



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0116095
(43) 공개일자 2014년10월01일

(51) 국제특허분류(Int. C1.)
C12N 15/31 (2006.01) *C07K 14/31* (2006.01)
A61K 39/085 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-7019093
(22) 출원일자(국제) 2012년12월11일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2014년07월09일
(86) 국제출원번호 PCT/US2012/069014
(87) 국제공개번호 WO 2013/090294
국제공개일자 2013년06월20일
(30) 우선권주장
61/569,727 2011년12월12일 미국(US)

(71) 출원인
더 트러스티스 오브 더 유니버시티 오브 펜실바니아
미국 19104 펜실바니아주 필라델피아 슈트 200
캐스트너트스트리트 3160
(72) 발명자
위너, 데이비드 비
미국 19066 펜실베니아주 메리온 비컴 레인 717
모로우, 매튜 피
미국 19004 펜실베니아주 빌라 신위드 메이플 애비뉴 7
(74) 대리인
장수길, 김영

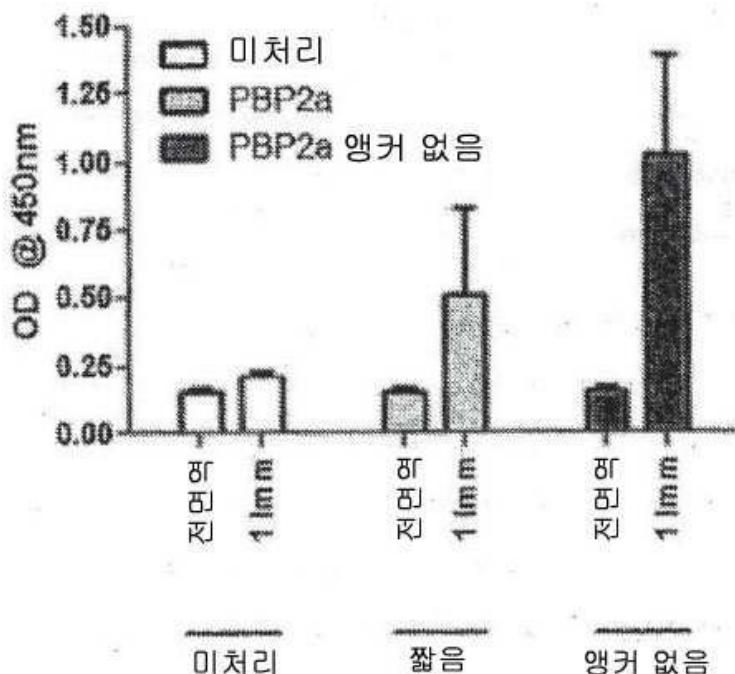
전체 청구항 수 : 총 31 항

(54) 발명의 명칭 MRSA PBP2A 및 이의 단편들을 포함하는 단백질, 이를 인코딩한 핵산, 및 MRSA 감염을 예방 및 치료하기 위한 조성물 및 그의 용도

(57) 요약

적어도 245개의 아미노산을 포함하는 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 인코딩하는 핵산 분자들이 개시되어 있다. 핵산 분자들을 포함하는 조성물들이 개시되어 있다. 적어도 245개의 아미노산을 포함하는 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 포함하는 신규 단백질들이 개시되어 있다. MRSA로 진단된 개체를 치료하는 방법들 및 개체에서 MRSA 감염을 예방하는 방법들과 마찬가지로, MRSA PBP2a에 대항하여 면역 응답을 유도하는 방법들이 개시되어 있다.

대 표 도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

적어도 245개의 아미노산을 포함하는 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 인코딩하는 핵산 분자로서, 상기 핵산 분자는,

서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 핵산 서열; 또는

서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 단편을 포함하고, 여기서 서열 번호:2의 단편에 대해 98% 상동성인 단백질의 면역원성 단편을 인코딩하는 상기 단편은 적어도 245개의 아미노산들을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 단편을 포함하고, 상기 단편은 적어도 245개의 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편에 대해 98% 상동성인 단백질의 면역원성 단편을 인코딩하는 것인, 핵산 분자.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 단편을 포함하고, 상기 단편은 적어도 245개의 아미노산들을 갖는 서열 번호:2의 면역원성 단편을 인코딩하는 것인, 핵산 분자.

청구항 4

청구항 2에 있어서, 상기 단편은 서열 번호:1의 단편인, 핵산 분자.

청구항 5

청구항 2에 있어서, 서열 번호:5를 포함하는, 핵산 분자.

청구항 6

청구항 2에 있어서, 서열 번호:3을 포함하는, 핵산 분자.

청구항 7

청구항 2에 있어서, 서열 번호:2의 단편에 대해 98% 상동성인 단백질의 면역원성 단편이 MRSA PBP2a 막전위도메인을 인코딩하는 코딩 서열들이 없는 적어도 245개의 아미노산들을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 8

청구항 2에 있어서, 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 단편에 작동 가능하게 연결된 신호 펩타이드 서열을 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 신호 펩타이드 서열이 서열 번호:13의 IgE 신호 펩타이드 서열인, 핵산 분자.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 서열 번호:11을 포함하는, 핵산 분자.

청구항 11

청구항 9에 있어서, 서열 번호:9를 포함하는, 핵산 분자.

청구항 12

서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 핵산 분자.

청구항 13

청구항 12에 있어서, 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2를 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 핵산 분자.

청구항 14

청구항 12에 있어서, 서열 번호:1을 포함하는, 핵산 분자.

청구항 15

청구항 12에 있어서, 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 핵산 서열에 작동 가능하게 연결된 신호 펩타이드 서열을 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는, 핵산 분자.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 상기 신호 펩타이드 서열이 서열 번호:13의 IgE 신호 펩타이드 서열인, 핵산 분자.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 서열 번호:7을 포함하는, 핵산 분자.

청구항 18

청구항 1 내지 17 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 분자가 플라스미드인, 핵산 분자.

청구항 19

청구항 1 내지 17 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 분자가 발현 벡터이고, 상기 하나 이상의 단백질들을 인코딩하는 서열들은 조절 요소들에 작동 가능하게 연결된 것인, 핵산 분자.

청구항 20

청구항 1 내지 17 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 분자가 바이러스 입자 내로 혼입된 것인, 핵산 분자.

청구항 21

전기 천공을 사용하여 개체에게 전달하도록 제형된, 청구항 1 내지 17 중 어느 한 항의 핵산 분자를 포함하는 조성물.

청구항 22

IL-12, IL-15 및 IL-28로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질들을 인코딩하는 핵산 서열들을 추가로 포함하는 청구항 1 내지 17 중 어느 한 항의 핵산 분자를 포함하는 조성물.

청구항 23

전기 천공을 사용하여 개체에게 전달하도록 제형되고 IL-12, IL-15 및 IL-28로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질들을 인코딩하는 핵산 서열들을 추가로 포함하는 청구항 1 내지 17 중 어느 한 항의 핵산 분자를 포함하는 조성물.

청구항 24

청구항 1 내지 17 중 어느 한 항의 핵산 분자를 개체에서 면역 응답을 유도하기에 효과적인 양으로 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, MRSA PBP2a에 반하여 면역 응답을 유도하는 방법.

청구항 25

청구항 1 내지 17 중 어느 한 항의 핵산 분자의 치료학적으로 효과적인 양을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, MRSA로 진단받은 개체를 치료하는 방법.

청구항 26

청구항 1 내지 17 중 어느 한 항의 핵산 분자의 예방학적으로 효과적인 양을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 MRSA 감염을 예방하는 방법.

청구항 27

서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 아미노산 서열을 포함하고 신호 웨타이드를 추가로 포함하는 단백질; 또는

서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 아미노산 서열 및 적어도 245개의 아미노산들을 포함하고 신호 웨타이드들을 추가로 포함하는 단백질의 면역원성 단편인 단백질로 구성된 군으로부터 선택된 단백질.

청구항 28

청구항 26에 있어서, 서열 번호:8, 서열 번호:10 또는 서열 번호:12를 포함하는 단백질.

청구항 29

청구항 27의 단백질을 포함하는 조성물을 개체에서 면역 응답을 유도하기에 효과적인 양으로 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, MRSA PBP2a에 반하여 면역 응답을 유도하는 방법.

청구항 30

청구항 27의 단백질의 치료학적으로 효과적인 양을 포함하는 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, MRSA 감염으로 진단받은 개체를 치료하는 방법.

청구항 31

청구항 27의 단백질의 예방학적으로 효과적인 양을 포함하는 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 MRSA 감염을 예방하는 방법.

명세서**기술 분야**

[0001]

본 발명은 공통 항원 MRSA PBP2a 단백질들 및 그의 단편들 및 이들을 인코딩한 핵산 분자들; 그러한 단백질들 및/또는 핵산 분자들을 포함하는 개선된 MRSA 백신들; 및 면역 반응들을 유도하고 MRSA 감염을 예방하고/예방하거나 MRSA에 의해 감염된 개체들을 치료하기 위해 백신을 이용하는 방법들에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

메티실린-민감 황색 포도상구균 (MSSA)은 황색 포도상구균의 항생제-민감 균주들 모두를 의미한다. 따라서, MSSA는 대부분의 황색 포도상구균 감염을 유발하고, 페니실린-유형 항생제로 치료될 수 있는 황색 포도상구균 (*Staph. aureus*)의 일반적인 유형을 의미한다. 이와 대조적으로, 메티실린-내성 황색 포도상구균 (MRSA)은 메티실린을 포함하는 페니실린 항생제들의 범위에 대해 내성인 황색 포도상구균의 하위 그룹을 의미한다. MRSA는 항생제 메티실린의 도입후 곧 1961년에 최초로 나타났다. MSSA와 MRSA는 모두 세포 표면들에 대한 접착 및 면역 회피/치사를 허용하는 병독성/병원성 요인들을 갖는다. MRSA와 MSSA의 병원성을 비교하기 위해 수행된 연구들은 일부 상충되는 데이터를 초래하였다. 그러나, 분명한 것은 아마도 MRSA와 MSSA 사이의 가장 현저한 차이는 메티실린에 대한 MRSA의 내성이다. MRSA의 내성은 세균의 표면 상의 페니실린-결합 단백질 2a (PBP2a) 단백질의 존재로부터 발생한다. PBP2a 단백질은 *mecA* 유전자에 의해 인코딩된다.

[0003]

MRSA (메티실린 내성 황색 포도상구균)을 포함하는 황색 포도상구균 감염은, 병원 및 기타 건강 관리 시설들,

예를 들면 요양원 및 투석 센터에 있는 사람들 사이에서 가장 빈번하게 발생한다. 이들 건강 관리-연관된 포도상구균 감염은 무엇보다도 수술 상처 감염, 요로 감염, 혈류 감염, 및 폐렴을 포함한다. MRSA는 여드름 또는 종기처럼 보일 수 있고, 발적되거나, 붓거나, 고통스러울 수 있거나 또는 고름 또는 다른 배농관을 가질 수 있는 피부 감염을 유발할 수 있다. 더욱 심각한 감염은 폐렴, 혈류 감염, 또는 수술 상처 감염을 유발할 수 있다. 심각한 MRSA 감염 (즉, 침습성)을 발현시킨 사람들의 수의 가장 최근의 추정치는 약 94,360명의 환자들이다. 대략적으로 18,650명이 심각한 MRSA 감염의 결과로서 병원에 입원한 동안 사망하였다 (~20% 사망률).

[0004] PBP2a 또는 그의 단편들을 인코딩하는 핵산 서열들을 갖는 플라스미드들을 사용하여 MRSA에 반하여 DNA 백신들을 개발하려는 시도들이 보고되어 왔다. Ohwada A, 등. *meca* 서열에 의한 DNA 백신 접종은 메티실린-내성 황색 포도상구균에 반한 항균 면역 응답을 불러 일으키고, *J Antimicrob Chemother.* 1999 Dec; 44(6):767-74, N315 MRSA 단리물로부터 클로닝된 PBP2a 단백질-인코딩 *mecA* 유전자를 포함하는 DNA 플라스미드의 근육내 주사를 기재한다. Roth DM, 등. 네이키드 DNA 백신 항-메티실린-내성 황색 포도상구균에 의해 면역화된 BALB/c 마우스들에서 체액성 면역 응답의 평가, *Genet Mol Res.* 2006 Aug 31;5(3):503-12, 및 Senna JP, 등. DNA 백신 접근법을 사용하는 쥐 모델에서 메티실린 내성 황색 포도상구균에 반한 보호성 면역 응답. 백신. 2003 Jun 2;21(19-20):2661-6 보고서 근육내 주사는 HSP-03 임상 MRSA 단리물로부터 클로닝된 *mecA* 유전자의 249개의 염기쌍 단편만을 포함하는 DNA 플라스미드를 전달하기 위해 사용되었다.

[0005] MRSA 감염을 예방 또는 치료하는데 유용한 백신에 대한 필요성이 남아있다. 백신에 흔입될 때 높은 레벨로 발현될 수 있는 MRSA PBP2a 또는 그의 단편들을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열들에 대한 필요성이 남아있음으로써 PBP2a를 발현하는 MRSA 황색 포도상구균에 반한 효과적인 면역 반응들이 유도되고, 그에 따라 감염된 개체들에서 또는 MRSA 감염에 반하는 장기간 보호의 치료 효과를 제공한다..

발명의 요약

[0007] 적어도 245개의 아미노산들을 포함하는 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 포함하는 단백질을 인코딩하는 핵산 분자들이 제공된다. 일부 구현예들에서, 상기 단백질은 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편에 연결된 신호 웨بت아이드를 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 신호 웨بت아이드는 IgE 신호 웨بت아이드이다.

[0008] 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 단편을 포함하는 핵산 분자들이 제공된다. 상기 단편은 서열 번호:2의 단편에 대해 98% 상동성이고 적어도 245개의 아미노산들을 포함하는 단백질의 면역원성 단편, 예를 들면, 적어도 245개의 아미노산들을 갖는 서열 번호:2의 면역원성 단편을 인코딩한다. 일부 구현예들에서, 상기 단편은 서열 번호:1의 단편, 예를 들면, 서열 번호:3 또는 서열 번호:5의 단편을 포함한다. 단편들은 일부 구현예들에서 MRSA PBP2a 막전위 도메인을 인코딩하는 코딩 서열들이 없다. 단편들은 일부 구현예들에서 신호 웨بت아이드 서열, 예를 들면 서열 번호:13의 IgE 신호 웨بت아이드 서열을 인코딩하는 코딩 서열에 작동 가능하게 연결되어 있다. 단편들은 일부 구현예들에서 서열 번호:9 또는 서열 번호:11을 포함한다.

[0009] 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성인 핵산 서열을 포함하고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질, 예를 들면 서열 번호:2를 포함하는 단백질을 인코딩하는 핵산 분자들이 제공된다. 일부 구현예들에서, MRSA PBP2a 단백질에 대한 합성 코딩 서열인 서열 번호:1을 포함하는 핵산 분자들이 제공된다. 핵산 코딩 서열들은 일부 구현예들에서 신호 웨بت아이드 서열, 예를 들면 서열 번호:13의 IgE 신호 웨بت아이드 서열을 인코딩하는 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된다. 핵산 분자들은 일부 구현예들에서 서열 번호:7을 포함한다.

[0010] 상기한 바와 같이 적어도 245개의 아미노산을 포함하는 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 핵산 분자들은 플라스미드들일 수 있고, 핵산 분자는 바이러스 입자, 또는 다른 발현 벡터들 내로 흔입된다.

[0011] 전기 친공을 사용하여 개체에게 전달하도록 제형된 플라스미드들 또는 다른 핵산 분자를 포함하는 조성물들이 제공된다.

[0012] IL-12, IL-15 및 IL-28로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 단백질들을 인코딩하는 핵산 서열들을 포함하는 조성물들이 제공된다.

[0013] 단백질들이 제공된다. 서열 번호:2를 포함하는 단백질들에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질들이 서열 번호:2의 단편에 대해 적어도 98% 상동성이고 적어도 245개의 아미노산들을 포함하는 단백질의 면역원성 단편을 포함하는 단백질들로서 제공된다. 일부 구현예들에서, 단백질은 서열 번호:4 또는 서열 번호:6을 포함한다.

[0014] MRSA PBP2a에 반하여 면역 응답을 유도하는 방법들이 제공된다. 일부 방법들은 적어도 245개의 아미노산을 포함하는 MRSA PBP2a 단백질, 또는 그의 단편을 인코딩하는 핵산 분자를 개체에서 면역 응답을 유도하기에 효과적인 양으로 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 방법들은 단백질을 개체에서 면역 응답을 유도하기에 효과적인 양으로 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0015] MRSA로 진단받은 개체를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 방법들은 적어도 245개의 아미노산을 포함하는 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 인코딩하는 핵산 분자들을 치료학적인 양으로 투여하는 단계를 포함한다. 일부 방법들은 치료학적으로 효과적인 양의 단백질을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0016] 개체에서 MRSA 감염을 예방하는 방법이 제공된다. 일부 방법들은 적어도 245개의 아미노산을 포함하는 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 인코딩하는 핵산 분자들을 개체에게 병을 예방하는 양으로 투여하는 단계를 포함한다. 일부 방법들은 병을 예방하는 양의 단백질을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 황색 포도상구균의 표면 상에서 별견된 바의 PBP2a 단백질을 묘사한 예시도이다. 상기 단백질은 세포막 내에 위치되는 그의 "막전위 도메인"에 의해 세포막 내에 앵커링되고 "N 말단 연장 및 비-페니실린 결합 도메인" 및 "트랜스펩티다제 도메인" 모두는 세포 외 공간에서 세포의 외부에 노출된다. 도 1은 또한 본원에 개시된 핵산 분자들에 의해 인코딩된 단백질에 포함된 PBP2a 단백질 서열들의 예들인 PBP2a 단백질의 2개의 버전의 묘사를 보여준다. "전체"로 지정된 버전은 "막전위 도메인", "N 말단 연장 및 비-페니실린 결합 도메인" 및 "트랜스펩티다제 도메인"을 포함하는 전체 길이 PBP2a 단백질을 포함한다. "앵커 없음"으로 지정된 버전은 "N 말단 연장 및 비-페니실린 결합 도메인" 및 "트랜스펩티다제 도메인"을 포함하여 전체 길이 PBP2a 단백질의 단편이다.

