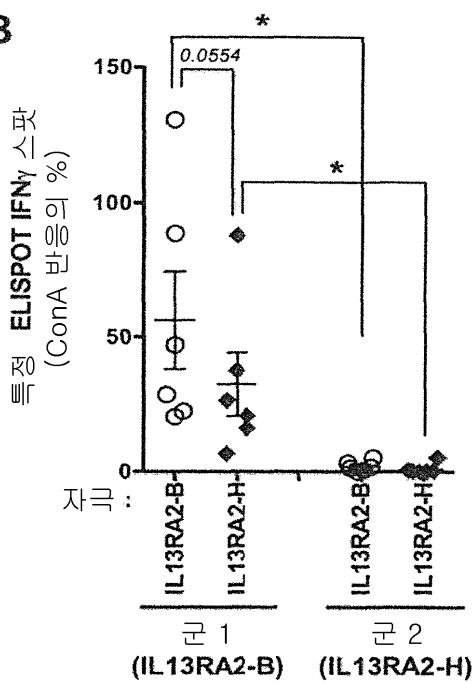
| | | |
|----------|---|----------|
| 서열번호 145 | MNKALFKYFATVLIITLLFSSSVSMVILSDQMMQTRKD MYYTVKLVENQIDYQKPLEKQIDKLNLDAYTKDTRLTII DKEGNVLADSDKEGIQENHSGRSEFEKAELSDQFGYATRY SSTVKKNMMYVAYYHRGYVVRIAIPYNGIFDNIGPLLEP LFISAALSLCVALALSYRSRTLTKPLEEISEEVSKINDNRY LSFDHYQYDEFNVIATKLKEQADTIRKTLKTLKNERLKIN SILDKMNNEGFIILDTNEYIELMVNKAKQLFSDRMEVNQP IQDFIFDHQIIDQLENIGVEPKIVTLKKDEEVYDCHLAKV EYGVTLFVNVTESVNATKMRQEFFFNSNVSHELKTPMTSI RGYSELLQAGMIDDPKVRKQALDKIQKEVDHMSQLIGDI LMISRLENKDIIEVKHPVHLQPIVDDILESLKVEIEKREITV ECDLTSQTYLANHQHQIQLMNNLINNAVAKYNKQGSLNI HSYLVDDQDYIIIEVSDTGRGISLIDQGRVFERFFRCDARD KETGGTGGLAIVKHIVQYYKGTHLESELGKGTTFKVV LPIIKDSL | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 146 | MIKCTVHKLSPSKTLYLEDSNKKTIASTIKDSLKYKIPTK LAEILEDIDDIVYLDIDENYELQNIVLPIKKSSEVKASIYKT EYFEINWLNTKIEDLSSVTDKKEKAIIRVLGHENKFKTLH LWSTINTLWIIIVLTIVILNLI | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 147 | MGILLFAVYVILLIYFLFFSEEEYGRVAQAAERVYRYNLVPFV EIRRFWVYREQLGAFAVFTNIFGNVIGFLPGFILPVIFRR MNSGFPLICSGFVLSLTVEVIQLVTKGCFDVDDMILNTL GAALGYVLFICNHIRRKFHYGKKI | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 148 | MKKETKHIIRTLGTILFLYLVLALIYFLFFSEEEYGRAALEE RQYRYNLIPIFVEIRRFWVYRRQLGFMAVAANLFGNVIGF LPFGFILPVILDRLMRSGWLIILAGFGLSVTVEVIQLITKVG CFDVDDMILNTAGAALGYLLFFICDHLRRKIYGGKKI | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 149 | YDDLRGFFLKKEKTLKETKHIIRTLGTILFLYLVLALIYFLFFSEEEY GRAAEAQRVYRYNLIPIFVEIRRFWVYRQLGTFAVFSNIF GNVIGFLPGFILPVIFRMNSGFPLICVSGFILSLTVEVIQL VTKGCFDVDDMILNTLGATLGYVLFVVCNHIVTVHW | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 150 | RLQKQEKTLLKETKHIIRTLGTILFLYLVLALIYFLFFSEEEY GRAAMEERQYRYNLIPIFVEIRRFWVYRQLGMAVVTN LFGNVIGFLPGFILPVILDKMRSGWLIVLAGFGLSVTVE VIQLITKVGCFDVDDMILNTAGAALGYLLFFICDHLRRKI YGGKKI | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 151 | MWFFSQKQEKTLLKETKHIIRTLGTILFLYLVLALIYFLFF SEEYGRVAMEEREYRYNLIPIFVEIRRFWVYRQLGFLAV CTNLFGNVIGFLPGFILPVILERMRSGWLIIAGFGLSVT VEVIQLITKVGCFDVDDMILNTAGAALGYLLFFICNHLRR KIYGGKKI | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 152 | AFLINTGVNVVCFMPFGFILPIITEFGKRWYNTFLSFLMT FTIETIQLVFKVGSFDVDDMFLNTVGGVAGYILVVICKVI RRAFYDPET | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 153 | MWKRTKTHQKVCWVLFIGYLLMLTYFMFFSDGFSRSEY TEYHYNLTFLKEIKRFYTYYRELLGMKAFLINTVGNVVC MPFGFILPIITELGKRWYNTFLSFLMTFTIETIQLVFKVGS FDVDDMFLNTVGGIAGYILVIICKAMRRVFYDSET | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 154 | MWKKEKTHQKICWILFFSYLLMLTYFMFFSDGFSRSEY EYHYNLTFLKEIKRFYTYYRELVGTKAFLNNIVGNVVC PFGFILPIITRLGERWLNTLSSLTSLIETIQLVFRVGSFD VDDMFLNTVGGIAGYVSVTMLKWIRRAFHGSNEKDF IH | 박테리아 단백질 |

| | | |
|----------|---|-----------------|
| 서열번호 155 | MAKHSTRNQRLGWVLFVLYLGALFYLMFFADMAERGL GVKENYTYNLKPFVEIRRYLFCASQIGFRGVFLNLYGNIL GFMPFGFILGVISSRCRKYWYDAVICTYLLSYSIEMIQLFF RAGSCDVDDIILNTLGGTLGYIAFHIVQHERIRRYFLKHP KKKRPOQQ | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 156 | MENSGAVLRDGCLLIDGENMIKKTRMHQKICWVLFISYL VVLTYFMFFSDGFGRSGHHEEYAYNLILFKEIKRFYKYREL LGMRSFLNTVGNVICFMPFGFILPIHSRRGKKWYNTFLL SFLMSFGIETIQLIFKVGSDVDDMFLNLTGGIAGYICVC MAKGVRMMASGASDR | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 157 | LCKIVASNFSRIRFFMLQNIVKNLEKVKWLEDSSSRFSR LKM | 박테리아 단백질 |
| 서열번호 158 | FMPFGFILGV | 서열 변이체 |
| 서열번호 159 | KSVWSKLQSIGIRQH | UCP2 웨티드 |
| 서열번호 160 | VSSVFLLTL | 마우스 에피토프 |
| 서열번호 161 | INMLVGAIM | 마우스 에피토프 |
| 서열번호 162 | KPSVFLLTL | 서열 변이체 |
| 서열번호 163 | GAMLVGAVL | 서열 변이체 |
| 서열번호 164 | ISQAVHAAHAEINEAGR | OVA 323-339 웨티드 |

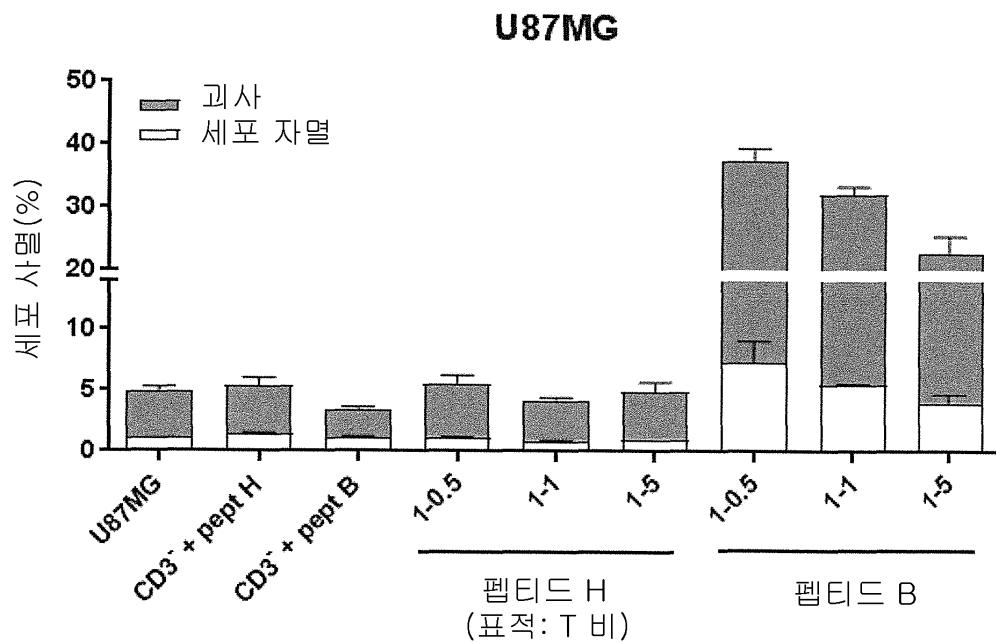
[0504]

도면**도면1**

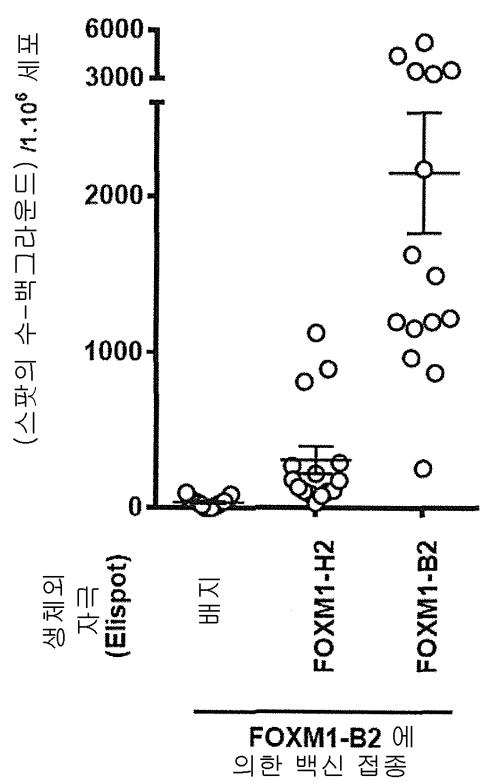
도면2

A**B**

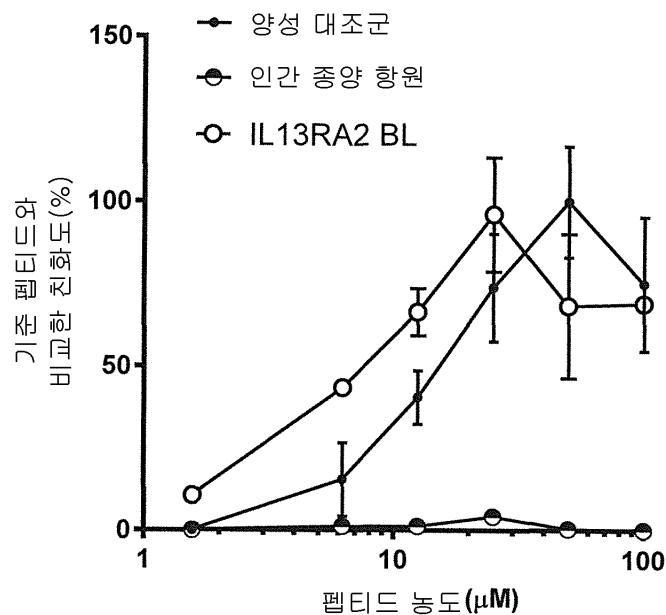
도면3



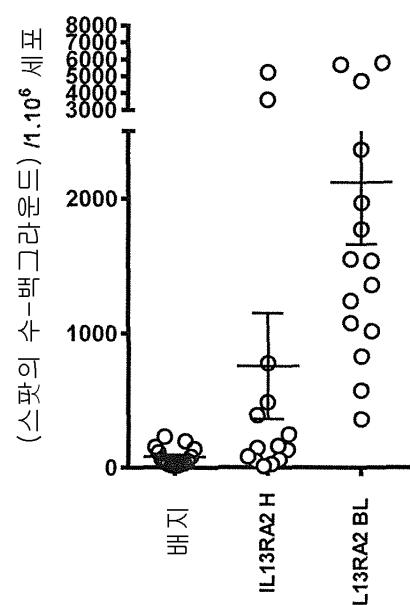
도면4



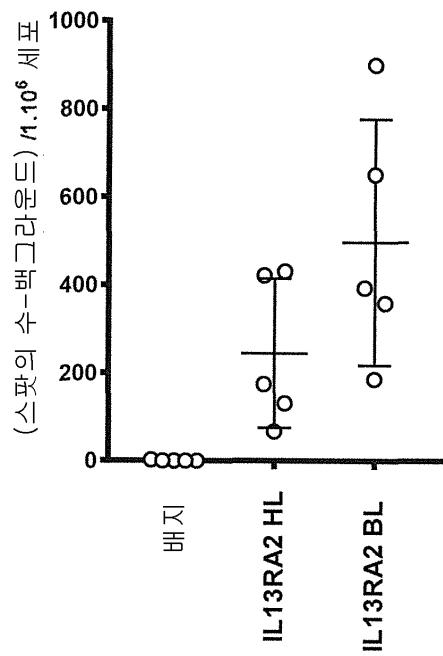
도면5



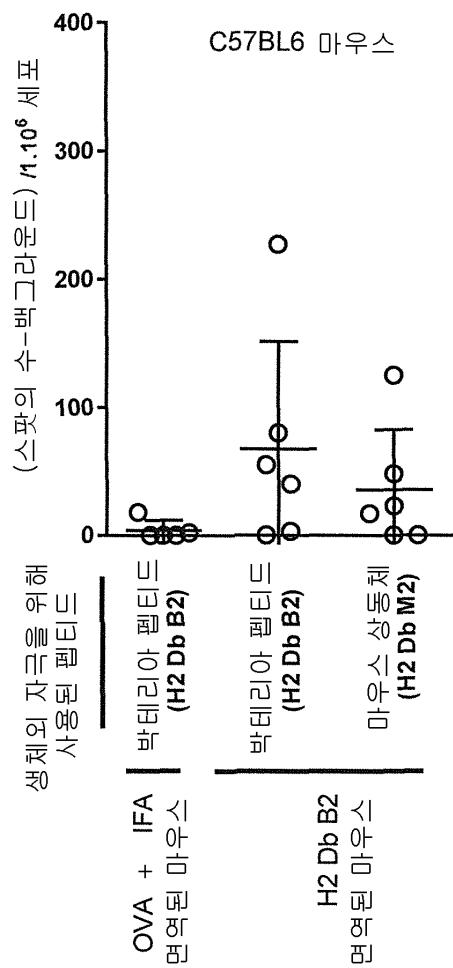
도면6



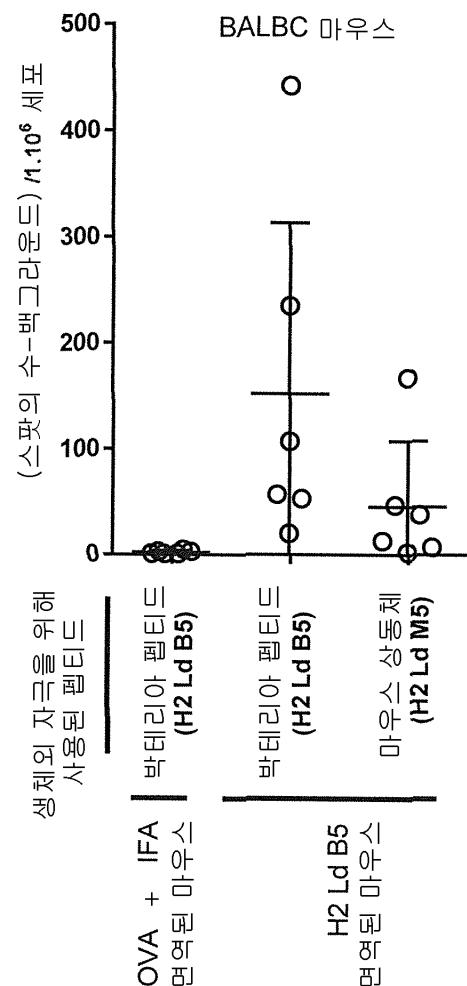
도면7



도면8



도면9



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> ENTEROME S.A.

<120> MICROBIOTA SEQUENCE VARIANTS OF TUMOR-RELATED ANTIGENIC EPITOPEs

<130> EB01P006WO

<140> PCT/EP2018/077515

<141> 2018-10-09

<150> EP17195520.6

<151> 2017-10-09

<150> PCT/EP2017/075683

<151> 2017-10-09

<150> EP18305442.8

<151> 2018-04-11

<160> 164

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Trp Leu Pro Phe Gly Phe Ile Leu Ile

1 5

<210>

> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Asn Leu Phe

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Cys Leu Tyr Thr Phe Leu Ile Ser Thr

1 5

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Phe Leu Ile Ser Thr Thr Phe Gly Cys

1 5

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Val Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Asn Leu

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 6

Tyr Leu Tyr Thr Phe Leu Ile Ser Thr

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 7

Lys Leu Tyr Thr Phe Leu Ile Ser Ile

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 8

Cys Leu Tyr Thr Phe Leu Ile Gly Val

1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 9

Phe Leu Ile Ser Thr Thr Phe Thr Ile

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 10

Phe Leu Ile Ser Thr Thr Phe Ala Ala

1 5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 11

Thr Leu Ile Ser Thr Thr Phe Gly Val

1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 12

Lys Leu Ile Ser Thr Thr Phe Gly Ile

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 13

Asn Leu Ile Ser Thr Thr Phe Gly Ile

1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><223> sequence variant

<400> 14

Phe Leu Ile Ser Thr Thr Phe Ala Ser

1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 15

Val Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Glu Ile

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 16

Ala Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Asn Ala

1 5

<210> 17

<211> 9

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 17

Ala Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Asn Ala

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence variant

<400> 18

Phe Leu Pro Phe Gly Phe Ile Leu Val

1 5

<210> 19

<211> 930

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> bacterial protein

<400> 19

Gln Tyr Thr Asn Val Lys Tyr Pro Phe Pro Tyr Asp Pro Pro Tyr Val

1 5 10 15

Pro Asn Glu Asn Pro Thr Gly Leu Tyr His Gln Lys Phe His Leu Ser

20 25 30

Lys Glu Gln Lys Gln Tyr Gln Gln Phe Leu Asn Phe Glu Gly Val Asp

35 40 45

Ser Cys Phe Tyr Leu Tyr Val Asn Lys Thr Phe Val Gly Tyr Ser Gln

50 55 60

Val Ser His Ser Thr Ser Glu Phe Asp Ile Thr Pro Phe Thr Val Glu

65 70 75 80

Gly Gln Asn Glu Leu His Val Ile Val Leu Lys Trp Cys Asp Gly Ser

85 90 95

Tyr Leu Glu Asp Gln Asp Lys Phe Arg Met Ser Gly Ile Phe Arg Asp

100 105 110

Val Tyr Leu Met Phe Arg Pro Glu Asn Tyr Val Trp Asp Tyr Asn Ile

115 120 125

Arg Thr Ser Leu Ser Asn Glu Asn Ser Lys Ala Lys Ile Glu Val Phe

130 135 140

Ile Met Asn Gln Gly Gln Leu Lys Asn Pro His Tyr Gln Leu Leu Asn

145 150 155 160

Ser Glu Gly Ile Val Leu Trp Glu Gln Tyr Thr Lys Asp Thr Ser Phe
 165 170 175
 Gln Phe Glu Val Ser Asn Pro Ile Leu Trp Asn Ala Glu Ala Pro Tyr
 180 185 190
 Leu Tyr Thr Phe Leu Ile Ser Thr Glu Glu Glu Val Ile Val Gln Gln
 195 200 205
 Leu Gly Ile Arg Glu Val Ser Ile Ser Glu Gly Val Leu Leu Ile Asn
 210 215 220
 Gly Lys Pro Ile Lys Leu Lys Gly Val Asn Arg His Asp Met Asp Pro
 225 230 235 240
 Val Thr Gly Phe Thr Ile Ser Tyr Glu Gln Ala Lys Lys Asp Met Thr
 245 250 255
 Leu Met Lys Glu His Asn Ile Asn Ala Ile Arg Thr Ser His Tyr Pro
 260 265 270
 Asn Ala Pro Trp Phe Pro Ile Leu Cys Asn Glu Tyr Gly Phe Tyr Val
 275 280 285
 Ile Ala Glu Ala Asp Leu Glu Ala His Gly Ala Val Ser Phe Tyr Gly
 290 295 300
 Gly Gly Tyr Asp Lys Thr Tyr Gly Asp Ile Val Gln Arg Pro Met Phe
 305 310 315 320
 Tyr Glu Ala Ile Leu Asp Arg Asn Glu Arg Asn Leu Met Arg Asp Lys
 325 330 335
 Asn Asn Pro Ser Ile Phe Met Trp Ser Met Gly Asn Glu Ala Gly Tyr
 340 345 350
 Ser Lys Ala Phe Glu Asp Thr Gly Arg Tyr Leu Lys Glu Leu Asp Pro
 355 360 365
 Thr Arg Leu Val His Tyr Glu Gly Ser Ile His Glu Thr Gly Gly His
 370 375 380
 Lys Asn Asp Thr Ser Met Ile Asp Val Phe Ser Arg Met Tyr Ala Ser
 385 390 395 400
 Val Asp Glu Ile Arg Asp Tyr Leu Ser Lys Pro Asn Lys Lys Pro Phe

| | | |
|---|-----|-----|
| 405 | 410 | 415 |
| Val Leu Cys Glu Phe Ile His Ala Met Gly Asn Gly Pro Gly Asp Ile | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Glu Asp Tyr Leu Ser Leu Phe Tyr Glu Met Asp Arg Ile Ala Gly Gly | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Phe Val Trp Glu Trp Ser Asp His Gly Ile Tyr Met Gly Lys Thr Glu | | |
| | | |
| 450 | 455 | 460 |
| Glu Gly Ile Lys Lys Tyr Tyr Gly Asp Asp Phe Asp Ile Tyr Pro | | |
| 465 | 470 | 475 |
| Asn Asp Ser Asn Phe Cys Val Asp Gly Leu Thr Ser Pro Asp Arg Ile | | |
| 485 | 490 | 495 |
| Pro His Gln Gly Leu Leu Glu Tyr Lys Asn Ala Ile Arg Pro Ile Arg | | |
| 500 | 505 | 510 |
| Ala Ala Leu Lys Ser Ala Ile Tyr Pro Tyr Glu Val Thr Leu Ile Asn | | |
| | | |
| 515 | 520 | 525 |
| Cys Leu Asp Phe Thr Asn Ala Lys Asp Leu Val Glu Leu Asn Ile Glu | | |
| 530 | 535 | 540 |
| Leu Leu Lys Asn Gly Glu Val Val Ala Asn Gln Arg Val Glu Cys Pro | | |
| 545 | 550 | 555 |
| Asp Ile Pro Pro Arg Cys Ser Thr Asn Ile Lys Ile Asp Tyr Pro His | | |
| 565 | 570 | 575 |
| Phe Lys Gly Val Glu Trp Gln Glu Gly Asp Tyr Val His Ile Asn Leu | | |
| | | |
| 580 | 585 | 590 |
| Thr Tyr Leu Gln Lys Val Ala Lys Pro Leu Thr Pro Arg Asn His Ser | | |
| 595 | 600 | 605 |
| Leu Gly Phe Asp Gln Leu Leu Val Asn Glu Pro Ser Arg Lys Glu Phe | | |
| 610 | 615 | 620 |
| Trp Ser Val Gly Asn Glu Phe Asp Ile Gln Asn Arg Thr Pro Ile Asp | | |
| 625 | 630 | 635 |
| Asn Asn Glu Glu Ile Ser Ile Glu Asp Leu Gly Asn Lys Ile Gln Leu | | |
| | | |
| 645 | 650 | 655 |

His His Thr Asn Phe His Tyr Val Tyr Asn Lys Phe Thr Gly Leu Phe
 660 665 670
 Asp Ser Ile Val Trp Asn Gln Lys Ser Arg Leu Thr Lys Pro Met Glu
 675 680 685
 Phe Asn Ile Trp Arg Ala Leu Ile Asp Asn Asp Lys Lys His Ala Asp
 690 695 700
 Asp Trp Lys Ala Ala Gly Tyr Asp Arg Ala Leu Val Arg Val Tyr Lys

 705 710 715 720
 Thr Ser Leu Thr Lys Asn Pro Asp Thr Gly Gly Ile Ala Ile Val Ser
 725 730 735
 Glu Phe Ser Leu Thr Ala Val His Ile Gln Arg Ile Leu Glu Gly Ser
 740 745 750
 Ile Glu Trp Asn Ile Asp Arg Asp Gly Val Leu Thr Phe His Val Asp
 755 760 765
 Ala Lys Arg Asn Leu Ser Met Pro Phe Leu Pro Arg Phe Gly Ile Arg

 770 775 780
 Cys Phe Leu Pro Ser Ala Tyr Glu Glu Val Ser Tyr Leu Gly Phe Gly
 785 790 795 800
 Pro Arg Glu Ser Tyr Ile Asp Lys His Arg Ala Ser Tyr Phe Gly Gln
 805 810 815
 Phe His Asn Leu Val Glu Arg Met Tyr Glu Asp Asn Ile Lys Pro Gln
 820 825 830
 Glu Asn Ser Ser His Cys Gly Cys Arg Phe Val Ser Leu Gln Asn Asn

 835 840 845
 Ala Lys Asp Gln Ile Tyr Val Ala Ser Lys Glu Ala Phe Ser Phe Gln
 850 855 860
 Ala Ser Arg Tyr Thr Gln Glu Glu Leu Glu Lys Lys Arg His Asn Tyr
 865 870 875 880
 Glu Leu Val Lys Asp Glu Asp Thr Ile Leu Cys Leu Asp Tyr Lys Met
 885 890 895
 Ser Gly Ile Gly Ser Ala Ala Cys Gly Pro Glu Leu Ala Glu Gln Tyr

900 905 910
 Gln Leu Lys Glu Glu Glu Ile Lys Phe Ser Leu Gln Ile Arg Phe Asp
 915 920 925
 Arg Ser

930
 <210> 20
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> bacterial protein
 <400> 20

Met Lys Thr Ile Arg Lys Leu Tyr Thr Phe Leu Ile Ser Ile Phe Val
 1 5 10 15
 Ile Leu Ser Leu Cys Ser Cys Tyr Asn Asp Thr His Ile Ile Thr Trp

20 25 30
 Gln Asn Glu Asp Gly Thr Ile Leu Ala Val Asp Glu Val Ala Asn Gly
 35 40 45
 Gln Ile Pro Val Phe Gln Gly Ser Thr Pro Thr Lys Asp Ser Ser Ser
 50 55 60

Gln Tyr Glu Tyr Ser Phe
 65 70
 <210> 21
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> bacterial protein
 <400> 21

Met Ala Thr Leu Tyr Cys Leu Tyr Thr Phe Leu Ile Gly Val Leu Tyr

1 5 10 15
 His Ser Ala Trp Phe Leu Thr Gln Ala Phe Tyr Tyr Leu Leu Leu Phe
 20 25 30
 Leu Ile Arg Leu Ile Leu Ser His Gln Ile Arg Thr Ser Cys Asn Ser
 35 40 45

Ser Pro Leu Thr Arg Leu Lys Thr Cys Leu Met Ile Gly Trp Leu Leu
 50 55 60
 Leu Leu Phe Thr Pro Ile Leu Ser Gly Met Thr Ile Leu Ile Pro His

65 70 75 80
 Gln Glu Ser Ser Thr Thr His Phe Ser Gln Asn Val Leu Val Val
 85 90 95
 Ala Leu Tyr Thr Phe Ile Asn Leu Gly Asn Val Leu Arg Gly Phe Ala
 100 105 110
 Lys Pro Arg Arg Ala Thr Val Leu Leu Lys Thr Asp Lys Asn Val Val
 115 120 125
 Met Val Thr Met Met Thr Ser Leu Tyr Asn Leu Gln Thr Leu Met Leu

130 135 140
 Ala Ala Tyr Ser His Asp Lys Ser Tyr Thr Gln Leu Met Thr Met Thr
 145 150 155 160
 Thr Gly Leu Val Ile Ile Val Ile Thr Ile Gly Leu Ala Leu Trp Met
 165 170 175
 Ile Ile Glu Ser Arg His Lys Ile Lys Gln Leu Ala Asn Asn Ala Gly
 180 185 190

<210> 22
<211> 194
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> bacterial protein
<400> 22
Ile Cys Ala Lys Asn Asn Gly Asn Pro Asn Thr Ser Ser Thr Asn Tyr
1 5 10 15
Ala Phe Leu Ile Ser Thr Thr Phe Thr Ile Asn Lys Gly Phe Val Asp
20 25 30
Val Tyr Ser Glu Leu Asn His Ala Leu Tyr Ser Tyr Asp Thr Val Thr
35 40 45
Phe Ser Gly Gly Thr Ile Ile Ala Arg Thr Gly Ser Ser Ala Ser Ser

| | | |
|---|----|----|
| 50 | 55 | 60 |
| | | |
| Ser Tyr Arg Pro Ile Arg Leu Gly Leu Asn Ser Ser Asn Pro Ile Val | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Ile Asn Ala Pro Thr Phe Thr Leu Asp Leu Ser Lys Gln Ser Asp Gly | | |
| 85 | 90 | 95 |

| | | |
|---|-----|-----|
| Ser Ala Met Thr Thr Tyr Ser Asp Val Ser Asn Asp Lys Val Lys Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Leu Leu Ala Ala Ser Gly Ser Ser Ala Asn His Tyr Ala Lys Leu Thr | | |
| 115 | 120 | 125 |

| | | |
|---|-----|-----|
| Ser Glu Phe Pro Pro Thr Val Ser Thr Ser Thr Thr Gly Ser Gly Val | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Thr Val Ser Val Lys Thr Asp Gly Gln Gln Gln Tyr Leu Phe Ile Ala | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Arg Tyr Asp Ser Thr Gly His Leu Leu Glu Leu Gln Gln Arg Leu Arg | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Gly Glu Glu Ala Ile Leu Lys Ala Glu Phe Thr Phe Pro Thr Val Ser | | |
| 180 | 185 | 190 |

Pro Thr

<210> 23
<211> 1538
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> bacterial protein

| | | | |
|---|----|----|----|
| <400> 23 | | | |
| Met Glu His Lys Arg Lys Lys Gln Trp Ile Leu Ile Ile Met Leu Leu | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Leu Thr Val Cys Ser Val Phe Val Val Tyr Ala Gly Arg Glu Trp Met | | | |
| 20 | 25 | 30 | |
| Phe Thr Asn Pro Phe Lys Pro Tyr Thr Phe Ser Ser Val Ser Tyr Ala | | | |
| 35 | 40 | 45 | |

Ser Gly Asp Gly Asp Gly Cys Thr Tyr Val Ile Asp Asp Ser Asn Arg
 50 55 60
 Lys Ile Leu Lys Ile Ser Ala Asp Gly Arg Leu Leu Trp Arg Ala Cys
 65 70 75 80
 Ala Ser Asp Lys Ser Phe Leu Ser Ala Glu Arg Val Val Ala Asp Gly
 85 90 95
 Asp Gly Asn Val Tyr Leu His Asp Val Arg Ile Glu Gln Gly Val Gln
 100 105 110