도 2는 "앵커 없음" PBP2a 단백질 단편을 인코딩하는 DNA 백신에 의해 면역화된 마우스들에서 PBP2a-특이적 항체들에 비교한 바 "짧은" PBP2a 단백질 단편을 인코딩하는 DNA 백신으로 면역화된 마우스들에서 PBP2a-특이적 항체들의 역가의 데이터를 보여준다.

도 3은 CMV 프로모터 및 BGH 폴리A 사이트에 작동 가능하게 연결되도록 클로닝된 PBP2a 코딩 서열들의 삽입을 갖는 중추 플라스미드의 다이어그램을 보여준다.

도 4는 BP2a 단백질의 전체 및 앵커 없음 버전들을 인코딩하는 대조군 및 구조물들로서 pVax를 사용하는 단백질 발현 레벨들을 비교하는 발현 실험들로부터의 결과를 보여준다.

도 5는 미처리/대조군 마우스들 또는 0일째 및 14일째에 전체 또는 앵커 없음 백신 마우스들로 백신 접종된 마우스들로부터 0일째, 14일째 및 28일째에 항-PBP2a IgG 역가의 복합 데이터를 보여준다.

도 6은 미처리/대조군 마우스들 (좌측)로부터 또는 0일째 및 14일째에 앵커 없음 (중앙) 또는 전체 (우측) 백신 마우스들로 백신 접종된 마우스들로부터 0일째, 14일째 및 28일째에 항-PBP2a IgG 역가의 별개의 데이터를 보여준다.

도 7은 미처리/대조군 마우스들 또는 혈청 희석액에서 IgG의 역가의 데이터의 절대점 (좌측) 및 최상의 적합한 (중앙) 그래프 및 상호 희석액에서 종말점 역가 (우측)를 사용하여 전체 또는 앵커 없음으로 백신 접종된 마우스들로부터 데이터의 비교를 보여준다.

도 8은 미처리/대조군 마우스들 또는 0일째 및 14일째에 전체 또는 앵커 없음으로 백신 접종된 마우스들로부터 IgG1 (좌측) 및 IgG2a (우측)에 대해 0일째 및 28일째에 별도의 역가를 보여준다.

도 9는 전체 또는 앵커 없음 변이체들로 피내로 (ID) 면역화된 기니 피그로부터 취한 IgG 역가를 묘사한다.

바람직한 구현예의 상세한 설명

공통 MRSA PBP2a 또는 그의 면역원성 단편을 포함하는 단백질을 인코딩하는 코딩 서열들이 제공된다. 상기 코딩 서열들은 다음: 즉, 전사를 증가시키기 위한 낮은 GC 함량의 선도 서열; mRNA 안정성 및 코돈 최적화 중의 하나 이상을 갖는 것을 포함하여 개선된 전사 및 번역을 제공하기 위한 것이고; cis-작용하는 서열 모티브들 (즉, 내부 TATA-박스들)의 가능한 정도를 제거하는 것이다. 일부 구현예들에서, 공통 MRSA PBP2a 또는 그의 면역원성 단편을 포함하는 단백질을 인코딩하는 코딩 서열들은 예를 들면 IgE 신호 웨بت아이드와 같은 신호 웨بت아이드를 인코딩하는 코딩 서열들에 작동 가능하게 연결된다. 예를 들면 IgE 신호 웨بت아이드와 같은 신호 웨بت아이드를 인코딩하는 코딩 서열들에 연결된 공통 MRSA PBP2a 또는 그의 면역원성 단편을 포함하는 단백질들이

제공된다. 개체의 세포들에서 코딩 서열들의 발현 또는 단백질들의 투여는 황색 포도상구균의 세포 표면 상의 MRSA PBP2a 단백질을 포함하여 MRSA PBP2a 단백질을 인지하는 면역 반응들을 유도한다.

본 발명의 일부 측면들에서, MRSA PBP2a에 반하는 면역 반응들은 세균의 다수의 균주들에 반하는 광범위한 면역 응답을 제공한다. 일부 구현예들에서, 단백질들은 전체-길이 MRSA PBP2a 서열들을 포함하고 MRSA PBP2a 단백질들을 인코딩하는 핵산 분자들은 전체-길이 MRSA PBP2a 서열들을 인코딩하는 코딩 서열들을 포함한다. 일부 구현예들에서, 단백질들은 MRSA PBP2a 서열들의 단편들을 포함하고 MRSA PBP2a 단백질들을 인코딩하는 핵산 분자들은 MRSA PBP2a 서열들의 단편들을 인코딩하는 코딩 서열들을 포함한다. MRSA PBP2a 단백질 서열들은 다수의 소스들, 균주들, 서브타입들, 아종들, 등으로부터 유도된 MRSA PBP2a 서열들로부터 생성될 수 있다. 일부 구현예들에서, MRSA PBP2a 서열은 다수의 MRSA PBP2a 서열들의 공통 서열인 컴퓨터 발생된 서열들이고 여기서 공통 서열은 각각의 위치에서 가장 일반적으로 발생하는 아미노산을 이용한다. 일부 구현예들에서, MRSA PBP2a는 균주들 사이에 증가된 교차 반응을 갖는 면역 반응들을 제공한다.

1. 정의

본 발명에서 사용된 용어는 단지 특정 구현예를 설명하기 위한 것이며 제한하고자 하는 것은 아니다. 명세서 및 첨부된 청구항에서 사용된 바와 같이, 단수 형태는 문맥이 달리 명확히 지시하지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다.

본원에서 수치적 범위의 설명을 위해, 동일한 정도의 정확성으로 이들 사이에 각각 개재하는 숫자가 명백하게 고려된다. 예를 들면, 6-9의 범위의 경우, 6 및 9 외에도 숫자 7 및 8이 고려되며, 범위 6.0-7.0의 경우, 숫자 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 및 7.0이 명백하게 고려된다.

a. 아쥬반트

본원에서 사용된 바와 같이 "아쥬반트"는 DNA 플라스미드 및 이하에 기재되는 핵산에 의해 인코딩된 MRSA PBP2a에 반하여 면역 반응들을 증진시키기 위해 본 발명에 기재된 DNA 플라스미드 백신에 첨가된 임의의 분자를 의미할 수 있다.

b. 항체

"항체"는 Fab, F(ab')2, Fd, 및 단쇄 항체, 디아바디, 이중특이적 항체, 이작용기 항체 및 그의 유도체를 포함하는, 클래스 IgG, IgM, IgA, IgD 또는 IgE, 또는 단편의 항체, 이의 단편 또는 유도체를 의미할 수 있다. 상기 항체는 포유동물의 혈청 샘플로부터 분리된 항체, 폴리클로날 항체, 친화도 정제된 항체, 또는 원하는 에피토프 또는 이들로부터 유래된 서열에 대해 충분한 결합 특이성을 나타내는 그의 혼합물일 수 있다.

c. 코딩 서열

본원에서 사용된 바와 같이 "코딩 서열" 또는 "인코딩 핵산"은 단백질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 (RNA 또는 DNA 분자)을 지칭하는 것을 의미할 수 있다. 상기 코딩 서열은 핵산이 투여되는 개체 또는 포유동물의 세포에서 발현을 지시할 수 있는 프로모터 및 폴리아데닐화 신호를 포함하는 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 개시 및 종료 신호를 추가로 포함할 수 있다.

d. 보체

본원에서 사용된 바와 같이 "보체" 또는 "상보적"은 핵산이 핵산 분자의 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체 사이의 윗순-크릭 (예를 들면, A-T/U 및 C-G) 또는 후그스틴 염기 짹짓기를 의미할 수 있다.

e. 공통 또는 공통 서열

본 발명에 사용된 바의 공통 또는 공통 서열은 합성 핵산 서열, 또는 대응하는 폴리펩타이드 서열을 의미하고, 다수의 MRSA 서열들에 기초하여 PBP2a 서열들의 정렬의 분석에 기초하여 구축된다. 서열 번호:2에 개시된 PBP2a 서열은 유전자은행 수탁 번호 CAA74376.1, ADC36253.1, CAH17594.1, CAL22891.1, AAF85645.1, 및 ABM66443.1 내의 서열들에 기초한다. 이들 서열들이 정렬되었고 각각의 지점에서 가장 일반적인 아미노산은 마무리된 항원들에서 사용하기 위해 선택되었다. 백신 내로 흡입되었을 때, 단백질을 인코딩하는 단백질 또는 유전자는 다수의 MRSA PBP2a 변이체들에 반하여 광범위한 면역성을 유도하기 위해 사용될 수 있다. 공통 MRSA PBP2a는 그러한 단백질들을 인코딩하는 아미노산 서열들 및 뉴클레오타이드 서열들을 포함할 수 있다.

f. 정전류

본원에서 사용된 바와 같이 "정전류"는 조직에 전달된 전기적 펄스의 지속시간 동안, 조직 또는 상기 조직을

한정하는 세포가 받거나 경험하는 전류를 정의한다. 상기 전기적 펄스는 본원에서 기재된 전기천공 장치로부터 전달된다. 본원에 제공된 전기천공 장치가 바람직하게는 즉각적인 피드백을 갖는 피드백 요소를 갖기 때문에, 이 전류는 전기적 펄스의 존재 동안 상기 조직에서 일정한 암페어수를 유지한다. 상기 피드백 요소는 펄스의 지속시간 내내 조직(또는 세포)의 저항성을 측정할 수 있고 전기천공 장치가 그의 전기적 에너지 출력을 변경하게 할 수 있어서 (예를 들면, 전압 증가), 동일한 조직 내의 전류는 전기 펄스 내내 (대략 마이크로초), 및 펄스 내내 일정하게 유지된다. 일부 구현예에서, 상기 피드백 요소는 컨트롤러를 포함한다.

g. 전류 피드백 또는 피드백

본원에서 사용된 바와 같이 "전류 피드백" 또는 "피드백"은 상호교환적으로 사용될 수 있고 제공된 전기천공 장치의 활성 반응을 의미할 수 있으며, 이는 전극 사이의 조직 내 전류를 측정하고, 전류를 일정한 수준으로 유지하기 위해 EP 장치에 의해 전달된 에너지 출력을 변경하는 것을 포함한다. 이 일정한 수준은 펄스 시퀀스 또는 전기적 처리의 개시 전에 사용자에 의해 미리 조정된다. 상기 피드백은, 내부의 전기적 회로가 전극 사이의 조직 내 전류를 지속적으로 모니터링하고 상기 모니터링된 전류 (또는 조직 내의 전류)를 미리 조정된 전류와 비교하고 상기 모니터링된 전류를 미리 조정된 수준으로 유지시키기 위해 에너지-출력을 지속적으로 조절하므로, 상기 피드백은 상기 전기천공 장치의 전기천공 성분, 예컨대 컨트롤러에 의해 달성될 수 있다. 상기 피드백 루프는, 아날로그 페루프 피드백이므로, 즉각적일 수 있다.

h. 분산된 전류

본원에서 사용된 바와 같이 "분산된 전류"는 본원에서 기재된 전기천공 장치의 다양한 바늘 전극 어레이로부터 전달된 전기적 전류의 패턴을 의미할 수 있으며, 여기서 상기 패턴은 전기천공될 조직의 임의의 영역 상에서 전기천공 관련된 열 스트레스의 발생을 최소화하거나 바람직하게는 제거한다.

i. 전기천공

본원에서 상호교환적으로 사용되는 "전기천공," "전기-투파화," 또는 "전기-동력학 향상"("EP")은 바이오-막에 현미경적 경로 (기공)를 유도하기 위해 막전위 전기장을 사용하는 것을 지칭할 수 있으며, 이들의 존재는 플라스미드, 올리고뉴클레오타이드, siRNA, 약물, 이온, 및 물과 같은 생체분자가 세포성 막의 한쪽 면으로부터 다른 쪽 면으로 지나가게 한다.

j. 피드백 기전

본원에서 사용된 바와 같이 "피드백 기전"은 소프트웨어 또는 하드웨어 (또는 펌웨어)에 의해 수행되는 공정을 지칭할 수 있고, 이 공정은 원하는 조직의 임피던스를 받고, 이를 현재의 값, 바람직하게는 전류와 비교하고(에너지의 펄스의 전달 전, 동안, 및/또는 이후), 미리조정된 값을 달성하기 위해 전달된 에너지의 펄스를 조절한다. 피드백 기전은 아날로그 페루프 회로에 의해 수행될 수 있다.

k. 단편

단편은 PBP2a에 반하여 포유 동물에서 면역 응답을 유도할 수 있는 PBP2a의 폴리펩타이드 단편을 의미할 수 있다. 이 단편은 서열 번호:2의 단편을 포함할 수 있다. 상기 단편은 서열 번호:6 또는 서열 번호:4와 같이 서열 번호:2의 다른 단편들을 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 이 단편은 서열 번호:6을 포함한다. 일부 구현예들에서, 이 단편은 서열 번호:4를 포함한다. 서열 번호:12는 서열 번호:6을 포함한다. 서열 번호:10은 서열 번호:4를 포함한다. 이 단편들은 또한 서열 번호:2에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편들을 의미한다. 단편들은 또한 서열 번호:2에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편들을 의미한다. 상기 단편은 서열 번호:6에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편 또는 서열 번호:4에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편과 같이 서열 번호:2에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 다른 단편들을 포함한다. 일부 구현예들에서, 이 단편은 서열 번호:6에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 포함한다. 일부 구현예들에서, 이 단편은 서열 번호:4에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 포함한다. 이 단편은 서열 번호:6에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편 또는 서열 번호:4에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편과 같이 서열 번호:2에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 다른 단편들을 포함한다. 일부 구현예들에서, 이 단편은 서열 번호:6에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 포함한다. 일부 구현예들에서, 이 단편은 서열 번호:4에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 포함한다.

그의 단편들은 245 이상의 길이의 아미노산들, 250 이상, 260 이상, 275 이상, 290 이상, 320 이상, 350 이상, 380 이상, 410 이상, 440 이상, 470 이상, 500 이상, 540 이상, 560 이상, 580 이상, 640 이상의 길이

또는 660 이상의 길이의 아미노산들일 수 있다. 폴리펩타이드 단편들 250 미만의 아미노산들, 255 미만, 267 미만, 283 미만, 305 미만, 335 미만, 365 미만, 395 미만, 435 미만, 455 미만, 485 미만, 520 미만, 550 미만, 570 미만, 600 미만, 650 미만, 또는 665 미만의 길이의 아미노산들일 수 있다. 단편들은 바람직하게는 막전위 도메인을 포함하지 않는다. 단편들은 바람직하게는 분자의 C 말단 부분에 대응하는 촉매 또는 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부를 포함한다. 단편들은 바람직하게는 N 말단 연장 및 비-페니실린 결합 도메인/다이머 지역의 전부 또는 일부를 포함한다. 단편들은 바람직하게는 분자의 C 말단에 대응하는 촉매 또는 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부 및 추가로 N 말단 연장 및 비-페니실린 결합 도메인/다이머 지역의 전부 또는 일부를 포함한다.

단편들은 이뮤노글로불린 신호 웨პ타이드, 예를 들면 IgE 또는 IgG 신호 웨პ타이드와 같은 신호 웨პ타이드를 추가로 포함할 수 있다. 상기 신호 웨პ타이드는 667 아미노산 PBP2a 서열 (668 아미노산들 마이너스 N 말단 Met) 또는 그의 더 작은 단편에 연결될 수 있다. 상기 신호 웨პ타이드는 667 아미노산 PBP2a 서열 (668 아미노산들 마이너스 N 말단 Met)에 대해 98% 상동성인 폴리펩타이드 또는 667 아미노산 PBP2a 서열에 대해 98% 상동성인 폴리펩타이드의 더 작은 단편에 연결될 수 있다. 상기 신호 웨პ타이드는 667 아미노산 PBP2a 서열 (668 아미노산들 마이너스 N 말단 Met)에 대해 99% 상동성인 폴리펩타이드 또는 667 아미노산 PBP2a 서열에 대해 99% 상동성인 폴리펩타이드의 더 작은 단편에 연결될 수 있다. 상동성의 정도를 계산하는데 있어서, 폴리펩타이드는 서열 번호:2 또는 그의 단편을 갖고, 어떠한 신호 웨პ타이드도 그러한 계산에 포함되지 않는다. 상기 신호 웨პ타이드의 서열들은 상동성을 결정하는데 사용되지 않는다. 따라서, 예를 들면, 서열 번호:12가 신호 웨პ타이드에 작동 가능하게 연결된 서열 번호:6을 포함하더라도, 서열 번호:12는 서열 번호:2의 단편을 포함하고, 즉, 신호 웨პ타이드가 서열 번호:6 내에 부재함에도 불구하고, 서열 번호:12는 서열 번호:2의 단편에 대해 100% 상동성인 폴리펩타이드를 포함한다. 따라서, 서열 번호:2의 단편에 대해 적어도 98% 상동성인 폴리펩타이드의 단편들을 포함하는 단백질들은 폴리펩타이드의 단편들이 적어도 245개의 아미노산들인 서열 번호:2의 단편에 대해 적어도 98% 상동성이고 예를 들면, 신호 웨პ타이드에 임의로 연결될 수 있는 것인 단백질을 의미하도록 의도된다.