Ile Ala Ser Glu Gly Ile Val Lys Leu Ser Ser Lys Gly Lys Tyr Ile
 115 120 125
 Ser Thr Val Ala Ser Val Glu Ala Glu Lys Gly Ser Val Arg Arg Asn
 130 135 140
 Ile Val Gly Met Val Pro Thr Glu His Gly Val Val Tyr Met Gln Lys
 145 150 155 160
 Glu Lys Glu Gly Ile Leu Val Ser Asn Thr Glu Gln Gly Ser Ser Lys
 165 170 175

Val Phe Ser Val Ala Asp Ala Gln Asp Arg Ile Leu Cys Cys Ala Tyr
 180 185 190
 Asp Arg Asp Ser Asp Ser Leu Phe Tyr Val Thr Tyr Asp Gly Lys Ile
 195 200 205
 Tyr Lys Tyr Thr Asp Ser Gly Gln Asp Glu Leu Leu Tyr Asp Ser Asp
 210 215 220
 Thr Val Asp Gly Ser Ile Pro Gln Glu Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Val
 225 230 235 240

Leu Tyr Ser Ala Asp Ile Gly Leu Arg Asp Ile Ile Arg Ile Pro Cys
 245 250 255
 Asp Met Glu Asn Thr Gly Ser Thr Asp Arg Leu Thr Val Glu Glu Ser
 260 265 270
 Leu Lys Glu Arg Glu Ile Ala Tyr His Val Ser Ala Pro Gly Thr Leu
 275 280 285
 Val Ser Ser Thr Asn Tyr Ser Val Ile Leu Trp Asp Gly Glu Asp Tyr

| | | |
|---|-----|-----|
| 290 | 295 | 300 |
| | | |
| Glu Gln Phe Trp Asp Val Pro Leu Ser Gly Lys Leu Gln Val Trp Asn | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Cys Leu Leu Trp Ala Ala Cys Ala Val Ile Val Ala Ala Val Leu Phe | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Phe Ala Val Thr Leu Leu Lys Ile Leu Val Lys Lys Phe Ser Phe Tyr | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Ala Lys Ile Thr Met Ala Val Ile Gly Ile Ile Val Gly Val Ala Ala | | |
| 355 | 360 | 365 |
| | | |
| Leu Phe Ile Gly Thr Leu Phe Pro Gln Phe Gln Ser Leu Leu Val Asp | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Glu Thr Tyr Thr Arg Glu Lys Phe Ala Ala Ser Ala Val Thr Asn Arg | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Leu Pro Ala Asp Ala Phe Gln Arg Leu Glu Lys Pro Ser Asp Phe Met | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Asn Glu Asp Tyr Arg Gln Val Arg Gln Val Val Arg Asp Val Phe Phe | | |
| 420 | 425 | 430 |
| | | |
| Ser Asp Ser Asp Ser Ser Gln Asp Leu Tyr Cys Val Leu Tyr Lys Val | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Lys Asp Gly Thr Val Thr Leu Val Tyr Thr Leu Glu Asp Ile Cys Val | | |
| 450 | 455 | 460 |
| Ala Tyr Pro Tyr Asp Trp Glu Tyr Glu Gly Thr Asp Leu Gln Glu Val | | |
| 465 | 470 | 475 |
| Met Glu Gln Gly Ala Thr Lys Thr Tyr Ala Thr Asn Ser Ser Ala Gly | | |
| 485 | 490 | 495 |
| | | |
| Gly Phe Val Phe Ile His Ser Pro Ile Arg Asp Lys Ser Gly Asp Ile | | |
| 500 | 505 | 510 |
| Ile Gly Ile Ile Glu Val Gly Thr Asp Met Asn Ser Leu Thr Glu Lys | | |
| 515 | 520 | 525 |
| Ser Arg Glu Ile Gln Val Ser Leu Ile Ile Asn Leu Ile Ala Ile Met | | |
| 530 | 535 | 540 |

Val Val Phe Phe Met Leu Thr Phe Glu Val Ile Tyr Phe Ile Lys Gly
 545 550 555 560

Arg Gln Glu Leu Lys Arg Arg Lys Gln Glu Glu Asp Asn Ser Arg Leu
 565 570 575

Pro Val Glu Ile Phe Arg Phe Ile Val Phe Leu Val Phe Phe Thr
 580 585 590

Asn Leu Thr Cys Ala Ile Leu Pro Ile Tyr Ala Met Lys Ile Ser Glu
 595 600 605

Lys Met Ser Val Gln Gly Leu Ser Pro Ala Met Leu Ala Ala Val Pro
 610 615 620

Ile Ser Ala Glu Val Leu Ser Gly Ala Ile Phe Ser Ala Leu Gly Gly
 625 630 635 640

Lys Val Ile His Lys Leu Gly Ala Lys Arg Ser Val Phe Val Ser Ser
 645 650 655

Val Leu Leu Thr Ala Gly Leu Gly Leu Arg Val Val Pro Asn Ile Trp
 660 665 670

Leu Leu Thr Leu Ser Ala Leu Leu Leu Gly Ala Gly Trp Gly Val Leu
 675 680 685

Leu Leu Leu Val Asn Leu Met Ile Val Glu Leu Pro Asp Glu Glu Lys
 690 695 700

Asn Arg Ala Tyr Ala Tyr Tyr Ser Val Ser Ser Leu Ser Gly Ala Asn
 705 710 715 720

Cys Ala Val Val Phe Gly Gly Phe Leu Leu Gln Trp Met Ser Tyr Thr
 725 730 735

Ala Leu Phe Ala Val Thr Ala Val Leu Ser Val Leu Leu Phe Leu Val
 740 745 750

Ala Asn Lys Tyr Met Ser Lys Tyr Thr Ser Asp Asn Glu Glu Glu Asn
 755 760 765

Cys Glu Thr Glu Asp Thr His Met Asn Ile Val Gln Phe Ile Phe Arg
 770 775 780

Pro Arg Ile Ile Ser Phe Phe Leu Leu Met Met Ile Pro Leu Leu Ile

| | | | |
|---|------|------|-----|
| 785 | 790 | 795 | 800 |
| Cys Gly Tyr Phe Leu Asn Tyr Met Phe Pro Ile Val Gly Ser Glu Trp | | | |
| 805 | 810 | 815 | |
| Gly Leu Ser Glu Thr Tyr Ile Gly Tyr Thr Tyr Leu Leu Asn Gly Ile | | | |
| 820 | 825 | 830 | |
| Phe Val Leu Ile Leu Gly Thr Pro Leu Thr Glu Phe Phe Ser Asn Arg | | | |
| 835 | 840 | 845 | |
| Gly Trp Lys His Leu Gly Leu Ala Val Ala Ala Phe Ile Tyr Ala Ala | | | |
| 850 | 855 | 860 | |
| Ala Phe Leu Glu Val Thr Met Leu Gln Asn Ile Pro Ser Leu Leu Ile | | | |
| 865 | 870 | 875 | 880 |
| Ala Leu Ala Leu Ile Gly Val Ala Asp Ser Phe Gly Ile Pro Leu Leu | | | |
| 885 | 890 | 895 | |
| Thr Ser Tyr Phe Thr Asp Leu Lys Asp Val Glu Arg Phe Gly Tyr Asp | | | |
| 900 | 905 | 910 | |
| Arg Gly Leu Gly Val Tyr Ser Leu Phe Glu Asn Gly Ala Gln Ser Leu | | | |
| 915 | 920 | 925 | |
| Gly Ser Phe Val Phe Gly Tyr Val Leu Val Leu Gly Val Gly Arg Gly | | | |
| 930 | 935 | 940 | |
| Leu Ile Phe Val Leu Ile Leu Val Ser Val Leu Ser Ala Ala Phe Leu | | | |
| 945 | 950 | 955 | 960 |
| Ile Ser Thr Thr Phe Ala Ala His Arg Asp Lys Arg Arg Ser Lys Asn | | | |
| 965 | 970 | 975 | |
| Met Glu Lys Arg Arg Lys Leu Asn Val Glu Leu Ile Lys Phe Leu Ile | | | |
| 980 | 985 | 990 | |
| Gly Ser Met Leu Val Val Gly Val Leu Met Leu Leu Gly Ser Ser Leu | | | |
| 995 | 1000 | 1005 | |
| Val Asn Asn Arg Gln Tyr Arg Lys Leu Tyr Asn Asp Lys Ala Leu | | | |
| 1010 | 1015 | 1020 | |
| Glu Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Gln Val Asn Gly Asp Phe Ile | | | |
| 1025 | 1030 | 1035 | |

Glu Glu Leu Cys Lys Glu Ile Asp Thr Glu Glu Phe Glu Gln Ile
 1040 1045 1050
 Gln Lys Glu Ala Val Ala Ala Asp Asp Glu Gln Pro Ile Ile Asp
 1055 1060 1065

Trp Leu Lys Glu Lys Gly Met Tyr Gln Asn Tyr Glu Arg Ile Asn
 1070 1075 1080
 Glu Tyr Leu His Ser Ile Gln Ala Asp Met Asn Ile Glu Tyr Leu
 1085 1090 1095
 Tyr Ile Gln Met Ile Gln Asp His Ser Ser Val Tyr Leu Phe Asp
 1100 1105 1110
 Pro Ser Ser Gly Tyr Leu Thr Leu Gly Tyr Lys Glu Glu Leu Ser
 1115 1120 1125

Glu Arg Phe Asp Lys Leu Lys Gly Asn Glu Arg Leu Glu Pro Thr
 1130 1135 1140
 Val Ser Arg Thr Glu Phe Gly Trp Leu Ser Ser Ala Gly Glu Pro
 1145 1150 1155
 Val Leu Ser Ser Asp Gly Glu Lys Cys Ala Val Ala Phe Val Asp
 1160 1165 1170
 Ile Asp Met Thr Glu Ile Val Arg Asn Thr Ile Arg Phe Thr Val
 1175 1180 1185

Leu Met Val Cys Leu Cys Ile Leu Ile Ile Leu Ala Ala Gly Met
 1190 1195 1200
 Asp Ile Ser Arg Lys Ile Lys Lys Arg Ile Ser Arg Pro Ile Glu
 1205 1210 1215
 Leu Leu Thr Glu Ala Thr His Lys Phe Gly Asn Gly Glu Glu Gly
 1220 1225 1230
 Tyr Asp Glu Asn Asn Ile Val Asp Leu Asp Ile His Thr Arg Asp
 1235 1240 1245

Glu Ile Glu Glu Leu Tyr His Ala Thr Gln Ser Met Gln Lys Ser
 1250 1255 1260
 Ile Ile Asn Tyr Met Asp Asn Leu Thr Arg Val Thr Ala Glu Lys

| | | |
|---|------|------|
| 1265 | 1270 | 1275 |
| Glu Arg Ile Gly Ala Glu Leu Asn Val Ala Thr Gln Ile Gln Ala | | |
| 1280 | 1285 | 1290 |
| Ser Met Leu Pro Cys Ile Phe Pro Ala Phe Pro Asp Arg Asp Glu | | |
| 1295 | 1300 | 1305 |
| | | |
| Met Asp Ile Tyr Ala Thr Met Thr Pro Ala Lys Glu Val Gly Gly | | |
| 1310 | 1315 | 1320 |
| Asp Phe Tyr Asp Phe Phe Met Val Asp Asp Arg His Met Ala Ile | | |
| 1325 | 1330 | 1335 |
| Val Met Ala Asp Val Ser Gly Lys Gly Val Pro Ala Ala Leu Phe | | |
| 1340 | 1345 | 1350 |
| Met Val Ile Gly Lys Thr Leu Ile Lys Asp His Thr Gln Pro Gly | | |
| 1355 | 1360 | 1365 |
| | | |
| Arg Asp Leu Gly Glu Val Phe Thr Glu Val Asn Asn Ile Leu Cys | | |
| 1370 | 1375 | 1380 |
| Glu Ser Asn Glu Asn Gly Met Phe Ile Thr Ala Phe Glu Gly Val | | |
| 1385 | 1390 | 1395 |
| Leu Asp Leu Val Thr Gly Glu Phe Arg Tyr Val Asn Ala Gly His | | |
| 1400 | 1405 | 1410 |
| Glu Met Pro Phe Val Tyr Arg Arg Glu Thr Asn Thr Tyr Glu Ala | | |
| 1415 | 1420 | 1425 |
| | | |
| Tyr Lys Ile Arg Ala Gly Phe Val Leu Ala Gly Ile Glu Asp Ile | | |
| 1430 | 1435 | 1440 |
| Val Tyr Lys Glu Gln Lys Leu Gln Leu Asn Ile Gly Asp Lys Ile | | |
| 1445 | 1450 | 1455 |
| Phe Gln Tyr Thr Asp Gly Val Thr Glu Ala Thr Asp Lys Asp Arg | | |
| 1460 | 1465 | 1470 |
| Gln Leu Tyr Gly Met Asp Arg Leu Asp His Val Leu Asn Gln Gln | | |
| 1475 | 1480 | 1485 |
| | | |
| Cys Leu Ser Ser Asn Pro Glu Glu Thr Leu Lys Leu Val Lys Ala | | |
| 1490 | 1495 | 1500 |

Asp Ile Asp Ala Phe Val Gly Asp Asn Asp Gln Phe Asp Asp Ile
 1505 1510 1515
 Thr Met Leu Cys Leu Glu Tyr Thr Lys Lys Met Glu Asn Gln Arg
 1520 1525 1530
 Leu Leu Asn Asn Cys
 1535

<210> 24

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> bacterial protein

<400> 24

Met Ala Ala Cys Ala Ala Cys Arg Trp Leu Met Asn Glu Lys Thr Leu

1 5 10 15

Ile Ser Thr Thr Phe Gly Val Gly Gln Leu Thr Leu Asn Ala Val Glu

20 25 30

His Lys Ala Lys Gln Asp Cys Tyr

35 40

<210> 25

<211> 441

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> bacterial protein

<400> 25

Met Ala Lys Leu Asn Ile Gly Ile Phe Thr Asp Thr Tyr Phe Pro Gln

1 5 10 15

Leu Asn Gly Val Ala Thr Ser Val Gln Thr Leu Arg Arg Glu Leu Glu

20 25 30

Lys Arg Gly His Gln Val Tyr Ile Phe Thr Pro Tyr Asp Pro Arg Gln

35 40 45

Gln Gln Glu Thr Asp Asp His Ile Phe Arg Leu Pro Ser Met Pro Phe

50 55 60

Ile Phe Val Lys Asn Tyr Arg Ala Cys Phe Val Cys Pro Pro His Ile

65 70 75 80

Leu Arg Lys Ile His Gln Leu Lys Leu Asp Ile Ile His Thr Gln Thr

85 90 95

Glu Phe Ser Leu Gly Phe Leu Gly Lys Leu Ile Ser Thr Thr Phe Gly

100 105 110

Ile Pro Met Val His Thr Tyr His Thr Met Tyr Glu Asp Tyr Val His

115 120 125

Tyr Ile Ala Gly Gly His Leu Ile Ser Ala Glu Gly Ala Arg Glu Phe

130 135 140

Ser Arg Ile Phe Cys Asn Thr Ala Met Ala Val Ile Ala Pro Thr Gln

145 150 155 160

Lys Thr Glu Arg Leu Leu Leu Ser Tyr Gly Val Asn Lys Pro Ile Ser

165 170 175

Ile Ile Pro Thr Gly Ile Asp Thr Ser His Phe Arg Lys Ser Asn Tyr

180 185 190

Asp Pro Ala Glu Ile Leu Glu Leu Arg His Ser Leu Gly Leu Lys Ala

195 200 205

Asp Thr Pro Val Leu Ile Ser Ile Gly Arg Ile Ala Lys Glu Lys Ser

210 215 220

Ile Asp Val Ile Ile Gly Ala Leu Pro Lys Leu Leu Glu Lys Leu Pro

225 230 235 240

Asn Thr Met Met Val Ile Val Gly Glu Gly Met Glu Ile Glu Asn Leu

245 250 255

Lys Lys Tyr Ala Asp Ser Leu Gly Ile Gly Asp His Leu Leu Phe Thr

260 265 270

Gly Gly Lys Pro Trp Ser Glu Ile Gly Lys Tyr Tyr Gln Leu Gly Asp

275 280 285

Val Phe Cys Ser Ala Ser Leu Ser Glu Thr Gln Gly Leu Thr Phe Ala

290 295 300

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

305 310 315 320

Ile Val Asn Phe Met Thr His Gly Glu Thr Gly Met Phe Phe Asp Asp

325 330 335

Pro Ala Glu Leu Pro Asp Leu Leu Tyr Arg Val Leu Thr Asp Lys Pro

340 345 350

Leu Arg Glu His Leu Ser Thr Thr Ser Gln Asn Thr Met Glu Ser Leu

355 360 365

Ser Val Glu Thr Phe Gly Asn His Val Glu Glu Leu Tyr Glu Lys Val

370 375 380

Val Arg Ala Phe Gln Asn Ala Glu Ser Ile Pro Leu His Ser Leu Pro

385 390 395 400

Tyr Ile Lys Gly Thr Arg Val Val His Arg Ile Ser Lys Ile Pro Lys

405 410 415

Lys Leu Ala His Arg Ser Arg Ser Tyr Ser Ser Gln Ile Ala Glu Arg

420 425 430

Leu Pro Phe Leu Pro Arg His Arg Ser

435 440

<210> 26

<211> 535

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> bacterial protein

<400>

26

Met Ile Ile Leu Asn Ala Met Lys Leu Ile Asn Leu Ile Ser Thr Thr

1 5 10 15

Phe Gly Ile Gly Val Gln Asp Leu Leu Leu Lys Glu Ser Phe Asn Glu

20 25 30

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

35 40 45

Asp Ile Asn Leu Phe Tyr Ala Gln Ile Leu Asp Asp Cys Gln Phe Asp

50 55 60

Phe Leu Tyr Cys Gly Asn Ser Glu Ile Thr Ile Asn Ser Leu His Ser
 65 70 75 80
 Ile Thr Asp Val Glu Asn Phe Val Ser His Ile Ser Asp Lys Leu Ala
 85 90 95
 Ser Leu Asp Leu Asn Asp Pro Asp Asp Ile Glu Val Val Asn Ser Phe
 100 105 110
 Ser Ile Leu Val Lys Ile Arg Lys Glu Ile Arg Glu Arg Val Leu Asn
 115 120 125

 Ile Tyr Asp Phe Ile Ala Leu Cys Asn Tyr Trp Asn Asp Leu Thr Trp
 130 135 140
 Glu Asn Arg Leu Phe Val Leu Ser Lys Glu Glu Leu Lys Arg Gly Ile
 145 150 155 160
 Val Phe Tyr Leu Leu Glu Asp Asp Ile Cys Ser Phe Lys Thr Glu Gly
 165 170 175
 Phe Tyr Phe Ser His Asn Arg Glu Glu Lys Pro His Ile Val Asn Cys
 180 185 190

 Leu Glu Asp Ile Arg Glu Asn Val Tyr Trp Gly Asn Leu Asp Val Tyr
 195 200 205
 Lys Leu Thr Pro Leu Tyr Phe His Ile Thr Gln Arg Ser Asn Val Glu
 210 215 220
 Asn Ile Phe Gln Glu Thr Phe Asp Val Leu Ser Ala Val Phe Ser Leu
 225 230 235 240
 Cys Ser Ile Leu Asp Ile Val Ser Leu Asn Ala Lys Asp Gly Lys Leu
 245 250 255

 Val Tyr Lys Leu Cys Gly Tyr Lys Asn Ile Asn Gly Glu Leu Asn Ile
 260 265 270
 Asp Asn Ser Phe Ser Leu Leu Lys Asn Thr Glu Asn Glu Tyr Phe Lys
 275 280 285
 Ile Phe Arg Trp Ile Tyr Ile Gly Glu Gly Asn Lys Thr Asp Lys Ile
 290 295 300
 Gly Ile Ala Arg Asn Val Leu Ser Leu Phe Ile Ala Asn Asn Ile

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 305 | 310 | 315 | 320 |
|-----|-----|-----|-----|

Ala Ile Glu Asp Asn Val Phe Ile Ser Ile Gln Ser Ser Phe Lys Thr

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 325 | 330 | 335 | |
|-----|-----|-----|--|

Tyr Leu Lys Glu Asn Leu Asp Lys Tyr Val Ala Ile Arg Asn Gln Ile

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 340 | 345 | 350 | |
|-----|-----|-----|--|

Tyr Gln Glu Leu Asp Ala Ile Ile Ser Leu Ser Ser Ala Val Lys Lys

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 355 | 360 | 365 | |
|-----|-----|-----|--|

Asp Phe Leu Glu Gly Phe Lys His Asn Leu Leu Ala Cys Ile Thr Phe

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 370 | 375 | 380 | |
|-----|-----|-----|--|

Phe Phe Ser Thr Ile Val Leu Glu Val Leu Gly Gly Asn Ser Lys Ser

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 385 | 390 | 395 | 400 |
|-----|-----|-----|-----|

Tyr Phe Leu Phe Thr Lys Glu Val Cys Ile Leu Cys Tyr Ala Val Phe

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 405 | 410 | 415 | |
|-----|-----|-----|--|

Phe Ile Ser Phe Leu Tyr Leu Leu Trp Met Arg Gly Asp Ile Glu Val

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 420 | 425 | 430 | |
|-----|-----|-----|--|

Glu Lys Lys Asn Ile Ser Asn Arg Tyr Val Val Leu Lys Lys Arg Tyr

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 435 | 440 | 445 | |
|-----|-----|-----|--|

Ser Asp Leu Leu Ile Pro Lys Glu Ile Asp Ile Ile Leu Arg Asn Gly

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 450 | 455 | 460 | |
|-----|-----|-----|--|

Glu Glu Leu Lys Glu Gln Met Gly Tyr Ile Asp Leu Val Lys Lys Lys

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 465 | 470 | 475 | 480 |
|-----|-----|-----|-----|

Tyr Thr Ala Leu Trp Ile Cys Ser Leu Leu Thr Leu Cys Val Ile Val

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 485 | 490 | 495 | |
|-----|-----|-----|--|

Thr Val Leu Ser Pro Ile Gly Asn Met Phe Ala Gly Met Ile Phe Ala

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 500 | 505 | 510 | |
|-----|-----|-----|--|

Phe Lys Ser Ile Ile Val Ile Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Leu Val

| | | | |
|-----|-----|-----|--|
| 515 | 520 | 525 | |
|-----|-----|-----|--|

Arg Leu Gly Ser Phe Ile Leu

| | | | |
|-----|-----|--|--|
| 530 | 535 | | |
|-----|-----|--|--|

<210> 27

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> bacterial protein

<400> 27

Met Asn Val Phe Ala Gly Ile Gln Phe Gly Ile Arg Lys Gly Leu Arg

1 5 10 15

Tyr Lys Val Asn Thr Tyr Ser Trp Phe Leu Ala Asp Leu Ala Leu Tyr

20 25 30

Ala Ser Val Ile Leu Met Tyr Phe Leu Ile Ser Thr Thr Phe Ala Ser

35 40 45

Phe Gly Ala Tyr Thr Lys Thr Glu Met Gly Leu Tyr Ile Ser Thr Tyr

50 55 60

Phe Ile Ile Asn Asn Leu Phe Ala Val Leu Phe Ser Glu Ala Val Ser

65 70 75 80

Glu Tyr Gly Ala Ser Ile Leu Asn Gly Ser Phe Ser Tyr Tyr Gln Leu

85 90 95

Thr Pro Val Gly Pro Leu Arg Ser Leu Ile Leu Leu Asn Phe Asn Phe

100 105 110

Ala Ala Met Leu Ser Thr Pro Ala Leu Leu Ala Met Asn Ile Tyr Phe

115 120 125

Val Val Gln Leu Phe Thr Thr Pro Val Gln Val Ile Leu Tyr Tyr Leu

130 135 140

Gly Val Leu Phe Ala Cys Gly Thr Met Leu Phe Val Phe Gln Thr Ile

145 150 155 160

Ser Ala Leu Leu Phe Gly Val Arg Ser Ser Ala Ile Ala Ser Ala

165 170 175

Met Thr Gln Leu Phe Ser Ile Ala Glu Lys Pro Asp Met Val Phe His

180 185 190

Pro Ala Phe Arg Lys Val Phe Thr Phe Val Ile Pro Ala Phe Leu Phe

195 200 205

Ser Ala Val Pro Ser Lys Val Met Leu Gly Thr Ala Ala Val Ser Glu

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| 210 | 215 | 220 | |
| | | | |
| Ile Ala Ala Leu Phe Leu Ser Pro Leu Phe Phe Tyr Ala Leu Phe Arg | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| Ile Leu Glu Ala Ala Gly Cys Arg Lys Tyr Gln His Ala Gly Phe | | | |
| 245 | 250 | 255 | |
| <210> 28 | | | |
| <211> 563 | | | |
| <212> PRT | | | |
| <213> Artificial Sequence | | | |
| <220><223> bacterial protein | | | |
| <400> 28 | | | |
| Met Asn Lys Ala Leu Phe Lys Tyr Phe Ala Thr Val Leu Ile Val Thr | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Leu Leu Phe Ser Ser Ser Val Ser Met Val Ile Leu Ser Asp Gln Met | | | |
| | | | |
| 20 | 25 | 30 | |
| | | | |
| Met Gln Thr Thr Arg Lys Asp Met Tyr Tyr Thr Val Lys Leu Val Glu | | | |
| 35 | 40 | 45 | |
| Asn Gln Ile Asp Tyr Gln Lys Pro Leu Asp Asn Gln Val Glu Lys Leu | | | |
| 50 | 55 | 60 | |
| Asn Asp Leu Ala Tyr Thr Lys Asp Thr Arg Leu Thr Ile Ile Asp Lys | | | |
| 65 | 70 | 75 | 80 |
| Asp Gly Asn Val Leu Ala Asp Ser Asp Lys Glu Gly Ile Gln Glu Asn | | | |
| | | | |
| 85 | 90 | 95 | |
| | | | |
| His Ser Gly Arg Ser Glu Phe Lys Glu Ala Leu Ser Asp Gln Phe Gly | | | |
| 100 | 105 | 110 | |
| Tyr Ala Thr Arg Tyr Ser Ser Thr Val Lys Lys Asn Met Met Tyr Val | | | |
| 115 | 120 | 125 | |
| Ala Tyr Tyr His Arg Gly Tyr Val Val Arg Ile Ala Ile Pro Tyr Asn | | | |
| 130 | 135 | 140 | |
| Gly Ile Phe Asp Asn Ile Gly Pro Leu Leu Glu Pro Leu Phe Ile Ser | | | |
| | | | |
| 145 | 150 | 155 | 160 |

Ala Ala Leu Ser Leu Cys Val Ala Leu Ala Leu Ser Tyr Arg Phe Ser
 165 170 175
 Arg Thr Leu Thr Lys Pro Leu Glu Glu Ile Ser Glu Glu Val Ser Lys
 180 185 190
 Ile Asn Asp Asn Arg Tyr Leu Ser Phe Asp His Tyr Gln Tyr Asp Glu
 195 200 205
 Phe Asn Val Ile Ala Thr Lys Leu Lys Glu Gln Ala Asp Thr Ile Arg
 210 215 220
 Lys Thr Leu Lys Thr Leu Lys Asn Glu Arg Leu Lys Ile Asn Ser Ile
 225 230 235 240
 Leu Asp Lys Met Asn Glu Gly Phe Val Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Glu
 245 250 255
 Ile Leu Met Val Asn Lys Ala Lys Gln Leu Phe Gly Asp Lys Met
 260 265 270
 Glu Val Asn Gln Pro Ile Gln Asp Phe Ile Phe Asp His Gln Ile Ile
 275 280 285
 Asp Gln Leu Glu Asn Ile Gly Val Glu Pro Lys Ile Val Thr Leu Lys
 290 295 300
 Lys Asp Glu Glu Val Tyr Asp Cys His Leu Ala Lys Val Glu Tyr Gly
 305 310 315 320
 Val Thr Leu Leu Phe Val Asn Ile Thr Asp Ser Val Asn Ala Thr Lys
 325 330 335
 Met Arg Gln Glu Phe Phe Ser Asn Val Ser His Glu Leu Lys Thr Pro
 340 345 350
 Met Thr Ser Ile Arg Gly Tyr Ser Glu Leu Leu Gln Thr Gly Met Ile
 355 360 365
 Asp Asp Pro Lys Ala Arg Lys Gln Ala Leu Asp Lys Ile Gln Lys Glu
 370 375 380
 Val Asp Gln Met Ser Ser Leu Ile Ser Asp Ile Leu Met Ile Ser Arg
 385 390 395 400
 Leu Glu Asn Lys Asp Ile Glu Val Ile Gln His Pro Val His Leu Gln

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| 405 | 410 | 415 | |
| Pro Ile Val Asp Asp Ile Leu Glu Ser Leu Lys Val Glu Ile Glu Lys | | | |
| 420 | 425 | 430 | |
| Lys Glu Ile Lys Val Thr Cys Asp Leu Thr Pro Gln Thr Tyr Leu Ala | | | |
| 435 | 440 | 445 | |
| Asn His Gln His Val Gln Gln Leu Met Asn Asn Leu Ile Asn Asn Ala | | | |
| 450 | 455 | 460 | |
| Val Lys Tyr Asn Lys Gln Lys Gly Ser Leu Asn Ile His Ser Tyr Leu | | | |
| | | | |
| 465 | 470 | 475 | 480 |
| Val Asp Gln Asp Tyr Ile Ile Glu Val Ser Asp Thr Gly Arg Gly Ile | | | |
| 485 | 490 | 495 | |
| Ser Leu Ile Asp Gln Gly Arg Val Phe Glu Arg Phe Phe Arg Cys Asp | | | |
| 500 | 505 | 510 | |
| Ala Gly Arg Asp Lys Glu Thr Gly Gly Thr Gly Leu Gly Leu Ala Ile | | | |
| 515 | 520 | 525 | |
| Val Lys His Ile Val Gln Tyr Tyr Lys Gly Thr Ile His Leu Glu Ser | | | |
| | | | |
| 530 | 535 | 540 | |
| Glu Leu Gly Lys Gly Thr Thr Phe Lys Ile Val Leu Pro Ile Asn Lys | | | |
| 545 | 550 | 555 | 560 |
| Asp Ser Leu | | | |

<210> 29

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> bacterial protein

<400> 29

Met Ser Ile Ser Leu Ala Glu Ala Lys Val Gly Met Ala Asp Lys Val

1 5 10 15

Asp Gln Gln Val Val Asp Glu Phe Arg Arg Ala Ser Leu Leu Asp

20 25 30

Met Leu Ile Phe Asp Asp Ala Val Ser Pro Gly Thr Gly Ser Thr

35 40 45

Leu Thr Tyr Gly Tyr Thr Cys Leu Lys Thr Pro Ser Thr Val Ala Val
 50 55 60
 Arg Glu Leu Asn Thr Glu Tyr Thr Pro Asn Glu Ala Lys Arg Glu Lys
 65 70 75 80
 Lys Thr Ala Asp Leu Lys Ile Phe Gly Gly Ser Tyr Gln Ile Asp Arg

85 90 95

Val Ile Ala Gln Thr Ser Gly Ala Val Asn Glu Val Glu Phe Gln Met
 100 105 110
 Arg Glu Lys Ile Lys Ala Ala Ala Asn Tyr Phe His Met Leu Val Ile
 115 120 125
 Asn Gly Thr Gly Ala Gly Ser Gly Ala Gly Tyr Val Thr Asn Thr Phe
 130 135 140
 Asp Gly Leu Lys Lys Ile Leu Ser Gly Ser Asp Thr Glu Tyr Thr Ala

145 150 155 160
 Glu Asp Val Asp Ile Ser Thr Ser Ala Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Asn
 165 170 175
 Ala Phe Leu Asp Ala Val Asp Thr Phe Ile Ser Lys Leu Ala Glu Lys
 180 185 190
 Pro Asp Ile Leu Met Met Asn Thr Glu Met Leu Thr Lys Val Arg Ser
 195 200 205
 Ala Ala Arg Arg Ala Gly Tyr Tyr Asp Arg Ser Lys Asp Asp Phe Gly

210 215 220

Arg Ala Val Glu Thr Tyr Asn Gly Ile Lys Leu Leu Asp Ala Gly Tyr
 225 230 235 240
 Tyr Tyr Asn Gly Ser Thr Thr Glu Pro Val Val Ala Ile Glu Thr Asp
 245 250 255
 Gly Ser Thr Ala Ile Tyr Gly Ile Lys Ile Gly Leu Asn Ala Phe His
 260 265 270
 Gly Val Ser Pro Lys Gly Asp Lys Ile Ile Ala Gln His Leu Pro Asp

275 280 285

Phe Ser Gln Ala Gly Ala Val Lys Glu Gly Asp Val Glu Met Val Ala
 290 295 300
 Ala Thr Val Leu Lys Asn Ser Lys Met Ala Gly Val Leu Lys Gly Ile
 305 310 315 320
 Lys Ile Lys Pro Thr Glu
 325

<210> 30

<211> 334

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> bacterial protein

<400> 30

Met Pro Val Thr Leu Ala Glu Ala Lys Val Gly Met Ala Asp Lys Val

1 5 10 15
 Asp Gln Gln Val Ile Asp Glu Phe Arg Arg Ser Ser Leu Leu Asp
 20 25 30
 Met Leu Thr Phe Asp Asp Ser Val Ser Pro Gly Thr Gly Ser Thr
 35 40 45
 Leu Thr Tyr Gly Tyr Val Arg Leu Lys Thr Pro Ser Thr Val Ala Val
 50 55 60
 Arg Ser Ile Asn Ser Glu Tyr Thr Ala Asn Glu Ala Lys Arg Glu Lys

65 70 75 80
 Ala Thr Ala Asn Val Ile Ile Leu Gly Gly Ser Phe Glu Val Asp Arg
 85 90 95
 Val Ile Ala Asn Thr Ser Gly Ala Val Asp Glu Ile Asp Phe Gln Leu
 100 105 110
 Lys Glu Lys Thr Lys Ala Gly Ala Asn Tyr Phe His Asn Leu Val Ile
 115 120 125
 Asn Gly Thr Ser Ala Ala Ser Gly Ala Gly Phe Val Val Asn Thr Phe

130 135 140
 Asp Gly Leu Lys Lys Ile Leu Ser Gly Ser Asp Thr Glu Tyr Thr Ser
 145 150 155 160

Glu Ser Asp Ile Ser Thr Ser Ala Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Asn Ala

165 170 175

Phe Leu Asp Glu Leu Asp Ala Phe Ile Ser Lys Leu Ala Glu Lys Pro

180 185 190

Asp Ile Leu Leu Met Asn Asn Glu Met Leu Thr Lys Thr Arg Ala Ala

195 200 205

Ala Arg Arg Ala Gly Phe Tyr Glu Arg Ser Val Asp Gly Phe Gly Arg

210 215 220

Thr Val Glu Lys Tyr Asn Gly Ile Pro Met Met Asp Ala Gly Gln Tyr

225 230 235 240

Tyr Asn Gly Ser Ala Thr Val Asp Val Ile Glu Thr Ser Thr Pro Ser

245 250 255

Thr Ser Ala Tyr Gly Glu Thr Asp Ile Tyr Ala Val Lys Leu Gly Leu

260 265 270

Asn Ala Phe His Gly Ile Ser Val Asp Gly Ser Lys Met Ile His Thr

275 280 285

Tyr Leu Pro Asp Leu Gln Ala Pro Gly Ala Val Lys Lys Gly Lys Val

290 295 300

Glu Leu Leu Ala Gly Ala Ile Leu Lys Asn Ser Lys Met Ala Gly Arg

305 310 315 320

Leu Lys Gly Ile Lys Ile Lys Pro Lys Thr Thr Ala Gly Gly

325 330

<210> 31

<211> 409

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> bacterial protein

<400> 31

Met Val Phe Val Phe Ser Leu Leu Phe Ser Pro Phe Phe Ala Leu Phe

1 5 10 15

Phe Leu Leu Leu Tyr Leu Tyr Arg Tyr Lys Ile Lys Lys Ile His Val

20 25 30

Ala Leu Ser Val Phe Leu Val Ala Phe Ile Gly Ile Tyr Trp Tyr Pro

35 40 45

Trp Gly Asp Asn Gln Thr His Phe Ala Ile Tyr Tyr Leu Asp Ile Val

50 55 60

Asn Asn Tyr Tyr Ser Leu Ala Leu Ser Ser Ser His Trp Leu Tyr Asp

65 70 75 80

Tyr Val Ile Tyr His Ile Ala Ser Leu Thr Gly Gln Tyr Ile Trp Gly

85 90 95

Tyr Tyr Phe Trp Leu Phe Val Pro Phe Leu Phe Phe Ser Leu Leu Val

100 105 110

Trp Gln Ile Val Asp Glu Gln Glu Val Pro Asn Lys Glu Lys Trp Leu

115 120 125

Leu Leu Ile Leu Leu Ile Leu Phe Leu Gly Ile Arg Glu Leu Leu Asp

130 135 140

Leu Asn Arg Asn Thr Asn Ala Gly Leu Leu Leu Ala Ile Ala Thr Leu

145 150 155 160

Leu Trp Gln Lys Asn Lys Ala Leu Ser Ile Thr Cys Val Ile Val Ser

165 170 175

Leu Leu Leu His Asp Ser Val Arg Tyr Phe Ile Pro Phe Leu Pro Phe

180 185 190

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

195 200 205

Ile Thr Thr Ile Ile Ser Gly Phe Leu Ile Lys Val Ile Ala Pro

210 215 220

Leu Val Val Ser Glu Arg Asn Ala Met Tyr Leu Glu Val Gly Gly

225 230 235 240

Arg Gly Val Gly Ser Gly Phe Met Val Leu Gln Gly Tyr Val Asn Ile

245 250 255

Leu Ile Gly Ile Ile Gln Tyr Leu Ile Ile Arg Arg Asn Lys Ser Val

260 265 270

Ile Ala Lys Pro Leu Tyr Val Val Tyr Ile Val Ser Ile Leu Ile Ala

275

280

285

Ala Ala Leu Ser Ser Met Trp Val Gly Arg Glu Arg Phe Leu Leu Val

290

295

300

Ser Asn Ile Leu Ala Thr Ser Ile Ile Leu Thr Ser Trp Ser Lys Leu

305 310 315 320

Arg Leu Val Glu Gly Val Lys Val Leu Arg Asn Phe Gln Leu Ile Ile

325

330

335

Gly Ser Tyr Ser Met Lys Ile Ile Ile Asn Leu Leu Leu Val Tyr Ser

340

345

350

Ala His Tyr Val Phe Asn Ser Ala Thr Thr Asp Asn Gln Lys Glu Phe

355

360

365

Ser Ile Val Ala Arg Ser Phe Tyr Met Pro Thr Phe Met Leu Phe Asp

370

375

380

Ile Glu Asn Tyr Gly Phe Ser Asp Lys Lys Phe Met Asn Leu Tyr Asp

385 390 395 400

Arg Val Asp Ser Thr Ile Asp Gly Glu

405

<210> 32

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HHD-DR3

<400> 32

Met Ala Lys Thr Ile Ala Tyr Asp Glu Glu Ala Arg Arg Gly Leu Glu

1

5

10

15

Arg Gly Leu Asn

20

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 33

Ile Ile Ser Ala Val Val Gly Ile Ala

1 5

<210> 34

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 34

Ile Ser Ala Val Val Gly Ile Val

1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 35

Leu Phe Tyr Ser Leu Ala Asp Leu Ile

1 5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 36

Ile Ser Ala Val Val Gly Ile Ala Val

1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 37

Ser Ala Val Val Gly Ile Ala Val Thr

1 5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 38

Tyr Ile Ile Ser Ala Val Val Gly Ile

1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 39

Ala Tyr Ile Ile Ser Ala Val Val Gly

1 5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 40

Leu Ala Tyr Ile Ile Ser Ala Val Val

1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 41

Ile Ser Ala Val Val Gly Ile Ala Ala

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 42

Ser Ala Val Val Gly Ile Ala Ala Gly

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 43

Arg Ile Ile Ser Ala Val Val Gly Ile

1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 44

Gln Arg Ile Ile Ser Ala Val Val Gly

1 5

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 45

Ala Gln Arg Ile Ile Ser Ala Val Val

1 5

<210> 46

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 46

Ser Ala Val Val Gly Ile Val Val

1 5

<210> 47

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 47

Ala Ile Ser Ala Val Val Gly Ile

1 5

<210> 48

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 48

Gly Ala Ile Ser Ala Val Val Gly

1 5

<210> 49

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 49

Ala Gly Ala Ile Ser Ala Val Val

1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 50

Leu Leu Phe Tyr Ser Leu Ala Asp Leu

1 5

<210> 51

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 51

Ile Ser Ala Val Val Gly

1 5

<210> 52

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 52

Ser Leu Ala Asp Leu Ile

1 5

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 53

Ile Ile Ser Ala Val Val Gly Ile Leu

1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide

<400> 54

Leu Leu Tyr Lys Leu Ala Asp Leu Ile

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Tyr Leu Val Pro Ile Gln Phe Pro Val

1 5

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Ser Leu Val Leu Gln Pro Ser Val Lys Val

1 5 10

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Leu Val Leu Gln Pro Ser Val Lys Val

1 5

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Gly Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Pro Leu

1 5 10

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Pro Leu

1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Asn Leu Ser Leu His Asp Met Phe Val

1 5

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Lys Met Lys Pro Leu Leu Pro Arg Val

1 5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Arg Val Ser Ser Tyr Leu Val Pro Ile

1 5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

Ile Leu Leu Asp Ile Ser Phe Pro Gly

1 5

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

Leu Leu Asp Ile Ser Phe Pro Gly Leu

1 5

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

Tyr Met Ala Met Ile Gln Phe Ala Ile

1 5

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 66

Ser Leu Ser Leu His Asp Met Phe Leu

1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 67

Lys Leu Lys Pro Leu Leu Pro Trp Ile

1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 68

Lys Leu Lys Pro Leu Leu Pro Phe Leu

1 5

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 69

Met Leu Ser Ser Tyr Leu Val Pro Ile

1 5

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 70

Leu Leu Ser Ser Tyr Leu Val Pro Ile

1 5

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 71

Phe Val Ser Ser Tyr Leu Val Pro Thr

1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 72

Lys Val Val Pro Ile Gln Phe Pro Val

1 5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><223> Sequence variant

<400> 73

Lys Ile Val Pro Ile Gln Phe Pro Ile

1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 74

Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Asn Val

1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 75

Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Glu Val

1 5

<210> 76

<211> 9

<

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 76

Trp Leu Leu Asp Ile Ser Phe Pro Leu

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 77

His Leu Leu Asp Ile Ser Phe Pro Ala

1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 78

Glu Leu Leu Asp Ile Ser Phe Pro Ala

1 5

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 79

Val Leu Leu Asp Ile Ser Phe Glu Leu

1 5

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 80

Val Leu Leu Asp Ile Ser Phe Lys Val

1 5

<210> 81

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 81

Ile Met Leu Asp Ile Ser Phe Leu Leu

1 5

<210> 82

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 82

Leu Leu Asp Ile Ser Phe Pro Ser Leu

1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 83

Tyr Gln Ala Met Ile Gln Phe Leu Ile

1 5

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 84

Arg Leu Ser Ser Tyr Leu Val Glu Ile

1 5

<210> 85

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 85

Met Phe Gln Ser Val Phe Glu Gly Phe Glu Ser Phe Leu Phe Val Pro

1 5 10 15

Asn Thr Thr Ser Arg Ser Gly Val His Ile His Asp Ser Ile Asp Ser

20 25 30

Lys Arg Thr Met Thr Val Val Ile Val Ala Leu Leu Pro Ala Leu Leu

35 40 45

Phe Gly Met Tyr Asn Val Gly Tyr Gln His Tyr Leu Ala Ile Gly Glu

50 55 60

Leu Ala Gln Thr Ser Phe Trp Ser Leu Phe Gly Phe Leu Ala

65 70 75 80

Val Leu Pro Lys Ile Val Val Ser Tyr Val Val Gly Leu Gly Ile Glu

85 90 95

Phe Thr Ala Ala Gln Leu Arg His His Glu Ile Gln Glu Gly Phe Leu

100 105 110

Val Ser Gly Met Leu Ile Pro Met Ile Val Pro Val Asp Thr Pro Leu

115 120 125

Trp Met Ile Ala Val Ala Thr Ala Phe Ala Val Ile Phe Ala Lys Glu

130 135 140

Val Phe Gly Gly Thr Gly Met Asn Ile Phe Asn Ile Ala Leu Val Thr

145 150 155 160

Arg Ala Phe Leu Phe Phe Ala Tyr Pro Ser Lys Met Ser Gly Asp Glu

165 170 175

Val Phe Val Arg Thr Gly Asp Thr Phe Gly Leu Gly Ala Gln Ile

180 185 190

Val Glu Gly Phe Ser Gly Ala Thr Pro Leu Gly Gln Ala Ala Thr His

195 200 205

Thr Gly Gly Gly Ala Leu His Leu Thr Asp Ile Leu Gly Asn Ser Leu

210 215 220

Ser Leu His Asp Met Phe Leu Gly Phe Ile Pro Gly Ser Ile Gly Glu

225 230 235 240

Thr Ser Thr Leu Ala Ile Leu Ile Gly Ala Val Ile Leu Leu Val Thr

245 250 255

Gly Ile Ala Ser Trp Arg Val Met Leu Ser Val Phe Ala Gly Gly Ile

260 265 270

Val Met Ser Leu Ile Cys Asn Trp Cys Ala Asn Pro Asp Ile Tyr Pro

275 280 285

Ala Ala Gln Leu Ser Pro Leu Glu Gln Ile Cys Leu Gly Gly Phe Ala

290 295 300

Phe Ala Ala Val Phe Met Ala Thr Asp Pro Val Thr Gly Ala Arg Thr

305 310 315 320

Asn Thr Gly Lys Tyr Ile Phe Gly Phe Leu Val Gly Val Leu Ala Ile

325 330 335

Leu Ile Arg Val Phe Asn Ser Gly Tyr Pro Glu Gly Ala Met Leu Ala

340 345 350

Val Leu Leu Met Asn Ala Phe Ala Pro Leu Ile Asp Tyr Phe Val Val

355 360 365

Glu Ala Asn Ile Arg His Arg Leu Lys Arg Ala Lys Asn Leu Thr Lys

370 375 380

<210> 86

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 86

Met Glu Gly Leu Glu Glu Asp Ala Ile Thr Cys Phe Asn Asp Ser

1 5 10 15

Phe Asn His Leu Lys Asp Arg Pro Asp Trp Asp Gly Tyr Ile Thr Leu

20 25 30

Lys Glu Ala Asn Glu Trp Tyr Arg Ser Gly Asn Gly Glu Pro Leu Phe

35 40 45

Ala Asp Ile Asn Lys Ile Asp Phe Asp Asn Tyr Val Ser Trp Gly Glu

50 55 60

Lys Tyr Val Gly Glu Thr Tyr Val Ile Asn Tyr Leu Leu His Ile Gly

65 70 75 80

Arg Asn Ile Gln Thr His Ile Gly Ala Lys Val Ala Gly Gln Gly Thr

85 90 95

Ala Phe Asn Ile Asn Ile Tyr Gly Lys Lys Leu Lys Pro Leu Leu

100 105 110

Pro Trp Ile Lys

115

<210> 87

<211> 880

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 87

Met Asp Lys Glu Lys Leu Val Leu Ile Asp Gly His Ser Ile Met Ser

1 5 10 15

Arg Ala Phe Tyr Gly Val Pro Glu Leu Thr Asn Ser Glu Gly Leu His

20 25 30

Thr Asn Ala Val Tyr Gly Phe Leu Asn Ile Met Phe Lys Ile Leu Glu

35 40 45

Glu Glu Gln Ala Asp His Val Ala Val Ala Phe Asp Leu Lys Glu Pro

50 55 60

Thr Phe Arg His Gln Met Phe Glu Gln Tyr Lys Gly Met Arg Lys Pro

65 70 75 80

Met Pro Glu Glu Leu His Glu Gln Val Asp Leu Met Lys Glu Val Leu

85 90 95

Gly Ala Met Glu Val Pro Ile Leu Thr Met Ala Gly Phe Glu Ala Asp

100 105 110

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

| | | |
|---|-----|-----|
| 115 | 120 | 125 |
| Val Val Val Val Ser Gly Asp Arg Asp Leu Leu Gln Leu Ala Asp Glu | | |
| 130 | 135 | 140 |
| His Ile Lys Ile Arg Ile Pro Lys Thr Ser Arg Gly Gly Thr Glu Ile | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Lys Asp Tyr Tyr Pro Glu Asp Val Lys Asn Glu Tyr His Val Thr Pro | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Lys Glu Phe Ile Asp Met Lys Ala Leu Met Gly Asp Ser Ser Asp Asn | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Ile Pro Gly Val Pro Ser Ile Gly Glu Lys Thr Ala Ala Ala Ile Ile | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Glu Ala Tyr Gly Ser Ile Glu Asn Ala Tyr Ala His Ile Glu Glu Ile | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Lys Pro Pro Arg Ala Lys Lys Ser Leu Glu Glu Asn Tyr Ser Leu Ala | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Gln Leu Ser Lys Glu Leu Ala Ala Ile Asn Thr Asn Cys Gly Ile Glu | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Phe Ser Tyr Asp Asp Ala Lys Thr Asp Ser Leu Tyr Thr Pro Ala Ala | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Tyr Gln Tyr Met Lys Arg Leu Glu Phe Lys Ser Leu Leu Ser Arg Phe | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Ser Asp Thr Pro Val Glu Ser Pro Ser Ala Glu Ala His Phe Arg Met | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Val Thr Asp Phe Gly Glu Ala Glu Ala Val Phe Ala Ser Cys Arg Lys | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Gly Ala Lys Ile Gly Leu Glu Leu Val Ile Glu Asp His Glu Leu Thr | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Ala Met Ala Leu Cys Thr Gly Glu Glu Ala Thr Tyr Cys Phe Val Pro | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Gln Gly Phe Met Arg Ala Glu Tyr Leu Val Glu Lys Ala Arg Asp Leu | | |
| 355 | 360 | 365 |

Cys Arg Thr Cys Glu Arg Val Ser Val Leu Lys Leu Lys Pro Leu Leu
 370 375 380
 Pro Phe Leu Lys Ala Glu Ser Asp Ser Pro Leu Phe Asp Ala Gly Val
 385 390 395 400
 Ala Gly Tyr Leu Leu Asn Pro Leu Lys Asp Thr Tyr Asp Tyr Asp Asp
 405 410 415

 Leu Ala Arg Asp Tyr Leu Gly Leu Thr Val Pro Ser Arg Ala Gly Leu
 420 425 430
 Ile Gly Lys Gln Ser Val Lys Met Ala Leu Glu Thr Asp Glu Lys Lys
 435 440 445
 Ala Phe Thr Cys Val Cys Tyr Met Gly Tyr Ile Ala Phe Met Ser Ala
 450 455 460
 Asp Arg Leu Thr Glu Glu Leu Lys Arg Thr Glu Met Tyr Ser Leu Phe
 465 470 475 480

 Thr Asp Ile Glu Met Pro Leu Ile Tyr Ser Leu Phe His Met Glu Gln
 485 490 495
 Val Gly Ile Lys Ala Glu Arg Val Arg Leu Lys Glu Tyr Gly Asp Arg
 500 505 510
 Leu Lys Val Gln Ile Ala Val Leu Glu Gln Lys Ile Tyr Glu Glu Thr
 515 520 525
 Gly Glu Thr Phe Asn Ile Asn Ser Pro Lys Gln Leu Gly Glu Val Leu
 530 535 540

 Phe Asp His Met Lys Leu Pro Asn Gly Lys Lys Thr Lys Ser Gly Tyr
 545 550 555 560
 Ser Thr Ala Ala Asp Val Leu Asp Lys Leu Ala Pro Asp Tyr Pro Val
 565 570 575
 Val Gln Met Ile Leu Asp Tyr Arg Gln Leu Thr Lys Leu Asn Ser Thr
 580 585 590
 Tyr Ala Glu Gly Leu Ala Val Tyr Ile Gly Pro Asp Glu Arg Ile His
 595 600 605

 Gly Thr Phe Asn Gln Thr Ile Thr Ala Thr Gly Arg Ile Ser Ser Thr

| | | |
|---|-----|-----|
| 610 | 615 | 620 |
| Glu Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Met Glu Leu Gly Arg Glu | | |
| 625 | 630 | 635 |
| Ile Arg Lys Ile Phe Val Pro Glu Asp Gly Tyr Val Phe Ile Asp Ala | | |
| 645 | 650 | 655 |
| Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Met Ser Gly Asp | | |
| 660 | 665 | 670 |
| | | |
| Glu Arg Leu Ile Gly Ala Tyr Arg His Ala Glu Asp Ile His Ala Ile | | |
| 675 | 680 | 685 |
| Thr Ala Ser Glu Val Phe His Thr Pro Leu Asp Glu Val Thr Pro Leu | | |
| 690 | 695 | 700 |
| Gln Arg Arg Asn Ala Lys Ala Val Asn Phe Gly Ile Val Tyr Gly Ile | | |
| 705 | 710 | 715 |
| Ser Ser Phe Gly Leu Ser Glu Gly Leu Ser Ile Ser Arg Lys Glu Ala | | |
| 725 | 730 | 735 |
| | | |
| Thr Glu Tyr Ile Asn Lys Tyr Phe Glu Thr Tyr Pro Gly Val Lys Glu | | |
| 740 | 745 | 750 |
| Phe Leu Asp Arg Leu Val Ala Asp Ala Lys Glu Thr Gly Tyr Ala Val | | |
| 755 | 760 | 765 |
| Ser Met Phe Gly Arg Arg Pro Val Pro Glu Leu Lys Ser Ala Asn | | |
| 770 | 775 | 780 |
| Phe Met Gln Arg Ser Phe Gly Glu Arg Val Ala Met Asn Ser Pro Ile | | |
| 785 | 790 | 795 |
| Gln Gly Thr Ala Ala Asp Ile Met Lys Ile Ala Met Ile Arg Val Asp | | |
| 805 | 810 | 815 |
| Arg Ala Leu Lys Ala Lys Gly Leu Lys Ser Arg Ile Val Leu Gln Val | | |
| 820 | 825 | 830 |
| His Asp Glu Leu Leu Ile Glu Thr Arg Lys Asp Glu Val Glu Ala Val | | |
| 835 | 840 | 845 |
| Lys Ala Leu Leu Val Asp Glu Met Lys His Ala Ala Asp Leu Ser Val | | |
| 850 | 855 | 860 |

Ser Leu Glu Val Glu Ala Asn Val Gly Asp Ser Trp Phe Asp Ala Lys

865 870 875 880

<210> 88

<211> 880

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 88

Met Asp Lys Glu Lys Ile Val Leu Ile Asp Gly His Ser Ile Met Ser

1 5 10 15

Arg Ala Phe Tyr Gly Val Pro Glu Leu Thr Asn Ser Glu Gly Leu His

20 25 30

Thr Asn Ala Val Tyr Gly Phe Leu Asn Ile Met Phe Lys Ile Leu Glu

35 40 45

Glu Glu Gln Ala Asp His Val Ala Val Ala Phe Asp Arg Lys Glu Pro

50 55 60

Thr Phe Arg His Lys Met Phe Glu Pro Tyr Lys Gly Thr Arg Lys Pro

65 70 75 80

Met Pro Glu Glu Leu His Glu Gln Val Asp Leu Met Lys Glu Val Leu

85 90 95

Gly Ala Met Glu Val Pro Ile Leu Thr Met Ala Gly Tyr Glu Ala Asp

100 105 110

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

115 120 125

Val Val Val Val Ser Gly Asp Arg Asp Leu Leu Gln Leu Ala Asp Glu

130 135 140

His Ile Lys Ile Arg Ile Pro Lys Thr Ser Arg Gly Gly Thr Glu Ile

145 150 155 160

Lys Asp Tyr Tyr Pro Glu Asp Val Lys Asn Glu Tyr His Val Thr Pro

165 170 175

Thr Glu Phe Ile Asp Met Lys Ala Leu Met Gly Asp Ser Ser Asp Asn

180 185 190

Ile Pro Gly Val Pro Ser Ile Gly Glu Lys Thr Ala Ala Ala Ile Ile
 195 200 205
 Glu Ala Tyr Gly Ser Ile Glu Asn Ala Tyr Ala His Ile Glu Glu Ile
 210 215 220
 Lys Pro Pro Arg Ala Lys Lys Ser Leu Glu Glu Asn Tyr Ser Leu Ala
 225 230 235 240
 Gln Leu Ser Lys Glu Leu Ala Thr Ile Asn Ile Asn Cys Gly Ile Glu
 245 250 255
 Phe Ser Tyr Asp Asp Ala Lys Ala Asp Asn Leu Tyr Thr Pro Ala Ala
 260 265 270
 Tyr Gln Tyr Met Lys Arg Leu Glu Phe Lys Ser Leu Leu Ser Arg Phe
 275 280 285
 Ser Asp Thr Pro Val Glu Ser Pro Ser Ala Glu Ala His Phe Gln Met
 290 295 300
 Val Thr Asp Phe Gly Glu Ala Glu Ala Ile Phe Ala Ala Cys Lys Ala
 305 310 315 320
 Gly Ala Lys Ile Gly Leu Glu Leu Val Ile Glu Asp His Glu Leu Thr
 325 330 335
 Ala Met Ala Leu Cys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Cys Phe Val Pro
 340 345 350
 Gln Gly Phe Met Arg Ala Glu Tyr Leu Val Glu Lys Ala Arg Asp Leu
 355 360 365
 Cys Arg Ser Cys Glu Arg Val Ser Val Leu Lys Leu Lys Pro Leu Leu
 370 375 380
 Pro Phe Leu Lys Ala Glu Ser Asp Ser Pro Leu Phe Asp Ala Ser Val
 385 390 395 400
 Ala Gly Tyr Leu Leu Asn Pro Leu Lys Asp Thr Tyr Asp Tyr Asp Asp
 405 410 415
 Leu Ala Arg Asp Tyr Leu Gly Met Thr Val Pro Ser Arg Ala Asp Leu
 420 425 430
 Leu Gly Lys Gln Thr Ile Lys Lys Ala Leu Glu Ser Asp Glu Lys Lys

435 440 445

Ala Phe Thr Cys Ile Cys Tyr Met Gly Tyr Ile Ala Phe Met Ser Ala

450 455 460

Asp Arg Leu Thr Glu Glu Leu Lys Lys Ala Glu Met Tyr Ser Leu Phe

465 470 475 480

Thr Asp Ile Glu Met Pro Leu Ile Tyr Ser Leu Phe His Met Glu Gln

485 490 495

Val Gly Ile Lys Ala Glu Arg Glu Arg Leu Lys Glu Tyr Gly Asp Arg

500 505 510

Leu Lys Val Gln Ile Val Ala Leu Glu Gln Lys Ile Tyr Glu Glu Thr

515 520 525

Gly Glu Thr Phe Asn Ile Asn Ser Pro Lys Gln Leu Gly Glu Val Leu

530 535 540

Phe Asp His Met Lys Leu Pro Asn Gly Lys Lys Thr Lys Ser Gly Tyr

545 550 555 560

Ser Thr Ala Ala Asp Val Leu Asp Lys Leu Ala Pro Asp Tyr Pro Val

565 570 575

Val Gln Met Ile Leu Asp Tyr Arg Gln Leu Thr Lys Leu Asn Ser Thr

580 585 590

Tyr Ala Glu Gly Leu Ala Val Tyr Ile Gly Pro Asp Glu Arg Ile His

595 600 605

Gly Thr Phe Asn Gln Thr Ile Thr Ala Thr Gly Arg Ile Ser Ser Thr

610 615 620

Glu Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Met Glu Leu Gly Arg Glu

625 630 635 640

Ile Arg Lys Ile Phe Val Pro Glu Asp Gly Cys Val Phe Ile Asp Ala

645 650 655

Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Met Ser Gly Asp

660 665 670

Glu Arg Leu Ile Gly Ala Tyr Arg His Ala Asp Asp Ile His Ala Ile

675 680 685

Thr Ala Ser Glu Val Phe His Thr Pro Leu Asn Glu Val Thr Pro Leu

690 695 700

Gln Arg Arg Asn Ala Lys Ala Val Asn Phe Gly Ile Val Tyr Gly Ile

705 710 715 720

Ser Ser Phe Gly Leu Ser Glu Gly Leu Ser Ile Ser Arg Lys Glu Ala

725 730 735

Thr Glu Tyr Ile Asn Lys Tyr Phe Glu Thr Tyr Pro Gly Val Lys Glu

740 745 750

Phe Leu Asp Arg Leu Val Ala Asp Ala Lys Glu Thr Gly Tyr Ala Val

755 760 765

Ser Met Phe Gly Arg Arg Pro Val Pro Glu Leu Lys Ser Thr Asn

770 775 780

Phe Met Gln Arg Ser Phe Gly Glu Arg Val Ala Met Asn Ser Pro Ile

785 790 795 800

Gln Gly Thr Ala Ala Asp Ile Met Lys Ile Ala Met Ile Arg Val Asp

805 810 815

Arg Ala Leu Lys Ala Lys Gly Leu Lys Ser Arg Ile Val Leu Gln Val

820 825 830

His Asp Glu Leu Leu Ile Glu Thr Gln Lys Asp Glu Val Glu Ala Val

835 840 845

Lys Ala Leu Leu Val Asp Glu Met Lys His Ala Ala Asp Leu Ser Val

850 855 860

Ser Leu Glu Val Glu Ala Asn Val Gly Asp Ser Trp Phe Asp Ala Lys

865 870 875 880

<210> 89

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 89

Met His Thr Asp Gln Phe Phe Lys Glu Pro Lys Arg Gly Gly Arg Glu

1 5 10 15

Ser Met Leu Asp Asn Thr Gln Arg Ile Val Ser Ile Ala Asp Ala Asn
 20 25 30
 Ala Ser Ser Ser Ala Met Asp Thr Glu Asn Ala Asp Thr Leu Asp Asp
 35 40 45

Tyr Glu Val Ile Thr Lys Leu Gln Lys Lys Thr Val Ile Val Pro
 50 55 60
 Arg Val Gln Ser Met Gln Asp Tyr Ile Leu Lys His His Lys Arg Met
 65 70 75 80
 Ile Leu Ala Glu Ile Asn Arg Gln Leu Asp Gly Gly Thr Leu Gln Glu
 85 90 95
 Ile Ala Gln Asp Ala Gln His Pro Val Thr Leu His Val Gly Asp Cys
 100 105 110