"단편"은 또한 서열 번호:2의 단편들을 인코딩하는 핵산 단편 및 서열 번호:2에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드들의 단편들을 포함하여 상기한 바의 PBP2a 단편을 인코딩하는 핵산 단편을 의미할 수 있다. 단편은 서열 번호:2의 단편을 포함하는 단백질을 인코딩하는 핵산 단편을 의미할 수 있다. 상기 단편은 서열 번호:6 또는 서열 번호:4와 같은 다른 서열 번호:2의 단편을 포함하는 서열 번호:2의 단편을 포함하는 단백질을 인코딩하는 핵산 단편을 의미할 수 있다. 일부 구현예들에서, 상기 단편은 서열 번호:12와 같이 서열 번호:6을 포함하는 단백질을 인코딩하는 핵산 단편이다. 일부 구현예들에서, 상기 단편은 서열 번호:10과 같이 서열 번호:4를 포함하는 단백질을 인코딩하는 핵산 단편이다. "단편들"은 또한 서열 번호:2에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산 단편을 의미한다. 단편들은 또한 서열 번호:2에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편들을 인코딩하는 핵산 단편을 의미한다. 상기 단편은 서열 번호:6에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산 단편 또는 서열 번호:4에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편과 같이 서열 번호:2에 대해 98% 이상 상동성인 다른 폴리펩타이드의 단편들을 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 상기 단편은 서열 번호:6에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산 단편을 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 단편은 서열 번호:4에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산 단편을 포함한다. 상기 단편은 서열 번호:6에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산 단편 또는 서열 번호:4에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편과 같이 서열 번호:2에 대해 99% 이상 상동성인 다른 폴리펩타이드의 단편들을 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 상기 단편은 서열 번호:6에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산 단편을 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 단편은 서열 번호:4에 대해 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산 단편을 포함한다. 본원에 사용된 바의 "단편"은 포유 동물에서 항-PBP2a 면역 응답을 유도할 수 있는 폴리펩타이드를 인코딩하는 부분 또는 핵산을 의미할 수 있다.

서열 번호:2의 단편들을 인코딩하는 핵산 단편들 및 서열 번호:2에 대해 98% 이상 상동성인 폴리펩타이드들의 단편들을 포함하여 상기한 바의 PBP2a 단편을 인코딩하는 핵산 단편들은 서열 번호:1의 단편들에 대해 98% 이상 상동성이다. 핵산 단편들은 바람직하게는 서열 번호:1의 단편들이다. 따라서, 핵산 분자 단편들은 서열 번호:1의 단편들에 대해 98% 이상 상동성이고 서열 번호:2의 단편들에 대해 98% 이상 상동성인 단백질들을 인코딩한다. 따라서, 핵산 분자 단편들은 바람직하게는 서열 번호:1의 단편들에 대해 99% 이상 상동성이다. 핵산 분자 단편들은 바람직하게는 서열 번호:2의 단편들에 대해 99% 이상 상동성인 단백질들을 인코딩한다. 따라서, 핵산 분자 단편들은

서열 번호:1의 단편들에 대해 99% 이상 상동성이고 서열 번호:2의 단편들에 대해 99% 이상 상동성인 단백질들을 인코딩한다. 핵산 분자 단편들은 바람직하게는 서열 번호:2의 단편들에 대해 99% 이상 상동성인 단백질들을 인코딩한다. 핵산 분자 단편들은 바람직하게는 서열 번호:2의 단편들을 인코딩한다. 핵산 분자 단편들은 바람직하게는 서열 번호:6을 포함하는 서열 번호:2의 단편들을 인코딩한다. 핵산 분자 단편들은 서열 번호:6을 포함하는 서열 번호:2의 단편들을 인코딩할 수 있다. 핵산 분자 단편들은 서열 번호:4를 포함하는 서열 번호:2의 단편들을 인코딩할 수 있다. 핵산 분자 단편들은 서열 번호:5를 포함할 수 있다. 핵산 분자는 서열 번호:3을 포함할 수 있다.

핵산 분자 단편들은 245 이상 길이의 아미노산들, 250 이상, 260 이상, 275 이상, 290 이상, 320 이상, 350 이상, 380 이상, 410 이상, 440 이상, 470 이상, 500 이상, 540 이상, 560 이상, 580 이상, 640 이상의 길이 또는 660 이상의 길이의 아미노산인 PBP2a의 단편들을 인코딩한다. 그의 단편들은 서열 번호:9와 같은 서열 번호:5를 포함할 수 있다. 그의 단편들은 서열 번호:11과 같은 서열 번호:7을 포함할 수 있다. 서열 번호:1의 단편들 또는 서열 번호:2의 단편을 인코딩하는 단편 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성인 뉴클레오타이드 서열의 단편들 또는 단편 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 폴리펩타이드의 단편은 245 이상의 길이의 아미노산들, 250 이상, 260 이상, 275 이상, 290 이상, 320 이상, 350 이상, 380 이상, 410 이상, 440 이상, 470 이상, 500 이상, 540 이상, 560 이상, 580 이상, 640 이상의 길이 또는 660 이상의 길이의 아미노산인 PBP2a의 단편들을 인코딩할 수 있다. 서열 번호:1의 단편들 또는 서열 번호:2의 단편을 인코딩하는 단편 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성인 뉴클레오타이드 서열의 단편들 또는 단편 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 폴리펩타이드의 단편은 250 미만의 아미노산들, 255 미만, 267 미만, 283 미만, 305 미만, 335 미만, 365 미만, 395 미만, 435 미만, 455 미만, 485 미만, 520 미만, 550 미만, 570 미만, 600 미만, 650 미만, 또는 665 미만의 길이의 아미노산들이다. 서열 번호:1의 단편들 또는 서열 번호:2의 단편을 인코딩하는 단편 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성인 뉴클레오타이드 서열의 단편 또는 단편 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 폴리펩타이드의 단편은 735 이상의 길이의 뉴클레오타이드들, 750 이상, 780 이상, 825 이상, 870 이상, 960 이상, 1050 이상, 1140 이상, 1230 이상, 1320 이상, 1410 이상, 1500 이상, 1620 이상, 1680 이상, 1740 이상, 1920 이상의 길이 또는 1980 이상의 길이의 뉴클레오타이드들일 수 있다. 서열 번호:1의 단편들 또는 서열 번호:2의 단편을 인코딩하는 단편 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성인 뉴클레오타이드 서열의 단편 또는 단편 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 폴리펩타이드의 단편은 750 미만의 길이의 뉴클레오타이드들, 765 미만, 800 미만, 850 미만, 915 미만, 1000 미만, 1100 미만, 1200 미만, 1300 미만, 1350 미만, 1550 미만, 1600 미만, 1650 미만, 1700 미만, 1800 미만, 1950 미만, 또는 1995 미만의 길이의 뉴클레오타이드들일 수 있다. 단편들은 바람직하게는 막전위 도메인을 인코딩하지 않는다. 단편들은 바람직하게는 상기 단백질의 C 말단 부분에 대응하는 촉매 또는 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부를 인코딩한다. 단편들은 바람직하게는 단백질의 C 말단 부분에 대응하는 촉매 또는 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부 및 추가로 N 말단 연장 및 비-페니실린 결합 도메인/다이머 지역의 전부 또는 일부를 인코딩한다.

DNA 단편들은 이뮤노글로불린 신호 웨بت아이드, 예를 들면 IgE 또는 IgG 신호 웨بت아이드와 같은 신호 웨بت아이드를 인코딩하는 코딩 서열들을 포함할 수 있다. 상기 신호 웨بت아이드를 인코딩하는 코딩 서열들은 667 아미노산 PBP2a 서열 (668 아미노산들 마이너스 N 말단 Met) 또는 그의 더 작은 단편을 인코딩하는 코딩 서열들에 연결될 수 있다. 상기 신호 웨بت아이드를 인코딩하는 코딩 서열들은 667 아미노산 PBP2a 서열 (668 아미노산들 마이너스 N 말단 Met)에 대해 적어도 98% 상동성인 폴리펩타이드를 인코딩하는 코딩 서열들 또는 667 아미노산 PBP2a 서열에 대해 적어도 98% 상동성인 폴리펩타이드의 더 작은 단편에 연결될 수 있다. 상기 신호 웨بت아이드를 인코딩하는 코딩 서열들은 667 아미노산 PBP2a 서열 (668 아미노산들 마이너스 N 말단 Met)에 대해 적어도 99% 상동성인 폴리펩타이드를 인코딩하는 코딩 서열들 또는 667 아미노산 PBP2a 서열에 대해 적어도 99% 상동성인 폴리펩타이드의 더 작은 단편에 연결될 수 있다. 상기 코딩 서열들은 서열 번호:1의 단편에 대해 적어도 98% 상동성이고, 바람직하게는 서열 번호:1의 단편에 대해 적어도 99% 이상 상동성이다. 상기 코딩 서열들은 바람직하게는 서열 번호:1의 단편에 대해 100% 상동성이고, 즉 이들은 서열 번호:1의 단편이다. 웨بت아이드 서열에 대한 서열 번호:2 또는 그의 단편에 대한 상동성의 정도의 계산을 기재하는데 있어서 상기한 바와 같이, 코딩 서열들에 대한 상동성의 정도의 계산은 그러한 계산에 신호 웨بت아이드를 인코딩하는 코딩 서열들을 포함하지 않는다. 상기 신호 웨بت아이드의 서열들은 코딩 서열들과 서열 번호:1의 단편들 사이의 상동성을 결정하는데 사용되지 않는다. 따라서, 예를 들면, 서열 번호:11이 신호 웨بت아이드에 작동 가능하게 연결된 서열 번호:5를 포함하더라도, 서열 번호:11은 서열 번호:1의 단편을 포함하고, 즉, 신호 웨بت아이드를 인코딩하는 서열 번호:11 내의 코딩 서열이 서열 번호:1에 포함되지 않는다는 사실에도 불구하고, 서열 번호:11은 서열 번

호:1의 단편에 대해 100% 상동성인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 따라서, 서열 번호:1의 단편에 대해 적어도 98% 상동성인 핵산 서열의 단편들을 포함하는 핵산 분자들은 서열 번호:1의 단편에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2의 단편에 대해 적어도 98% 상동성인 적어도 245개의 아미노산들을 인코딩하는 핵산 서열의 단편들을 포함하고, 예를 들면, 신호 펩타이드의 코딩 서열들에 임의로 연결될 수 있는 핵산 분자들을 의미하도록 의도된다.

1. 동일한

둘 이상의 핵산 또는 폴리펩타이드 서열의 문맥에서 본원에서 사용된 바와 같이, "동일한" 또는 "동일성"은 상기 서열이 지정된 영역에 대해 동일한 지정된 백분율의 잔기를 갖는다는 것을 의미할 수 있다. 상기 백분율은 두 서열을 최적으로 정렬하고, 지정된 영역에 대해 두 서열을 비교하고, 두 서열에서 동일한 잔기가 발생하는 위치의 수를 결정하여 일치된 위치의 수를 산출하고, 상기 일치된 위치의 수를 지정된 영역 내의 위치의 총 수로 나누고, 상기 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산될 수 있다. 두 서열이 상이한 길이이거나 상기 정렬이 하나 이상의 엇갈린(staggered) 말단을 생성하고 비교하는 상기 지정된 영역이 단지 하나의 서열을 포함하는 경우, 하나의 서열의 잔기들이 분모에 포함되지만 계산의 분자에 포함되지 않는다. DNA 및 RNA를 비교할 때, 티민 (T) 및 우라실 (U)은 동등한 것으로 간주될 수 있다. 동일성은 수작업으로 또는 BLAST 또는 BLAST 2.0과 같은 컴퓨터 서열 알고리즘을 이용하여 수행될 수 있다.

m. 임피던스

본원에서 사용된 바와 같이 "임피던스"는 피드백 기전을 논의할 때 사용될 수 있으며, 옴 법칙에 따라 전류값으로 변환될 수 있어서 미리 조정된 전류와 비교할 수 있다.

n. 면역 반응

본원에서 사용된 바와 같이 "면역 반응"은 제공된 DNA 플라스미드 백신을 통해 MRSA PBP2a 단백질의 도입에 반응한, 숙주의 면역계의 활성화, 예컨대 포유동물의 면역계의 활성화를 의미할 수 있다. 상기 면역 반응은 세포성 또는 체액성 반응, 또는 둘 모두의 형태일 수 있다.

o. 핵산

본원에 사용된 바와 같이 "핵산" 또는 "올리고뉴클레오타이드" 또는 "폴리뉴클레오타이드"는 함께 공유결합된 적어도 2개의 뉴클레오타이드를 의미할 수 있다. 단일 가닥의 묘사는 또한 상보적 가닥의 서열을 정의한다. 따라서, 핵산은 또한 묘사된 단일 가닥의 상보적 가닥을 포함한다. 핵산의 많은 변이체들이 주어진 핵산과 동일한 목적을 위해 사용될 수 있다. 따라서, 핵산은 또한 실질적으로 동일한 핵산 및 이의 보체를 포함할 수 있다. 단일 가닥은 염격한 혼성화 조건 하에서 표적 서열에 혼성화할 수 있는 프로브를 제공한다. 따라서, 핵산은 또한 염격한 혼성화 조건 하에서 혼성화하는 프로브를 포함한다.

핵산은 단일가닥 또는 이중가닥이거나, 이중가닥 및 단일가닥 서열의 일부를 함유할 수 있다. 상기 핵산은 DNA, 게놈 및 cDNA 모두, RNA, 또는 하이브리드일 수 있으며, 여기서 핵산은 데옥시리보- 및 리보-뉴클레오타이드의 조합, 및 우라실, 아데닌, 티민, 시토신, 구아닌, 이노신, 잔틴 하이포잔틴, 이소시토신 및 이소구아닌을 포함하는 염기들의 조합을 함유할 수 있다. 핵산은 화학적 합성 방법 또는 재조합 방법에 의해 수득될 수 있다.

p. 작동가능하게 연결된

본원에서 사용된 바와 같이 "작동가능하게 연결된"은 유전자의 발현이 그것이 공간적으로 연결된 프로모터의 제어 하에 있는 것을 의미한다. 프로모터는 그의 제어 하에 있는 유전자의 5' (상류) 또는 3' (하류)에 위치할 수 있다. 프로모터와 유전자 간의 거리는 프로모터가 유도된 유전자 내에서 그것이 제어하는 프로모터와 유전자 간의 거리와 대략 동일할 수 있다. 당해기술에 공지된 바와 같이, 이 거리의 변화는 프로모터 기능의 손실 없이 조절될 수 있다.

q. 프로모터

본원에서 사용된 바와 같이 "프로모터"는 세포에서 핵산의 발현을 부여하거나, 활성화하거나 향상시킬 수 있는 합성 또는 천연적으로-유도된 분자를 의미할 수 있다. 프로모터는 발현을 더 향상시키고/거나 이의 공간 발현 및/또는 일시적 발현을 변경하는 하나 이상의 특이적 전사 조절 서열을 포함할 수 있다. 프로모터는 또한 원위(distal) 인핸서 또는 억제자 요소를 포함할 수 있고, 이는 전사 개시 부위로부터 수천 염기쌍 정도에 위치할 수 있다. 프로모터는 바이러스, 박테리아, 진균, 식물, 곤충, 및 동물을 포함하는 공급원으로부터 유

래될 수 있다. 프로모터는 발현이 일어나는 세포, 조직 또는 장기와 관련하여, 또는 발현이 일어나는 발달 단계와 관련하여, 또는 생리적 스트레스, 병원체, 금속 이온, 또는 유도제와 같은 외부 자극에 대한 반응으로, 항시적으로, 또는 차별적으로 유전자 구성요소의 발현을 조절할 수 있다. 프로모터의 대표적인 예는 박테리오파아지 T7 프로모터, 박테리오파아지 T3 프로모터, SP6 프로모터, lac 오퍼레이터-프로모터, tac 프로모터, SV40 후기 프로모터, SV40 초기 프로모터, RSV-LTR 프로모터, CMV IE 프로모터, SV40 초기 프로모터 또는 SV40 후기 프로모터 및 CMV IE 프로모터를 포함한다.