Arg Phe Gly Asp Met Ile Phe Trp Arg Tyr Asp Ala Arg Val Leu Leu
 115 120 125
 Thr Asp Val Ile Ile Ser Ala Tyr Ile His Thr Gly Glu Ala Thr Gln
 130 135 140
 Thr Tyr Asp Leu Tyr Cys Glu Leu Trp Val Asp Met Ser Lys Gly Met
 145 150 155 160
 Thr Phe Thr Cys Gly Glu Cys Gly Phe Leu Glu Asp Lys Pro Cys Arg
 165 170 175

Asn Leu Trp Met Leu Ser Ser Tyr Leu Val Pro Ile Leu Arg Lys Asp
 180 185 190
 Glu Val Glu Gln Gly Ala Glu Glu Leu Leu Leu Arg Tyr Cys Pro Lys
 195 200 205
 Ala Leu Glu Asp Leu Arg Glu His Asp Ala Tyr Arg Leu Ala Asp Arg
 210 215 220
 Met Ala Cys Gly Trp Asn Val Ile Arg Phe Thr Glu Arg Lys Ala Pro
 225 230 235 240

Ser Ala Cys Phe Ser Ser Val Arg Val Lys

245 250

<210> 90

<211> 578

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 90

Met Phe Arg Ile Asp Ser Asp Thr Gln Thr Tyr Pro Asn Ala Phe Thr

1 5 10 15

Ser Asp Asn Met Glu Glu Asp Glu Asn Pro Arg Leu Asp Arg Thr Gln

20 25 30

Glu Lys Thr Val Val Val Pro Arg Ile Gln Ser Met Lys Asn Tyr Ile

35 40 45

Leu Lys His His Lys Arg Met Ile Leu Ser Glu Leu Asn Arg Gln Ile

50 55 60

Asp Gly Gly Thr Leu Gln Glu Ile Gln Ala Thr Ala Lys Gly Cys Val

65 70 75 80

Thr Leu Asn Ala Gln Asn Cys Thr Phe Pro Asp Met Asn Phe Trp Arg

85 90 95

Tyr Asp Thr Tyr Thr Leu Leu Ala Glu Val Leu Val Cys Val Asn Ile

100 105 110

Glu Ile Asp Gly Ile Leu Gln Thr Tyr Asp Leu Tyr Cys Glu Leu Ile

115 120 125

Val Asp Met Arg Lys Ser Met Lys Phe Gly Tyr Gly Glu Cys Gly Phe

130 135 140

Leu Lys Asp Lys Pro Glu Arg Asp Leu Trp Leu Leu Ser Ser Tyr Leu

145 150 155 160

Val Pro Ile Leu Arg Lys Asp Glu Val Glu Gln Gly Ala Glu Glu Leu

165 170 175

Leu Leu Arg Tyr Cys Pro Asn Ala Leu Thr Asp Arg Lys Glu His Asn

180 185 190

Ala Tyr Val Leu Ala Glu Asn Met Gly Leu His Val Glu Arg Tyr Pro

195 200 205

Leu Tyr Arg Gln Ser Ala Thr Leu Ser Val Leu Phe Phe Cys Asp Gly

| | | |
|---|-----|-----|
| 210 | 215 | 220 |
| Tyr Val Val Ala Glu Glu Gln Asp Glu Glu Gly Arg Gly Leu Asp Thr | | |
| | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Pro Tyr Thr Val Lys Val Ser Ala Gly Thr Ile Ile Ile Asn Thr Asn | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Ala Val His Lys Asp Cys Cys Gln Leu Glu Ile Tyr His Glu Cys Ile | | |
| 260 | 265 | 270 |
| His Tyr Asp Trp His Tyr Met Phe Phe Lys Leu Gln Asp Met His Asn | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Ser Asp Ile Arg Asn Leu Lys Thr Lys Arg Ile Val Leu Ile Arg Asp | | |
| | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Lys Ser Val Thr Asn Pro Thr Gln Trp Met Glu Trp Gln Ala Arg Arg | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Gly Ser Phe Gly Leu Met Met Pro Leu Cys Met Met Glu Pro Leu Val | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Asp Thr Met Arg Met Glu Arg Val Asn Asn Gly Gln His Pro Gly Lys | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Glu Phe Asp Ser Ile Ala Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Lys Leu Pro | | |
| | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Lys Phe Arg Val Lys Ala Arg Leu Leu Gln Met Gly Tyr Ile Ala Ala | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Lys Gly Ala Leu Asn Tyr Val Asp Gly Arg Tyr Ile Glu Pro Phe Ala | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Phe Ser Ala Glu Asn Gly Ser Gly Asn Asn Ser Phe Val Ile Asp Arg | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Lys Ser Ala Phe Ala Ile Tyr Gln Glu Asn Glu Ala Phe Arg Lys Gln | | |
| | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Ile Gln Ser Gly Arg Tyr Val Tyr Ala Asp Gly His Ile Cys Met Asn | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Asp Ser Lys Tyr Val Cys Glu Thr Asn Asn Gly Leu Met Leu Thr Ser | | |
| 450 | 455 | 460 |

Trp Ala Asn Ala His Ile Asp Thr Cys Cys Leu Arg Phe Thr Ser Asn
 465 470 475 480
 Tyr Glu Pro Cys Gly Ile Ser Asp Tyr Cys Phe Gly Val Met Asn Ser
 485 490 495
 Asp Glu Glu Tyr Asn Arg His Tyr Met Ala Phe Ala Asn Ala Lys Lys
 500 505 510
 Glu Leu Thr Glu Lys Glu Lys Leu Ala Ala Met Thr Arg Ile Leu Tyr
 515 520 525
 Ser Leu Pro Ala Ser Phe Pro Glu Ala Leu Ser Tyr Leu Met Lys Gln
 530 535 540
 Ala His Ile Thr Ile Glu Lys Leu Glu Glu Lys Ala Cys Ile Ser Ser
 545 550 555 560
 Arg Thr Ile Ser Arg Leu Arg Thr Glu Glu Arg Arg Asp Tyr Ser Leu
 565 570 575
 Asp Gln

<210> 91
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Bacterial protein
 <400> 91
 Arg Asp Ala Leu Gly Lys Lys Leu Gly Ile Leu Phe Ala Ser Leu
 1 5 10 15
 Leu Thr Phe Cys Tyr Met Leu Ala Phe Asn Met Leu Gln Ala Asn Asn
 20 25 30

Met Ser Thr Ala Phe Glu Tyr Phe Ile Pro Asn Tyr Arg Ser Gly Ile
 35 40 45
 Trp Pro Trp Val Ile Gly Ile Val Phe Ser Gly Leu Val Ala Cys Val
 50 55 60
 Val Phe Gly Gly Ile Tyr Arg Ile Ser Phe Val Ser Ser Tyr Leu Val
 65 70 75 80

Pro Thr Met Ala Ser Val Tyr Leu Leu Val Gly Leu Tyr Ile Ile Ile

85 90 95

Thr Asn Ile Thr Glu Met Pro Arg Ile Leu Gly Ile Ile Phe Lys Asp

100 105 110

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

115 120 125

Leu Leu Gly Ile Lys Arg Gly Leu Leu Ser Asn Glu Ala Gly Met Gly

130 135 140

Ser Ala Pro Asn Ser Ala Ala Thr Ala Asp Thr Ser His Pro Ala Lys

145 150 155 160

Gln Gly Val Met Gln Ile Leu Ser Val Gly Ile Asp Thr Ile Leu Ile

165 170 175

Cys Ser Thr Ser Ala Phe Ile Ile Leu Leu Ser Lys Thr Pro Met Asp

180 185 190

Pro Lys Met Glu Gly Ile Pro Leu Met Gln Ala Ala Ile Ser Ser Gln

195 200 205

Val Gly Val Trp Gly Arg Tyr Phe Val Thr Val Ser Ile Ile Cys Phe

210 215 220

Ala Phe Ser Ala Val Ile Gly Asn Phe Gly Ile Ser Glu Pro Asn Val

225 230 235 240

Leu Phe Ile Lys Asp Ser Lys Lys Val Leu Asn Thr Leu Lys

245 250

<210> 92

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 92

Met Lys Val Tyr Lys Thr Asn Glu Ile Lys Asn Ile Ser Leu Leu Gly

1 5 10 15

Ser Lys Gly Ser Gly Lys Thr Thr Leu Ala Glu Ser Met Leu Tyr Glu

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

Gly Asn Val Val Pro Phe Val Asn Glu Val Lys Ala Pro Val Asn Thr
 275 280 285
 Glu Gly Val Glu Ile Lys Pro Asp Ala Asn Gly Pro Leu Ser Val Phe
 290 295 300
 Phe Phe Lys Thr Thr Val Glu Pro His Ile Gly Glu Val Ser Tyr Phe
 305 310 315 320
 Lys Val Met Ser Gly Thr Leu Lys Ala Gly Met Asp Leu Asn Asn Val
 325 330 335

Asp Arg Gly Ser Lys Glu Arg Leu Ala Gln Ile Ser Val Val Cys Gly
 340 345 350
 Gln Ile Lys Thr Pro Val Glu Ala Leu Glu Ala Gly Asp Ile Gly Ala
 355 360 365
 Ala Val Lys Leu Lys Asp Val Arg Thr Gly Asn Thr Leu Asn Asp Lys
 370 375 380
 Gly Val Glu Tyr Arg Phe Asp Phe Ile Lys Tyr Pro Ala Pro Lys Tyr
 385 390 395 400

Gln Arg Ala Ile Arg Pro Val Asn Glu Ser Glu Ile Glu Lys Leu Gly
 405 410 415
 Ala Ile Leu Asn Arg Met His Glu Glu Asp Pro Thr Trp Lys Ile Glu
 420 425 430
 Gln Ser Lys Glu Leu Lys Gln Thr Ile Val Ser Gly Gln Gly Glu Phe
 435 440 445
 His Leu Arg Thr Leu Lys Trp Arg Ile Glu Asn Asn Glu Lys Val Gln
 450 455 460

Ile Glu Tyr Leu Glu Pro Lys Ile Pro Tyr Arg Glu Thr Ile Thr Lys
 465 470 475 480
 Val Ala Arg Ala Asp Tyr Arg His Lys Lys Gln Ser Gly Gly Ser Gly
 485 490 495
 Gln Phe Gly Glu Val His Leu Ile Val Glu Ala Tyr Lys Glu Gly Met
 500 505 510
 Glu Glu Pro Gly Thr Tyr Lys Phe Gly Asn Gln Glu Phe Lys Met Ser

| | | |
|-----|-----|-----|
| 515 | 520 | 525 |
|-----|-----|-----|

| | | |
|---|-----|-----|
| Val Lys Asp Lys Gln Glu Ile Ala Leu Glu Trp Gly Gly Lys Ile Val | | |
| 530 | 535 | 540 |
| Ile Tyr Asn Cys Ile Val Gly Gly Ala Ile Asp Ala Arg Phe Ile Pro | | |
| 545 | 550 | 555 |
| Ala Ile Val Lys Gly Ile Met Asp Arg Met Glu Gln Gly Pro Val Thr | | |
| 565 | 570 | 575 |
| Gly Ser Tyr Ala Arg Asp Val Arg Val Cys Ile Tyr Asp Gly Lys Met | | |
| 580 | 585 | 590 |

| | | |
|---|-----|-----|
| His Pro Val Asp Ser Asn Glu Ile Ser Phe Arg Leu Ala Ala Arg His | | |
| 595 | 600 | 605 |
| Ala Phe Ser Glu Ala Phe Asn Ala Ala Ser Pro Lys Val Leu Glu Pro | | |
| 610 | 615 | 620 |
| Val Tyr Asp Ala Glu Val Leu Met Pro Ala Asp Cys Met Gly Asp Val | | |
| 625 | 630 | 635 |
| Met Ser Asp Leu Gln Gly Arg Arg Ala Ile Ile Met Gly Met Glu Glu | | |
| 645 | 650 | 655 |

| | | |
|---|-----|-----|
| Ala Asn Gly Leu Gln Lys Ile Asn Ala Lys Val Pro Leu Lys Glu Met | | |
| 660 | 665 | 670 |
| Ala Ser Tyr Ser Thr Ala Leu Ser Ser Ile Thr Gly Gly Arg Ala Ser | | |
| 675 | 680 | 685 |
| Phe Thr Met Lys Phe Ala Ser Tyr Glu Leu Val Pro Thr Asp Ile Gln | | |
| 690 | 695 | 700 |
| Glu Lys Leu His Lys Glu Tyr Leu Glu Ala Ser Lys Asp Asp Glu | | |
| 705 | 710 | 715 |

<210> 93
<211> 358
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Bacterial protein
<400> 93

Met Lys Val Tyr Glu Thr Lys Glu Ile Lys Asn Ile Ala Leu Leu Gly

1 5 10 15

Ser Lys Gly Ser Gly Lys Thr Thr Leu Ala Glu Ala Met Leu Leu Glu

20 25 30

Cys Gly Val Ile Lys Arg Arg Gly Ser Val Glu Asn Lys Asn Thr Val

35 40 45

Ser Asp Tyr Phe Pro Val Glu Lys Glu Tyr Gly Tyr Ser Val Phe Ser

50 55 60

Thr Val Phe Tyr Ala Glu Phe Leu Asn Lys Lys Leu Asn Val Ile Asp

65 70 75 80

Cys Pro Gly Ser Asp Asp Phe Val Gly Ser Ala Ile Thr Ala Leu Asn

85 90 95

Val Thr Asp Thr Gly Val Ile Leu Ile Asp Gly Gln Tyr Gly Val Glu

100 105 110

Val Gly Thr Gln Asn Ile Phe Arg Ala Thr Glu Lys Leu Gln Lys Pro

115 120 125

Val Ile Phe Ala Met Asn Gln Ile Asp Gly Glu Lys Ala Asp Tyr Asp

130 135 140

Asn Val Leu Gln Gln Met Arg Glu Ile Phe Gly Asn Lys Ile Val Pro

145 150 155 160

Ile Gln Phe Pro Ile Ser Cys Gly Pro Gly Phe Asn Ser Met Ile Asp

165 170 175

Val Leu Leu Met Lys Met Tyr Ser Trp Gly Pro Asp Gly Gly Thr Pro

180 185 190

Thr Ile Ser Asp Ile Pro Asp Glu Tyr Met Asp Lys Ala Lys Glu Met

195 200 205

His Gln Gly Leu Val Glu Ala Ala Ala Glu Asn Asp Glu Ser Leu Met

210 215 220

Glu Lys Phe Phe Asp Gln Gly Thr Leu Ser Glu Asp Glu Met Arg Ser

225 230 235 240

Gly Ile Arg Lys Gly Leu Ile Gly Arg Gln Ile Phe Pro Val Phe Cys

| | | |
|---|-----|-----|
| 245 | 250 | 255 |
| Val Ser Ala Leu Lys Asp Met Gly Val Arg Arg Met Met Glu Phe Leu | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Gly Asn Val Val Pro Phe Val Glu Asp Met Pro Ala Pro Glu Asp Thr | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Asn Gly Asp Glu Val Lys Pro Asp Ser Lys Gly Pro Leu Ser Leu Phe | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Val Phe Lys Thr Thr Val Glu Pro His Ile Gly Glu Val Ser Tyr Phe | | |

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| 305 | 310 | 315 | 320 |
| Lys Val Met Ser Gly Thr Leu Asn Val Gly Glu Asp Leu Thr Asn Met | | | |
| 325 | 330 | 335 | |
| Asn Arg Gly Gly Lys Glu Arg Ile Ala Gln Ile Tyr Cys Val Cys Gly | | | |
| 340 | 345 | 350 | |
| Gln Ile Lys Thr Asn Val | | | |

355

<210> 94

<211> 616

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 94

Met Lys Met Lys Lys Trp Ser Arg Val Leu Ala Val Leu Leu Ala Leu

| | | | |
|---|----|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Val Thr Ala Val Leu Leu Ser Ala Cys Gly Gly Lys Arg Ala Glu | | | |
| 20 | 25 | 30 | |

| | | |
|---|----|----|
| Lys Glu Asp Ala Glu Thr Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Lys Leu | | |
| 35 | 40 | 45 |

| | | |
|---|----|----|
| Tyr Asp Lys Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn | | |
| 50 | 55 | 60 |

Val Glu Phe Val Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Lys Phe Leu

| | | | |
|---|----|----|----|
| 65 | 70 | 75 | 80 |
| Lys Glu Asn Gly Gly Leu Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| 85 | 90 | 95 |
| Leu His Asp Ala Ser Pro Leu Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Thr Asn Val Ala Gly Ala Val Tyr Asp Thr Tyr Leu Asn Asn Phe Met | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Asn Glu Asp Gly Ser Val Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Ala His | | |
| | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Gly Phe Val Val Asn Lys Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile Pro Leu | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Pro Thr Asp Tyr Lys Ser Phe Val Ser Ala Cys Gln Ala Phe Asp Lys | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Val Gly Ile Arg Gly Phe Thr Ala Asp Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Thr Cys | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Met Glu Thr Leu Gln Gly Leu Ser Ala Ser Glu Leu Ser Ser Val Asp | | |
| | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Gly Arg Lys Trp Arg Thr Thr Tyr Ser Asp Pro Asp Asn Thr Lys Arg | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Glu Gly Leu Asp Asn Thr Val Trp Pro Lys Ala Phe Glu Arg Met Glu | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Gln Phe Ile Gln Asp Thr Gly Leu Ser Gln Asp Asp Leu Asp Met Asn | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Tyr Asp Asp Ile Val Glu Met Tyr Gln Ser Gly Leu Ala Met Tyr | | |
| | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Phe Gly Ser Ser Ser Gly Val Lys Met Phe Gln Asp Gln Gly Ile Asn | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Thr Thr Phe Leu Pro Phe Phe Gln Glu Asn Gly Glu Lys Trp Leu Met | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Thr Thr Pro Tyr Phe Gln Val Ala Leu Asn Arg Asp Leu Thr Gln Asp | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Glu Thr Arg Leu Lys Lys Ala Asn Lys Val Leu Asn Ile Met Leu Ser | | |
| | | |
| 325 | 330 | 335 |

Glu Asp Ala Gln Thr Gln Ile Leu Tyr Glu Gly Gln Asp Leu Leu Ser
 340 345 350
 Tyr Ser Gln Asp Val Asp Met Gln Leu Thr Glu Tyr Leu Lys Asp Val
 355 360 365
 Lys Pro Val Ile Glu Glu Asn His Met Tyr Ile Arg Ile Ala Ser Asn
 370 375 380
 Asp Phe Phe Ser Val Ser Lys Asp Val Val Ser Lys Met Ile Ser Gly

 385 390 395 400
 Glu Tyr Asp Ala Glu Gln Ala Tyr Glu Ser Phe Asn Thr Gln Leu Leu
 405 410 415
 Glu Glu Glu Ser His Ser Glu Ser Val Val Leu Asp Ser Gln Lys Ser
 420 425 430
 Tyr Ser Asn Arg Phe His Ser Ser Gly Gly Asn Ala Ala Tyr Ser Val
 435 440 445
 Met Ala Asn Thr Leu Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Asp Val Leu Ile Ala

 450 455 460
 Thr Gly Asn Ser Phe Thr Gly Asn Val Leu Lys Ala Gly Tyr Thr Glu
 465 470 475 480
 Lys Met Ala Gly Asp Met Ile Met Pro Asn Asp Leu Ala Ala Tyr Ser
 485 490 495
 Ser Thr Met Asn Gly Ala Glu Leu Lys Glu Thr Val Lys Asn Phe Val
 500 505 510
 Glu Gly Tyr Glu Gly Phe Ile Pro Phe Asn Arg Gly Ser Leu Pro

 515 520 525
 Val Phe Ser Gly Ile Ser Val Glu Val Lys Glu Thr Glu Asp Gly Tyr
 530 535 540
 Thr Leu Ser Lys Val Thr Lys Asp Gly Lys Lys Val Gln Asp Asn Asp
 545 550 555 560
 Thr Phe Thr Val Thr Cys Leu Ala Ile Pro Lys His Met Glu Thr Tyr
 565 570 575
 Leu Ala Asp Glu Asn Ile Val Phe Asp Gly Gly Asp Thr Ser Val Lys

| | | |
|---|-----|-----|
| 580 | 585 | 590 |
| Asp Thr Trp Thr Gly Tyr Thr Ser Asp Gly Glu Ala Ile Leu Val Glu | | |
| 595 | 600 | 605 |
| Pro Glu Asp Tyr Ile Asn Val Arg | | |
| 610 | 615 | |
| <210> 95 | | |
| <211> 616 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> Bacterial protein | | |
| <400> 95 | | |
| Met Glu Lys Lys Trp Asn Arg Val Leu Ser Val Leu Phe Val Met | | |
| 1 | 5 | 10 |
| 15 | | |
| Val Thr Ala Leu Ser Leu Leu Ser Gly Cys Gly Gly Lys Arg Ala Glu | | |
| 20 | 25 | 30 |
| Lys Glu Asp Lys Glu Thr Ile Thr Val Tyr Leu Trp Thr Thr Asn Leu | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Tyr Glu Lys Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Lys Gln Leu Ala Asp Ile Asn | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Ile Glu Phe Val Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Lys Phe Leu | | |
| 65 | 70 | 75 |
| 80 | | |
| Lys Glu Asn Gly Gly Leu Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Leu His Asp Ala Ser Pro Leu Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Thr Asn Val Ala Gly Ala Val Tyr Asp Thr Tyr Leu Asn Ser Phe Gln | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Asn Glu Asp Gly Ser Val Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Ala His | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Gly Phe Leu Val Asn Lys Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile Pro Leu | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Pro Thr Asp Tyr Glu Ser Phe Val Ser Ala Cys Glu Ala Phe Asp Lys | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| 165 | 170 | 175 |
| Val Gly Ile Arg Gly Phe Thr Ser Asp Tyr Phe Tyr Asp Tyr Thr Cys | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Met Glu Thr Leu Gln Gly Leu Ser Ala Ser Glu Leu Ser Ser Pro Asp | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Gly Arg Lys Trp Arg Thr Gly Tyr Ser Asp Pro Asp Asn Thr Lys Ile | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Glu Gly Leu Asp Arg Thr Val Trp Pro Glu Ala Phe Glu Arg Met Glu | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Gln Phe Ile Arg Asp Thr Gly Leu Ser Arg Asp Asp Leu Asp Met Asp | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Tyr Asp Ala Val Arg Asp Met Phe Lys Ser Gly Lys Leu Ala Met Tyr | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Phe Gly Ser Ser Ala Asp Val Lys Met Met Gln Glu Gln Gly Ile Asn | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Thr Thr Phe Leu Pro Phe Phe Gln Glu Asn Gly Glu Lys Trp Ile Met | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Thr Thr Pro Tyr Phe Gln Val Ala Leu Asn Arg Asp Leu Ser Lys Asp | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Asp Thr Arg Arg Lys Lys Ala Met Lys Ile Leu Ser Thr Met Leu Ser | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Glu Asp Ala Gln Lys Arg Ile Ile Ser Asp Gly Gln Asp Leu Leu Ser | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Tyr Ser Gln Asp Val Asp Phe Lys Leu Thr Lys Tyr Leu Asn Asp Val | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Lys Pro Met Ile Gln Glu Asn His Met Tyr Ile Arg Ile Ala Ser Asn | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Asp Phe Phe Ser Val Ser Lys Asp Val Val Ser Lys Met Ile Ser Gly | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Glu Tyr Asp Ala Gly Gln Ala Tyr Gln Val Phe His Ser Gln Leu Leu | | |
| 405 | 410 | 415 |

Glu Glu Glu Ser Ala Ser Glu Asn Ile Val Leu Asp Ser Gln Lys Ser
 420 425 430
 Tyr Ser Asn Arg Phe His Ser Ser Gly Gly Asn Glu Ala Tyr Ser Val
 435 440 445
 Met Val Asn Thr Leu Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Asp Val Leu Ile Ala
 450 455 460

Thr Gly Asn Ser Phe Thr Gly Asn Val Leu Lys Ala Gly Tyr Thr Glu
 465 470 475 480
 Lys Met Ala Gly Asp Met Ile Met Pro Asn Gly Leu Ser Ala Tyr Ser
 485 490 495
 Ser Lys Met Ser Gly Thr Glu Leu Lys Glu Thr Leu Arg Asn Phe Val
 500 505 510
 Glu Gly Tyr Glu Gly Phe Ile Pro Phe Asn Arg Gly Ser Leu Pro
 515 520 525

Val Val Ser Gly Ile Ser Val Glu Ile Arg Glu Thr Asp Glu Gly Tyr
 530 535 540
 Thr Leu Gly Lys Val Thr Lys Asp Gly Lys Gln Val Gln Asp Asn Asp
 545 550 555 560
 Ile Val Thr Val Thr Cys Leu Ala Leu Pro Lys His Met Glu Ala Tyr
 565 570 575
 Pro Ala Asp Asp Asn Ile Val Phe Gly Gly Glu Asp Thr Ser Val Lys
 580 585 590

Asp Thr Trp Leu Glu Tyr Ile Ser Glu Gly Asp Ala Ile Leu Ala Glu
 595 600 605
 Pro Glu Asp Tyr Met Thr Leu Arg

610 615

<210> 96

<211> 616

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 96

Met Lys Lys Lys Trp Asn Lys Ile Leu Ala Val Leu Leu Ala Met

1 5 10 15

Val Thr Ala Val Ser Leu Leu Ser Gly Cys Gly Lys Ser Ala Glu

20 25 30

Lys Glu Asp Ala Glu Thr Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Asn Leu

35 40 45

Tyr Glu Lys Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn

50 55 60

Val Glu Phe Val Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Lys Phe Leu

65 70 75 80

Glu Glu Asn Gly Gly Leu Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser

85 90 95

Leu His Asp Ala Ser Pro Met Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr

100 105 110

Thr Asn Val Ala Gly Ala Val Tyr Asp Thr Tyr Leu Arg Asn Phe Met

115 120 125

Asn Glu Asp Gly Ser Val Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Ala His

130 135 140

Gly Phe Val Val Asn Lys Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile Pro Leu

145 150 155 160

Pro Thr Asp Tyr Glu Ser Phe Val Ser Ala Cys Gln Val Phe Glu Glu

165 170 175

Met Gly Ile Arg Gly Phe Ala Ala Asp Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Thr Cys

180 185 190

Met Glu Thr Leu Gln Gly Leu Ser Ala Ser Glu Leu Ser Ser Ala Asp

195 200 205

Gly Arg Arg Trp Arg Thr Thr Tyr Ser Asp Pro Asp Ser Thr Lys Arg

210 215 220

Glu Gly Leu Asp Ser Thr Val Trp Pro Glu Ala Phe Glu Arg Met Glu

225 230 235 240

Gln Phe Ile Gln Asp Thr Gly Leu Ser Gln Asp Asp Leu Asp Met Asn

| | | |
|---|-----|-----|
| 245 | 250 | 255 |
| Tyr Asp Asp Ile Val Glu Met Tyr Gln Ser Gly Lys Leu Ala Met Tyr | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Phe Gly Ser Ser Phe Gly Val Lys Met Phe Gln Asp Gln Gly Ile Asn | | |
| 275 | 280 | 285 |
| | | |
| Thr Thr Phe Leu Pro Phe Phe Gln Glu Asn Gly Glu Lys Trp Leu Met | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Thr Thr Pro Tyr Phe Gln Val Ala Leu Asn Arg Asp Leu Thr Lys Asp | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Glu Thr Arg Arg Lys Lys Ala Met Glu Val Leu Ser Thr Met Leu Ser | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Glu Asp Ala Gln Asn Arg Ile Ile Ser Glu Gly Gln Asp Met Leu Ser | | |
| 340 | 345 | 350 |
| | | |
| Tyr Ser Gln Asp Val Asp Met Gln Leu Thr Glu Tyr Leu Lys Asp Val | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Lys Ser Val Ile Glu Glu Asn His Met Tyr Ile Arg Ile Ala Ser Asn | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Asp Phe Phe Ser Ile Ser Lys Asp Val Val Ser Lys Met Ile Ser Gly | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Glu Tyr Asp Ala Glu Gln Ala Tyr Gln Ser Phe Asn Ser Gln Leu Leu | | |
| 405 | 410 | 415 |
| | | |
| Glu Glu Lys Ala Thr Ser Glu Asn Val Val Leu Asn Ser Gln Lys Ser | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Tyr Ser Asn Arg Phe His Ser Ser Gly Gly Asn Ala Ala Tyr Ser Val | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Met Ala Asn Thr Leu Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Asp Val Leu Ile Ala | | |
| 450 | 455 | 460 |
| Thr Gly Asn Ser Phe Thr Gly Ser Val Leu Lys Ala Gly Tyr Thr Glu | | |
| 465 | 470 | 475 |
| Lys Met Ala Gly Asp Met Ile Met Pro Asn Val Leu Leu Ala Tyr Asn | | |
| 485 | 490 | 495 |

Ser Lys Met Ser Gly Ala Glu Leu Lys Glu Thr Val Arg Asn Phe Val
 500 505 510
 Glu Gly Tyr Gln Gly Gly Phe Ile Pro Phe Asn Arg Gly Ser Leu Pro
 515 520 525
 Val Val Ser Gly Ile Ser Val Glu Val Lys Glu Thr Ala Asp Gly Tyr
 530 535 540

Thr Leu Ser Lys Ile Ile Lys Asp Gly Lys Lys Ile Gln Asp Asn Asp
 545 550 555 560
 Thr Phe Thr Val Thr Cys Leu Met Met Pro Gln His Met Glu Ala Tyr
 565 570 575
 Pro Ala Asp Gly Asn Ile Thr Phe Asn Gly Gly Asp Thr Ser Val Lys
 580 585 590
 Asp Thr Trp Thr Glu Tyr Val Ser Glu Asp Asn Ala Ile Leu Ala Glu
 595 600 605

Ser Glu Asp Tyr Met Thr Leu Lys

610 615

<210> 97

<211> 616

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 97

Met Lys Arg Lys Lys Trp Asn Lys Val Phe Ser Ile Leu Leu Val Met

1 5 10 15

Val Thr Ala Val Ser Leu Leu Ser Gly Cys Gly Gly Lys Ser Ala Glu

20 25 30

Lys Glu Asp Ala Glu Ile Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Ser Leu

35 40 45

Tyr Glu Lys Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn

50 55 60

Val Glu Phe Val Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Arg Phe Leu

65 70 75 80

Glu Glu Asn Gly Gly Leu Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser

85 90 95

Leu His Asp Ala Ser Pro Leu Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr

100 105 110

Thr Asn Val Ala Gly Ala Val Tyr Asp Thr Tyr Phe Ser Asn Phe Met

115 120 125

Asn Glu Asp Gly Ser Val Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Ala His

130 135 140

Gly Phe Val Val Asn Lys Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile Pro Leu