r. 신호 웨타이드

신호 웨타이드는 짧은 웨타이드 서열, 일반적으로 50개 미만의 아미노산 길이의 서열에 관한 것으로, 이는 그것이 혼입될 때 단백질의 수송을 지시한다. 신호 웨타이드들은 일반적으로 N 말단에서 단백질에 연결되어 있고 신호 웨타이드를 인코딩하는 코딩 서열들은 종종 개시 코돈에 의해 인코딩된 N 말단 메티오닌을 인코딩하는 개시 코돈을 포함한다. 신호 웨타이드들은 세포 내의 수송을 위한 단백질을 표적화하고 단백질이 세포에 의해 분비되거나 그렇지 않으면 세포 외 환경 내로 세포에 의해 앞뒤로 방출을 표적화하도록 단백질 상의 신호 웨타이드의 존재가 분비 경로를 통한 수송을 위해 단백질을 표적화하는 분비 경로에 연관된다. 일부 구현 예들에서, 신호 웨타이드는 IgG 또는 IgE 신호 웨타이드 등의 이뮤노글로불린 신호 웨타이드이다. 신호 웨타이드의 코딩 서열들의 단백질의 코딩 서열들로의 첨가는 일반적으로 단백질의 코딩 서열의 개시 코돈의 위치에 개시 코돈을 포함하는 신호 웨타이드의 코딩 서열들의 삽입을 의미한다. 즉, 신호 웨타이드의 코딩 서열들의 단백질의 코딩 서열로의 삽입은 단백질의 코딩 서열의 개시 코돈의 제거 및 개시 코돈을 포함하는 신호 웨타이드의 코딩 서열들의 삽입과 관련이 있다. 따라서, 그에 의해 인코딩된 단일 웨타이드 플러스 단백질에서, 본래 단백질 서열의 아미노산 서열의 위치 1에서 메티오닌은 위치 1에서 메티오닌을 갖는 신호 웨타이드의 아미노산 서열로 대체된다.

s. 염격한 혼성화 조건

본원에서 사용된 바와 같이 "염격한 혼성화 조건"은 핵산의 복합 혼합물에서와 같이, 제1 핵산 서열 (예를 들면, 프로브)이 제2 핵산 서열 (예를 들면, 표적)에 혼성화하는 조건을 의미할 수 있다. 염격한 조건은 서열-의존적이며 상이한 상황에서 상이할 것이다. 염격한 조건은 규정된 이온 강도 pH에서 특정 서열에 대한 열 용융점 (T_m)보다 약 5-10 °C 더 낮도록 선택될 수 있다. T_m 은 표적에 상보적인 프로브 중 50%가 평형에서 표적 서열에 혼성화하는(표적 서열이 T_m 에서 과잉으로 존재하기 때문에, 프로브 중 50%가 평형에서 점거됨) 온도 (규정된 이온 강도, pH, 및 핵산 농도 하에)일 수 있다. 염격한 조건은 염 농도가 pH 7.0 내지 8.3에서 약 0.01-1.0 M 나트륨 이온 농도 (또는 다른 염)과 같이, 약 1.0 M 미만의 나트륨 이온 미만이고, 온도가 짧은 프로브 (예를 들면, 약 10-50 뉴클레오타이드)의 경우 적어도 약 30 °C이고 긴 프로브 (예를 들면, 약 50 뉴클레오타이드 초과)의 경우 적어도 약 60 °C인 조건일 수 있다. 염격한 조건은 또한 포름아미드와 같은 탈안정화제의 첨가로 달성될 수 있다. 선택적 또는 특이적 혼성화를 위해, 양성 신호가 배경 혼성화의 적어도 2 내지 10배일 수 있다. 예시적인 염격한 혼성화 조건은 하기를 포함한다: 65 °C에서 0.2x SSC, 및 0.1% SDS에서 세척과 함께, 50% 포름아미드, 5x SSC, 및 1% SDS, 42°C에서 배양, 또는, 5x SSC, 1% SDS, 65 °C에서 배양.

t. 실질적으로 상보적

본원에서 사용된 바와 같이 "실질적으로 상보적"은 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 또는 그 이상의 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 영역에 대해 제1 서열이 제2 서열의 보체에 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 또는 상기 두 서열이 염격한 혼성화 조건 하에서 혼성화하는 것을 의미할 수 있다.

u. 실질적으로 동일한

본원에서 사용된 바와 같이 "실질적으로 동일한"은, 만약 제1 서열이 제2 서열의 보체에 실질적으로 상보적이면, 제1 및 제2 서열이 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 또는 그 이상의 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 영역에 대해 또는 핵산에 대해, 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다는 것을 의미할 수 있다.

v. 변이체

핵산과 관련하여 본원에 사용된 "변이체"는 (i) 참조된 뉴클레오타이드 서열의 일부 또는 단편; (ii) 참조된 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 일부의 보체; (iii) 참조된 핵산 또는 이의 보체와 실질적으로 동일한 핵산; 또는 (iv) 참조된 핵산, 이의 보체, 또는 이에 실질적으로 동일한 서열에 염격한 조건 하에서 혼성화하는 핵산을 의미할 수 있다.

펩타이드 또는 폴리펩타이드에 대한 "변이체"는 아미노산의 삽입, 결실, 또는 보존적 치환에 의해 아미노산 서열이 상이하지만, 적어도 하나의 생물학적 활성을 유지한다. 변이체는 또한 적어도 하나의 생물학적 활성을 보유하는 아미노산을 갖는 참조된 단백질과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 단백질을 의미할 수 있다. 아미노산의 보존적 치환, 즉, 아미노산을 유사한 특성(예를 들면, 친수성, 전하를 띠는 영역의 정도 및 분포)의 상이한 아미노산으로 치환하는 것은 전형적으로 사소한 변화를 수반하는 것으로 당해 기술분야에서 인식된다. 이들 사소한 변화는 당해 기술분야에서 이해되는 바와 같이, 아미노산의 수치료법 지수(hydropathic index)를 고려함으로써, 일부 확인될 수 있다(Kyte 등, *J. Mol. Biol.* 157:105-132 (1982)). 상기 아미노산의 수치료법 지수는 그의 소수성 및 전하의 고려에 기초한다. 유사한 수치료법 지수의 아미노산이 치환될 수 있고 여전히 단백질 기능을 보유한다는 것이 당해기술분야에 공지되어 있다. 일 측면에서, ±2의 수치료법 지수를 갖는 아미노산이 치환된다. 아미노산의 친수성은 또한 생물학적 기능을 보유하는 단백질을 야기할 치환을 밝히는데 사용될 수 있다. 펩타이드의 문맥에서 아미노산의 친수성의 고려는 항원성 및 면역원성과 상관관련이 있다고 보고된 유용한 수단인 상기 펩타이드의 가장 큰 국소적 평균 친수성의 계산을 가능하게 한다. 완전히 참고로 본원에 통합된, 미국 특허 제4,554,101호. 유사한 친수성 값을 갖는 아미노산의 치환은, 당해 기술분야에서 이해되는 바와 같이, 생물학적 활성, 예를 들면 면역원성을 보유하는 펩타이드를 야기할 수 있다. 치환은 서로 ±2 이내의 친수성 값을 갖는 아미노산을 이용하여 수행될 수 있다. 아미노산의 소수성 지수 및 친수성 값을 갖는 상기 아미노산의 특정한 측쇄에 의해 영향을 받는다. 상기 관찰과 일치하게도, 생물학적 기능과 양립가능한 아미노산 치환은 아미노산의 상대적 유사성, 및 특히 소수성, 친수성, 전하, 크기, 및 다른 특성에 의해 밝혀진 바와 같이, 상기 아미노산의 측쇄에 좌우되는 것으로 이해된다.

w. 벡터

본원에 사용된 "벡터"는 복제 기점을 함유하는 핵산 서열을 의미할 수 있다. 벡터는 플라스미드, 박테리오파아지, 박테리아 인공 염색체 또는 효모 인공 염색체일 수 있다. 벡터는 DNA 또는 RNA 벡터일 수 있다. 벡터는 자가-복제 염색체와 벡터 또는 호스트 세포 내로 통합되는 벡터 중 하나일 수 있다.

2. PBP2a 단백질

여러가지 아미노산 서열 PBP2a 단백질은 예를 들면 수탁 번호들 NP_370565.1, ZP_06791480.1, BAG06200.1, AAX14397.1, YP_184944.1, BAK53145.1, ADC53332.1, BAE75884.1, ZP_07362739.1, ADC53314.1, CAL22891.1, CBI47957.1, CAH17594.1, CAA74376.1, ADC36253.1, ADV68980.1, ADV68968.1, AAF85645.1, 및 ABM66443.1. MRSA PBP2a 단백질을 갖는 것들과 같이 유전자은행에 개시되어 있다. 다양하게 보고된 서열들은 약간의 변형들을 갖지만, 약간의 차이가 상이한 균주들과 단리물들 사이에 존재하더라도 단백질의 길이는 일반적으로 667 아미노산들이다. 본원에 사용된 바와 같이, 편의상 PBP2a 단백질은 시작 코돈에 의해 인코딩된 N 말단 메티오닌을 포함하는 668 아미노산 단백질로 지칭된다. 본원에 나타낸 바의 상이한 도메인들의 번호 매김은 유전자은행 수탁 번호들 CAA74376.1, ADC36253.1, CAH17594.1, CAL22891.1, AAF85645.1, 및 ABM66443.1에서 서열들에 기초한 공통 서열로서 상기 언급된 전체 길이 PBP2a 서열인 아미노산 서열 번호:2를 의미한다.

전체 길이 PBP2a 단백질은 도 1에 묘사된 3개의 도메인들을 갖는 세포 표면 단백질이다. 도 1의 좌측은 세포막 내의 "막전위 도메인" 및 세포 외 공간의 세포의 외부 상에 노출된 "N 말단 연장 및 비-페니실린 결합 도메인" 및 "트랜스펩티다제 도메인" 모두에 의해 세포 막에서 앵커링된 PBP2a 단백질의 묘사를 보여준다. 도 1의 우측은 본원의 구조물들에 의해 인코딩된 단백질의 "전체" 및 "앵커 없음" 버전들의 묘사를 보여준다. 상기 "전체"는 "막전위 도메인", "N 말단 연장 및 비-페니실린 결합 도메인" 및 "트랜스펩티다제 도메인"을 포함하는 한편, "앵커 없음"은 "N 말단 연장 및 비-페니실린 결합 도메인" 및 "트랜스펩티다제 도메인"을 포함한다. 단백질의 N 말단에 있고 세포 막에서 단백질에 앵커링되는 상기 막전위 도메인 아미노산들 1-23에 대응한다. 아미노산들 27-326은 비-페니실린 결합 도메인으로서 지칭되고 N 말단 연장으로서 지칭되는 아미노산들 27-138을 포함한다. 아미노산들 327-668은 트랜스펩티다제 또는 촉매 도메인으로서 지칭된다. 아미노산들 24-140은 또한 MecA_N 지역 또는 "NTF2-형 N-말단 트랜스펩티다제 도메인"으로 지칭된다. 아미노산들 136-667은 또한 FtsI 지역으로 지칭되고, PBP 다이머 지역 또는 "페니실린-결합 단백질 이량체화 도메인"으로 지칭되는 아미노산들 147-310 및 트랜스펩티다제 지역 또는 "트랜스펩티다제 도메인"으로 지칭되기도 하는 아미노산들

345-658을 포함한다.

본원에 제공된 것은 MRSA PBP2a에 반하여 포유 동물에서 면역 응답을 유도할 수 있는 공통 MRSA PBP2a 단백질이다. 일부 구현예들에서, 상기 MRSA PBP2a 단백질은 다음: 즉, MRSA PBP2a 전체 길이 (서열 번호:2), 또는 적어도 245 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2에 나타낸 MRSA PBP2a 전체 길이 서열의 단편들로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 단백질들일 수 있다. 또한, 상기 MRSA PBP2a 단백질은 서열 번호:2에 대해 98% 상동성일 수 있거나 또는 그것은 서열 번호:2의 단편에 대해 98% 상동성인 단백질의 단편일 수 있다. 서열 번호:2는 668 공통 서열 중의 667을 개시한다. 개시 코돈에 의해 인코딩된 N 말단 메티오닌은 서열 번호:2에 나타나지 않는다. 그러나, 일부 구현예들의 경우에, 어떠한 신호 펩타이드도 포함되지 않을 것으로 예상된다. 따라서, 서열 번호:1 내의 코딩 서열은 개시 코돈을 구비할 수 있고 폴리펩타이드 서열은 그에 따라 N 말단 메티오닌을 갖는 서열 번호:2를 포함할 수 있다. 따라서, 이러한 개시의 목적을 위해, 개시 코돈 (ATG)을 갖는 서열 번호:1을 포함하는 핵산 분자가 개시되도록 의도되고, 마찬가지로 N 말단 메티오닌을 갖는 서열 번호:2를 포함하는 폴리펩타이드가 의도된다. 단편들 및 그의 상동성 변이체는 또한 뉴클레오타이드 서열들 및 아미노산 서열들에서 개시 코돈 (ATG) 및 N 말단 메티오닌을 갖는 것으로서 본원에 기재되도록 의도된다. 따라서, 예를 들면, 서열 번호:3 및 서열 번호:5와 같은 서열 번호:1의 단편들, 또는 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성인 핵산 서열들의 단편들은 개시 코돈 (ATG)을 추가로 포함하는 것으로서 개시되도록 의도된다. 마찬가지로, 서열 번호:4 및 서열 번호:6과 같은 서열 번호:2의 단편들, 또는 서열 번호:2에 적어도 8% 상동성인 단편들은 N 말단 메티오닌을 추가로 포함하는 것으로서 개시되도록 의도된다. 마찬가지로, 서열 번호:4 및 서열 번호:6과 같은 서열 번호:2의 단편들, 또는 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단편들은 N 말단 메티오닌을 추가로 포함하는 것으로서 개시되도록 의도된다.

일부 구현예들에서, 상기 항원은 신호 펩타이드 서열의 펩타이드를 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 상기 항원은 서열 번호:13에 나타낸 바의 IgE 신호 펩타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 상기 항원은 "전체" 서열 번호:8을 포함할 수 있고, 이는 그의 N 말단에서 IgE 신호 펩타이드 서열 (서열 번호:13)에 연결된 MRSA PBP2a 전체 길이 (서열 번호.2)로 구성되어 있다.

서열 번호:2에 나타낸 MRSA PBP2a 전체 길이 서열의 단편들은 적어도 245 아미노산들을 포함한다. 일부 구현예들에서, 본원에 나타낸 단편들은 신호 펩타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 나타낸 단편들은 서열 번호:13에 나타낸 바의 IgE 신호 펩타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 상기 항원은 "앵커 없음" 서열 번호:10을 포함할 수 있고, 이는 그의 N 말단에서 IgE 신호 펩타이드 서열 (서열 번호:13)에 연결된 서열 번호:4를 갖는 MRSA PBP2a의 단편으로 구성되어 있다. 일부 구현예들에서, 상기 항원은 "짧은" 서열 번호:12를 포함할 수 있고, 이는 그의 N 말단에서 IgE 신호 펩타이드 서열 (서열 번호:13)에 연결된 서열 번호:6을 갖는 MRSA PBP2a의 단편으로 구성되어 있다.

일부 구현예들에서, 단편들은 MRSA PBP2a 막전위 도메인 (아미노산들 1-23)을 포함하지 않는다. 일부 구현예들에서, 단편들은 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인 (아미노산들 327-668)의 전부 또는 일부 또는 이 지역으로부터 적어도 245 아미노산 서열들을 포함한다. 일부 구현예들에서, 단편들은 아미노산들 345-658을 포함하는 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부 또는 이 지역으로부터 적어도 245 아미노산 서열들을 포함한다. 일부 구현예들에서, 단편들은 전체 길이 서열의 대부분의 C 말단 지역의 적어도 245 아미노산 서열들을 포함한다. 일부 구현예들에서, 단편들은 전체 길이 서열의 275개의 대부분의 C 말단 지역 (아미노산들 393-668) 중의 적어도 245 아미노산 서열들 (즉 아미노산들 393-638로부터 아미노산들 423-668 및 사이에 있는 모든 단편들에 걸침)을 포함한다. 일부 구현예들에서, 단편들은 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인 (아미노산들 327-668)의 전부 또는 일부, 또는 이 지역으로부터 적어도 300 아미노산 서열들을 포함한다. 일부 구현예들에서, 단편들은 아미노산들 345-658을 포함하는 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부, 또는 이 지역으로부터 적어도 300 아미노산 서열들을 포함한다. 일부 구현예들에서, 단편들은 전체 길이 서열의 대부분의 C 말단 지역의 적어도 340 아미노산 서열들을 포함한다. 일부 구현예들에서, 단편들은 전체 길이 서열의 400개의 대부분의 C 말단 지역 (아미노산들 268-668)의 적어도 340 아미노산 서열들 (즉 아미노산들 268-608로부터 아미노산들 328-668 및 사이에 있는 모든 단편들에 걸침)을 포함한다. 일부 구현예들에서, 본원에 나타낸 단편들은 신호 펩타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 나타낸 단편들은 서열 번호:13에 나타낸 바의 IgE 신호 펩타이드 서열을 포함할 수 있다.

일부 구현예들에서, 단편들은 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인 (아미노산들 327-668)의 전부 또는 일부 및 비-페니실린 결합 도메인 (아미노산들 27-326)의 전부 또는 일부를 포함한다. 일부 구현예들에서, 단편들은 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부 및 아미노산들을 포함하는 비-페니실린 결합 도메인의

전부 또는 일부를 포함하는 적어도 400 아미노산 서열들을 포함하고, 일부 구현예들에서 추가로 막전위 도메인 (아미노산들 1-23의 대부분 또는 전부)이 없다. 일부 구현예들에서, 단편들은 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부 및 아미노산들을 포함하여 비-페니실린 결합 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 적어도 450 아미노산 서열들을 포함하고, 일부 구현예들에서 추가로 막전위 도메인 (아미노산들 1-23의 대부분 또는 전부)이 없다. 일부 구현예들에서, 단편들은 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부 및 아미노산들을 포함하여 비-페니실린 결합 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 적어도 500 아미노산 서열들을 포함하고, 일부 구현예들에서 추가로 막전위 도메인 (아미노산들 1-23의 대부분 또는 전부)이 없다. 일부 구현예들에서, 단편들은 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부 및 아미노산들을 포함하여 비-페니실린 결합 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 적어도 550 아미노산 서열들을 포함하고, 일부 구현예들에서 추가로 막전위 도메인 (아미노산들 1-23의 대부분 또는 전부)이 없다. 일부 구현예들에서, 단편들은 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부 및 아미노산들을 포함하여 비-페니실린 결합 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 적어도 600 아미노산 서열들을 포함하고, 일부 구현예들에서 추가로 막전위 도메인 (아미노산들 1-23의 대부분 또는 전부)이 없다. 일부 구현예들에서, 단편들은 MRSA PBP2a 트랜스펩티다제 도메인의 전부 또는 일부 및 아미노산들을 포함하여 비-페니실린 결합 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 적어도 640 아미노산 서열들을 포함하고, 일부 구현예들에서 추가로 막전위 도메인 (아미노산들 1-23의 대부분 또는 전부)이 없다. 일부 구현예들에서, 본원에 나타낸 단편들은 신호 웹타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 나타낸 단편들은 서열 번호:13에 나타낸 바의 IgE 신호 웹타이드 서열을 포함할 수 있다.

단편들은 바람직하게는 트랜스펩티다제 도메인의 다수 또는 전부를 포함한다. 400 이상의 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편들은 바람직하게는 PBP2a C 말단으로부터 아미노산들 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667 또는 668 중의 1개 이상을 포함한다. 425 이상의 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편들은 바람직하게는 PBP2a C 말단으로부터 아미노산들 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667 또는 668 중의 1개 이상을 포함한다. 450 이상의 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편들은 바람직하게는 PBP2a C 말단으로부터 아미노산들 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667 또는 668 중의 1개 이상을 포함한다. 475 이상의 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편들은 바람직하게는 PBP2a C 말단으로부터 아미노산들 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667 또는 668 중의 1개 이상을 포함한다. 500 이상의 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편들은 바람직하게는 PBP2a C 말단으로부터 아미노산들 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667 또는 668 중의 1개 이상을 포함한다. 525 이상의 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편들은 바람직하게는 PBP2a C 말단으로부터 아미노산들 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667 또는 668 중의 1개 이상을 포함한다. 550 이상의 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편들은 바람직하게는 PBP2a C 말단으로부터 아미노산들 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667 또는 668 중의 1개 이상을 포함한다. 575 이상의 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편들은 바람직하게는 PBP2a C 말단으로부터 아미노산들 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667 또는 668 중의 1개 이상을 포함한다. 600 이상의 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편들은 바람직하게는 PBP2a C 말단으로부터 아미노산들 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667 또는 668 중의 1개 이상을 포함한다. 630 이상 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2의 단편들은 바람직하게는 PBP2a C 말단으로부터 아미노산들 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667 또는 668 중의 1개 이상을 포함한다. 일부 구현예들에서, 본원에 나타낸 단편들은 신호 웹타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 본원에 나타낸 단편들은 서열 번호:13에 나타낸 바의 IgE 신호 웹타이드 서열을 포함할 수 있다.

일부 구현예들에서, 상기 단편은 MRSA PBP2a 앵커 없음/막전위 도메인 없음) (서열 번호:4)일 수 있다. 일부 구현예들에서, 상기 단편은 MRSA PBP2a 앵커 없음/막전위 도메인 없음 (서열 번호:4) 플러스 IgE 신호 웹타이

드 (서열 번호:13)인 "앵커 없음"(서열 번호:10)일 수 있다. 일부 구현예들에서, 상기 단편은 MRSA PBP2a 짧음/촉매 도메인 전용, (즉 촉매 도메인 전용) (서열 번호:6) 플러스 IgE 신호 웨بت아이드 (서열 번호:13)인 PBP2a "짧은" (서열 번호:12)일 수 있다.

서열 번호:2 외에도, MRSA PBP2a 단백질은 서열 번호:2에 대한 98% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 가질 수 있고, MRSA PBP2a 단백질의 단편들은 본원에 기재된 것들 및 서열 번호:2에 대한 98% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 MRSA PBP2a 단백질의 대응한 단편들과 같은 단편들을 포함한다. 상기 MRSA PBP2a 단백질은 서열 번호:2에 대한 98% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 가질 수 있고, 또한 신호 웨بت아이드가 상동성 결정에 포함되지 않더라도, 예를 들면 서열 번호:13에 나타낸 바의 IgE 신호 웨بت아이드 서열과 같은 신호 웨بت아이드 서열을 추가로 포함할 수 있다. 마찬가지로, 서열 번호:2에 대한 98% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 MRSA PBP2a 단백질을 갖는 단편들을 포함하여 본원에 개시된 단편들은 신호 웨بت아이드가 상동성 결정에 포함되지 않더라도, 예를 들면 서열 번호:13에 나타낸 바의 IgE 신호 웨بت아이드 서열과 같은 신호 웨بت아이드 서열을 추가로 포함할 수 있다.

3. PBP2a 코딩 서열들

유전자은행은 황색 포도상구균 단리물들의 완전한 게놈을 위한 서열들을 함유한다. *mecA* 코딩 서열의 여러가지 뉴클레오타이드 서열들은 예를 들면 수탁 번호들 FR823294.1, EF190335.1, AB221121.1, AB221122.1, AB221124.1, AB221120.1, AB221119.1, E09771.1, AB236888.1, AB221123.1, AB063481.1 및 X52593.1을 갖는 것들로서 유전자은행에 개시되어 있다.

본원에 제공된 것들은 MRSA PBP2a에 반하여 포유 동물에서 면역 응답을 유도할 수 있는 MRSA PBP2a 단백질들을 인코딩하는 코딩 서열들이다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 MRSA PBP2a 전체 길이 (서열 번호:2), 또는 적어도 245 아미노산들을 포함하는 서열 번호:2에 나타낸 MRSA PBP2a 전체 길이 서열의 단편들로 구성된 군으로부터 선택된 MRSA PBP2a 단백질을 인코딩한다. 또한, 상기 코딩 서열은 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 MRSA PBP2a 단백질 또는 서열 번호:2의 단편에 대해 98% 상동성인 단백질의 단편을 인코딩할 수 있다.

일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 서열 번호:1, 적어도 245 아미노산들을 인코딩하는 서열 번호:2의 단편들, 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 코딩 서열들, 및 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 코딩 서열들의 단편들로 구성된 군으로부터 선택되고, 그러한 단편은 적어도 245 아미노산들을 포함한다.

일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 MRSA PBP2a 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 신호 웨بت아이드 서열에 대한 코딩 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예들에서, 신호 웨بت아이드 서열에 대한 상기 코딩 서열은 서열 번호:13에 나타낸 바의 IgE 신호 웨بت아이드 서열을 인코딩한다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 발현될 때, IgE 신호 웨بت아이드가 단백질의 N 말단에서 존재하도록 IgE 신호 웨بت아이드 서열 (서열 번호:13)에 대한 코딩 서열에 연결된 MRSA PBP2a 전체 길이 (서열 번호:2)의 코딩 서열 서열 번호:1로 구성되어 있는 서열 번호:7 ("전체")를 포함할 수 있다.

일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 서열 번호:2에 대해 적어도 98% 상동성인 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 단편을 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성이고 적어도 245 아미노산들인 서열 번호:2의 단편을 인코딩하는 핵산 서열의 단편을 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 적어도 245 아미노산들을 인코딩하는 서열 번호:1의 단편을 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 신호 웨بت아이드 서열, 바람직하게는 IgE 신호 웨بت아이드 (서열 번호:13)에 대해 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 적어도 245 아미노산들을 인코딩하는 서열 번호:1의 단편을 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 서열 번호:3을 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 서열 번호:3을 포함하고 신호 웨بت아이드 서열, 바람직하게는 IgE 신호 웨بت아이드를 인코딩하는 작동 가능하게 연결된 코딩 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 서열 번호:9를 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 서열 번호:5를 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 서열 번호:5를 포함하고 신호 웨بت아이드 서열, 바람직하게는 IgE 신호 웨بت아이드를 인코딩하는 작동 가능하게 연결된 코딩 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예들에서, 상기 코딩 서열은 서열 번호:11을 포함한다.

일부 구현예들에서, 서열 번호:2의 단편에 대해 98% 상동성인 단백질의 면역원성 단편을 인코딩하는 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성인 핵산 서열의 단편을 포함하는 코딩 서열들은 MRSA PBP2a 막전위 도메인을

인코딩하지 않는다. 일부 구현예들에서, 서열 번호:2의 면역원성 단편을 인코딩하는 서열 번호:1에 대해 적어도 98% 상동성인 핵산 서열의 단편을 포함하는 코딩 서열들은 MRSA PBP2a 막전위 도메인을 인코딩하지 않는다. 일부 구현예들에서, 서열 번호:1의 단편을 포함하는 코딩 서열들은 MRSA PBP2a 막전위 도메인을 인코딩하지 않는다. 그러한 코딩 서열들은 바람직하게는 신호 펩타이드 서열, 바람직하게는 IgE 신호 펩타이드에 대한 코딩 서열을 포함한다..

일부 구현예들에서, 코딩 서열들은 섹션 2로서 "PBP2a 단백질"이라는 표제로 열거된 앞 장에 기재된 단편들을 인코딩한다. 일부 구현예들에서, 섹션 2로서 "PBP2a 단백질"이라는 표제로 열거된 앞 장에 기재된 단편들을 인코딩하는 코딩 서열들은 서열 번호:1의 단편들이고 바람직하게는 신호 펩타이드 서열, 바람직하게는 IgE 신호 펩타이드에 대한 코딩 서열을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 섹션 2로서 "PBP2a 단백질"이라는 표제로 열거된 앞 장에 기재된 단편들을 인코딩하는 코딩 서열들은 서열 번호:1에 대해 98% 상동성인 코딩 서열의 단편들이고 바람직하게는 신호 펩타이드 서열, 바람직하게는 IgE 신호 펩타이드에 대한 코딩 서열을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예들에서, 섹션 2로서 "PBP2a 단백질"이라는 표제로 열거된 앞 장에 기재된 단편들을 인코딩하는 코딩 서열들은 서열 번호:1에 대해 98% 상동성이고 서열 번호:2의 면역원성 단편들을 인코딩하는 코딩 서열들이고, 바람직하게는 신호 펩타이드 서열, 바람직하게는 IgE 신호 펩타이드에 대한 코딩 서열을 추가로 포함할 수 있다.

4. 플라스미드

포유동물 내 면역 반응을 유도하는데 효과적인 양으로 포유동물의 세포에서 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 발현할 수 있는 벡터가 본원에 제공된다. 벡터는 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 인코딩하는 이종 기원 핵산을 포함할 수 있다. 상기 벡터는 플라스미드일 수 있다. 상기 플라스미드는 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 인코딩하는 핵산으로 세포를 형질감염시키는데 유용할 수 있으며, 상기 형질전환된 숙주세포는 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편의 발현이 일어나는 조건 하에서 배양되고 유지된다.

상기 플라스미드는 그의 N 말단에서 Ig 신호 펩타이드 서열에 연결된 MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 단편을 포함하는 단백질을 인코딩하는 핵산을 포함할 수 있다. 상기 플라스미드는 코딩 서열의 상류에 있을 수 있는 개시 코돈, 및 코딩 서열의 하류에 있을 수 있는 정지 코돈을 추가로 포함할 수 있다. 상기 개시 및 종료 코돈은 코딩 서열과 틀이 맞을 수 있다.

상기 플라스미드는 또한 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함할 수 있다. 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터는 유인원 바이러스 40 (SV40), 마우스 유선 종양 바이러스 (MMTV) 프로모터, 인간 면역 결핍 바이러스 (HIV) 프로모터 예컨대 소 면역결핍 바이러스 (BIV) 긴 말단 반복 (LTR) 프로모터, 몰로니 바이러스 프로모터, 조류 백혈증 바이러스 (ALV) 프로모터, 사이토메갈로바이러스 (CMV) 프로모터 예컨대 CMV 전초기 프로모터, 엠슈타인 바르 바이러스 (EBV) 프로모터, 또는 루(Rous) 육종 바이러스 (RSV) 프로모터 유래의 프로모터일 수 있다. 상기 프로모터는 인간 유전자, 예컨대 인간 액틴, 인간 미오신, 인간 혈모글로빈, 인간 근육 크레아틴, 또는 인간 메탈로티오네인 유래의 프로모터일 수 있다. 상기 프로모터는 또한 천연 또는 합성의 조직 특이적 프로모터, 예컨대 근육 또는 피부 특이적 프로모터일 수 있다. 그러한 프로모터의 예는 그 내용 전체가 본원에 통합되어 있는 US 특허 출원 공개 제US20040175727호에 기재되어 있다.

상기 플라스미드는 또한 코딩 서열의 하류에 있을 수 있는 폴리아데닐화 신호를 포함할 수 있다. 상기 폴리아데닐화 신호는 SV40 폴리아데닐화 신호, LTR 폴리아데닐화 신호, 소 성장 호르몬 (bGH) 폴리아데닐화 신호, 인간 성장 호르몬 (hGH) 폴리아데닐화 신호, 또는 인간 β -글로빈 폴리아데닐화 신호일 수 있다. SV40 폴리아데닐화 신호는 pCEP4 플라스미드 (Invitrogen, San Diego, CA) 유래의 폴리아데닐화 신호일 수 있다.

상기 플라스미드는 또한 코딩 서열의 상류에 인핸서를 포함할 수 있다. 상기 인핸서는 인간 액틴, 인간 미오신, 인간 혈모글로빈, 인간 근육 크레아틴 또는 바이러스 인핸서, 예컨대 CMV, FMDV, RSV 또는 EBV일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드 기능 인핸서는, 각각의 내용이 참조로써 본원에 통합되어 있는, 미국 특허 번호 5,593,972호, 제5,962,428호, 및 WO94/016737호에 기술되어 있다.

상기 플라스미드는 또한 플라스미드를 염색체밖에 유지시키고 세포 내에서 플라스미드의 다중 카페를 생산하기 위해 포유동물 복제 기점을 포함할 수 있다. 상기 플라스미드는 Invitrogen (San Diego, CA)사의 pVAX1, pCEP4 또는 pREP4일 수 있으며, 이는 엠슈타인 바르 바이러스 복제 기점 및 핵 항원 EBNA-1 코딩 영역을 포함할 수 있고, 이는 통합 없이 높은 카페 에피솜 복제를 생산할 수 있다. 상기 플라스미드의 뼈대는 pAV0242일 수 있다. 상기 플라스미드는 복제 결합 아데노바이러스 유형 5 (Ad5) 플라스미드일 수 있다.

상기 플라스미드는 또한 조절 서열을 포함할 수 있으며, 이는 플라스미드가 투여되는 세포 내에서의 유전자 발현에 적합할 수 있다. 상기 코딩 서열은 숙주세포에서 코딩 서열의 보다 효율적인 전사를 가능하게 할 수 있는 코돈을 포함할 수 있다.

상기 코딩 서열은 또한 Ig 신호 웨بت아이드 서열을 포함할 수 있다. 상기 신호 웨بت아이드 서열의 코딩 서열은 코딩 서열의 5'일 수 있다. 이 서열에 의해 인코딩된 공통 항원은 N-말단 Ig 신호 웨بت아이드 다음으로 공통 항원 단백질을 포함할 수 있다. 상기 N-말단 Ig 신호 웨بت아이드는 IgE 또는 IgG일 수 있다. 본 명세서에 참고로 혼입된 미국 특허 제6,733,994호는 최적화된 RNA 서열들 및 IgE 신호 웨بت아이드 서열을 포함하는 구조물들을 개시하고 있다. 본 명세서에 참고로 혼입된 두 PCT 출원 제PCT/US04/18962호 및 대응하는 미국 특허 출원 제10/560,650호는 또한 IgE 신호 웨بت아이드 서열들을 포함하는 구조물들을 개시한다.

상기 플라스미드는 에스케리치아 콜리 (E.coli)에서 단백질 생산에 사용될 수 있는, pSE420 (Invitrogen, San Diego, Calif.)일 수 있다. 상기 플라스미드는 또한 효모의 사카로마이세스 세레비시에 균주에서의 단백질 생산에 사용될 수 있는, pYES2 (Invitrogen, San Diego, Calif.)일 수 있다. 상기 플라스미드는 또한 곤충 세포에서의 단백질 생산에 사용될 수 있는, MAXBAC™ 완전한 배클로바이러스 발현 시스템 (Invitrogen, San Diego, Calif.)일 수 있다. 상기 플라스미드는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포와 같은 포유동물 세포에서의 단백질 생산에 사용될 수 있는, pcDNA I 또는 pcDNA3 (Invitrogen, San Diego, Calif.)일 수 있다.