145 150 155 160

Pro Thr Asp Tyr Glu Ser Phe Val Ser Ala Cys Gln Ala Phe Asp Lys

165 170 175

Val Gly Ile Arg Gly Phe Thr Ala Asp Tyr Tyr Asp Tyr Thr Cys

180 185 190

Met Glu Thr Leu Gln Gly Leu Ser Ala Ser Lys Leu Ser Ser Val Glu

195 200 205

Gly Arg Lys Trp Arg Thr Ile Tyr Ser Asp Pro Asp Asn Thr Lys Lys

210 215 220

Glu Gly Leu Asp Ser Thr Val Trp Pro Glu Ala Phe Glu Arg Met Glu

225 230 235 240

Gln Phe Ile Lys Asp Thr Gly Leu Ser Arg Asp Asp Leu Asp Met Asn

245 250 255

Tyr Asp Asp Ile Ala Lys Met Tyr Gln Ser Gly Arg Leu Ala Met Tyr

260 265 270

Phe Gly Ser Ser Phe Gly Val Lys Met Phe Gln Asp Gln Gly Ile Asn

275 280 285

Thr Thr Phe Leu Pro Phe Phe Gln Glu Asn Gly Glu Lys Trp Ile Met

290 295 300

Thr Thr Pro Tyr Phe Gln Ala Ala Leu Asn Arg Asp Leu Thr Lys Asp

305 310 315 320

Glu Thr Arg Arg Lys Lys Ala Ile Lys Val Leu Ser Thr Met Leu Ser

| | | |
|---|-----|-----|
| 325 | 330 | 335 |
| Glu Asp Ala Gln Lys Arg Ile Ile Ser Glu Gly Gln Asp Leu Leu Ser | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Tyr Ser Gln Asp Val Asp Ile His Leu Thr Glu Tyr Leu Lys Asp Val | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Lys Pro Val Ile Glu Glu Asn His Met Tyr Ile Arg Ile Ala Ser Asn | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Asp Phe Phe Ser Val Ser Lys Asp Val Val Ser Lys Met Ile Ser Gly | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Glu Tyr Asp Ala Arg Gln Ala Tyr Gln Ser Phe Asn Ser Gln Leu Leu | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Lys Glu Glu Ser Thr Leu Glu Ala Ile Val Leu Asp Ser Gln Lys Ser | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Tyr Ser Asn Arg Phe His Ser Ser Gly Gly Asn Ala Ala Tyr Ser Val | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Met Ala Asn Thr Leu Arg Ser Ile Tyr Gly Thr Asp Val Leu Ile Ala | | |
| 450 | 455 | 460 |
| Thr Ala Asn Ser Phe Thr Gly Asn Val Leu Lys Ala Gly Tyr Thr Glu | | |
| 465 | 470 | 475 |
| Lys Met Ala Gly Asn Met Ile Met Pro Asn Asp Leu Phe Ala Tyr Ser | | |
| 485 | 490 | 495 |
| Ser Lys Leu Ser Gly Ala Glu Leu Lys Glu Thr Val Lys Asn Phe Val | | |
| 500 | 505 | 510 |
| Glu Gly Tyr Glu Gly Gly Phe Ile Pro Phe Asn Arg Gly Ser Leu Pro | | |
| 515 | 520 | 525 |
| Val Val Ser Gly Ile Ser Val Glu Val Lys Glu Thr Glu Asp Gly Tyr | | |
| 530 | 535 | 540 |
| Thr Leu Ser Lys Val Thr Lys Glu Gly Lys Gln Ile Arg Asp Glu Asp | | |
| 545 | 550 | 555 |
| Ile Phe Thr Val Thr Cys Leu Ala Thr Leu Lys His Met Glu Ala Tyr | | |
| 565 | 570 | 575 |

Pro Thr Gly Asp Asn Ile Val Phe Asp Gly Glu Asn Thr Ser Val Lys

580 585 590

Asp Thr Trp Thr Gly Tyr Ile Ser Asn Gly Asp Ala Val Leu Ala Glu

595 600 605

Pro Glu Asp Tyr Ile Asn Val Arg

610 615

<210> 98

<211> 616

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 98

Met Lys Lys Lys Trp Ser Arg Val Leu Ala Val Leu Leu Ala Met

1 5 10 15

Val Thr Ala Ile Ser Leu Leu Ser Gly Cys Gly Gly Lys Ser Ala Glu

20 25 30

Lys Glu Asp Ala Gly Thr Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Lys Leu

35 40 45

Tyr Glu Lys Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn

50 55 60

Val Glu Phe Val Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Lys Phe Leu

65 70 75 80

Asp Glu Asn Gly Gly Leu Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser

85 90 95

Leu His Asp Ala Ser Pro Leu Lys Glu Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr

100 105 110

Thr Asn Val Ala Gly Ala Val Tyr Asp Thr Tyr Leu Ser Asn Phe Met

115 120 125

Asn Glu Asp Gly Ser Val Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Ala His

130 135 140

Gly Phe Val Val Asn Lys Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile Pro Leu

145 150 155 160

Pro Thr Asp Tyr Glu Ser Phe Val Ser Ala Cys Gln Ala Phe Asp Lys

165 170 175

Val Gly Ile Arg Gly Phe Thr Ala Asp Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Thr Cys

180 185 190

Met Glu Thr Leu Gln Gly Leu Ser Ala Ser Glu Leu Ser Ser Val Asp

195 200 205

Gly Arg Lys Trp Arg Thr Thr Tyr Ser Asp Pro Asp Asn Thr Lys Arg

210 215 220

Glu Gly Leu Asp Ser Thr Val Trp Pro Gly Ala Phe Glu Arg Met Glu

225 230 235 240

Gln Phe Ile Arg Asp Thr Gly Leu Ser Arg Asp Asp Leu Asp Leu Asn

245 250 255

Tyr Asp Asp Ile Val Glu Met Tyr Gln Ser Gly Lys Leu Ala Met Tyr

260 265 270

Phe Gly Ser Ser Ser Gly Val Lys Met Phe Gln Asp Gln Gly Ile Asn

275 280 285

Thr Thr Phe Leu Pro Phe Phe Gln Glu Asn Gly Glu Lys Trp Leu Met

290 295 300

Thr Ala Pro Tyr Phe Gln Val Ala Leu Asn Arg Asp Leu Thr Gln Asp

305 310 315 320

Glu Thr Arg Leu Lys Lys Ala Asn Lys Val Leu Asn Ile Met Leu Ser

325 330 335

Glu Asp Ala Gln Thr Gln Ile Leu Tyr Glu Gly Gln Asp Leu Leu Ser

340 345 350

Tyr Ser Gln Asp Val Asp Met Gln Leu Thr Glu Tyr Leu Lys Asp Val

355 360 365

Lys Pro Val Ile Glu Glu Asn His Met Tyr Ile Arg Ile Ala Ser Asn

370 375 380

Asp Phe Phe Ser Val Ser Lys Asp Val Val Ser Lys Met Ile Ser Gly

385 390 395 400

Glu Tyr Asp Ala Glu Gln Ala Tyr Ala Ser Phe Asn Thr Gln Leu Leu

| | | |
|---|-----|-----|
| 405 | 410 | 415 |
| Glu Glu Glu Ser Ala Ser Glu Ser Val Val Leu Asp Ser Gln Lys Ser | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Tyr Ser Asn Arg Phe His Ser Ser Gly Gly Asn Ala Ala Tyr Ser Val | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Met Ala Asn Thr Leu Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Asp Val Leu Ile Ala | | |
| 450 | 455 | 460 |
| Thr Gly Asn Ser Phe Thr Gly Asn Val Leu Lys Ala Gly Tyr Thr Glu | | |
| 465 | 470 | 475 |
| Lys Met Ala Gly Asp Met Ile Met Pro Asn Asp Leu Ser Ala Tyr Ser | | |
| 485 | 490 | 495 |
| Ser Lys Met Ser Gly Val Glu Leu Lys Lys Thr Val Lys Asn Phe Val | | |
| 500 | 505 | 510 |
| Glu Gly Tyr Glu Gly Phe Ile Pro Phe Asn Arg Gly Ser Leu Pro | | |
| 515 | 520 | 525 |
| Val Phe Ser Gly Ile Ser Leu Glu Val Glu Glu Thr Asp Asn Gly Tyr | | |
| 530 | 535 | 540 |
| Thr Leu Ser Lys Val Ile Lys Asp Gly Lys Glu Val Gln Asp Asn Asp | | |
| 545 | 550 | 555 |
| Thr Phe Thr Val Thr Cys Leu Ala Ile Pro Lys His Met Glu Ala Tyr | | |
| 565 | 570 | 575 |
| Pro Ala Asp Glu Asn Thr Val Phe Asp Arg Gly Asp Thr Thr Val Lys | | |
| 580 | 585 | 590 |
| Gly Thr Trp Thr Gly Tyr Thr Ser Asp Gly Glu Ala Ile Leu Ala Glu | | |
| 595 | 600 | 605 |
| Pro Glu Asp Tyr Ile Asn Val Arg | | |
| 610 | 615 | |
| <210> 99 | | |
| <211> 616 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> Bacterial protein | | |

<400> 99

Met Arg Lys Lys Trp Asn Arg Val Leu Ala Val Leu Leu Met Met

1 5 10 15

Val Met Ser Ile Ser Leu Leu Ser Gly Cys Gly Ser Lys Ser Ala Glu

20 25 30

Lys Glu Asp Ala Glu Thr Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Asn Leu

35 40 45

Tyr Glu Lys Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn

50 55 60

Val Glu Phe Ile Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Lys Phe Leu

65 70 75 80

Asn Glu Asn Gly Gly Leu Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser

85 90 95

Leu His Asp Ala Ser Pro Leu Lys Asp Asn Leu Met Asp Leu Ser Thr

100 105 110

Thr Asn Val Ala Gly Ala Val Tyr Asp Thr Tyr Leu Ser Asn Phe Met

115 120 125

Asn Glu Asp Gly Ser Val Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Ala His

130 135 140

Gly Phe Val Val Asn Lys Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile Pro Leu

145 150 155 160

Pro Thr Asp Tyr Glu Ser Phe Val Ser Ala Cys Gln Thr Phe Asp Lys

165 170 175

Val Gly Ile Arg Gly Phe Thr Ala Asp Tyr Tyr Asp Tyr Thr Cys

180 185 190

Met Glu Thr Leu Gln Gly Leu Ser Ala Ser Glu Leu Ser Ser Val Asp

195 200 205

Gly Arg Lys Trp Arg Thr Thr Tyr Ser Asp Pro Asp Asn Thr Lys Arg

210 215 220

Glu Gly Leu Asp Ser Thr Val Trp Pro Lys Ala Phe Glu Arg Met Glu

225 230 235 240

Gln Phe Ile Gln Asp Thr Gly Leu Ser Gln Asp Asp Leu Asp Met Asn
 245 250 255
 Tyr Asp Asp Ile Val Glu Met Tyr Gln Ser Gly Lys Leu Ala Met Tyr
 260 265 270

Phe Gly Thr Ser Ala Gly Val Lys Met Phe Gln Asp Gln Gly Ile Asn
 275 280 285
 Thr Thr Phe Leu Pro Phe Phe Gln Glu Asn Gly Glu Lys Trp Ile Met
 290 295 300
 Thr Thr Pro Tyr Phe Gln Val Ala Leu Asn Ser Asn Leu Thr Lys Asp
 305 310 315 320
 Glu Thr Arg Arg Lys Lys Ala Met Lys Val Leu Asp Thr Met Leu Ser
 325 330 335

Ala Asp Ala Gln Asn Arg Ile Val Tyr Asp Gly Gln Asp Leu Leu Ser
 340 345 350
 Tyr Ser Gln Asp Val Asp Leu Gln Leu Thr Glu Tyr Leu Lys Asp Val
 355 360 365
 Lys Pro Val Ile Glu Glu Asn His Met Tyr Ile Arg Ile Ala Ser Asn
 370 375 380
 Asp Phe Phe Ser Val Ser Lys Asp Val Val Ser Lys Met Ile Ser Gly
 385 390 395 400

Glu Tyr Asp Ala Gly Gln Ala Tyr Gln Ser Phe Asp Ser Gln Leu Leu
 405 410 415
 Glu Glu Lys Ser Thr Ser Glu Lys Val Val Leu Asp Ser Gln Lys Ser
 420 425 430
 Tyr Ser Asn Arg Phe His Ser Ser Gly Gly Asn Ala Ala Tyr Ser Val
 435 440 445
 Met Ala Asn Thr Leu Arg Gly Ile Tyr Gly Ser Asp Val Leu Ile Ala
 450 455 460

Thr Gly Asn Ser Phe Thr Gly Asn Val Leu Lys Ala Gly Tyr Thr Glu
 465 470 475 480
 Lys Met Ala Gly Asp Met Ile Met Pro Asn Glu Leu Ser Ala Tyr Ser

| | | |
|---|-----|-----|
| 485 | 490 | 495 |
| Ser Lys Met Ser Gly Ala Glu Leu Lys Glu Ala Val Lys Asn Phe Val | | |
| 500 | 505 | 510 |
| Glu Gly Tyr Glu Gly Phe Thr Pro Phe Asn Arg Gly Ser Leu Pro | | |
| 515 | 520 | 525 |
| Val Leu Ser Gly Ile Ser Val Glu Val Lys Glu Thr Asp Asp Asp Tyr | | |
| 530 | 535 | 540 |
| Thr Leu Ser Lys Val Thr Lys Asp Gly Lys Gln Ile Gln Asp Asn Asp | | |
| 545 | 550 | 555 |
| 560 | | |
| Thr Phe Thr Val Thr Cys Leu Ala Ile Pro Lys His Met Glu Ala Tyr | | |
| 565 | 570 | 575 |
| Pro Ala Asp Asp Asn Ile Val Phe Asp Gly Gly Asn Thr Ser Val Asp | | |
| 580 | 585 | 590 |
| Asp Thr Trp Thr Gly Tyr Ile Ser Asp Gly Asp Ala Val Leu Ala Glu | | |
| 595 | 600 | 605 |
| Pro Glu Asp Tyr Met Thr Leu Arg | | |
| 610 | 615 | |
| <210> 100 | | |
| <211> 618 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> Bacterial protein | | |
| <400> 100 | | |
| Phe Val Met Lys Lys Lys Trp Asn Arg Val Leu Ala Val Leu Leu | | |
| 1 | 5 | 10 |
| Met Met Val Met Ser Ile Ser Leu Leu Ser Gly Cys Gly Lys Ser | | |
| 20 | 25 | 30 |
| Thr Glu Lys Glu Asp Ala Glu Thr Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Asn Leu Tyr Glu Lys Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Ile Asn Val Glu Phe Val Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Lys | | |

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| 65 | 70 | 75 | 80 |
| Phe Leu Lys Lys Asn Gly Gly Leu Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg | | | |
| | | | |
| 85 | 90 | 95 | |
| Phe Ser Leu His Asp Ala Ser Pro Leu Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu | | | |
| 100 | 105 | 110 | |
| Ser Thr Thr Asn Val Ala Gly Ala Val Tyr Asp Thr Tyr Leu Ser Asn | | | |
| 115 | 120 | 125 | |
| Phe Met Asn Glu Asp Gly Ser Val Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp | | | |
| 130 | 135 | 140 | |
| Ala His Gly Phe Val Val Asn Lys Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile | | | |
| | | | |
| 145 | 150 | 155 | 160 |
| Pro Leu Pro Thr Asp Tyr Glu Ser Phe Val Ser Ala Cys Gln Ala Phe | | | |
| 165 | 170 | 175 | |
| Asp Lys Val Gly Ile Arg Gly Phe Thr Ala Asp Tyr Tyr Asp Tyr | | | |
| 180 | 185 | 190 | |
| Thr Cys Met Glu Thr Leu Gln Gly Leu Ser Ala Ser Glu Leu Ser Ser | | | |
| 195 | 200 | 205 | |
| Val Asp Gly Arg Lys Trp Arg Thr Ala Tyr Ser Asp Pro Asp Asn Thr | | | |
| | | | |
| 210 | 215 | 220 | |
| Lys Arg Glu Gly Leu Asp Ser Thr Val Trp Pro Lys Ala Phe Glu Arg | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| Met Glu Gln Phe Ile Gln Asp Thr Gly Leu Ser Gln Asp Asp Leu Asp | | | |
| 245 | 250 | 255 | |
| Met Asn Tyr Asp Asp Ile Val Glu Met Tyr Gln Ser Gly Lys Leu Ala | | | |
| 260 | 265 | 270 | |
| Met Tyr Phe Gly Thr Ser Ala Gly Val Lys Met Phe Gln Asp Gln Gly | | | |
| | | | |
| 275 | 280 | 285 | |
| Ile Asn Thr Thr Phe Leu Pro Phe Gln Glu Asn Gly Glu Lys Trp | | | |
| 290 | 295 | 300 | |
| Leu Met Thr Thr Pro Tyr Phe Gln Val Ala Leu Asn Arg Asp Leu Thr | | | |
| 305 | 310 | 315 | 320 |

Gln Asp Glu Thr Arg Arg Lys Lys Ala Met Lys Val Leu Ser Thr Met
 325 330 335
 Leu Ser Glu Asp Ala Gln Glu Arg Ile Ile Ser Asp Gly Gln Asp Leu
 340 345 350
 Leu Ser Tyr Ser Gln Asp Val Asp Met Gln Leu Thr Glu Tyr Leu Lys
 355 360 365
 Asp Val Lys Ser Val Ile Glu Glu Asn His Met Tyr Ile Arg Ile Ala
 370 375 380
 Ser Asn Asp Phe Phe Ser Val Ser Lys Asp Val Val Ser Lys Met Ile
 385 390 395 400
 Ser Gly Glu Tyr Asp Ala Glu Gln Ala Tyr Gln Ser Phe Asn Ser Gln
 405 410 415
 Leu Leu Glu Glu Ala Ile Ser Glu Asn Ile Val Leu Asp Ser Gln
 420 425 430
 Lys Ser Tyr Ser Asn Arg Phe His Ser Ser Gly Gly Asn Ala Ala Tyr
 435 440 445
 Ser Val Met Ala Asn Thr Leu Arg Gly Ile Tyr Gly Ser Asp Val Leu
 450 455 460
 Ile Ala Thr Gly Asn Ser Phe Thr Gly Asn Val Leu Lys Ala Gly Tyr
 465 470 475 480
 Thr Glu Lys Met Ala Gly Asp Met Ile Met Pro Asn Ser Leu Ser Ala
 485 490 495
 Tyr Ser Ser Lys Met Ser Gly Ala Glu Leu Lys Glu Thr Val Lys Asn
 500 505 510
 Phe Val Glu Gly Tyr Glu Gly Gly Phe Ile Pro Phe Asn Arg Gly Ser
 515 520 525
 Leu Pro Val Phe Ser Gly Ile Ser Val Glu Ile Lys Glu Thr Asp Asp
 530 535 540
 Gly Tyr Thr Leu Ser Asn Val Thr Met Asp Gly Lys Lys Val Gln Asp
 545 550 555 560
 Asn Asp Thr Phe Thr Val Thr Cys Leu Ala Ile Pro Lys His Met Glu

| | | |
|---|-----|-----|
| 565 | 570 | 575 |
| Ala Tyr Pro Thr Asp Glu Asn Ile Val Phe Asp Gly Gly Asp Ile Ser | | |
| 580 | 585 | 590 |
| Val Asp Asp Thr Trp Thr Ala Tyr Val Ser Asp Gly Asp Ala Ile Leu | | |
| | | |
| 595 | 600 | 605 |
| Ala Glu Pro Glu Asp Tyr Met Thr Leu Arg | | |
| 610 | 615 | |
| <210> 101 | | |
| <211> 626 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> Bacterial protein | | |
| <400> 101 | | |
| Met Lys Arg Lys Leu Arg Gly Gly Phe Ile Met Lys Lys Lys Trp | | |
| 1 | 5 | 10 |
| Asn Arg Val Leu Ala Val Leu Leu Ala Met Val Thr Ala Ile Thr Leu | | |
| 20 | 25 | 30 |
| | | |
| Leu Ser Gly Cys Gly Gly Lys Ser Ala Glu Lys Glu Asp Ala Glu Thr | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Asn Leu Tyr Glu Lys Tyr Ala Pro | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn Val Glu Phe Val Val Gly | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Arg Phe Leu Lys Glu Asn Gly Gly Leu | | |
| 85 | 90 | 95 |
| | | |
| Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser Leu His Asp Ala Ser Pro | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Leu Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Asn Val Ala Gly Ala | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Val Tyr Asp Thr Tyr Leu Ser Ser Phe Met Asn Glu Asp Gly Ser Val | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Ala His Gly Phe Val Val Asn Lys | | |

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 145 | 150 | 155 | 160 |
|-----|-----|-----|-----|

Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile Pro Leu Pro Thr Asp Tyr Glu Ser

| | | |
|-----|-----|-----|
| 165 | 170 | 175 |
|-----|-----|-----|

Phe Val Ser Ala Cys Glu Ala Phe Glu Glu Val Gly Ile Arg Gly Phe

| | | |
|-----|-----|-----|
| 180 | 185 | 190 |
|-----|-----|-----|

Thr Ala Asp Tyr Tyr Asp Tyr Thr Cys Met Glu Thr Leu Gln Gly

| | | |
|-----|-----|-----|
| 195 | 200 | 205 |
|-----|-----|-----|

Leu Ser Ala Ser Glu Leu Ser Ser Val Asp Gly Arg Lys Trp Arg Thr

| | | |
|-----|-----|-----|
| 210 | 215 | 220 |
|-----|-----|-----|

Ala Tyr Ser Asp Pro Asp Asn Thr Lys Arg Glu Gly Leu Asp Ser Thr

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 225 | 230 | 235 | 240 |
|-----|-----|-----|-----|

Val Trp Pro Lys Ala Phe Glu Arg Met Glu Gln Phe Ile Gln Asp Thr

| | | |
|-----|-----|-----|
| 245 | 250 | 255 |
|-----|-----|-----|

Gly Leu Ser Gln Asp Asp Leu Asp Met Asn Tyr Asp Asp Ile Val Glu

| | | |
|-----|-----|-----|
| 260 | 265 | 270 |
|-----|-----|-----|

Met Tyr Gln Ser Gly Lys Leu Ala Met Tyr Phe Gly Ser Ser Ala Gly

| | | |
|-----|-----|-----|
| 275 | 280 | 285 |
|-----|-----|-----|

Val Lys Met Phe Gln Asp Gln Gly Ile Asn Thr Thr Phe Leu Pro Phe

| | | |
|-----|-----|-----|
| 290 | 295 | 300 |
|-----|-----|-----|

Phe Gln Glu Asn Gly Glu Lys Trp Ile Met Thr Thr Pro Tyr Phe Gln

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 305 | 310 | 315 | 320 |
|-----|-----|-----|-----|

Val Ala Leu Asn Arg Asp Leu Thr Lys Asp Glu Thr Arg Arg Lys Lys

| | | |
|-----|-----|-----|
| 325 | 330 | 335 |
|-----|-----|-----|

Ala Met Lys Val Leu Asn Thr Met Leu Ser Ala Asp Ala Gln Asn Arg

| | | |
|-----|-----|-----|
| 340 | 345 | 350 |
|-----|-----|-----|

Ile Val Tyr Asp Gly Gln Asp Leu Leu Ser Tyr Ser Gln Asp Val Asp

| | | |
|-----|-----|-----|
| 355 | 360 | 365 |
|-----|-----|-----|

Leu Lys Leu Thr Glu Tyr Leu Lys Asp Val Lys Pro Val Ile Glu Glu

| | | |
|-----|-----|-----|
| 370 | 375 | 380 |
|-----|-----|-----|

Asn His Met Tyr Ile Arg Ile Ala Ser Asn Asp Phe Phe Ser Val Ser

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 385 | 390 | 395 | 400 |
|-----|-----|-----|-----|

Gln Asp Val Val Ser Lys Met Ile Ser Gly Glu Tyr Asp Ala Glu Gln

405 410 415

Ala Tyr Gln Ser Phe Asn Ser Gln Leu Leu Glu Glu Ser Ala Ser

420 425 430

Glu Asp Ile Val Leu Asp Ser Gln Lys Ser Tyr Ser Asn Arg Phe His

435 440 445

Ser Ser Gly Gly Asn Ala Ala Tyr Ser Val Met Ala Asn Thr Leu Arg

450 455 460

Gly Ile Tyr Gly Thr Asp Val Leu Ile Ala Thr Gly Asn Ser Phe Thr

465 470 475 480

Gly Asn Val Leu Lys Ala Gly Tyr Thr Glu Lys Met Ala Gly Asp Met

485 490 495

Ile Met Pro Asn Gly Leu Ser Ala Tyr Ser Ser Lys Met Ser Gly Ala

500 505 510

Glu Leu Lys Glu Thr Val Lys Asn Phe Val Glu Gly Tyr Glu Gly Gly

515 520 525

Phe Ile Pro Phe Asn Cys Gly Ser Leu Pro Val Phe Ser Gly Ile Ser

530 535 540

Val Glu Ile Lys Lys Thr Asp Asp Gly Tyr Thr Leu Ser Lys Val Thr

545 550 555 560

Lys Asp Gly Lys Gln Ile Gln Asp Asp Asp Thr Phe Thr Val Thr Cys

565 570 575

Leu Ala Thr Pro Gln His Met Glu Ala Tyr Pro Thr Asp Asn Ile

580 585 590

Val Phe Asp Gly Gly Asp Thr Ser Val Lys Asp Thr Trp Thr Gly Tyr

595 600 605

Ile Ser Asn Gly Asn Ala Val Leu Ala Glu Pro Glu Asp Tyr Ile Asn

610 615 620

Val Arg

625

<210> 102

<211> 629

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 102

Met Arg Thr Ile Ser Glu Gly Gly Leu Leu Met Lys Met Lys Lys Arg

1 5 10 15

Ser Arg Val Leu Ser Ala Leu Phe Val Met Ala Ala Val Ile Leu Leu

20 25 30

Leu Ala Gly Cys Ala Gly Asn Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys Glu Asp

35 40 45

Ala Glu Thr Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Lys Leu Tyr Glu Lys

50 55 60

Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn Val Glu Phe

65 70 75 80

Val Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Lys Phe Leu Lys Glu Asn

85 90 95

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

100 105 110

Ala Ser Pro Leu Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Asn Val

115 120 125

Ala Gly Ala Val Tyr Asp Thr Tyr Leu Asn Asn Phe Met Asn Lys Asp

130 135 140

Gly Ser Val Asn Trp Ile Pro Val Cys Ala Asp Ala His Gly Val Val

145 150 155 160

Val Asn Lys Asp Leu Phe Glu Thr Tyr Asp Ile Pro Leu Pro Thr Asp

165 170 175

Tyr Ala Ser Phe Val Ser Ala Cys Gln Ala Phe Asp Lys Ala Gly Ile

180 185 190

Arg Gly Phe Thr Ala Asp Tyr Ser Tyr Asp Tyr Thr Cys Met Glu Thr

195 200 205

Leu Gln Gly Leu Ser Ala Ala Glu Leu Ser Ser Val Glu Gly Arg Lys

| | | |
|---|-----|-----|
| 210 | 215 | 220 |
| Trp Arg Thr Ala Tyr Ser Asp Pro Asp Asn Thr Lys Lys Glu Gly Leu | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Asp Ser Thr Val Trp Pro Glu Ala Phe Glu Arg Met Asp Gln Phe Ile | | |
| 245 | 250 | 255 |
| His Asp Thr Gly Leu Ser Arg Asp Asp Leu Asp Met Asp Tyr Asp Ala | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Val Met Asp Met Phe Lys Ser Gly Lys Leu Ala Met Tyr Phe Gly Ser | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Ser Ala Gly Val Lys Met Phe Arg Asp Gln Gly Ile Asp Thr Thr Phe | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Leu Pro Phe Phe Gln Gln Asn Gly Glu Lys Trp Leu Met Thr Thr Pro | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Tyr Phe Gln Val Ala Leu Asn Arg Asp Leu Thr Lys Asp Glu Thr Arg | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Arg Glu Lys Ala Met Lys Val Leu Asn Thr Met Leu Ser Glu Asp Ala | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Gln Asn Arg Ile Ile Ser Asp Gly Gln Asp Leu Leu Ser Tyr Ser Gln | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Asp Val Asp Met His Leu Thr Lys Tyr Leu Lys Asp Val Lys Pro Val | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Ile Glu Glu Asn His Met Tyr Ile Arg Ile Ala Ser Ser Asp Phe Phe | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Ser Val Ser Lys Asp Val Val Ser Lys Met Ile Ser Gly Glu Tyr Asp | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Ala Gly Gln Ala Tyr Gln Ser Phe His Ser Gln Leu Leu Asn Glu Lys | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Ser Thr Ser Glu Lys Val Val Leu Asp Ser Pro Lys Ser Tyr Ser Asn | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Arg Phe His Ser Asn Gly Gly Asn Ala Ala Tyr Ser Val Met Ala Asn | | |
| 450 | 455 | 460 |

Thr Leu Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Asp Val Leu Ile Ala Thr Gly Asn
 465 470 475 480

Ser Phe Thr Gly Asn Val Leu Lys Ala Gly Tyr Thr Glu Lys Met Ala
 485 490 495

Gly Ser Met Ile Met Pro Asn Ser Leu Ser Ala Tyr Ser Cys Lys Met
 500 505 510

Thr Gly Ala Glu Leu Lys Glu Thr Val Arg Asn Phe Val Glu Gly Tyr
 515 520 525

Glu Gly Gly Leu Thr Pro Phe Asn Arg Gly Ser Leu Pro Val Val Ser
 530 535 540

Gly Ile Ser Val Glu Ile Lys Glu Thr Asp Asp Gly Tyr Thr Leu Lys
 545 550 555 560

Glu Val Lys Lys Asp Gly Lys Thr Val Gln Asp Lys Asp Thr Phe Thr
 565 570 575

Val Thr Cys Leu Ala Thr Pro Gln His Met Glu Ala Tyr Pro Ala Asp
 580 585 590

Glu His Val Gly Phe Asp Ala Gly Asn Ser Phe Val Lys Asp Thr Trp
 595 600 605

Thr Asp Tyr Val Ser Asp Gly Asn Ala Val Leu Ala Lys Pro Glu Asp
 610 615 620

Tyr Met Thr Leu Arg

625

<210> 103

<211> 629

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 103

Met Ile Thr Lys Ser Gly Lys Gln Val Gly Arg Val Val Met Lys Lys

1 5 10 15

Lys Lys Trp Asn Lys Leu Leu Ala Val Phe Leu Val Met Ala Thr Val

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Leu Ser Leu Leu Ala Gly Cys Gly Gly Lys Arg Ala Glu Lys Glu Asp

| | | |
|----|----|----|
| 35 | 40 | 45 |
|----|----|----|

Ala Glu Thr Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Ser Leu Tyr Glu Ala

| | | |
|----|----|----|
| 50 | 55 | 60 |
|----|----|----|

Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn Ile Glu Phe

| | | | |
|----|----|----|----|
| 65 | 70 | 75 | 80 |
|----|----|----|----|

Val Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Arg Phe Leu Glu Lys Asn

| | | |
|----|----|----|
| 85 | 90 | 95 |
|----|----|----|

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

| | | |
|-----|-----|-----|
| 100 | 105 | 110 |
|-----|-----|-----|

Ala Ser Pro Leu Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Asn Val

| | | |
|-----|-----|-----|
| 115 | 120 | 125 |
|-----|-----|-----|

Ala Gly Ala Val Tyr Asn Thr Tyr Leu Asn Asn Phe Met Asn Glu Asp

| | | |
|-----|-----|-----|
| 130 | 135 | 140 |
|-----|-----|-----|

Gly Ser Val Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Ala His Gly Phe Val

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 145 | 150 | 155 | 160 |
|-----|-----|-----|-----|