5. 백신

포유 동물에서 MRSA PBP2a에 대항하는 면역 반응을 발생시킬 수 있는 백신이 본원에 제공된다. 상기 백신은 상기에서 논의된 바와 같은 플라스미드들을 포함할 수 있다. 상기 백신은 복수의 플라스미드, 또는 이들의 조합물들을 포함할 수 있다. 상기 백신은 MRSA에 대항하여 치료적 또는 예방적 면역 반응을 유도하기 위해 제공될 수 있다.

상기 백신은 약제학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 약제학적으로 허용가능한 부형제는 비히클, 보조제, 담체, 또는 희석제로서 기능적 분자일 수 있다. 상기 약제학적으로 허용가능한 부형제는 형질감염 촉진제일 수 있으며, 이는 계면 활성제, 예컨대 면역-자극 복합체 (ISCOMS), 프로인트 불완전한 아쥬반트, 모노포스포릴 지질 A를 포함하는 LPS 유사체, 뮤라밀 웨بت아이드, 퀴논 유사체, 소포 예컨대 스쿠알렌 및 스쿠알렌, 히알루론산, 지질, 리포좀, 칼슘 이온, 바이러스 단백질, 폴리음이온, 폴리양이온, 또는 나노입자, 또는 다른 공지된 형질감염 촉진제를 포함할 수 있다.

상기 형질감염 촉진제는 폴리음이온, 폴리-L-글루타메이트 (LGS)를 포함하는 폴리양이온, 또는 지질이다. 상기 형질감염 촉진제는 폴리-L-글루타메이트이며, 더욱 바람직하게는, 상기 폴리-L-글루타메이트는 6 mg/ml 미만의 농도로 백신 내에 존재한다. 상기 형질감염 촉진제는 계면 활성제 예컨대 면역-자극 복합체 (ISCOMS), 프로인트 불완전한 아쥬반트, 모노포스포릴 지질 A를 포함하는 LPS 유사체, 뮤라밀 웨بت아이드, 퀴논 유사체 및 소포, 예컨대 스쿠알렌 및 스쿠알렌, 및 히알루론산을 포함할 수 있고, 히알루론산이 상기 유전적 구조물과 함께 투여되어 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, DNA 플라스미드 백신은 또한 형질감염 촉진제, 예컨대 지질, DNA-리포좀 혼합물 (예를 들면 W09324640 참고)로서 레시틴 리포좀 또는 본 기술분야에 공지된 다른 리포좀을 포함하는 리포좀, 칼슘 이온, 바이러스 단백질, 다중음이온, 폴리양이온, 또는 나노입자, 또는 다른 공지된 형질감염 촉진제를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 형질감염 촉진제는 폴리음이온, 폴리-L-글루타메이트 (LGS)를 포함하는 폴리양이온, 또는 지질이다. 백신 내의 형질감염제의 농도는 4 mg/ml 미만, 2 mg/ml 미만, 1 mg/ml 미만, 0.750 mg/ml 미만, 0.500 mg/ml 미만, 0.250 mg/ml 미만, 0.100 mg/ml 미만, 0.050 mg/ml 미만, 또는 0.010 mg/ml 미만이다.

약제학적으로 허용가능한 부형제는 하나 이상의 보조제일 수 있다. 보조제는 동일한 플라스미드 또는 대안적인 플라스미드로부터 발현되거나, 백신 내의 상기 플라스미드와 조합된 단백질로서 전달되는 다른 유전자일 수 있다. 상기 하나 이상의 보조제는 단백질이고/거나 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 단백질을 인코딩하는 핵산 분자일 수 있다: α -인터페론 (IFN- α), β -인터페론 (IFN- β), γ -인터페론, 혈소판 유도된 성장 인자 (PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, 표피 성장 인자 (EGF), 피부 T 세포-유인 케모카인 (CTACK), 상피 흉선-발현된 케모카인 (TECK), 점막-연관된 상피 케모카인 (MEC), 신호 서열 또는 결실된 신호 서열을 인코딩하는 코딩 서열을 갖고 선택적으로 IgE 유래의 것과 같은 상이한 신호 웨بت아이드 또는 IgE, IL-28, MHC, CD80, CD86, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-18, MCP-1, MIP-1 α MIP-1 β , IL-8, L-셀렉틴, P-셀렉틴, E-셀렉틴, CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1, LFA-1, VLA-1, Mac-1, p150.95, PECAM, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, CD2, LFA-3, M-CSF, G-CSF, IL-18의 돌연변이체 형태, CD40, CD40L, 혈관 성장 인자, 섬유아세포 성장 인자, IL-7,

신경 성장 인자, 혈관 내피 성장 인자, Fas, TNF 수용체, Flt, 아포1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, 아포3, AIR, LARD, NGRF, DR4, DR5, KILLER, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, 카스파제 ICE, Fos, c-jun, Sp-1, Ap-1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, IkB, 불활성 NIK, SAP K, SAP-1, JNK, 인터페론 반응 유전자, NFKB, Bax, TRAIL, TRAILrec, TRAILrecDRC5, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, RANK 리간드, OX40, OX40 리간드, NKG2D, 마이카, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, TAP1, TAP2 및 그의 기능적 단편 유래의 것과 같은 상이한 신호 웹타이드를 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 IL-15를 포함하는 IL-12, IL-15, 또는 이들의 조합. 일부 구현예에서, 보조제는 하나 이상의 단백질 및/또는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 단백질을 인코딩하는 핵산 분자일 수 있다: IL-12, IL-15, IL-28, CTACK, TECK, MEC 또는 RANTES. IL-12 구조물들 및 서열들의 예들은 2011년 12월 12일자로 출원된 "COMPOSITIONS, COMPRISING IMPROVED IL-12 GENETIC CONSTRUCTS AND BAXIN, IMMUNOTHERAPEUTICS AND METHODS OF USING THE SAME"라는 표제이고 대리인 서류 번호 제133172.04100 (X5915)호로 지정된 PCT 특허 출원 제PCT/US1997/019502호 및 대응하는 미국 특허 출원 제08/956,865호, 미국 가특허 출원 제61/569,600호, 뿐만 아니라 이와 함께 출원과 동일자로 출원된 미국 가특허 출원 제61/569,600호에 대한 우선권을 주장하는 PCT 출원에 개시되어 있으며, 이들 각각은 그의 전체로 참고로 혼입된다. IL-15 구조물 및 서열의 예는 PCT 출원 제PCT/US04/18962호 및 대응 US 출원 제10/560,650호, 및 PCT 출원 제PCT/US07/00886호 및 대응 미국 출원 제12/160,766호, 및 PCT 출원 제PCT/US10/048827호에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전체로 참고로 혼입된다. IL-28 구조물들 및 서열들의 예는 PCT 출원 제PCT/US09/039648호 및 대응 미국 출원 제12/936,192호에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전체로 참고로 혼입된다. RANTES 및 다른 구조물들 및 서열의 다른 예들은 PCT 출원 제PCT/US1999/004332호 및 대응하는 미국 특허 출원 제09/622452호에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전체로 참고로 혼입된다. RANTES 구조물들 및 서열들의 예들은 PCT 출원 제PCT/US11/024098에 개시되어 있으며, 이는 본 명세서에 그의 전체로 참고로 혼입된다. RANTES 및 다른 구조물들 및 서열들의 예들은 PCT 출원 제PCT/US1999/004332호 및 대응 미국 출원 제09/622452호에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전체로 참고로 혼입된다. RANTES 구조물들 및 서열들의 다른 예들은 PCT 출원 제PCT/US11/024098호에 개시되어 있으며, 이는 본 명세서에 그의 전체로 참고로 혼입된다. 케모카인 CTACK, TECK 및 MEC 구조물들 및 서열들의 예들은 PCT 출원 제PCT/US2005/042231호 및 대응 미국 출원 제11/719,646호에 개시되어 있다. OX40 및 다른 면역조절물질의 예는 미국 출원 제10/560,653호에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전체로 참고로 혼입된다. OX40 및 다른 면역조절물질의 예는 미국 출원 제10/560,653호에 개시되어 있으며, 이는 본 명세서에 그의 전체로 참고로 혼입된다. DR5 및 다른 면역조절물질의 예는 미국 출원 제09/622452호에 개시되어 있으며, 이는 본 명세서에 그의 전체로 참고로 혼입된다.

상기 백신은 완전히 그의 전체로 참고로 통합되어 있는, 미국 출원 제021,579호(1994년 4월 1일 출원)에 기재된 바와 같은 유전적 백신 촉진제를 추가로 포함할 수 있다.

상기 백신은 약 1 나노그램 내지 100 밀리그램; 약 1 마이크로그램 내지 약 10 밀리그램; 또는 바람직하게는 약 0.1 마이크로그램 내지 약 10 밀리그램; 또는 더 바람직하게는 약 1 밀리그램 내지 약 2 밀리그램의 양의 공통 항원 및 플라스미드를 포함할 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 약 5 나노그램 내지 약 1000 마이크로그램의 DNA를 포함한다. 일부 바람직한 구현예에서, 상기 약제학적 조성물은 약 10 나노그램 내지 약 800 마이크로그램의 DNA를 함유한다. 일부 바람직한 구현예에서, 상기 약제학적 조성물은 약 0.1 내지 약 500 마이크로그램의 DNA를 함유한다. 일부 바람직한 구현예에서, 상기 약제학적 조성물은 약 1 내지 약 350 마이크로그램의 DNA를 함유한다. 일부 바람직한 구현예에서, 상기 약제학적 조성물은 약 25 내지 약 250 마이크로그램, 약 100 내지 약 200 마이크로그램, 약 1 나노그램 내지 100 밀리그램; 약 1 마이크로그램 내지 약 10 밀리그램; 약 0.1 마이크로그램 내지 약 10 밀리그램; 약 1 밀리그램 내지 약 2 밀리그램, 약 5 나노그램 내지 약 1000 마이크로그램, 약 10 나노그램 내지 약 800 마이크로그램, 약 0.1 내지 약 500 마이크로그램, 약 1 내지 약 350 마이크로그램, 약 25 내지 약 250 마이크로그램, 약 100 내지 약 200 마이크로그램의 이의 공통 항원 또는 플라스미드를 함유한다.

상기 백신은 사용될 투여 방식에 따라 제형화될 수 있다. 주사 가능한 백신 약제학적 조성물은 멸균되고, 밀폐물질이 없고 미립자가 없을 수 있다. 등장성 제형 또는 용액이 사용될 수 있다. 등장성을 위한 첨가제는 염화나트륨, 텍스트로오스, 만니톨, 소르비톨, 및 락토오스를 포함할 수 있다. 상기 백신은 혈관수축제를 포함할 수 있다. 등장성 용액은 인산완충염수를 포함할 수 있다. 백신은 젤라틴 및 알부민을 포함하는 안정화제를 추가로 포함할 수 있다. LGS 또는 폴리양이온 또는 폴리음이온과 같은 안정화제는 상기 백신 제형에 대해 연장된 기간 동안 상온 또는 주위 온도에서 제형을 안정화시킬 수 있다.

DNA 백신들과 같은 유전자 백신들을 사용하는 것 외에, 코딩 서열들 및/또는 단백질들은 감쇠된 생 백신들,

재조합 백터들 또는 서브유닛 백신들 내로 흡입될 수 있다. 감쇠된 생 백신들의 예들 및 이질적인 항원들을 전달하기 위해 재조합 백터들을 사용하는 것들은 미국 특허 제4,722,848호; 제5,017,487호; 제5,077,044호; 제5,110,587호; 제5,112,749호; 제5,174,993호; 제5,223,424호; 제5,225,336호; 제5,240,703호; 제5,242,829호; 제5,294,441호; 제5,294,548호; 제5,310,668호; 제5,387,744호; 제5,389,368호; 제5,424,065호; 제5,451,499호; 제5,453,364호; 제5,462,734호; 제5,470,734호; 및 제5,482,713호에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 참고로 흡입된다.

6. 백신을 전달하는 방법

면역 반응이 유도 될 수 있는 것에 반하여 MRSA PBP2a 단백질을 인코딩하는 유전성 구조물들을 제공하는 백신을 전달하는 방법이 본원에 제공된다. 백신을 전달하는 방법 또는 백신접종은 치료적 및 예방적 면역 반응을 유도하기 위해 제공될 수 있다. 백신접종 공정은 포유동물에서 MRSA에 반한 면역 반응을 생성할 수 있다. 백신의 전달은 세포에서 고도의 발현을 초래하는 MRSA PBP2a 단백질을 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 핵산 분자의 형질감염을 포함할 수 있다. MRSA PBP2a 단백질 또는 그의 웨타이드들은 세포의 표면으로 전달되고/전달되거나 면역계가 인식함에 따라 그에 의해 분비되고 세포성, 체액성, 또는 세포성 및 체액성 반응을 유도한다. 백신의 전달은 상기 고찰된 바와 같이 백신을 포유 동물에게 투여함으로써 MRSA에 반하여 포유 동물들에서 면역 응답을 유도 또는 유인하기 위해 사용될 수 있다.

백신 및 플라스미드를 포유동물의 세포들 내로 전달할 때, 형질감염된 세포는 코딩 서열들을 발현할 것이고 MRSA PBP2a 단백질을 분비할 것이다. 이 단백질들은 면역계에 의해 외래의 것으로 인식될 것이고, 항체가 이들에 반하여 만들어질 것이다. 이들 항체는 면역계에 의해 유지될 것이고 진행중인 MRSA 감염 및 차후의 MRSA 감염에 반하여 효과적인 반응을 허용할 것이다.

상기 백신은 포유동물에게 투여되어 포유동물에서 면역 반응을 유발할 수 있다. 상기 포유동물은 인간, 영장류, 비-인간 영장류, 젖소, 소, 양, 염소, 영양, 들소, 물소, 들소, 소과, 사슴, 헤지혹, 코끼리, 라마, 알파카, 마우스, 랫트, 및 닭일 수 있다.

a. 병용 치료

백신은 하나 이상의 α -인터페론, γ -인터페론, 혈소판 유도된 성장 인자 (PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, 표피 성장 인자 (EGF), 피부 T 세포-유인 케모카인 (CTACK), 상피 흉선-발현된 케모카인 (TECK), 점막-연관된 상피 케모카인 (MEC), IL-12, IL-15 (신호 서열이 결실되고 선택적으로 IgE 유래의 신호 웨타이드와 같은 상이한 신호 웨타이드를 포함하는 IL-15를 포함함), MHC, CD80, CD86, IL-28, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-18, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , IL-8, RANTES, L-셀렉틴, P-셀렉틴, E-셀렉틴, CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1, LFA-1, VLA-1, Mac-1, p150.95, PECAM, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, CD2, LFA-3, M-CSF, G-CSF, IL-18의 돌연변이체 형태, CD40, CD40L, 혈관 성장 인자, 섬유아세포 성장 인자, IL-7, 신경 성장 인자, 혈관 내피 성장 인자, Fas, TNF 수용체, Flt, 아포-1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, 아포-3, AIR, LARD, NGRF, DR4, DR5, KILLER, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, 카스파제 ICE, Fos, c-jun, Sp-1, Ap-1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, I kB, 불활성 NIK, SAP K, SAP-1, JNK, 인터페론 반응 유전자, NFKB, Bax, TRAIL, TRAILrec, TRAILrecDRC5, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, RANK 리간드, OX40, OX40 리간드, NKG2D, 마이카, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, TAP1, TAP2 및 그의 기능적 단편을 인코딩하는 기타 단백질 또는 유전자 또는 이들의 조합과 병용으로 투여될 수 있다. 일부 구현예들에서, 상기 백신은 다음 핵산 분자들 및/또는 단백질들: 즉, IL-12, IL-15, IL-28, CTACK, TECK, MEC 및 RANTES의 1개 이상 또는 그의 기능성 단편들을 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 핵산 분자들로 구성된 군으로부터 선택된 핵산 분자들, 및 IL-12 단백질, IL-15 단백질, IL-28 단백질, CTACK 단백질, TECK 단백질, MEC 단백질 또는 RANTES 단백질 또는 그의 기능성 단편들로 구성된 군으로부터 선택된 단백질들의 1개 이상과 조합하여 투여된다.

상기 백신은 경구로, 비경구로, 설하로, 경피로, 직장으로, 점막관통으로, 국소로, 흡입을 통해, 구강 투여를 통해, 늑막내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 피하, 근육내, 비강내 척추강내, 및 관절내 또는 이들의 조합을 포함하는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다. 수의학적 용도를 위해, 상기 조성물은 일반적인 수의학적 관례에 따라 적합하게 허용가능한 제형으로서 투여될 수 있다. 수의사는 특정 동물에 가장 적절한 복용 요법 및 투여 경로를 쉽게 결정할 수 있다. 백신은 전통적 주사기, 무바늘 주사 장치, "미세투사 충격 고운 건 (microparticle bombardment gone guns)", 또는 전기천공 ("EP"), "유체역학적 방법", 또는 초음파와 같은 다른 물리적 방법에 의해 투여될 수 있다.

백신의 플라스미드는 생체내 전기천공을 이용하여 그리고 이를 이용하지 않고 DNA 주사 (또한 DNA 백신접종으

로도 불림), 리포좀 매개된, 나노입자 촉진된, 재조합 백터, 예컨대 재조합 아데노바이러스, 재조합 아데노바이러스 연관된 바이러스 및 재조합 우두를 포함하는 널리 공지된 몇 가지 기술에 의해 포유동물에게 전달될 수 있다. 공통 항원은 DNA 주사를 통해 그리고 생체내 전기천공과 함께 전달될 수 있다.

b. 전기천공

백신의 플라스미드의 전기천공을 통한 백신의 투여는 가역적 기공이 세포막에 형성되게 하는데 효과적인 에너지의 펄스를 포유동물의 원하는 조직에 전달하도록 구성될 수 있는 전기천공 장치를 이용하여 달성될 수 있고, 바람직한 에너지의 펄스는 사용자에 의해 입력된 미리 조정된 전류와 유사한 정전류다. 상기 전기천공 장치는 전기천공 구성요소 및 전극 어셈블리 또는 핸들 어셈블리를 포함할 수 있다. 상기 전기천공 구성요소는 하기를 포함하는, 전기천공 장치의 다양한 요소 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 컨트롤러, 전류 과형 발전기, 임피던스 테스터, 과형 로거(logger), 입력 요소, 상태 보고 요소, 통신 포트, 메모리 구성요소, 전원, 및 전원 스위치. 상기 전기천공은 플라스미드에 의해 세포의 형질감염을 촉진하는 생체내 전기천공 디바이스, 예를 들면 CELLECTRA EP 시스템 (Inovio Pharmaceuticals, Blue Bell, PA) 또는 Elgen 전기천공기 (Genetronics, San Diego, CA)를 이용하여 달성될 수 있다.

상기 전기천공 구성요소는 전기천공 장치의 하나의 요소로서 기능할 수 있고, 다른 요소들은 전기천공 구성요소와 통신하는 별개의 요소들(또는 구성요소들)이다. 상기 전기천공 구성요소는 전기천공 장치의 하나를 초과하는 요소로서 기능할 수 있고, 이는 상기 전기천공 구성요소와 구별되는 전기천공 장치의 또 다른 요소와 통신할 수 있다. 하나의 전기기계적 또는 기계적 장치의 일부로서 존재하는 전기천공 장치의 요소들은, 상기 요소들이 하나의 장치로서 또는 서로 통신하는 별개의 요소로서 기능할 수 있으므로, 제한되지 않을 수 있다. 상기 전기천공 구성요소는 원하는 조직에서 정전류를 생산하는 에너지의 펄스를 전달할 수 있으며, 피드백 기전을 포함한다. 전극 어셈블리는 공간 배열 내에 복수의 전극을 갖는 전극 어레이를 포함할 수 있으며, 여기서 상기 전극 어셈블리는 전기천공 구성요소로부터 에너지의 펄스를 받고 전극을 통해 원하는 조직에 이를 전달한다. 복수의 전극 중 적어도 하나는 에너지의 펄스가 전달되는 동안 중성이고, 원하는 조직에서 임피던스를 측정하고 전기천공 구성요소에 임피던스를 전달한다. 상기 피드백 기전은 측정된 임피던스를 받을 수 있고 전기천공 구성요소에 의해 전달된 에너지의 펄스가 정전류를 유지하도록 조절할 수 있다.

복수의 전극은 분산된 패턴으로 에너지의 펄스를 전달할 수 있다. 복수의 전극은 프로그램된 순서 하에 전극의 제어를 통해 분산된 패턴으로 에너지의 펄스를 전달할 수 있고, 상기 프로그램된 순서는 사용자에 의해 전기천공 구성요소에 입력된다. 상기 프로그램된 순서는 순서로 전달된 복수의 펄스를 포함할 수 있으며, 여기서 복수의 펄스 중 각각의 펄스는 임피던스를 측정하는 하나의 중성 전극을 갖는 적어도 2개의 활성 전극에 의해 전달되고, 여기서 복수의 펄스 중 차후의 펄스는 임피던스를 측정하는 하나의 중성 전극을 갖는 적어도 2개의 활성 전극 중 상이한 하나에 의해 전달된다.

상기 피드백 기전은 하드웨어 또는 소프트웨어 중 하나에 의해 수행될 수 있다. 상기 피드백 기전은 아날로그-페-루프 회로에 의해 수행될 수 있다. 상기 피드백은 $50 \mu s$, $20 \mu s$, $10 \mu s$ 또는 $1 \mu s$ 마다 일어나지만, 바람직하게는 실시간 피드백 또는 즉각적이다 (즉, 반응 시간을 결정하는 이용가능한 기술에 의해 결정된 바와 같이 실질적으로 즉각적임). 중성 전극은 원하는 조직 내의 임피던스를 측정할 수 있고, 상기 임피던스를 피드백 기전에 전달하고, 상기 피드백 기전은 임피던스에 반응하여 에너지의 펄스를 미리 조정된 전류와 유사한 값으로 정전류를 유지시킨다. 상기 피드백 기전은 에너지의 펄스의 전달 동안 연속적으로 그리고 즉각적으로 정전류를 유지할 수 있다.

본 발명의 DNA 백신의 전달을 촉진할 수 있는 전기천공 장치 및 전기천공 방법의 예는, 이들의 내용 전체가 본원에 참조로써 통합되어 있는, 미국 특허 제7,245,963호(Draghia-Akli, 등,), 미국 특허공개 제2005/0052630호 (Smith, 등에 의해 제출됨)에 기술된 것을 포함한다. DNA 백신의 전달을 촉진하는데 사용될 수 있는 다른 전기천공 장치 및 전기천공 방법은, 제60/852,149호(2006년 10월 17일 출원), 및 제60/978,982호(2007년 10월 10일 출원)에 대해 35 USC 119(e) 하에 우선권을 주장하는, 공동계류중이고 공동소유인 미국 특허 출원 제11/874072호(2007년 10월 17일 출원)에 제공된 것을 포함하며, 이들 모두는 그 전체가 참고로써 본원에 통합되어 있다.

미국 특허 제7,245,963호(Draghia-Akli, 등)는 몸 또는 식물에서 선택된 조직의 세포 내로 생체분자의 도입을 용이하게 하기 위한 모듈식 전극 시스템 및 그의 용도를 기술하고 있다. 상기 모듈식 전극 시스템은 복수의 바늘 전극; 피하 주사침; 프로그램가능한 정전류 펄스 컨트롤러로부터 복수의 바늘 전극까지 전도성 링크를 제공하는 전기적 커넥터; 및 전원을 포함할 수 있다. 작업자는 지지 구조 상에 올려진 복수의 바늘 전극을 불

잡아 몸 또는 식물에서 선택된 조직 내로 이들을 단단하게 삽입할 수 있다. 생체분자는 이후 선택된 조직 내로 피하 주사침을 통해 전달된다. 프로그램 가능한 정전류 펠스 컨트롤러가 활성화되고 정전류 전기 펠스가 복수의 바늘 전극에 적용된다. 상기 적용된 정전류 전기 펠스는 복수의 전극 사이에 있는 세포 내로 생체분자의 도입을 용이하게 한다. 미국 특허 제7,245,963호의 전체 내용은 참고로 본원에 통합되어 있다.

미국 특허 공개 제2005/0052630호(Smith, 등에 의해 출원됨)는 몸 또는 식물에서 선택된 조직의 세포 내로 생체분자의 도입을 효과적으로 촉진하는데 사용될 수 있는 전기천공 장치를 기술한다. 상기 전기천공 장치는 작업이 소프트웨어 또는 펌웨어에 의해 지정되는 전기-동력학 장치 ("EKD 장치")를 포함한다. EKD 장치는 사용자 제어 및 펠스 파라미터의 입력에 기초한 어레이 내의 전극 사이에 일련의 프로그램 가능한 정전류 펠스 패턴을 생산하고, 전류 파형 데이터의 저장 및 취득을 허용한다. 전기천공 장치는 또한 바늘 전극, 주사 바늘용 중심 주사 통로, 및 제거 가능한 가이드 디스크의 어레이를 갖는 교체 가능한 전극 디스크를 포함한다. 미국 특허 공개 제2005/0052630호의 전체 내용은 참고로 본원에 통합되어 있다.

미국 특허 제7,245,963 및 미국 특허 공개 제2005/0052630호에 기재된 전극 어레이 및 방법은 근육과 같은 조직뿐만 아니라 다른 조직 또는 기관 내로 깊이 침투시키는데 조정될 수 있다. 전극 어레이의 배치 때문에, 주사 바늘 (선택한 생체분자를 전달함)은 또한 표적 장기 내로 완전히 삽입되며, 주사는 전극에 의해 미리 기술된 영역 내에서, 표적 조직에 수직으로 전달된다. 미국 특허 제7,245,963호 및 미국 특허 공개 2005/005263에 기술된 전극은 바람직하게는 20 mm 길이 및 21 게이지이다.

또한, 전기천공 장치 및 이의 사용을 포함하는 고려된 일부 구현예에서, 하기 특허들에 기재된 것들인 전기천공 장치가 고려된다: US 특허 제5,273,525호(1993년 12월 28일 발행), US 특허 제6,110,161호(2000년 8월 29일 발행), 제6,261,281호(2001년 7월 17일 발행), 및 제6,958,060호(2005년 10월 25일 발행), 및 US 특허 제6,939,862호(2005년 9월 6일 발행). 더욱이, 임의의 다양한 장치를 이용하여 DNA를 전달하는 것에 관한, US 특허 제6,697,669호(2004년 2월 24일 발행), 및 DNA를 주사하는 방법에 관한, US 특허 제7,328,064호(2008년 2월 5일 발행)에서 제공된 주제를 다루는 특허들이 본원에 고려된다. 상기-특허들은 그 전체가 참고로 본원에 통합되어 있다.

c. DNA 플라스미드를 제조하는 방법

본원에 논의된 DNA 백신을 포함하는 DNA 플라스미드를 제조하는 방법이 본원에 제공된다. 상기 DNA 플라스미드는, 포유동물 발현 플라스미드 내로의 최종 서브클로닝 단계 후, DNA 플라스미드가 본 기술분야에 공지된 방법을 이용하여, 대규모 발효 탱크 내에서 세포 배양물을 접종하는데 사용될 수 있다.

본 발명의 EP 장치를 사용하기 위한 DNA 플라스미드는 공지된 장치 및 기술의 조합을 이용하여 제형화되거나 제조될 수 있지만, 바람직하게는 이들은 라이센스된, 공동계류중인 미국 출원 제60/939,792호(2007년 5월 23일 출원)에 기재된 최적화된 플라스미드 제조 기술을 이용하여 제조된다. 일부 예에서, 이들 연구에 사용된 DNA 플라스미드는 10 mg/mL 이상의 농도로 제형화될 수 있다. 제조 기술은 또한 라이센스된 특허, US 특허 제7,238,522호(2007년 7월 3일 발행)에서 기재된 것을 포함하여, 미국 출원 제60/939792호에 기재된 것 이외에도, 당해분야의 숙련자에게 통상적으로 공지된 다양한 장치 및 프로토콜을 포함한다. 상기-참조된 출원 및 특허, US 출원 제60/939,792호 및 US 특허 제7,238,522호는 각각 그 전체가 참조로써 본원에 통합되어 있다.

실시예

본 발명은 하기 실시예에 더 예시된다. 이들 실시예는, 본 발명의 바람직한 구현예를 나타내긴 하지만, 단지 예시를 위해 제공되는 것으로 이해되어야 한다. 상기 논의 및 이들 실시예로부터, 당해분야의 숙련가는 본 발명의 본질적인 특징을 확인할 수 있고, 이의 정신 및 범주로부터 벗어나지 않고, 그것을 다양한 용법 및 조건에 맞추기 위해 본 발명을 다양하게 변화 및 변형시킬 수 있다. 따라서, 본원에 제시되고 기술된 것 이외에 본 발명의 다양한 변형들은 전술한 설명으로부터 당해분야의 숙련가에게 자명할 것이다. 그러한 변형은 또한 첨부된 청구항의 범주 내에 속하는 것으로 의도된다.

실시예 1

MRSA 감염들이 증가하고 있다는 사실과 관련하여 높은 사망률은 MRSA-특이적 PBP2a 단백질에 대한 면역을 유도할 수 있는 백신을 생성하려는 노력을 자극했다. 이를 위해서, 2개의 PBP2a DNA 백신 항원들이 초기에 구조화되었다: 즉, 하나는 IgE 신호 펩타이드 서열 (서열 번호:12, 이하 서열 번호:11로 인코딩된 "짧은 것"으로 언급됨)에 연결된 PBP2a의 촉매 도메인만으로 구성되고 하나는 IgE 신호 펩타이드 서열 (서열 번호:10, 이하 서열 번호:9로 인코딩된 "앵커 없음"으로서 언급됨)에 연결된 막전위 도메인을 위해 저장된 전체 PBP2a 단백

질로 구성되어 있다. IgE의 신호 웨타이드 서열의 포함은 고효율의 신호 웨타이드 서열을 제공한다. 코딩 서열들은 발현 수준을 추가로 증가시키기 위해 코돈 최적화되고 RNA 최적화되었다.

마우스들은 대퇴사 두근 근육 내의 짧은 또는 앵커 없는 백신 변이체 중의 하나 25 μ g으로 면역화되고 이어서 Inovio Biomedical사의 Celectra 장치에 의해 전기 천공되었다. 단일 면역화후 2주 후에 마우스들은 채혈되고 혈청은 PBP2a-특이적 항체들에 대해 시험되었다. 짧은 변이체를 수용한 쥐들의 군은 이러한 군으로부터 전면역 혈청과 비교한 바 3배를 초과하는 증가를 보인 한편, 앵커 없는 백신 변이체를 수용한 마우스들은 6배 이상의 증가를 보였다 (도 2). 이들 데이터는 이들 플라스미드 항원들이 단일 면역화 후 2주 후에 생체 내 PBP2a-특이적 항체 응답들을 유도할 수 있음을 보여준다. 이들 데이터는 이러한 감염증에 대한 치료적 접근으로서 그러한 면역원 디자인의 사용을 지원한다.

실시예 2

경막 도메인을 포함하는 PBP2a 단백질의 전체 길이 변이체를 포함하는 구조물이 제조되었다. IgE 신호 웨타이드 서열 (서열 번호:13)에 연결된 전체 길이 PBP2a 단백질 (서열 번호:2)의 코딩 서열을 포함하는 전체 길이 MRSA PBP2a 단백질 DNA 백신 구조물은 이하 (서열 번호:7)로 인코딩된 "완전한"것으로서 언급되고 서열 번호:8의 아미노산 서열을 갖는다. 도 3은 CMV 프로모터 및 BGH 폴리A 사이트에 작동 가능하게 연결되도록 클로닝된 PBP2a 코딩 서열들의 삽입에 의해 골격 플라스미드 pVax1의 도면을 보여준다.

실시예 3

도 4는 PBP2a 단백질의 전체 및 앵커 없음 버전들을 인코딩하는 구조물들을 포함하는 대조물 및 플라스미드들로서 pVax를 사용하여 단백질 발현 레벨들을 비교하는 발현 실험들로부터 결과들을 보여준다.

PBP2a 단백질의 전체 및 앵커 없음 버전들을 인코딩하는 구조물들을 포함하는 플라스미드들에 의해 발생된 면역 반응들이 비교되었다. 마우스들은 채혈되었고 대퇴사 두근 근육 내의 pVax, 완전 (서열 번호:7) 또는 앵커 없음 백신 (서열 번호:9) 변이체 중의 하나 25 μ g에 의해 0일째에 면역화되었고 이어서 Inovio Biomedical사의 Celectra 장치에 의해 전기 천공되었다. 2주 후에, 마우스들은 채혈되었고 2번째 면역화를 받았다. 28일 째에, 마우스들은 채혈되었고 ELISA, 혈청 살균 분석 및 옵소닌화 쇠세포 작용 및 치사 분석에 의해 분석되었다.

미처리/대조군 마우스들 또는 0일째 및 14일째에 완전 또는 앵커 없음 백신으로 접종된 마우스들로부터 0일째, 14일째, 및 28일째에 취한 혈청 중의 PBP2a-특이적 IgG 항체들의 역가가 비교되었다. 복합 결과들은 도 5에 나타낸다. 도 6은 미처리/대조군 마우스들 (좌측) 또는 0일째 및 14일째에 앵커 없음 백신으로 (중앙) 또는 완전 (우측) 백신으로 접종된 마우스들로부터 0일째, 14일째, 및 28일째에 항-PBP2a IgG 역가의 개별 데이터를 보여준다.

미처리/대조군 마우스들 또는 완전 또는 앵커 없음 백신으로 접종된 마우스들로부터 희석된 혈청 중의 PBP2a-특이적 IgG 항체들의 역가가 측정되었고, 데이터는 도 7에 나타내며, 여기서 데이터는 절대점 그래프(좌측) 및 최상의 적합한 그래프 (중앙)을 사용하여 작도하였다. 상호 희석액의 종말점 역가는 또한 도 7 (우측)에 나타낸다.