Val Asn Lys Asp Leu Phe Glu Thr Tyr Asp Ile Pro Leu Pro Thr Asp

| | | |
|-----|-----|-----|
| 165 | 170 | 175 |
|-----|-----|-----|

Tyr Glu Ser Phe Val Ser Ala Cys Gln Ala Phe Asp Lys Ala Gly Ile

| | | |
|-----|-----|-----|
| 180 | 185 | 190 |
|-----|-----|-----|

Arg Gly Phe Thr Ala Asp Tyr Phe Tyr Asp Tyr Thr Cys Met Glu Thr

| | | |
|-----|-----|-----|
| 195 | 200 | 205 |
|-----|-----|-----|

Leu Gln Gly Leu Ser Ala Ser Glu Leu Ser Ser Val Asp Gly Arg Lys

| | | |
|-----|-----|-----|
| 210 | 215 | 220 |
|-----|-----|-----|

Trp Arg Thr Ser Tyr Ser Asp Pro Gly Asn Thr Thr Arg Glu Gly Leu

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 225 | 230 | 235 | 240 |
|-----|-----|-----|-----|

Asp Ser Thr Val Trp Pro Glu Ala Phe Glu Arg Met Glu Arg Phe Ile

| | | |
|-----|-----|-----|
| 245 | 250 | 255 |
|-----|-----|-----|

Arg Asp Thr Gly Leu Ser Arg Asp Asp Leu Glu Met Asn Tyr Asp Asp

| | | |
|-----|-----|-----|
| 260 | 265 | 270 |
|-----|-----|-----|

Ile Val Glu Leu Tyr Gln Ser Gly Lys Leu Ala Met Tyr Phe Gly Thr

275 280 285

Ser Ala Gly Val Lys Met Phe Gln Asp Gln Gly Ile Asn Thr Thr Phe

290 295 300

Leu Pro Phe Phe Gln Glu Asn Gly Glu Lys Trp Leu Met Thr Thr Pro

305 310 315 320

Tyr Phe Gln Val Ala Leu Asn Arg Asp Leu Thr Gln Asp Glu Thr Arg

325 330 335

Arg Thr Lys Ala Met Lys Val Leu Ser Thr Met Leu Ser Glu Asp Ala

340 345 350

Gln Asn Arg Ile Ile Ser Asp Gly Gln Asp Leu Leu Ser Tyr Ser Gln

355 360 365

Asp Val Asp Ile His Leu Thr Glu Tyr Leu Lys Asp Val Lys Ser Val

370 375 380

Ile Glu Glu Asn His Met Tyr Ile Arg Ile Ala Ser Asn Asp Phe Phe

385 390 395 400

Ser Val Ser Lys Asp Val Val Ser Lys Met Ile Ser Gly Glu Tyr Asp

405 410 415

Ala Gly Gln Ala Tyr Gln Ser Phe Gln Thr Gln Leu Leu Asp Glu Lys

420 425 430

Thr Thr Ser Glu Lys Val Val Leu Asn Ser Glu Lys Ser Tyr Ser Asn

435 440 445

Arg Phe His Ser Ser Gly Gly Asn Glu Ala Tyr Ser Val Met Ala Asn

450 455 460

Thr Leu Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Asp Val Leu Ile Ala Thr Gly Asn

465 470 475 480

Ser Phe Thr Gly Asn Val Leu Lys Ala Gly Tyr Thr Glu Lys Met Ala

485 490 495

Gly Asp Met Ile Met Pro Asn Gly Leu Ser Ala Tyr Ser Cys Lys Met

500 505 510

Asn Gly Ala Glu Leu Lys Glu Thr Val Arg Asn Phe Val Glu Gly Tyr

| | | |
|---|-----|-----|
| 515 | 520 | 525 |
| Pro Gly Gly Phe Leu Pro Phe Asn Arg Gly Ser Leu Pro Val Phe Ser | | |
| 530 | 535 | 540 |
| | | |
| Gly Ile Ser Val Glu Leu Met Glu Thr Glu Asp Gly Tyr Thr Val Arg | | |
| 545 | 550 | 555 |
| Lys Val Thr Lys Asp Gly Lys Lys Val Gln Asp Asn Asp Thr Phe Thr | | |
| 565 | 570 | 575 |
| Val Thr Cys Leu Ala Thr Pro Gln His Met Glu Ala Tyr Pro Ala Asp | | |
| 580 | 585 | 590 |
| Gln Asn Met Val Phe Ala Gly Glu Thr Ser Val Lys Asp Thr Trp | | |
| 595 | 600 | 605 |
| | | |
| Thr Ala Tyr Val Ser Asp Gly Asn Ala Ile Leu Ala Glu Pro Glu Asp | | |
| 610 | 615 | 620 |
| Tyr Ile Asn Val Arg | | |
| 625 | | |
| <210> 104 | | |
| <211> 114 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> Bacterial protein | | |
| <400> 104 | | |
| Met Glu Asn Asn Phe Thr Arg Glu Ser Ile Leu Lys Lys Glu Lys Met | | |
| 1 | 5 | 10 |
| 15 | | |
| Glu Gln Leu Pro Asn Ile Asn Val Glu Phe Val Val Gly Asn Asn Asp | | |
| 20 | 25 | 30 |
| | | |
| Leu Asp Phe Tyr Lys Phe Leu Lys Glu Asn Gly Gly Leu Pro Asp Ile | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser Leu His Asp Ala Ser Pro Leu Lys Asp | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Asn Val Ala Gly Ala Val Tyr Asp | | |
| 65 | 70 | 75 |
| 80 | | |
| Thr Tyr Leu Asn Asn Phe Met Asn Glu Asp Gly Ser Val Asn Trp Leu | | |

| | | |
|----|----|----|
| 85 | 90 | 95 |
|----|----|----|

Pro Val Cys Ala Asp Ala His Gly Phe Val Val Asn Lys Asp Leu Phe
 100 105 110
 Glu Gln

<210> 105

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 105

Met Lys Lys Lys Trp Asn Lys Ile Leu Ala Val Leu Leu Ala Met
 1 5 10 15
 Val Thr Ala Ile Ser Leu Leu Ser Gly Cys Gly Ser Lys Ser Ala Glu
 20 25 30

Lys Glu Asp Ala Glu Thr Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Asn Leu
 35 40 45

Tyr Glu Lys Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn
 50 55 60

Val Glu Phe Val Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Lys Phe Leu
 65 70 75 80

Lys Glu Asn Gly Gly Leu Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser
 85 90 95

Leu His Asp Ala Ser Pro Leu Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr
 100 105 110

Thr Asn Val Ala Gly Ala Val Tyr Asp Thr Tyr

115 120

<210> 106

<211> 144

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 106

Arg Phe Ser Leu Asn Asp Ala Ala Pro Leu Ala Glu His Leu Met Asp

1 5 10 15

Leu Ser Thr Thr Glu Val Ala Gly Thr Phe Tyr Ser Ser Tyr Leu Asn

20 25 30

Asn Asn Gln Glu Pro Asp Gly Ala Ile Arg Trp Leu Pro Met Cys Ala

35 40 45

Glu Val Asp Gly Thr Ala Ala Asn Val Asp Leu Phe Ala Gln His Asn

50 55 60

Ile Pro Leu Pro Thr Asn Tyr Ala Glu Phe Val Ala Ala Ile Asp Ala

65 70 75 80

Phe Glu Ala Val Gly Ile Lys Gly Tyr Gln Ala Asp Trp Arg Tyr Asp

85 90 95

Tyr Thr Cys Leu Glu Thr Met Gln Gly Cys Ala Ile Pro Glu Leu Met

100 105 110

Ser Leu Glu Gly Thr Thr Trp Arg Met Asn Tyr Glu Ser Glu Thr Glu

115 120 125

Asp Ser Ser Thr Gly Leu Asp Asp Val Val Trp Pro Lys Glu Gly Leu

130 135 140

<210> 107

<211> 180

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 107

Met Lys Lys Lys Ala Trp Asn Lys Leu Leu Ala Gln Leu Val Val Met

1 5 10 15

Val Thr Ala Ile Ser Leu Leu Ser Gly Cys Gly Lys Ser Val Glu

20 25 30

Lys Glu Asp Ala Glu Thr Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Lys Leu

35 40 45

Tyr Glu Lys Tyr Ala Pro Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn

| | | |
|---|-----|-----|
| 50 | 55 | 60 |
| | | |
| Ile Glu Phe Val Val Gly Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Arg Phe Leu | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Asp Glu Asn Gly Gly Leu Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Leu His Asp Ala Ser Pro Leu Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Thr Asn Val Ala Gly Ala Val Tyr Asp Thr Tyr Leu Asn Ser Phe Met | | |
| 115 | 120 | 125 |
| | | |
| Asn Glu Asp Gly Ser Val Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Val His | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Gly Phe Val Val Asn Arg Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile Pro Leu | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Pro Thr Asp Tyr Glu Ser Phe Val Ser Ala Cys Arg Ala Phe Glu Glu | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Val Gly Ile Arg | | |
| 180 | | |
| | | |
| <210> 108 | | |
| <211> 216 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> Bacterial protein | | |
| | | |
| <400> 108 | | |
| Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Asn Val Ala Gly Ala Val | | |
| 1 | 5 | 10 |
| Tyr Asp Thr Tyr Leu Ser Asn Phe Met Asn Glu Asp Gly Ser Val Asn | | |
| 20 | 25 | 30 |
| Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Ala His Gly Phe Val Val Asn Lys Asp | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile Pro Leu Pro Thr Asp Tyr Glu Ser Phe | | |
| 50 | 55 | 60 |

Val Ser Ala Cys Gln Val Phe Asp Glu Val Gly Ile Arg Gly Phe Thr
 65 70 75 80
 Ala Asp Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Thr Cys Met Glu Thr Leu Gln Gly Leu
 85 90 95
 Ser Ala Ser Glu Leu Ser Ser Val Asp Gly Arg Lys Trp Arg Thr Ala
 100 105 110
 Tyr Ser Asp Pro Asp Asn Thr Lys Arg Glu Gly Leu Asp Ser Thr Val
 115 120 125

Trp Pro Ala Ala Phe Glu His Met Glu Gln Phe Ile Arg Asp Thr Gly
 130 135 140
 Leu Ser Arg Asp Asp Leu Asp Met Asn Tyr Asp Asp Ile Val Glu Met
 145 150 155 160
 Tyr Gln Ser Gly Lys Leu Ala Met Tyr Phe Gly Ser Ser Gly Val
 165 170 175
 Lys Met Phe Gln Asp Gln Gly Ile Asn Thr Thr Phe Leu Pro Phe Phe
 180 185 190

Gln Lys Asp Gly Glu Lys Trp Leu Met Thr Thr Pro Tyr Phe Gln Val
 195 200 205
 Ala Leu Asn Ser Asp Leu Ala Lys
 210 215
<210> 109

<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Bacterial protein
<400> 109

Met Gln Arg Lys Leu Arg Gly Gly Phe Val Met Glu Lys Lys Lys Trp
 1 5 10 15
 Lys Lys Val Leu Ser Val Ser Phe Val Met Val Thr Ala Ile Ser Leu

20 25 30
 Leu Ser Gly Cys Gly Gly Lys Ser Ala Glu Lys Glu Asp Ala Glu Thr
 35 40 45

Ile Thr Val Tyr Leu Trp Ser Thr Asn Leu Asn Glu Lys Tyr Ala Pro
 50 55 60

Tyr Ile Gln Glu Gln Leu Pro Asp Ile Asn Val Glu Phe Val Val Gly
 65 70 75 80

Asn Asn Asp Leu Asp Phe Tyr Lys Phe Leu Asn Glu Asn Gly Gly Leu
 85 90 95

Pro Asp Ile Ile Thr Cys Cys Arg Phe Ser Leu His Asp Ala Ser Pro
 100 105 110

Leu Lys Asp Ser Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Asn Val Ala Gly Ala
 115 120 125

Val Tyr Asp Thr Tyr Leu Asn Asn Phe Met Asn Glu Asp Gly Ser Val
 130 135 140

Asn Trp Leu Pro Val Cys Ala Asp Ala His Gly Phe Val Val Asn Lys
 145 150 155 160

Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Asp Ile Pro Leu Pro Thr Asp Tyr Glu Ser
 165 170 175

Phe Val Ser Ala Cys Gln Ala Phe Asp Gln Val Gly Ile Arg Gly Phe
 180 185 190

Thr Ala Asp Tyr Tyr Asp Tyr Thr Cys Met Glu Thr Leu Gln Gly
 195 200 205

Leu Ser Val Ser Asp Leu Ser Ser Val Asp Gly Arg Lys Trp Arg Thr
 210 215 220

Thr Tyr Ser
 225

<210> 110

<211> 260

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 110

Met Lys Lys Lys Trp Asn Arg Val Leu Ala Val Leu Leu Met Met
 1 5 10 15

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

260

<210> 111

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 111

Gly Gly Phe Leu Cys Phe Ala Asn Ala Ser Cys Leu Gln Ser Thr Arg

1 5 10 15

Phe Phe Ala Leu Ala Met Gln Lys Gln Leu Glu Thr Leu Leu Leu Gln

20 25 30

Trp Tyr Asn Lys Ile Val Phe Leu Trp Glu Asn Gln Arg Lys Ala Gln

35 40 45

Cys Gly Gln Ala Ala Ser Ala Gly Ile Pro Met Trp Cys Val Arg Thr

50 55 60

Ala Thr Ala Ala Leu Arg Ser Ala Ala Leu Arg Tyr Cys Glu Glu Gly

65 70 75 80

Ile Tyr Met Met Lys Lys Ile Ser Arg Arg Ser Phe Leu Gln Ala Cys

85 90 95

Gly Val Ala Ala Ala Thr Ala Ala Leu Thr Ala Cys Gly Gly Lys

100 105 110

Ala Glu Ser Asp Lys Ser Ser Ser Gln Asn Gly Lys Ile Gln Ile Thr

115 120 125

Phe Tyr Leu Trp Asp Arg Ser Met Met Lys Glu Leu Thr Pro Trp Leu

130 135 140

Glu Glu Lys Phe Pro Glu Tyr Glu Phe His Phe Ile Gln Gly Phe Asn

145 150 155 160

Thr Met Asp Tyr Tyr Arg Asp Leu Leu Asn Arg Ala Glu Gln Leu Pro

165 170 175

Asp Ile Ile Thr Cys Arg Arg Phe Ser Leu Asn Asp Ala Ala Pro Leu

180 185 190

Ala Glu His Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Glu Val Ala Gly Thr Phe

195

200

205

Tyr Ser Ser Tyr Leu Asn Asn Gln Glu Pro Asp Gly Ala Ile Arg

210

215

220

Trp Leu Pro Met Cys Ala Glu Val Asp Gly Thr Ala Ala Asn Val Asp

225 230 235 240

Leu Phe Ala Gln His Asn Ile Pro Leu Pro Thr Asn Tyr Ala Glu Phe

245

250

255

Val Ala Ala Ile Asp Ala Phe Glu Ala Val Gly Ile Lys Gly Tyr Gln

260

265

270

Ala Asp Trp Arg Tyr Asp Tyr Thr Cys Leu Glu Thr Met Gln Gly Ser

275

280

285

Ala Ile Pro Glu Leu Met Ser Leu Glu Gly Thr Thr Trp Arg Met Asn

290

295

300

Tyr Glu Ser Glu Thr Glu Asp Gly Ser Thr Gly Leu Asp Asp Val Val

305 310 315 320

Trp Pro Lys Val Phe Glu Lys

325

<210> 112

<211> 636

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 112

Met Met Lys Lys Ile Ser Arg Arg Ser Phe Leu Gln Val Cys Gly Ile

1 5 10 15

Thr Ala Ala Thr Ala Ala Leu Thr Ala Cys Gly Gly Lys Ala Asp

20

25

30

Ser Gly Lys Gly Ser Gln Asn Gly Arg Ile Gln Ile Thr Phe Tyr Leu

35

40

45

Trp Asp Arg Ser Met Met Lys Glu Leu Thr Pro Trp Leu Glu Gln Lys

50

55

60

Phe Pro Glu Tyr Glu Phe Asn Phe Ile Gln Gly Phe Asn Thr Met Asp

65 70 75 80

Tyr Tyr Arg Asp Leu Leu Asn Arg Ala Gln Leu Pro Asp Ile Ile

85 90 95

Thr Cys Arg Arg Phe Ser Leu Asn Asp Ala Ala Pro Leu Ala Glu His

100 105 110

Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Glu Val Ala Gly Thr Phe Tyr Ser Ser

115 120 125

Tyr Leu Asn Asn Asn Gln Glu Pro Asp Gly Ala Ile Arg Trp Leu Pro

130 135 140

Met Cys Ala Glu Val Asp Gly Thr Ala Ala Asn Val Asp Leu Phe Ala

145 150 155 160

Gln Tyr Asn Ile Pro Leu Pro Thr Asn Tyr Ala Glu Phe Val Ala Ala

165 170 175

Ile Asn Ala Phe Glu Ala Val Gly Ile Lys Gly Tyr Gln Ala Asp Trp

180 185 190

Arg Tyr Asp Tyr Thr Cys Leu Glu Thr Met Gln Gly Ser Ala Ile Pro

195 200 205

Glu Leu Met Ser Leu Glu Gly Thr Thr Trp Arg Met Asn Tyr Glu Ser

210 215 220

Glu Thr Glu Asp Gly Ser Thr Gly Leu Asp Asp Val Val Trp Pro Lys

225 230 235 240

Val Phe Glu Lys Tyr Glu Gln Phe Leu Arg Asp Val Arg Val Gln Pro

245 250 255

Gly Asp Asp Arg Leu Glu Leu Asn Pro Ile Ala Lys Pro Phe Tyr Ala

260 265 270

Arg Gln Thr Ala Met Ile Arg Thr Thr Ala Gly Ile Ala Asp Val Met

275 280 285

Pro Asp Gln Tyr Gly Phe Asn Ala Ser Ile Leu Pro Tyr Phe Gly Glu

290 295 300

Thr Ala Asn Asp Ser Trp Leu Leu Thr Tyr Pro Met Cys Gln Ala Ala

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| 305 | 310 | 315 | 320 |
| Val Ser Asn Thr Val Ala Gln Asp Glu Ala Lys Leu Ala Ala Val Leu | | | |
| | | | |
| 325 | 330 | 335 | |
| Lys Val Leu Gly Ala Val Tyr Ser Ala Glu Gly Gln Ser Lys Leu Ala | | | |
| 340 | 345 | 350 | |
| Ser Gly Gly Ala Val Leu Ser Tyr Asn Lys Glu Val Asn Ile Thr Ser | | | |
| 355 | 360 | 365 | |
| Ser Ala Ser Leu Glu His Val Glu Asp Val Ile Ser Ala Asn His Leu | | | |
| 370 | 375 | 380 | |
| Tyr Met Arg Leu Ala Ser Thr Glu Phe Phe Arg Ile Ser Glu Asp Val | | | |
| | | | |
| 385 | 390 | 395 | 400 |
| Gly His Lys Met Ile Thr Gly Glu Tyr Asp Ala Arg Ala Gly Tyr Asp | | | |
| 405 | 410 | 415 | |
| Ala Phe Asn Glu Gln Leu Val Thr Pro Lys Ala Asp Pro Glu Ala Glu | | | |
| 420 | 425 | 430 | |
| Ile Leu Phe Thr Gln Asn Thr Ala Tyr Ser Leu Asp Met Thr Asp His | | | |
| 435 | 440 | 445 | |
| Gly Ser Ala Ala Ala Ser Ser Leu Met Asn Ala Leu Arg Ala Ala Tyr | | | |
| | | | |
| 450 | 455 | 460 | |
| Asp Ala Ser Val Ala Val Gly Tyr Ser Pro Leu Val Ser Thr Ser Ile | | | |
| 465 | 470 | 475 | 480 |
| Tyr Cys Gly Asp Tyr Ser Lys Gln Gln Leu Leu Trp Val Met Ala Gly | | | |
| 485 | 490 | 495 | |
| Asn Tyr Ala Val Ser Gln Gly Glu Tyr Thr Gly Ala Glu Leu Arg Gln | | | |
| 500 | 505 | 510 | |
| Met Met Glu Trp Leu Val Asn Val Lys Asp Asn Gly Ala Asn Pro Ile | | | |
| | | | |
| 515 | 520 | 525 | |
| Arg His Arg Asn Tyr Met Pro Val Thr Ser Gly Met Glu Tyr Lys Val | | | |
| 530 | 535 | 540 | |
| Thr Glu Tyr Glu Gln Gly Lys Phe Arg Leu Glu Glu Leu Thr Ile Asn | | | |
| 545 | 550 | 555 | 560 |

Gly Thr Pro Leu Asp Asp Thr Ala Ala Tyr Thr Val Phe Val Ala Gly

565 570 575

Thr Asp Val Trp Ile Glu Asn Glu Val Tyr Cys Asn Cys Pro Met Pro

580 585 590

Glu Asn Leu Lys Thr Lys Arg Thr Glu Tyr Ala Ile Glu Lys Ala Asp

595 600 605

Ser Arg Ser Cys Leu Lys Asp Ser Leu Ala Val Ser Lys Gln Phe Pro

610 615 620

Ala Pro Ser Glu Tyr Leu Thr Ile Val Gln Gly Glu

625 630 635

<210> 113

<211> 636

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 113

Met Met Asn Lys Ile Ser Arg Arg Ser Phe Leu Gln Ala Ala Gly Val

1 5 10 15

Val Ala Ala Ala Ala Ala Leu Thr Ala Cys Gly Gly Lys Thr Glu Ala

20 25 30

Asp Lys Gly Ser Ser Gln Asn Gly Lys Ile Gln Ile Thr Phe Tyr Leu

35 40 45

Trp Asp Arg Ser Met Met Lys Glu Leu Thr Pro Trp Leu Glu Gln Lys

50 55 60

Phe Pro Glu Tyr Glu Phe Asn Phe Ile Gln Gly Phe Asn Thr Met Asp

65 70 75 80

Tyr Tyr Arg Asp Leu Leu Asn Arg Ala Glu Gln Leu Pro Asp Ile Ile

85 90 95

Thr Cys Arg Arg Phe Ser Leu Asn Asp Ala Ala Pro Leu Ala Glu Tyr

100 105 110

Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Glu Val Ala Gly Thr Phe Tyr Ser Ser

| | | |
|-----|-----|-----|
| 115 | 120 | 125 |
|-----|-----|-----|

Tyr Leu Asn Asn Asn Gln Glu Pro Asp Gly Ala Ile Arg Trp Leu Pro
 130 135 140
 Met Cys Ala Glu Val Asp Gly Thr Ala Ala Asn Val Asp Leu Phe Ala
 145 150 155 160
 Gln Tyr Asn Ile Pro Leu Pro Thr Asn Tyr Ala Glu Phe Val Ala Ala
 165 170 175
 Ile Asp Ala Phe Glu Ala Val Gly Ile Lys Gly Tyr Gln Ala Asp Trp
 180 185 190

Arg Tyr Asp Tyr Thr Cys Leu Glu Thr Met Gln Gly Cys Ala Ile Pro
 195 200 205
 Glu Leu Met Ser Leu Glu Gly Thr Thr Trp Arg Met Asn Tyr Glu Ser
 210 215 220
 Glu Thr Glu Asp Gly Ser Thr Gly Leu Asp Asp Val Val Trp Pro Lys
 225 230 235 240
 Val Phe Glu Lys Tyr Glu Gln Phe Leu Lys Asp Val Arg Val Gln Pro
 245 250 255

Gly Asp Asp Arg Leu Glu Leu Asn Pro Ile Ala Lys Pro Phe Tyr Ala
 260 265 270
 Arg Gln Thr Ala Met Ile Arg Thr Thr Ala Gly Ile Ala Asp Val Met
 275 280 285
 Leu Asp Leu His Gly Phe Asn Ala Ser Ile Leu Pro Tyr Phe Gly Glu
 290 295 300
 Thr Ala Asn Asp Ser Trp Leu Leu Thr Tyr Pro Met Cys Gln Ala Ala
 305 310 315 320

Val Ser Asn Thr Val Ala Gln Asp Glu Ala Lys Leu Ala Val Leu
 325 330 335
 Lys Val Leu Gly Ala Val Tyr Ser Ala Glu Gly Gln Ser Lys Leu Ala
 340 345 350
 Ala Gly Gly Ala Val Leu Ser Tyr Asn Lys Glu Val Asn Ile Thr Ser
 355 360 365

Ser Thr Ser Leu Glu His Val Ala Asp Val Ile Ser Ala Asn His Leu
 370 375 380

Tyr Met Arg Leu Ala Ser Thr Glu Ile Phe Arg Ile Ser Glu Asp Val
 385 390 395 400
 Gly His Lys Met Ile Thr Gly Glu Tyr Asp Ala Lys Ala Gly Tyr Glu
 405 410 415
 Ala Phe Asn Glu Gln Leu Val Thr Pro Lys Ala Asp Pro Glu Thr Glu
 420 425 430
 Ile Leu Phe Thr Gln Asn Thr Ala Tyr Ser Ile Asp Met Thr Asp His
 435 440 445

Gly Ser Ala Ala Ala Ser Ser Leu Met Thr Ala Leu Arg Thr Thr Tyr
 450 455 460
 Asp Ala Ser Ile Ala Ile Gly Tyr Ser Pro Leu Val Ser Thr Ser Ile
 465 470 475 480
 Tyr Cys Gly Asp Tyr Ser Lys Gln Gln Leu Leu Trp Val Met Ala Gly
 485 490 495
 Asn Tyr Ala Val Ser Gln Gly Glu Tyr Thr Gly Ala Glu Leu Arg Gln
 500 505 510

Met Met Glu Trp Leu Val Asn Val Lys Asp Asn Gly Ala Asn Pro Ile
 515 520 525
 Arg His Arg Asn Tyr Met Pro Val Thr Ser Gly Met Glu Tyr Lys Val
 530 535 540
 Thr Glu Tyr Glu Gln Gly Lys Phe Arg Leu Glu Glu Leu Thr Val Asn
 545 550 555 560
 Gly Ala Pro Leu Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Thr Val Phe Val Ala Gly
 565 570 575

Thr Asp Val Trp Ile Glu Asn Glu Val Tyr Cys Ser Cys Pro Met Pro
 580 585 590
 Glu Asn Leu Lys Thr Lys Arg Thr Glu Tyr Ala Ile Glu Gly Ala Asp
 595 600 605
 Ser Arg Ser Cys Leu Lys Asp Ser Leu Ala Val Ser Lys Gln Phe Pro

610 615 620
 Ala Pro Ser Glu Tyr Leu Thr Ile Val Gln Gly Glu
 625 630 635
 <210> 114

<211> 637
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Bacterial protein
 <400> 114

Met Met Lys Lys Ile Ser Arg Arg Ser Phe Leu Gln Ala Cys Gly Ile
 1 5 10 15
 Ala Ala Ala Thr Ala Ala Leu Thr Ala Cys Gly Gly Lys Ala Glu
 20 25 30
 Ser Gly Lys Gly Ser Ser Gln Asn Gly Lys Ile Gln Ile Thr Phe Tyr
 35 40 45
 Leu Trp Asp Arg Ser Met Lys Ala Leu Thr Pro Trp Leu Glu Glu

50 55 60
 Lys Phe Pro Glu Tyr Glu Phe Thr Phe Ile Gln Gly Phe Asn Thr Met
 65 70 75 80
 Asp Tyr Tyr Arg Asp Leu Leu Asn Arg Ala Glu Gln Leu Pro Asp Ile
 85 90 95
 Ile Thr Cys Arg Arg Phe Ser Leu Asn Asp Ala Ala Pro Leu Ala Glu
 100 105 110
 His Leu Met Asp Leu Ser Thr Thr Glu Val Ala Gly Thr Phe Tyr Ser

115 120 125
 Ser Tyr Leu Asn Asn Asn Gln Glu Pro Asp Gly Ala Ile Arg Trp Leu
 130 135 140
 Pro Met Cys Ala Glu Val Asp Gly Thr Ala Ala Asn Val Asp Leu Phe
 145 150 155 160
 Ala Gln His Asn Ile Pro Leu Pro Thr Asn Tyr Ala Glu Phe Val Ala
 165 170 175

Ala Ile Asp Ala Phe Glu Ala Val Gly Ile Lys Gly Tyr Gln Ala Asp

180 185 190

Trp Arg Tyr Asp Tyr Thr Cys Leu Glu Thr Met Gln Gly Cys Ala Ile

195 200 205

Pro Glu Leu Met Ser Leu Glu Gly Thr Thr Trp Arg Met Asn Tyr Glu

210 215 220

Ser Glu Thr Glu Asp Gly Ser Thr Gly Leu Asp Asp Val Val Trp Pro

225 230 235 240

Lys Val Phe Lys Lys Tyr Glu Gln Phe Leu Lys Asp Val Arg Val Gln

245 250 255

Pro Gly Asp Ala Arg Leu Glu Leu Asn Pro Ile Ala Glu Pro Phe Tyr

260 265 270

Ala Arg Gln Thr Ala Met Ile Arg Thr Thr Ala Gly Ile Ala Asp Val

275 280 285

Met Phe Asp Leu His Gly Phe Asn Thr Ser Ile Leu Pro Tyr Phe Gly

290 295 300

Glu Thr Ala Asn Asp Ser Trp Leu Leu Thr Tyr Pro Met Cys Gln Ala

305 310 315 320

Ala Val Ser Asn Thr Val Ala Gln Asp Glu Ala Lys Leu Ala Ala Val

325 330 335

Leu Lys Val Leu Glu Ser Val Tyr Ser Ala Glu Gly Gln Asn Lys Met

340 345 350

Ala Val Gly Ala Ala Val Leu Ser Tyr Asn Lys Glu Val Asn Ile Thr

355 360 365

Ser Ser Thr Ser Leu Glu His Val Ala Asp Ile Ile Ser Ala Asn His

370 375 380

Leu Tyr Met Arg Leu Ala Ser Thr Glu Ile Phe Arg Ile Ser Glu Asp

385 390 395 400

Val Gly His Lys Met Ile Thr Gly Glu Tyr Asp Ala Lys Ala Ala Tyr

405 410 415

Asp Ala Phe Asn Glu Gln Leu Val Thr Pro Arg Val Asp Pro Glu Ala

| | | |
|---|-----|-----|
| 420 | 425 | 430 |
| Glu Val Leu Phe Thr Gln Asn Thr Ala Tyr Ser Leu Asp Met Thr Asp | | |
| | | |
| 435 | 440 | 445 |
| His Gly Ser Ala Ala Ala Ser Ser Leu Met Asn Ala Leu Arg Ala Thr | | |
| 450 | 455 | 460 |
| Tyr Asp Ala Ser Ile Ala Val Gly Tyr Ser Pro Leu Val Ser Thr Ser | | |
| 465 | 470 | 475 |
| Ile Tyr Cys Gly Asp Tyr Ser Lys Gln Gln Leu Leu Trp Val Met Ala | | |
| 485 | 490 | 495 |
| Gly Asn Tyr Ala Val Ser Gln Gly Asp Tyr Thr Gly Ala Glu Leu Arg | | |
| | | |
| 500 | 505 | 510 |
| Gln Met Met Glu Trp Leu Val Asn Val Lys Asp Asn Gly Ala Asn Pro | | |
| 515 | 520 | 525 |
| Ile Arg His Arg Asn Tyr Met Pro Val Thr Ser Gly Met Glu Tyr Lys | | |
| 530 | 535 | 540 |
| Val Thr Glu Tyr Glu Gln Gly Lys Phe Arg Leu Glu Glu Leu Thr Ile | | |
| 545 | 550 | 555 |
| Asn Gly Ala Pro Leu Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Thr Val Phe Val Ala | | |
| | | |
| 565 | 570 | 575 |
| Gly Thr Asp Val Trp Met Glu Asp Lys Ala Tyr Cys Asn Cys Pro Met | | |
| 580 | 585 | 590 |
| Pro Glu Asn Leu Lys Ala Lys Arg Thr Glu Tyr Ala Ile Glu Gly Ala | | |
| 595 | 600 | 605 |
| Asp Ser Arg Ser Cys Leu Lys Asp Ser Leu Ala Val Ser Lys Gln Phe | | |
| 610 | 615 | 620 |
| Pro Ala Pro Ser Glu Tyr Leu Thr Ile Val Gln Gly Glu | | |
| | | |
| 625 | 630 | 635 |
| <210> 115 | | |
| <211> 728 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |

<220><223> Bacterial protein

<400> 115

Met Cys His Phe Ser Leu Phe Pro Val Ser Glu Ile Gln Asn Leu Pro

1 5 10 15

Asp Phe Ser Cys Lys Ile Leu Gln Asp Val Gln Asn Gln Leu Glu Thr

20 25 30

Leu Leu Leu Gln Trp Tyr Asn Asn Thr Val Ile Leu Trp Glu Asn Gln

35 40 45

Arg Lys Ala Gln Cys Gly Gln Ala Ala Ser Ala Gly Ile Pro Val Gly

50 55 60

Cys Val Arg Ile Ala Thr Ala Ala Leu Arg Tyr Cys Ala Cys Ala Val

65 70 75 80

Leu Pro Ser Asp Thr Val Arg Lys Tyr Ile Cys Met Met Lys Lys Ile

85 90 95

Ser Arg Arg Ser Phe Leu Gln Val Cys Gly Ile Thr Ala Ala Thr Ala

100 105 110

Ala Leu Thr Ala Cys Gly Ser Gly Lys Ala Glu Gly Asp Lys Ser Ser

115 120 125

Ser Gln Asn Gly Lys Ile Gln Ile Thr Phe Tyr Leu Trp Asp Arg Ser

130 135 140

Met Met Lys Ala Leu Thr Pro Trp Leu Glu Glu Lys Phe Pro Glu Tyr

145 150 155 160

Glu Phe Asn Phe Ile Gln Gly Phe Asn Thr Met Asp Tyr Tyr Arg Asp

165 170 175

Leu Leu Asn Arg Ala Glu Gln Leu Pro Asp Ile Ile Thr Cys Arg Arg

180 185 190

Phe Ser Leu Asn Asp Ala Ala Pro Leu Ala Glu His Leu Met Asp Leu

195 200 205

Ser Thr Thr Glu Val Ala Gly Thr Phe Tyr Ser Ser Tyr Leu Asn Asn

210 215 220

Asn Gln Glu Pro Asp Gly Ala Ile Arg Trp Leu Pro Met Cys Ala Glu

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 225 | 230 | 235 | 240 |
|-----|-----|-----|-----|

Val Asp Gly Thr Ala Ala Asn Val Asp Leu Phe Ala Gln Tyr Asn Ile

| | | |
|-----|-----|-----|
| 245 | 250 | 255 |
|-----|-----|-----|

Pro Leu Pro Thr Asn Tyr Ala Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Ala Phe

| | | |
|-----|-----|-----|
| 260 | 265 | 270 |
|-----|-----|-----|

Glu Ala Val Gly Ile Lys Gly Tyr Gln Ala Asp Trp Arg Tyr Asp Tyr

| | | |
|-----|-----|-----|
| 275 | 280 | 285 |
|-----|-----|-----|

Thr Cys Leu Glu Thr Met Gln Gly Ser Ala Ile Pro Glu Leu Met Ser

| | | |
|-----|-----|-----|
| 290 | 295 | 300 |
|-----|-----|-----|

Leu Glu Gly Thr Thr Trp Arg Arg Asn Tyr Glu Ser Glu Thr Glu Asp

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 305 | 310 | 315 | 320 |
|-----|-----|-----|-----|

Gly Ser Thr Gly Leu Asp Asp Val Val Trp Pro Lys Val Phe Glu Lys

| | | |
|-----|-----|-----|
| 325 | 330 | 335 |
|-----|-----|-----|

Tyr Glu Gln Phe Leu Lys Asp Val Arg Val Gln Pro Gly Asp Asp Arg

| | | |
|-----|-----|-----|
| 340 | 345 | 350 |
|-----|-----|-----|

Leu Glu Leu Asn Pro Ile Ala Lys Pro Phe Tyr Ala Arg Gln Thr Ala

| | | |
|-----|-----|-----|
| 355 | 360 | 365 |
|-----|-----|-----|

Met Ile Arg Thr Thr Ala Gly Ile Ala Asp Val Met Pro Asp Gln Tyr

| | | |
|-----|-----|-----|
| 370 | 375 | 380 |
|-----|-----|-----|

Gly Phe Asn Ala Ser Ile Leu Pro Tyr Phe Gly Glu Thr Ala Asn Asp

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 385 | 390 | 395 | 400 |
|-----|-----|-----|-----|

Ser Trp Leu Leu Thr Tyr Pro Met Cys Gln Ala Ala Val Ser Asn Thr

| | | |
|-----|-----|-----|
| 405 | 410 | 415 |
|-----|-----|-----|

Val Ala Gln Asp Glu Ala Lys Leu Ala Ala Val Leu Lys Val Leu Glu

| | | |
|-----|-----|-----|
| 420 | 425 | 430 |
|-----|-----|-----|

Ala Val Tyr Ser Ala Glu Gly Gln Ser Lys Met Ala Gly Ala Ala

| | | |
|-----|-----|-----|
| 435 | 440 | 445 |
|-----|-----|-----|

Val Leu Ser Tyr Asn Lys Glu Ile Asn Ile Thr Ser Ser Thr Ser Leu

| | | |
|-----|-----|-----|
| 450 | 455 | 460 |
|-----|-----|-----|

Glu Gln Val Ala Asp Ile Ile Ser Ala Asn His Leu Tyr Met Arg Leu

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 465 | 470 | 475 | 480 |
|-----|-----|-----|-----|

Ala Ser Thr Glu Ile Phe Arg Ile Ser Glu Asp Val Gly His Lys Met

485 490 495

Ile Thr Gly Glu Tyr Asp Ala Lys Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Asn Glu

500 505 510

Gln Leu Val Thr Pro Arg Ala Asp Pro Glu Ala Glu Val Leu Phe Thr

515 520 525

Gln Asn Thr Ala Tyr Ser Ile Asp Met Thr Asp His Gly Ser Ala Ala

530 535 540

Ala Ser Ser Leu Met Asn Ala Leu Arg Ala Thr Tyr Asp Ala Ser Ile

545 550 555 560

Ala Val Gly Tyr Ser Pro Leu Val Ser Thr Ser Ile Tyr Cys Gly Glu

565 570 575

Tyr Ser Lys Gln Gln Ile Leu Trp Val Met Ala Gly Asn Tyr Ala Val

580 585 590

Ser Gln Gly Glu Tyr Thr Gly Ala Glu Leu Arg Gln Met Met Glu Trp

595 600 605

Leu Val Asn Val Lys Asp Asn Gly Ala Asn Pro Ile Arg His Arg Asn

610 615 620

Tyr Met Pro Val Thr Ser Gly Met Glu Tyr Lys Val Thr Glu Tyr Glu

625 630 635 640

Gln Gly Lys Phe Arg Leu Glu Glu Leu Thr Ile Asn Gly Ala Pro Leu

645 650 655

Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Thr Val Phe Val Ala Gly Thr Asp Val Trp

660 665 670

Ile Glu Asn Glu Val Tyr Cys Asn Cys Pro Met Pro Glu Asn Leu Lys

675 680 685

Ala Lys Arg Thr Glu Tyr Ala Ile Glu Gly Ala Glu Ser Arg Ser Cys

690 695 700

Leu Lys Asp Ser Leu Ala Val Ser Lys Gln Phe Pro Ala Pro Ser Glu

705 710 715 720

Tyr Leu Thr Ile Val Gln Gly Glu

725

<210> 116

<211> 201

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 116

Met Lys Leu Leu Ala Val Thr Phe Val Val Ala Ser Asn Phe Val Ser

1 5 10 15

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

Pro Val Gln Thr Val Asp Asp Val Phe Ala Val Gln Thr Lys Asn Gly

35 40 45

Glu Met Gly Met Arg Met Glu Ala Val Arg Leu Glu Arg Tyr Asn Lys
50 55 60

Asp Gly Thr Lys Thr Asp Leu Phe Pro Ala Gly Val Ser Val Phe Gly

65 70 75 80

Tyr Asn Glu Glu Gly Leu Leu Glu Ser Val Ile Val Ala Asp Lys Ala
85 90 95Glu His Thr Val Pro Ser Ser Gly Asp Glu Ile Trp Lys Ala Tyr Gly
100 105 110Asn Val Ile Leu His Asn Val Leu Lys Gln Glu Thr Met Glu Thr Asp
115 120 125

Thr Ile Phe Trp Asp Ser Ser Lys Lys Glu Ile Tyr Thr Asp Cys Tyr

130 135 140

Val Lys Met Tyr Ser Arg Asp Met Phe Ala Gln Gly Tyr Gly Met Arg

145 150 155 160

Ser Asp Asp Arg Met Arg Asn Ala Lys Leu Asn Ser Pro Phe Asn Gly

165 170 175

Tyr Val Val Thr Val Arg Asp Thr Thr Ala Val Ile Ile Asp Ser Val

180 185 190

Asn Tyr Ile Gly Pro Phe Pro Lys Lys

195 200

<210> 117

<211> 47

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 117

Gly Met Thr Leu Met His Ser Pro Pro Met Leu Tyr Ser Arg Ala Ala

1 5 10 15

Ala Lys Thr His Arg Val Pro Phe Trp Leu Leu Asp Ile Ser Phe Pro

20 25 30

Leu Ser Met Lys Lys Ala Leu Cys Pro Lys Asn Gly Gln Arg Ala

35 40 45

<210> 118

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 118

Met Leu Lys Gln Trp Phe Lys Leu Thr Cys Leu Leu Tyr Ile Leu Trp

1 5 10 15

Leu Ile Leu Ser Gly His Phe Glu Ala Lys Tyr Leu Ile Leu Gly Leu

20 25 30

Leu Gly Ser Ala Leu Ile Gly Tyr Phe Cys Leu Pro Ala Leu Thr Ile

35 40 45

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

50 55 60

Pro Ala Phe Cys Gly Tyr Trp Leu Trp Leu Leu Lys Glu Ile Ile Lys

65 70 75 80

Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Ala Ile Leu Ser Pro Lys Met Lys Ile

85 90 95

Asn Pro Val Ile Ile Glu Ile Asp Tyr Ile Phe Asn Asn Pro Ala Ala

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

115 120 125
 Ile Asp Val Lys Asp Glu Arg Tyr Phe Tyr Val His Ala Leu Thr Asp
 130 135 140
 Ser Ala Ala Leu Gly Leu Met Asp Gly Glu Arg Gln Arg Arg Ile Ser
 145 150 155 160
 Arg Val Phe Glu Arg
 165

<210> 119

<211> 274

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 119

Met Lys His Ile Thr Phe Ser Asn Gly Asp Lys Val Cys Thr Ile Gly

1 5 10 15
 Gln Gly Thr Trp Asn Met Gly Arg Asn Pro Leu Cys Glu Lys Ser Glu
 20 25 30
 Ala Asn Ala Leu Leu Thr Gly Ile Asp Leu Gly Met Asn Met Ile Asp
 35 40 45
 Thr Ala Glu Met Tyr Gly Asn Glu Lys Phe Ile Gly Lys Val Ile Lys
 50 55 60
 Ser Cys Arg Asp Lys Val Phe Leu Val Ser Lys Val His Pro Glu Asn

65 70 75 80
 Ala Asp Tyr Gln Gly Thr Ile Lys Ala Cys Glu Glu Ser Leu Arg Arg
 85 90 95
 Leu Gly Ile Glu Val Leu Asp Leu Tyr Leu Leu His Trp Lys Ser Arg
 100 105 110
 Tyr Pro Leu Ser Glu Thr Val Glu Ala Met Cys Arg Leu Gln Arg Asp
 115 120 125

Gly Lys Ile Arg Leu Trp Gly Val Ser Asn Leu Asp Val Asp Asp Met

| | | |
|---|-----|-----|
| 130 | 135 | 140 |
| Glu Leu Ile Asp Asp Ile Pro Asn Gly Cys Ser Cys Asp Ala Asn Gln | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Val Leu Tyr Asn Leu Gln Glu Arg Gly Val Glu Tyr Asp Leu Ile Pro | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Tyr Ala Gln Gln Arg Asp Ile Pro Val Ile Ala Tyr Ser Pro Val Gly | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Glu Gly Lys Leu Leu Arg His Pro Val Leu Arg Thr Ile Ala Glu Lys | | |
| | | |
| 195 | 200 | 205 |
| His Asn Ala Thr Pro Ala Gln Ile Ala Leu Ser Trp Ile Ile Arg Asn | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Pro Gly Val Met Ala Ile Pro Lys Ala Gly Ser Ala Glu His Val Lys | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Glu Asn Phe Gly Ser Val Ser Ile Thr Leu Asp Thr Glu Asp Ile Glu | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Leu Leu Asp Ile Ser Phe Pro Ala Pro Gln His Lys Ile Gln Leu Ala | | |
| | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Gly Trp | | |

<210> 120

<211> 104

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 120

Met Met Lys Pro Asp Glu Ile Ala Lys Ala Phe Leu His Glu Met Asn

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

Pro Thr Asn Trp Asn Gly Gln Gly Glu Met Pro Ala Gly Phe Asp Thr

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Arg Thr Met Glu Phe Ile Thr Asp Met Pro Asp Val Leu Leu Asp Ile

| | | |
|---|----|----|
| 35 | 40 | 45 |
| Ser Phe Glu Leu Cys Met Glu Asp Asp Gly Thr Phe Gln Trp Glu His | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Tyr Cys Glu Leu Val Gln Glu Ser Ser Asp Thr Ile Val Asp Cys Ala | | |
| 65 | 70 | 75 |
| His Gly Tyr Gly Ile Asn Ser Val Gln Asn Leu Thr Asp Thr Ile Ser | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Gln Leu Leu Glu Val Asn Val Lys | | |
| 100 | | |

<210> 121

<211> 223

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 121

| | | | |
|---|----|----|----|
| Met Arg Glu Asn Leu Ser Gly Ile Arg Val Val Arg Ala Phe Asn Ala | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Glu Lys Tyr Gln Glu Asp Lys Phe Glu Gly Ile Asn Asn Arg Leu Thr | | | |
| 20 | 25 | 30 | |
| Asn Gln Gln Met Phe Asn Gln Arg Thr Phe Asn Phe Leu Ser Pro Ile | | | |
| 35 | 40 | 45 | |
| Met Tyr Leu Val Met Tyr Phe Leu Thr Leu Gly Ile Tyr Phe Ile Gly | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| 50 | 55 | 60 |
| Ala Asn Leu Ile Asn Gly Ala Asn Met Gly Asp Lys Ile Val Leu Phe | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Gly Asn Met Ile Val Phe Ser Ser Tyr Ala Met Gln Val Ile Met Ser | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Phe Leu Met Leu Ala Met Ile Phe Met Met Leu Pro Arg Ala Ser Val | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Ser Ala Arg Arg Ile Asn Glu Val Leu Asp Thr Pro Ile Ser Val Lys | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Glu Gly Asn Val Thr Met Asn Asn Ser Asp Ile Lys Gly Cys Val Glu | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| 130 | 135 | 140 |
| Phe Lys Asn Val Ser Phe Lys Tyr Pro Asp Ala Asp Glu Tyr Val Leu | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Leu Asp Ile Ser Phe Lys Val Asn Lys Gly Glu Thr Ile Ala Phe Ile | | 160 |
| 165 | 170 | 175 |
| Gly Ser Thr Gly Ser Gly Lys Ser Thr Leu Ile Asn Leu Ile Pro Arg | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| 180 | 185 | 190 |
| Phe Tyr Asp Ala Thr Ser Gly Glu Ile Leu Ile Asp Gly Ile Asn Val | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Arg Asp Tyr Ser Phe Glu Tyr Leu Asn Asn Ile Ile Gly Tyr Val | | |
| 210 | 215 | 220 |

<210> 122
<211> 304
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Bacterial protein
<400> 122

| | | |
|---|---|----|
| Met Ile Leu Phe Arg His Trp Cys Trp Ser Phe Leu Gly Val Val Ile | | |
| 1 | 5 | 10 |
| 15 | | |

| | | |
|---|----|----|
| Glu Ser Leu Pro Phe Ile Val Ile Gly Ala Ile Ile Ser Thr Ile Ile | | |
| 20 | 25 | 30 |
| Gln Phe Tyr Ile Ser Glu Asp Ile Ile Lys Arg Ile Val Pro Arg Arg | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Arg Gly Leu Ala Phe Leu Val Ala Ala Phe Ile Gly Leu Val Phe Pro | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Met Cys Glu Cys Ala Ile Val Pro Val Ala Arg Ser Leu Ile Lys Lys | | |
| 65 | 70 | 75 |
| 80 | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| Gly Val Pro Ile Gly Ile Thr Ile Thr Phe Met Leu Ser Val Pro Ile | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Val Asn Pro Phe Val Ile Thr Ser Thr Tyr Tyr Ala Phe Glu Ala Asn | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Leu Thr Ile Val Leu Ile Arg Val Val Gly Gly Ile Leu Cys Ser Ile | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| 115 | 120 | 125 |
| Ile Val Gly Met Leu Ile Thr Tyr Ile Phe Lys Asp Ser Thr Ile Glu | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Ser Ile Ile Ser Asp Gly Tyr Leu Asp Leu Ser Cys Thr Cys Cys Ser | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Ser Asn Lys Lys Tyr Tyr Ile Ser Lys Leu Asp Lys Leu Ile Thr Ile | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Val Cys Gln Ala Ser Asn Glu Phe Leu Asn Ile Ser Val Tyr Val Ile | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Leu Gly Ala Phe Ile Ser Ser Ile Phe Gly Ser Ile Ile Asn Glu Glu | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Ile Leu Asn Asp Tyr Thr Phe Asn Asn Ile Leu Ala Val Ile Ile Met | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Leu Asp Ile Ser Phe Leu Leu Ser Leu Cys Ser Glu Ala Asp Ala Phe | | |
| 225 | 230 | 235 |
| 240 | | |
| Val Gly Ser Lys Phe Leu Asn Asn Phe Gly Ile Pro Ala Val Ser Ala | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Phe Met Ile Leu Gly Pro Met Met Asp Leu Lys Asn Ala Ile Leu Thr | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Leu Gly Leu Phe Lys Arg Lys Phe Ala Thr Ile Leu Ile Ile Thr Ile | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Leu Leu Val Val Thr Ala Phe Ser Ile Cys Leu Ser Phe Ile Ser Leu | | |
| 290 | 295 | 300 |
| <210> 123 | | |
| <211> 638 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> Bacterial protein | | |
| <400> 123 | | |
| Met Met Thr Ala Ala Gln Thr Leu Lys Glu Tyr Trp Gly Tyr Asp Gly | | |
| 1 | 5 | 10 |
| | | 15 |

Phe Arg Pro Met Gln Glu Glu Ile Ile Ser Ser Ala Leu Glu Gly Arg

20 25 30

Asp Thr Leu Ala Ile Leu Pro Thr Gly Gly Gly Lys Ser Ile Cys Phe

35 40 45

Gln Val Pro Ala Met Met Arg Asp Gly Ile Ala Leu Val Val Thr Pro

50 55 60

Leu Ile Ala Leu Met Lys Asp Gln Val Gln Asn Leu Glu Ala Arg Gly

65 70 75 80

Ile Arg Ala Ile Ala Val His Ala Gly Met Asn Arg Arg Glu Val Asp

85 90 95

Thr Ala Leu Asn Asn Ala Ala Tyr Gly Asp Tyr Lys Phe Leu Tyr Val

100 105 110

Ser Pro Glu Arg Leu Gly Thr Ser Leu Phe Lys Ser Tyr Leu Glu Val

115 120 125

Leu Asp Val Asn Phe Ile Val Val Asp Glu Ala His Cys Ile Ser Gln

130 135 140

Trp Gly Tyr Asp Phe Arg Pro Asp Tyr Leu Arg Ile Gly Glu Met Arg

145 150 155 160

Lys Val Leu Lys Ala Pro Leu Ile Ala Leu Thr Ala Thr Ala Thr Pro

165 170 175

Glu Val Ala Arg Asp Ile Met Gln Lys Leu Val Arg Pro Gly Thr Pro

180 185 190

Ser Gln Val Glu Arg Asn Leu Glu Asn Phe Thr Leu Leu Arg Ser Gly

195 200 205

Phe Glu Arg Pro Asn Leu Ser Tyr Ile Val Arg Glu Cys Glu Asp Lys

210 215 220

Thr Gly Gln Leu Leu Asn Ile Cys Gly Ser Val Pro Gly Ser Gly Ile

225 230 235 240

Val Tyr Met Arg Asn Arg Arg Lys Cys Glu Glu Val Ala Ala Leu Leu

245 250 255

Ser Gly Ser Gly Val Ser Ala Ser Phe Tyr His Ala Gly Leu Gly Ala

| | | |
|---|-----|-----|
| 260 | 265 | 270 |
| Leu Thr Arg Thr Glu Arg Gln Glu Ala Trp Lys Lys Gly Glu Ile Arg | | |
| | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Val Met Val Cys Thr Asn Ala Phe Gly Met Gly Ile Asp Lys Pro Asp | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Val Arg Phe Val Leu His Leu Gly Leu Pro Asp Ser Pro Glu Ala Tyr | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Phe Gln Glu Ala Gly Arg Ala Gly Arg Asp Gly Gln Arg Ser Trp Ala | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Ala Leu Leu Trp Asn Lys Thr Asp Ile Arg Arg Leu Arg Gln Leu Leu | | |
| | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Asp Ile Ser Phe Pro Ser Leu Glu Tyr Ile Glu Asp Ile Tyr Gln Lys | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Ile His Ile Phe Asn Lys Ile Pro Tyr Glu Gly Gly Glu Ala Arg | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Leu Lys Phe Asp Leu Glu Ala Phe Ala Arg Asn Tyr Ser Leu Ser Arg | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Ala Ala Val His Tyr Ala Ile Arg Tyr Leu Glu Met Ser Asp His Leu | | |
| | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Thr Tyr Thr Glu Asp Ala Asp Ile Ser Thr Gln Val Lys Ile Leu Val | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Asp Arg Gln Ala Leu Tyr Glu Val Ser Leu Pro Asp Pro Met Met Leu | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Arg Leu Leu Asp Ala Leu Met Arg Ala Tyr Pro Gly Ile Phe Ser Tyr | | |
| 450 | 455 | 460 |
| Ile Val Pro Val Asp Glu Glu Arg Leu Ala His Leu Cys Gly Val Ser | | |
| | | |
| 465 | 470 | 475 |
| Val Pro Val Leu Arg Gln Leu Leu Tyr Asn Leu Ser Leu Glu His Val | | |
| 485 | 490 | 495 |
| Ile Arg Tyr Val Pro Cys Asp Lys Ala Thr Val Ile Phe Leu His His | | |
| 500 | 505 | 510 |

Gly Arg Leu Met Pro Gly Asn Leu Asn Leu Arg Lys Asp Lys Tyr Ala

515 520 525

Phe Leu Lys Glu Ser Ala Glu Lys Arg Ala Gly Ala Met Glu Glu Tyr

530 535 540

Val Thr Gln Thr Glu Met Cys Arg Ser Arg Tyr Leu Leu Ala Tyr Phe

545 550 555 560

Gly Gln Thr Glu Ser Arg Asp Cys Gly Cys Cys Asp Val Cys Arg Ser

565 570 575

Arg Ala Ala Arg Glu Arg Thr Glu Lys Leu Ile Leu Gly Tyr Ala Ser

580 585 590

Ser His Pro Gly Phe Thr Leu Lys Glu Phe Lys Ala Trp Cys Asp Asp

595 600 605

Pro Gly Asn Ala Leu Pro Ser Asp Val Met Glu Ile Tyr Arg Asp Met

610 615 620

Leu Asp Lys Gly Lys Leu Leu Tyr Leu His Pro Asp Glu Ser

625 630 635

<210> 124

<211> 273

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 124

Met Pro Lys Pro Gly Ser Ser Leu Glu Asp Ala Arg Glu Gln Lys Phe

1 5 10 15

Ser Ser Ala Val Thr Glu Tyr Gly Asp Leu Asn Pro Ser Glu Gly Ile

20 25 30

Gln Val Met Ser Ile Asp Trp Asp Gly Asp Phe Lys Glu Asp Asp Asp

35 40 45

Gly Gly Met Phe Phe Lys Asp Gly Phe Glu Tyr Gln Ala Met Ile Gln

50 55 60

Phe Leu Ile Asp Pro Asn Gly Lys Tyr Asp Thr Asp Tyr Ile Ile Lys

| | | | |
|----|----|----|----|
| 65 | 70 | 75 | 80 |
|----|----|----|----|

Asn Gly Glu Tyr Ile Leu Asp Gly Ser Arg Ile Lys Val Thr Val Asn

| | | |
|----|----|----|
| 85 | 90 | 95 |
|----|----|----|

Gly Lys Pro Ala His Val Gln Asn Ser Thr Pro Tyr Val Ile Tyr Met

| | | |
|-----|-----|-----|
| 100 | 105 | 110 |
|-----|-----|-----|

Asp Ile Gln Phe Leu Ile Gly Ser Gly Gly Lys Gly Leu Asp Arg Glu

| | | |
|-----|-----|-----|
| 115 | 120 | 125 |
|-----|-----|-----|

Leu Ala Ser Gly Arg Ala Tyr Gln Ser Ser Val Asn Tyr Ala Leu Cys

| | | |
|-----|-----|-----|
| 130 | 135 | 140 |
|-----|-----|-----|

Asn Asn Leu Ile Asp Glu Glu Leu Leu Gly Asn Asp Tyr Thr Lys Ser

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 145 | 150 | 155 | 160 |
|-----|-----|-----|-----|

Leu Asn Gln Leu Gln Leu Arg Ser Leu Ala Val Arg Leu Ala Glu Glu

| | | |
|-----|-----|-----|
| 165 | 170 | 175 |
|-----|-----|-----|

Leu Val Gly Lys Glu Ile Lys Val Glu Lys Lys Val Glu Gly Lys Tyr

| | | |
|-----|-----|-----|
| 180 | 185 | 190 |
|-----|-----|-----|

Asn Asp Ala Ile Thr Phe Ser Thr Ile Ala Pro Gly Glu Arg Val Trp

| | | |
|-----|-----|-----|
| 195 | 200 | 205 |
|-----|-----|-----|

Val Val Gly Pro Arg Leu Gly Gly Met Ser Glu Tyr Leu Pro Val Lys

| | | |
|-----|-----|-----|
| 210 | 215 | 220 |
|-----|-----|-----|

Glu Pro Val Thr Gly Gln Thr Leu Tyr Val Lys Ala Asn Cys Phe Arg

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 225 | 230 | 235 | 240 |
|-----|-----|-----|-----|

Pro Val Arg Lys Tyr Val Phe Lys Ser Glu Lys Thr Thr Leu Arg Glu

| | | |
|-----|-----|-----|
| 245 | 250 | 255 |
|-----|-----|-----|

Gly Glu Phe Lys Asn Tyr Val Asp Gly Gln Tyr Ile Trp Tyr Arg Trp

| | | |
|-----|-----|-----|
| 260 | 265 | 270 |
|-----|-----|-----|

Asn

<210> 125

<211> 582

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 125

Met Asp Ile Phe Ser Val Phe Thr Leu Cys Gly Gly Leu Ala Phe Phe

1 5 10 15

Leu Tyr Gly Met Thr Val Met Ser Lys Ser Leu Glu Lys Met Ala Gly

20 25 30

Gly Lys Leu Glu Arg Met Leu Lys Arg Met Thr Ser Ser Pro Phe Lys

35 40 45

Ser Leu Leu Leu Gly Ala Gly Ile Thr Ile Ala Ile Gln Ser Ser Ser

50 55 60

Ala Met Thr Val Met Leu Val Gly Leu Val Asn Ser Gly Val Met Glu

65 70 75 80

Leu Arg Gln Thr Ile Gly Ile Ile Met Gly Ser Asn Ile Gly Thr Thr

85 90 95

Leu Thr Ala Trp Ile Leu Ser Leu Thr Gly Ile Glu Ser Glu Asn Val

100 105 110

Phe Val Asn Leu Leu Lys Pro Glu Asn Phe Ser Pro Leu Ile Ala Leu

115 120 125

Ala Gly Ile Leu Leu Ile Met Gly Ser Lys Arg Gln Arg Arg Arg Asp

130 135 140

Val Gly Arg Ile Met Met Gly Phe Ala Ile Leu Met Tyr Gly Met Glu

145 150 155 160

Leu Met Ser Gly Ala Val Ser Pro Leu Ala Glu Met Pro Gln Phe Ala

165 170 175

Gly Leu Leu Thr Ala Phe Glu Asn Pro Leu Leu Gly Val Leu Val Gly

180 185 190

Ala Val Phe Thr Gly Ile Ile Gln Ser Ser Ala Ala Ser Val Ala Ile

195 200 205

Leu Gln Ala Leu Ala Met Thr Gly Ser Ile Thr Tyr Gly Met Ala Ile

210 215 220

Pro Ile Ile Met Gly Gln Asn Ile Gly Thr Cys Val Thr Ala Leu Ile

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 225 | 230 | 235 | 240 |
|-----|-----|-----|-----|

Ser Ser Ile Gly Val Asn Arg Asn Ala Lys Arg Val Ala Val Val His

| | | |
|-----|-----|-----|
| 245 | 250 | 255 |
|-----|-----|-----|

Ile Ser Phe Asn Val Ile Gly Thr Ala Val Cys Leu Ile Leu Phe Tyr

| | | |
|-----|-----|-----|
| 260 | 265 | 270 |
|-----|-----|-----|

Gly Gly Asp Met Ile Leu His Phe Thr Phe Leu Asn Gln Ala Val Gly

| | | |
|-----|-----|-----|
| 275 | 280 | 285 |
|-----|-----|-----|

Ala Val Gly Ile Ala Phe Cys His Thr Ala Phe Asn Val Phe Thr Thr

| | | |
|-----|-----|-----|
| 290 | 295 | 300 |
|-----|-----|-----|

Ile Leu Leu Leu Pro Phe Ser Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ala Arg Arg

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 305 | 310 | 315 | 320 |
|-----|-----|-----|-----|

Leu Val Arg Thr Glu Asp Thr Arg Glu Ser Phe Ala Phe Leu Asp Pro

| | | |
|-----|-----|-----|
| 325 | 330 | 335 |
|-----|-----|-----|

Leu Leu Leu Arg Thr Pro Gly Ala Ala Val Ser Glu Ser Val Ala Met

| | | |
|-----|-----|-----|
| 340 | 345 | 350 |
|-----|-----|-----|

Ala Gly Arg Met Gly Gln Ala Ala Arg Glu Asn Ile Cys Leu Ala Thr

| | | |
|-----|-----|-----|
| 355 | 360 | 365 |
|-----|-----|-----|

Asp Gln Leu Ser Gln Tyr Ser Arg Glu Arg Glu Thr Gln Ile Leu Gln

| | | |
|-----|-----|-----|
| 370 | 375 | 380 |
|-----|-----|-----|

Asn Glu Asp Lys Leu Asp Ile Tyr Glu Asp Arg Leu Ser Ser Tyr Leu

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 385 | 390 | 395 | 400 |
|-----|-----|-----|-----|

Val Glu Ile Ser Gln His Gly Leu Ser Met Gln Asp Met Arg Thr Val

| | | |
|-----|-----|-----|
| 405 | 410 | 415 |
|-----|-----|-----|

Ser Arg Leu Leu His Ala Ile Gly Asp Phe Glu Arg Ile Gly Asp His

| | | |
|-----|-----|-----|
| 420 | 425 | 430 |
|-----|-----|-----|

Ala Val Asn Ile Gln Glu Ser Ala Gln Glu Leu His Asp Lys Glu Leu

| | | |
|-----|-----|-----|
| 435 | 440 | 445 |
|-----|-----|-----|

Arg Phe Ser Asp Ser Ala Arg Glu Glu Leu Gln Val Leu Leu Ser Ala

| | | |
|-----|-----|-----|
| 450 | 455 | 460 |
|-----|-----|-----|

Leu Asp Asp Ile Leu Asp Leu Thr Ile Arg Ser Phe Gln Ala Ala Asp

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 465 | 470 | 475 | 480 |
|-----|-----|-----|-----|

Val Glu Thr Ala Arg Arg Val Glu Pro Leu Glu Glu Thr Ile Asp Gln

| | | |
|-----|-----|-----|
| 485 | 490 | 495 |
|-----|-----|-----|

Leu Ile Glu Glu Ile Arg Ser Arg His Ile Gln Arg Leu Gln Ala Gly

| | | |
|-----|-----|-----|
| 500 | 505 | 510 |
|-----|-----|-----|

Gln Cys Thr Ile Gln Leu Gly Phe Val Leu Ser Asp Leu Leu Thr Asn

| | | |
|-----|-----|-----|
| 515 | 520 | 525 |
|-----|-----|-----|

Ile Glu Arg Ala Ser Asp His Cys Ser Asn Ile Ala Val Ser Val Ile

| | | |
|-----|-----|-----|
| 530 | 535 | 540 |
|-----|-----|-----|

Glu Glu Cys Ser Gly Gly Pro Gly Arg His Ala Tyr Leu Gln Glu Val

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 545 | 550 | 555 | 560 |
|-----|-----|-----|-----|

Lys Ala Gly Gly Ala Phe Gly Glu Asp Leu Arg Arg Asp Arg Lys Lys

| | | |
|-----|-----|-----|
| 565 | 570 | 575 |
|-----|-----|-----|

Tyr His Leu Pro Glu Ala

| |
|-----|
| 580 |
|-----|

<210> 126

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 126

Lys Leu Asp Leu Ser Thr Thr Pro Val

| | |
|---|---|
| 1 | 5 |
|---|---|

<210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

Phe Leu Ile Ser Thr Thr Phe Gly Cys Thr

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 128

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Tyr Leu Tyr Leu Gln Trp Gln Pro Pro Leu

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 129

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

Gly Val Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Asn Leu

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

Phe Gln Leu Gln Asn Ile Val Lys Pro Leu

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 131

<211> 10

<212> PRT

<

213> Homo sapiens

<400> 131

Trp Leu Pro Phe Gly Phe Ile Leu Ile Leu

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 132

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 132

Phe Leu Ile Ser Thr Thr Phe Thr Ile Asn

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 133

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 133

Phe Met Ile Ser Thr Thr Phe Met Arg Leu

1 5 10

<210>

> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 134

Gln Met Ile Ser Thr Thr Phe Gly Asn Val

1 5 10

<210> 135

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 135

Trp Leu Tyr Leu Gln Trp Gln Pro Ser Val

1 5 10

<210> 136

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 136

Phe Val Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Glu Ile

1 5 10

<210> 137

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 137

Phe Ile Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Glu Ile

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 138

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 138

Tyr Glu Leu Gln Asn Ile Val Leu Pro Ile

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 139

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 139

Phe Leu Pro Phe Gly Phe Ile Leu Pro Val

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 140

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 140

Phe Met Pro Phe Gly Phe Ile Leu Pro Ile

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 141

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 141

Phe Met Leu Gln Asn Ile Val Lys Asn Leu

1 5 10

<210> 142

<211> 380

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 142

Met Gly Gly Arg Trp Met Gly Tyr Ile Leu Ile Gly Ile Tyr Val Leu

1 5 10 15

Leu Val Leu Tyr His Leu Val Lys Asp Ile Asn Gly Asp Val Lys Trp

20 25 30

Ala Met Val Tyr Ile Thr Phe Gly Phe Leu Phe Tyr Leu Cys Ser His

35 40 45

Cys Glu Tyr Leu Asn Thr Tyr Asp Leu Ser Asn Tyr Asn Ala Gln Tyr

50 55 60

Ala Tyr Tyr Asn Pro Met Trp Asp Lys Ser Phe Thr Leu Tyr Tyr Leu

65 70 75 80

Phe Leu Thr Met Met Arg Leu Gly Gln Ile Ala Glu Ile Ser Phe Val

85 90 95

Asn Trp Trp Trp Ile Thr Leu Ala Gly Ala Phe Leu Ile Ile Ile Ile

100 105 110

Ala Val Lys Ile His Arg Phe Asn Pro His His Phe Leu Val Phe Phe

115 120 125

Met Met Tyr Tyr Ile Ile Asn Leu Tyr Thr Gly Leu Lys Phe Phe Tyr

130 135 140

Gly Phe Cys Ile Tyr Leu Leu Ala Ser Gly Phe Leu Leu Arg Gly Gly

145 150 155 160

Arg Lys Asn Lys Leu Leu Tyr Val Phe Leu Thr Ala Val Ala Gly Gly

165 170 175

Met His Val Met Tyr Tyr Ala Phe Ile Leu Phe Ala Leu Ile Asn Thr

180 185 190

Asp Met Pro Ala Ser Met Glu Glu Cys Ser Leu Asn Ile Tyr Ser His

195 200 205

Ile Arg Arg His Arg Ile Ile Ala Val Leu Val Ile Ala Ser Leu Thr

210 215 220

Leu Ser Phe Val Leu Arg Leu Ser Gly Ser Ala Asn Glu Phe Leu Ser

225 230 235 240

Arg Val Phe Ser Phe Ile Asp Ser Asp Lys Met Asp Asp Tyr Leu Ser

245 250 255

Leu Ser Thr Asn Gly Gly Phe Tyr Ile Pro Val Ile Met Gln Leu Leu

260 265 270

Ser Leu Tyr Leu Ala Phe Ile Ile Lys Lys Gln Ser Lys Arg Ala Ser

275 280 285

Leu Leu Asn Gln Gln Tyr Thr Asp Val Leu Tyr Tyr Phe Asn Leu Leu

290 295 300

Gln Val Ile Phe Tyr Pro Leu Phe Met Ile Ser Thr Thr Phe Met Arg

305 310 315 320

Leu Ile Thr Ala Thr Ser Met Val Thr Ile Ala Ala Gly Gly Tyr Asn

325 330 335

Lys Phe Glu Ile Lys Gln Arg Lys Arg Phe Lys Ile Ile Gly Ala Ser

340 345 350

Phe Leu Ile Val Ala Ala Ser Leu Phe Arg Gln Leu Val Leu Gly His

355 360 365

Trp Trp Glu Thr Ala Val Val Pro Leu Phe His Leu

370 375 380

<210> 143

<211> 310

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 143

Met Glu Lys Gln Lys Ile Ile Phe Asp Val Asp Pro Gly Val Asp Asp

1 5 10 15

Cys Met Ala Leu Ile Leu Ser Phe Tyr Glu Pro Ser Ile Asp Val Gln

20 25 30

Met Ile Ser Thr Thr Phe Gly Asn Val Ser Val Glu Gln Thr Thr Lys

35 40 45

Asn Ala Leu Phe Ile Val Gln Asn Phe Ala Asp Lys Asp Tyr Pro Val

50 55 60

Tyr Lys Gly Ala Ala Gln Gly Leu Asn Ser Pro Ile His Asp Ala Glu

65 70 75 80

Glu Val His Gly Lys Asn Gly Leu Gly Asn Lys Ile Ile Ala His Asp

85 90 95

Val Thr Lys Gln Ile Ala Asn Lys Pro Gly Tyr Gly Ala Ile Glu Ala

100 105 110

Met Arg Asp Val Ile Leu Lys Asn Pro Asn Glu Ile Ile Leu Val Ala

115 120 125

Val Gly Pro Val Thr Asn Val Ala Thr Leu Phe Asn Thr Tyr Pro Glu

130 135 140

Thr Ile Asp Lys Leu Lys Gly Leu Val Leu Met Val Gly Ser Ile Asp

145 150 155 160

Gly Lys Gly Ser Ile Thr Pro Tyr Ala Ser Phe Asn Ala Tyr Cys Asp

165 170 175

Pro Asp Ala Ile Gln Val Val Leu Asp Lys Ala Lys Lys Leu Pro Ile

180 185 190

Ile Leu Ser Thr Lys Glu Asn Gly Thr Thr Cys Tyr Phe Glu Asp Asp

195 200 205

Gln Arg Glu Arg Phe Ala Lys Cys Gly Arg Leu Gly Pro Leu Phe Tyr

210 215 220

Asp Leu Cys Asp Gly Tyr Val Asp Lys Ile Leu Leu Pro Gly Gln Tyr

225 230 235 240

Ala Leu His Asp Thr Cys Ala Leu Phe Ser Ile Leu Lys Asp Glu Glu
 245 250 255
 Phe Phe Thr Arg Glu Lys Val Ser Met Lys Ile Asn Thr Thr Phe Asp
 260 265 270
 Glu Lys Arg Ala Gln Thr Lys Phe Arg Lys Cys Ala Ser Ser Asn Ile
 275 280 285
 Thr Leu Leu Thr Gly Val Asp Lys Gln Lys Val Ile Lys Arg Ile Glu
 290 295 300

Lys Ile Leu Lys Arg Thr

305 310

<210> 144

<211> 169

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 144

Pro Gly Ala Gln Gly Arg Gly Ser Ala Ala Gly Gly Asp Asp Met Ile

1 5 10 15

Trp Glu Leu Leu Val Gln Leu Ala Ala Ala Phe Gly Ala Thr Val Gly

20 25 30

Phe Ala Val Leu Val Asn Ala Pro Pro Arg Glu Phe Val Trp Ala Gly

35 40 45

Val Thr Gly Ala Val Gly Trp Gly Cys Tyr Trp Leu Tyr Leu Gln Trp

50 55 60

Gln Pro Ser Val Ala Val Ala Ser Leu Leu Ala Ser Leu Met Leu Ala

65 70 75 80

Leu Leu Ser Arg Val Phe Ser Val Val Arg Arg Cys Pro Ala Thr Val

85 90 95

Phe Leu Ile Ser Gly Ile Phe Ala Leu Val Pro Gly Ala Gly Ile Tyr

100 105 110

Tyr Thr Ala Tyr Tyr Phe Ile Met Gly Asp Asn Ala Met Ala Val Ala

115 120 125

Lys Gly Val Glu Thr Phe Lys Ile Ala Val Ala Leu Ala Val Gly Ile
 130 135 140
 Val Leu Val Leu Ala Leu Pro Gly Arg Leu Phe Glu Ala Phe Ala Pro
 145 150 155 160
 Cys Ala Gly Lys Lys Gly Glu Arg
 165
<210> 145
<211> 563
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> Bacterial protein
<400> 145
Met Asn Lys Ala Leu Phe Lys Tyr Phe Ala Thr Val Leu Ile Ile Thr
1 5 10 15
Leu Leu Phe Ser Ser Ser Val Ser Met Val Ile Leu Ser Asp Gln Met
20 25 30
Met Gln Thr Thr Arg Lys Asp Met Tyr Tyr Thr Val Lys Leu Val Glu
35 40 45
Asn Gln Ile Asp Tyr Gln Lys Pro Leu Glu Lys Gln Ile Asp Lys Leu

50 55 60
Asn Asp Leu Ala Tyr Thr Lys Asp Thr Arg Leu Thr Ile Ile Asp Lys
65 70 75 80
Glu Gly Asn Val Leu Ala Asp Ser Asp Lys Glu Gly Ile Gln Glu Asn
85 90 95
His Ser Gly Arg Ser Glu Phe Lys Glu Ala Leu Ser Asp Gln Phe Gly
100 105 110
Tyr Ala Thr Arg Tyr Ser Ser Thr Val Lys Lys Asn Met Met Tyr Val

115 120 125

Ala Tyr Tyr His Arg Gly Tyr Val Val Arg Ile Ala Ile Pro Tyr Asn
130 135 140
Gly Ile Phe Asp Asn Ile Gly Pro Leu Leu Glu Pro Leu Phe Ile Ser
145 150 155 160

Ala Ala Leu Ser Leu Cys Val Ala Leu Ala Leu Ser Tyr Arg Phe Ser
 165 170 175
 Arg Thr Leu Thr Lys Pro Leu Glu Glu Ile Ser Glu Glu Val Ser Lys
 180 185 190
 Ile Asn Asp Asn Arg Tyr Leu Ser Phe Asp His Tyr Gln Tyr Asp Glu
 195 200 205
 Phe Asn Val Ile Ala Thr Lys Leu Lys Glu Gln Ala Asp Thr Ile Arg
 210 215 220
 Lys Thr Leu Lys Thr Leu Lys Asn Glu Arg Leu Lys Ile Asn Ser Ile
 225 230 235 240
 Leu Asp Lys Met Asn Glu Gly Phe Ile Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Glu
 245 250 255
 Ile Leu Met Val Asn Lys Ala Lys Gln Leu Phe Ser Asp Arg Met
 260 265 270
 Glu Val Asn Gln Pro Ile Gln Asp Phe Ile Phe Asp His Gln Ile Ile
 275 280 285
 Asp Gln Leu Glu Asn Ile Gly Val Glu Pro Lys Ile Val Thr Leu Lys
 290 295 300
 Lys Asp Glu Glu Val Tyr Asp Cys His Leu Ala Lys Val Glu Tyr Gly
 305 310 315 320
 Val Thr Leu Leu Phe Val Asn Val Thr Glu Ser Val Asn Ala Thr Lys
 325 330 335
 Met Arg Gln Glu Phe Phe Ser Asn Val Ser His Glu Leu Lys Thr Pro
 340 345 350
 Met Thr Ser Ile Arg Gly Tyr Ser Glu Leu Leu Gln Ala Gly Met Ile
 355 360 365
 Asp Asp Pro Lys Val Arg Lys Gln Ala Leu Asp Lys Ile Gln Lys Glu
 370 375 380
 Val Asp His Met Ser Gln Leu Ile Gly Asp Ile Leu Met Ile Ser Arg
 385 390 395 400
 Leu Glu Asn Lys Asp Ile Glu Val Ile Lys His Pro Val His Leu Gln

405 410 415
 Pro Ile Val Asp Asp Ile Leu Glu Ser Leu Lys Val Glu Ile Glu Lys
 420 425 430
 Arg Glu Ile Thr Val Glu Cys Asp Leu Thr Ser Gln Thr Tyr Leu Ala

435 440 445
 Asn His Gln His Ile Gln Gln Leu Met Asn Asn Leu Ile Asn Asn Ala
 450 455 460
 Val Lys Tyr Asn Lys Gln Lys Gly Ser Leu Asn Ile His Ser Tyr Leu
 465 470 475 480
 Val Asp Gln Asp Tyr Ile Ile Glu Val Ser Asp Thr Gly Arg Gly Ile
 485 490 495
 Ser Leu Ile Asp Gln Gly Arg Val Phe Glu Arg Phe Phe Arg Cys Asp

500 505 510
 Ala Gly Arg Asp Lys Glu Thr Gly Gly Thr Gly Leu Gly Leu Ala Ile
 515 520 525
 Val Lys His Ile Val Gln Tyr Tyr Lys Gly Thr Ile His Leu Glu Ser
 530 535 540
 Glu Leu Gly Lys Gly Thr Thr Phe Lys Val Val Leu Pro Ile Ile Lys
 545 550 555 560
 Asp Ser Leu

<210> 146

<211> 144

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 146

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

35 40 45

Asp Asp Ile Val Tyr Leu Asp Ile Asp Glu Asn Tyr Glu Leu Gln Asn

50 55 60

Ile Val Leu Pro Ile Lys Lys Ser Ser Glu Val Lys Ala Ser Ile Tyr

65 70 75 80

Lys Thr Glu Tyr Phe Glu Ile Asn Trp Leu Asn Thr Lys Ile Glu Asp

85 90 95

Leu Ser Ser Thr Val Asp Lys Lys Glu Lys Ala Ile Ile Arg Val Leu

100 105 110

Gly Ile Ile Glu Asn Lys Phe Lys Thr Leu His Leu Trp Ser Thr Ile

115 120 125

Asn Thr Leu Trp Ile Ile Val Leu Thr Ile Val Ile Leu Asn Leu Ile

130 135 140

<210> 147

<211> 147

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 147

Met Gly Ile Leu Leu Phe Ala Val Tyr Val Ile Leu Leu Ile Tyr Phe

1 5 10 15

Leu Phe Phe Ser Glu Glu Tyr Gly Arg Val Ala Gln Ala Glu Arg Val

20 25 30

Tyr Arg Tyr Asn Leu Val Pro Phe Val Glu Ile Arg Arg Phe Trp Val

35 40 45

Tyr Arg Glu Gln Leu Gly Ala Phe Ala Val Phe Thr Asn Ile Phe Gly

50 55 60

Asn Val Ile Gly Phe Leu Pro Phe Gly Phe Ile Leu Pro Val Ile Phe

65 70 75 80

Arg Arg Met Asn Ser Gly Phe Leu Ile Cys Ile Ser Gly Phe Val Leu

85 90 95

Ser Leu Thr Val Glu Val Ile Gln Leu Val Thr Lys Val Gly Cys Phe

100 105 110

Asp Val Asp Asp Met Ile Leu Asn Thr Leu Gly Ala Ala Leu Gly Tyr

115 120 125

Val Leu Phe Leu Ile Cys Asn His Ile Arg Arg Lys Phe His Tyr Gly

130 135 140

Lys Lys Ile

145

<210> 148

<211> 157

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 148

Met Lys Lys Glu Thr Lys His Ile Ile Arg Thr Leu Gly Thr Ile Leu

1 5 10 15

Phe Ile Leu Tyr Val Leu Ala Leu Ile Tyr Phe Leu Phe Phe Ser Glu

20 25 30

Glu Tyr Gly Arg Ala Ala Leu Glu Arg Gln Tyr Arg Tyr Asn Leu

35 40 45

Ile Pro Phe Val Glu Ile Arg Arg Phe Trp Val Tyr Arg Arg Gln Leu

50 55 60

Gly Phe Met Ala Val Ala Ala Asn Leu Phe Gly Asn Val Ile Gly Phe

65 70 75 80

Leu Pro Phe Gly Phe Ile Leu Pro Val Ile Leu Asp Arg Met Arg Ser

85 90 95

Gly Trp Leu Ile Ile Leu Ala Gly Phe Gly Leu Ser Val Thr Val Glu

100 105 110

Val Ile Gln Leu Ile Thr Lys Val Gly Cys Phe Asp Val Asp Asp Met

115 120 125

Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ala Ala Leu Gly Tyr Leu Leu Phe Phe Ile

130 135 140

Cys Asp His Leu Arg Arg Lys Ile Tyr Gly Lys Lys Ile
 145 150 155
<210> 149
<211> 161
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Bacterial protein
<400> 149

Tyr Asp Asp Leu Arg Gly Phe Phe Leu Lys Lys Glu Thr Lys Thr Leu
 1 5 10 15
Ile Arg Arg Met Gly Ile Leu Leu Phe Val Ile Tyr Ile Ile Phe Leu

20 25 30
Val Tyr Phe Leu Phe Ser Glu Glu Tyr Gly Arg Ala Ala Glu Ala
 35 40 45
Gln Arg Val Tyr Arg Tyr Asn Leu Ile Pro Phe Val Glu Ile Arg Arg
 50 55 60
Phe Trp Ile Tyr Arg Glu Gln Leu Gly Thr Phe Ala Val Phe Ser Asn
 65 70 75 80
Ile Phe Gly Asn Val Ile Gly Phe Leu Pro Phe Gly Phe Ile Leu Pro

85 90 95
Val Ile Phe Arg Arg Met Asn Ser Gly Phe Leu Ile Cys Val Ser Gly
 100 105 110
Phe Ile Leu Ser Leu Thr Val Glu Val Ile Gln Leu Val Thr Lys Val
 115 120 125
Gly Cys Phe Asp Val Asp Asp Met Ile Leu Asn Thr Leu Gly Ala Thr
 130 135 140
Leu Gly Tyr Val Leu Phe Phe Val Cys Asn His Ile Val Thr Val His

145 150 155 160
Trp

<210> 150
<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 150

Arg Leu Gln Lys Gln Glu Lys Thr Leu Lys Lys Glu Thr Lys His Ile

1 5 10 15

Ile Arg Thr Leu Gly Thr Ile Leu Phe Ile Leu Tyr Val Leu Ala Leu

20 25 30

Ile Tyr Phe Leu Phe Ser Glu Glu Tyr Gly Arg Ala Ala Met Glu

35 40 45

Glu Arg Gln Tyr Arg Tyr Asn Leu Ile Pro Phe Val Glu Ile Arg Arg

50 55 60

Phe Trp Val Tyr Arg Lys Gln Leu Gly Leu Met Ala Val Val Thr Asn

65 70 75 80

Leu Phe Gly Asn Val Ile Gly Phe Leu Pro Phe Gly Phe Ile Leu Pro

85 90 95

Val Ile Leu Asp Lys Met Arg Ser Gly Trp Leu Ile Val Leu Ala Gly

100 105 110

Phe Gly Leu Ser Val Thr Val Glu Val Ile Gln Leu Ile Thr Lys Val

115 120 125

Gly Cys Phe Asp Val Asp Asp Met Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Tyr Leu Leu Phe Phe Ile Cys Asp His Leu Arg Arg Lys Ile

145 150 155 160

Tyr Gly Lys Lys Ile

165

<210

> 151

<211> 168

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 151

Met Trp Phe Ser Gln Lys Gln Glu Lys Thr Leu Lys Lys Glu Thr

1 5 10 15

Lys His Ile Ile Arg Thr Leu Gly Thr Val Leu Phe Ile Leu Tyr Val

20 25 30

Leu Ala Leu Ile Tyr Phe Leu Phe Ser Glu Glu Tyr Gly Arg Val

35 40 45

Ala Met Glu Glu Arg Glu Tyr Arg Tyr Asn Leu Ile Pro Phe Val Glu

50 55 60

Ile Arg Arg Phe Trp Val Tyr Arg Lys Gln Leu Gly Phe Leu Ala Val

65 70 75 80

Cys Thr Asn Leu Phe Gly Asn Val Ile Gly Phe Leu Pro Phe Gly Phe

85 90 95

Ile Leu Pro Val Ile Leu Glu Arg Met Arg Ser Gly Trp Leu Ile Ile

100 105 110

Leu Ala Gly Phe Gly Leu Ser Val Thr Val Glu Val Ile Gln Leu Ile

115 120 125

Thr Lys Val Gly Cys Phe Asp Val Asp Asp Met Ile Leu Asn Thr Ala

130 135 140

Gly Ala Ala Leu Gly Tyr Leu Leu Phe Phe Ile Cys Asn His Leu Arg

145 150 155 160

Arg Lys Ile Tyr Gly Lys Lys Ile

165

<210> 152

<211> 90

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 152

Ala Phe Leu Ile Asn Thr Val Gly Asn Val Val Cys Phe Met Pro Phe

1 5 10 15

Gly Phe Ile Leu Pro Ile Ile Thr Glu Phe Gly Lys Arg Trp Tyr Asn

20 25 30

Thr Phe Leu Leu Ser Phe Leu Met Thr Phe Thr Ile Glu Thr Ile Gln
 35 40 45
 Leu Val Phe Lys Val Gly Ser Phe Asp Val Asp Asp Met Phe Leu Asn
 50 55 60

Thr Val Gly Gly Val Ala Gly Tyr Ile Leu Val Val Ile Cys Lys Val
 65 70 75 80
 Ile Arg Arg Ala Phe Tyr Asp Pro Glu Thr
 85 90

<210> 153

<211> 154

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 153

Met Trp Lys Arg Thr Lys Thr His Gln Lys Val Cys Trp Val Leu Phe
 1 5 10 15

Ile Gly Tyr Leu Leu Met Leu Thr Tyr Phe Met Phe Phe Ser Asp Gly

20 25 30
 Phe Ser Arg Ser Glu Tyr Thr Glu Tyr His Tyr Asn Ile Thr Leu Phe
 35 40 45
 Lys Glu Ile Lys Arg Phe Tyr Thr Tyr Arg Glu Leu Leu Gly Met Lys
 50 55 60
 Ala Phe Leu Ile Asn Thr Val Gly Asn Val Val Cys Phe Met Pro Phe
 65 70 75 80
 Gly Phe Ile Leu Pro Ile Ile Thr Glu Leu Gly Lys Arg Trp Tyr Asn

85 90 95
 Thr Phe Leu Leu Ser Phe Leu Met Thr Phe Thr Ile Glu Thr Ile Gln
 100 105 110
 Leu Val Phe Lys Val Gly Ser Phe Asp Val Asp Asp Met Phe Leu Asn
 115 120 125
 Thr Val Gly Gly Ile Ala Gly Tyr Ile Leu Val Ile Ile Cys Lys Ala
 130 135 140

Met Arg Arg Val Phe Tyr Asp Ser Glu Thr

145 150

<210> 154

<211> 160

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 154

Met Trp Lys Lys Glu Lys Thr His Gln Lys Ile Cys Trp Ile Leu Phe

1 5 10 15

Phe Ser Tyr Leu Leu Met Leu Thr Tyr Phe Met Phe Phe Ser Asp Gly

20 25 30

Phe Gly Arg Ser Glu Tyr Thr Glu Tyr His Tyr Asn Leu Thr Leu Phe

35 40 45

Lys Glu Ile Arg Arg Phe Tyr Thr Tyr Arg Glu Leu Val Gly Thr Lys

50 55 60

Ala Phe Leu Leu Asn Ile Val Gly Asn Val Val Cys Phe Met Pro Phe

65 70 75 80

Gly Phe Ile Leu Pro Ile Ile Thr Arg Leu Gly Glu Arg Trp Leu Asn

85 90 95

Thr Leu Leu Leu Ser Phe Leu Leu Thr Leu Ser Ile Glu Thr Ile Gln

100 105 110

Leu Val Phe Arg Val Gly Ser Phe Asp Val Asp Asp Met Phe Leu Asn

115 120 125

Thr Val Gly Gly Ala Ala Gly Tyr Val Ser Val Thr Met Leu Lys Trp

130 135 140

Ile Arg Arg Ala Phe His Gly Ser Lys Asn Glu Lys Asp Phe Ile His

145 150 155 160

<210> 155

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 155

Met Ala Lys His Ser Thr Arg Asn Gln Arg Leu Gly Trp Val Leu Phe

1 5 10 15

Val Leu Tyr Leu Gly Ala Leu Phe Tyr Leu Met Phe Phe Ala Asp Met

20 25 30

Ala Glu Arg Gly Leu Gly Val Lys Glu Asn Tyr Thr Tyr Asn Leu Lys

35 40 45

Pro Phe Val Glu Ile Arg Arg Tyr Leu Phe Cys Ala Ser Gln Ile Gly

50 55 60

Phe Arg Gly Val Phe Leu Asn Leu Tyr Gly Asn Ile Leu Gly Phe Met

65 70 75 80

Pro Phe Gly Phe Ile Leu Gly Val Ile Ser Ser Arg Cys Arg Lys Tyr

85 90 95

Trp Tyr Asp Ala Val Ile Cys Thr Tyr Leu Leu Ser Tyr Ser Ile Glu

100 105 110

Met Ile Gln Leu Phe Phe Arg Ala Gly Ser Cys Asp Val Asp Asp Ile

115 120 125

Ile Leu Asn Thr Leu Gly Gly Thr Leu Gly Tyr Ile Ala Phe His Ile

130 135 140

Val Gln His Glu Arg Ile Arg Arg Tyr Phe Leu Lys His Pro Lys Lys

145 150 155 160

Lys Arg Pro Gln Gln

165

<210> 156

<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 156

Met Glu Asn Ser Gly Ala Val Leu Arg Asp Gly Cys Leu Leu Ile Asp

1 5 10 15

Gly Glu Asn Met Ile Lys Lys Thr Arg Met His Gln Lys Ile Cys Trp

20 25 30

Val Leu Phe Ile Ser Tyr Leu Val Val Leu Thr Tyr Phe Met Phe Phe

35 40 45

Ser Asp Gly Phe Gly Arg Ser Gly His Glu Glu Tyr Ala Tyr Asn Leu

50 55 60

Ile Leu Phe Lys Glu Ile Lys Arg Phe Tyr Lys Tyr Arg Glu Leu Leu

65 70 75 80

Gly Met Arg Ser Phe Leu Leu Asn Thr Val Gly Asn Val Ile Cys Phe

85 90 95

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

100 105 110

Trp Tyr Asn Thr Phe Leu Leu Ser Phe Leu Met Ser Phe Gly Ile Glu

115 120 125

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

130 135 140

Phe Leu Asn Thr Leu Gly Gly Ile Ala Gly Tyr Ile Cys Val Cys Met

145 150 155 160

Ala Lys Gly Val Arg Arg Met Ala Ser Gly Ala Ser Asp Arg

165 170

<210> 157

<211> 43

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Bacterial protein

<400> 157

Leu Cys Lys Ile Val Ala Ser Asn Phe Ser Ser Arg Ile Arg Phe Phe

1 5 10 15

Met Leu Gln Asn Ile Val Lys Asn Leu Glu Lys Val Lys Trp Leu Glu

20 25 30

Asp Ser Ser Ser Arg Phe Ser Arg Leu Lys Met

| | | |
|---|----|----|
| 35 | 40 | |
| <210> 158 | | |
| <211> 10 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> Sequence variant | | |
| <400> 158 | | |
| Phe Met Pro Phe Gly Phe Ile Leu Gly Val | | |
| 1 | 5 | 10 |
| <210> 159 | | |
| <211> 15 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> UCP2 peptide | | |
| <400> 159 | | |
| Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His | | |
| 1 | 5 | 10 |
| 15 | | |
| <210> 160 | | |
| <211> 9 | | |
| <212> PRT | | |
| < | | |
| <213> Mus musculus | | |
| <400> 160 | | |
| Val Ser Ser Val Phe Leu Leu Thr Leu | | |
| 1 | 5 | |
| <210> 161 | | |
| <211> 9 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Mus musculus | | |
| <400> 161 | | |
| Ile Asn Met Leu Val Gly Ala Ile Met | | |
| 1 | 5 | |
| <210> 162 | | |
| <211> 9 | | |
| <212> PRT | | |

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 162

Lys Pro Ser Val Phe Leu Leu Thr Leu

1 5

<210> 163

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sequence variant

<400> 163

Gly Ala Met Leu Val Gly Ala Val Leu

1 5

<210> 164

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> OVA 323-339 peptide

<400> 164

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

1 5 10 15

Arg