미처리/대조군 마우스들 또는 0일째 및 14일째에 완전 또는 앵커 없음 백신으로 접종된 마우스들로부터 0일째 및 28일째에 취한 혈청 중의 IgG1 및 IgG2a에 대한 별도의 역가. IgG1 역가를 보여주는 결과는 도 8에서 좌측에 나타내고; IgG2a 역가를 보여주는 결과는 도 8에서 우측에 나타낸다.

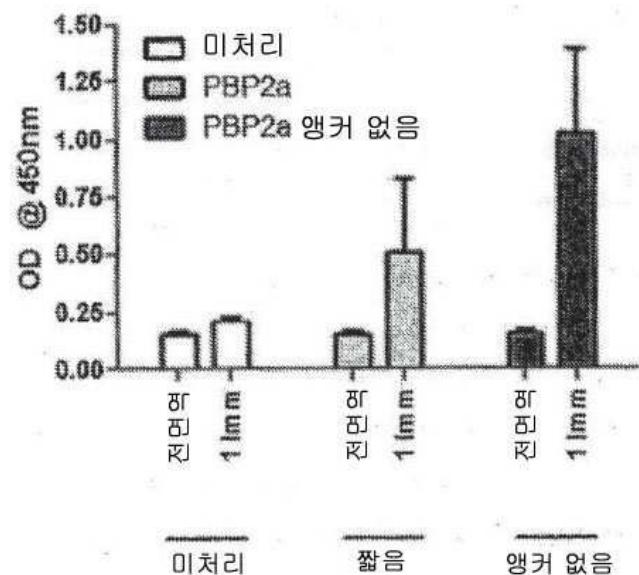
실시예 4

기니 피그들이 100 μ g으로 피내 (ID)로 면역화되는 추가의 연구들이 수행되었다. 면역화 완료 후 3주 및 6주 후, 쥐들은 채혈되었고, 혈청은 PBP2a-특이적 항체들에 대해 시험되었다. 완전 변이체 및 앵커 없는 변이체 모두는 완전 변이체에 대해 10^6 에 도달하고 앵커 없는 변이체에 대해 10^4 에 도달한 면역화후 3주 후에 강력한 종말점 역가를 유도하였다. 면역화후 6주 후에, 역가는 크게 일관성을 유지하였으며, 응답의 내구성을 시사한다.

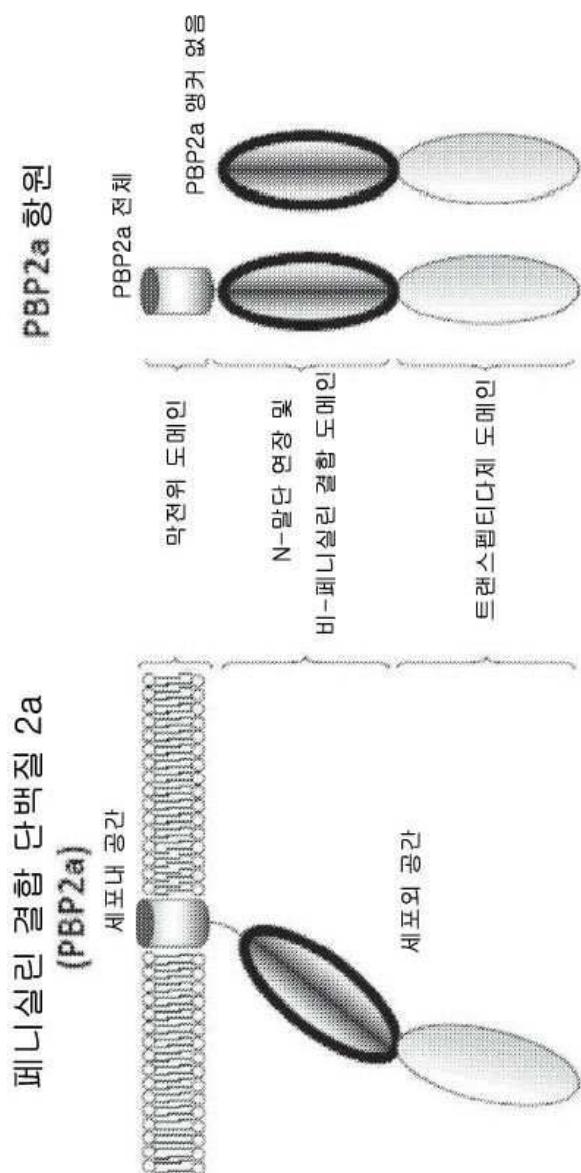
도 9는 완전 또는 앵커 없는 변이체들에 의해 피내로 (ID) 면역화된 기니 피그들로부터 취한 IgG 역가를 나타낸다. 쥐들은 3주 간격으로 피부에서 3회 면역화되었다. 최종 면역화 후 3주 (좌측 그래프) 및 6주 (우측 그래프) 후, 쥐들은 채혈되었고 PBP2a 항원에 대해 특이적인 역가가 측정되었다.

도면

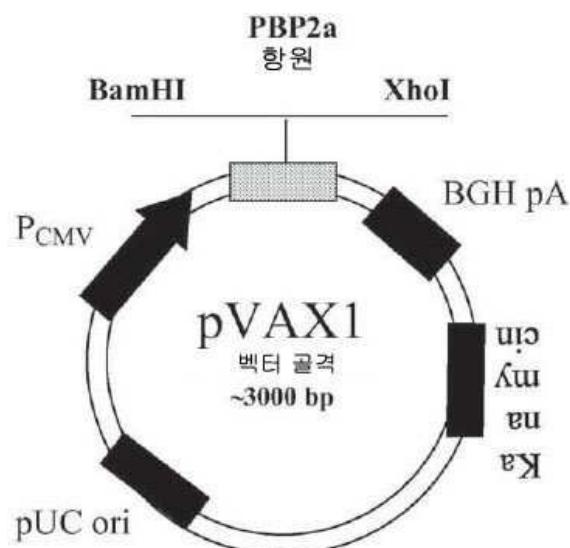
도면1



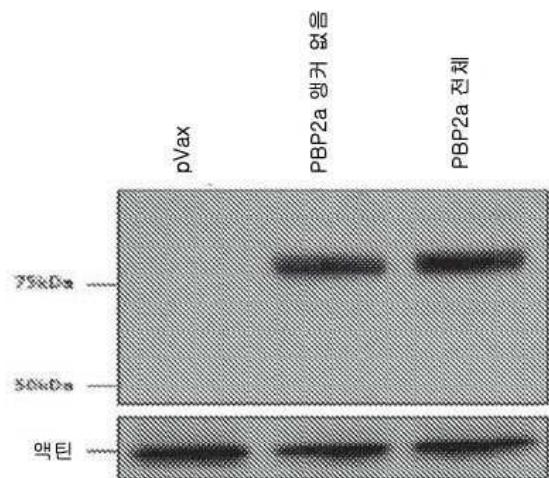
도면2



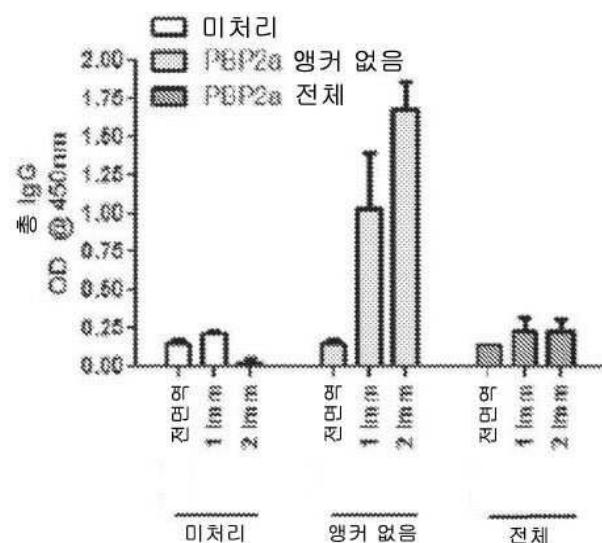
도면3



도면4

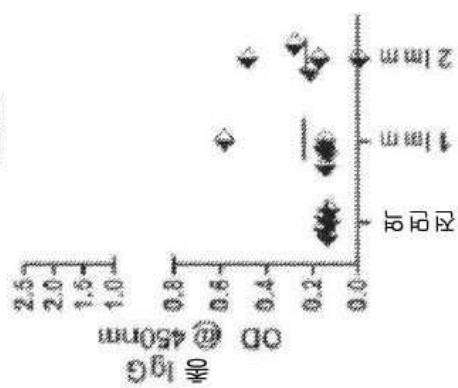


도면5

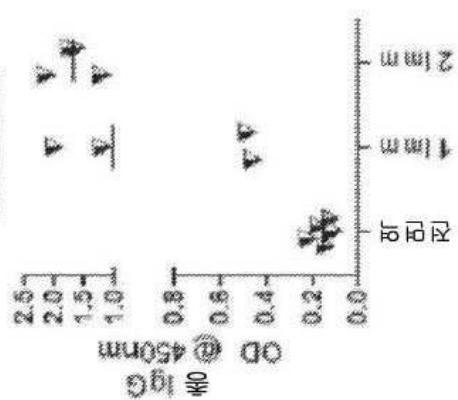


도면 6

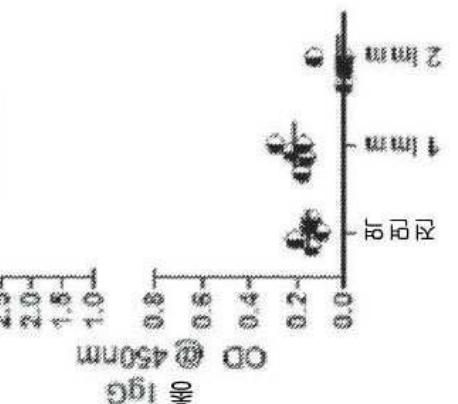
전체



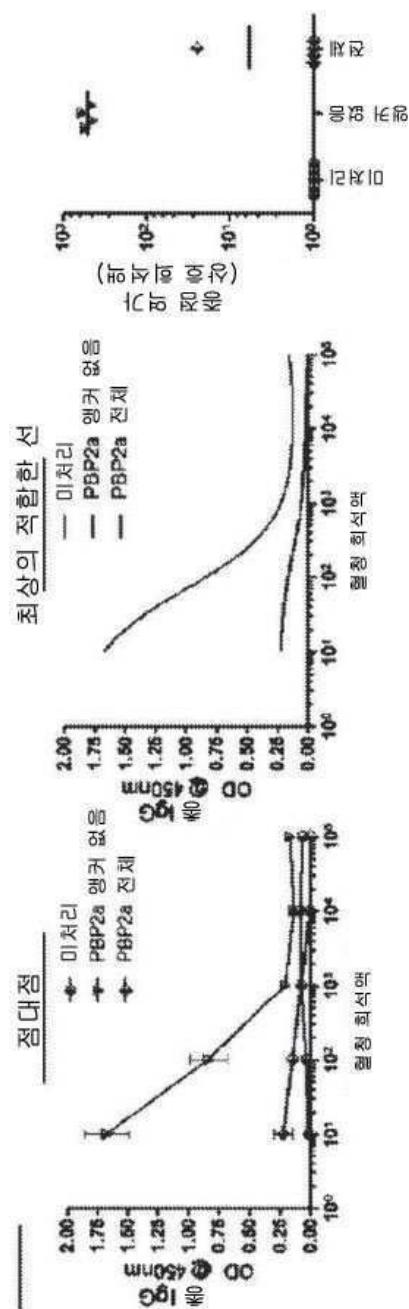
영카 없음



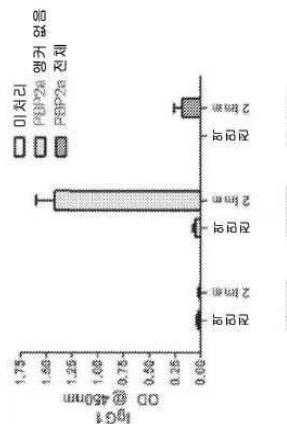
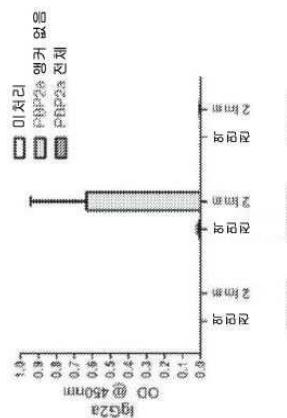
미착리



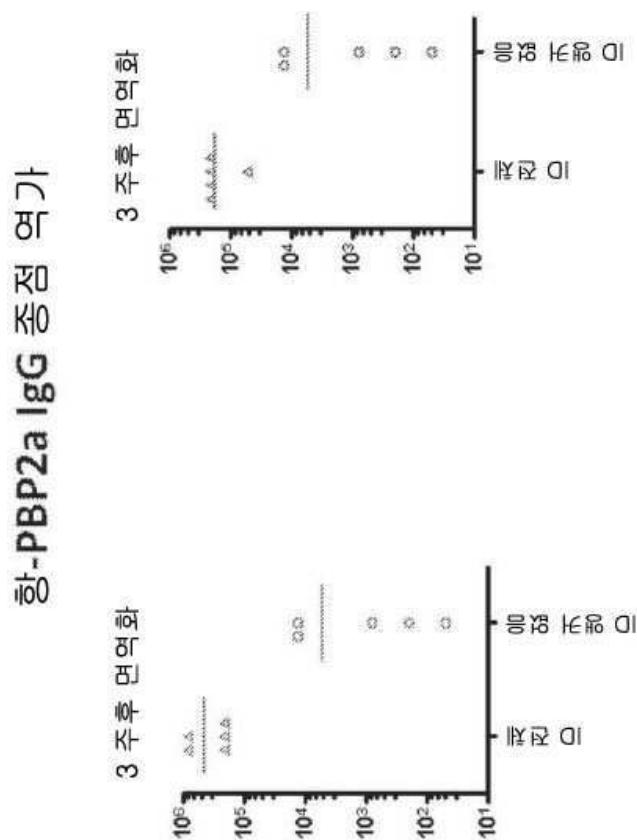
도면7



도면8



도면9



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> The Trustees of the University of Pennsylvania

Weiner, David B.

Morrow, Matthew

<120> PROTEINS COMPRISING MRSA PBP2A AND FRAGMENTS THEREOF, NUCLEIC ACIDS ENCODING THE SAME, AND COMPOSITIONS AND THEIR USE TO PREVENT AND TREAT MRSA INFECTIONS

<130> 133172.4002

<150> US 61/569,727

<151> 2011-12-12

<160> 13

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2004

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MRSA consensus nucleic acid

<400> 1

aaaaagatca agattgtgcc tctgattctg attgtggtcg tggtcggatt cggcatctac	60
ttctacgcaa gcaaggacaa agagatcaac aatactatcg acgccattga agataagaac	120
ttcaaacagg tgtacaaaga cagctcctat atctcaaaga gcgataatgg agaggtcgaa	180
atgacagagc gccccatcaa aatctacaac tccctggcg tgaaggacat caacatccag	240
gatagaaaaa tcaagaaagt gtctaagaac aagaaacgcg tcgatgccca gtacaagatc	300
aagaccaact atggcaatat cgaccgaaac gtgcagttca atttgtcaa agaggatggc	360

atgtggaagc tggactggga tcactctgtg atcattcctg ggatgcagaa ggaccagtca	420
atccatattg agaatctgaa aagcgaacgg ggcaagatcc tggatagaaa caatgtggag	480
ctggccaaca caggcactgc ttacgaaatc gggattgtgc ctaagaatgt cagcaagaaa	540
gactacaagg ccatcgctaa agagctgtcc atctctgaag actatataa gcagcagatg	600
gatcagaact gggtcagga cgataccctt gtgccactga agacagtcaa gaaaatggac	660
gagttacctga gcgatttcgc caagaaattt cacctgacca caaacgagac tgaaagttagg	720

aattaccccc tggcaaggc tacctcacat ctgctggct atgtgggacc tattaactcc	780
gaggaactga agcagaaaga gtacaagggg tataaagacg atgccgtat cgcaagaaa	840
ggctggaga agctgtacga caagaaactg cagcacgaag atggatatcg ggtgaccatc	900
gtcgacgata acagcaatac catcgacat acactgattg agaagaaaaa gaaagacggc	960
aaagatatcc agctgacaat tgacgctaag gtgcagaat ctatctacaa caacatgaag	1020
aacgattatg ggagtggAAC tgccatccac ccacagaccg gggaaactgct ggctctggtg	1080
agtacaccat catacgacgt gtaccccttc atgtacggaa tgtccaaacga ggaatataac	1140
aagctgactg aggataagaa agaacctctg ctgaataagt tttagattac taccagccca	1200
gggtccactc agaaaatcct gaccgcattg attggactga acaataagac actggacgat	1260
aagacttcat acaaaatcga cggcaagggg tggcagaagg ataaaagctg gggcggtac	1320
aacgtgacca gatatgaggt ggtcaacggc aatatcgacc tgaaggcaggc catcaatct	1380
agtgataaca tctctttgc aagggtcgcc ctggagctgg gatctaagaa attcgaaaag	1440
ggcatgaaga aactggagt gggcgaggac atccccagcg attaccctt ttataacgct	1500
cagatttcca acaagaatct ggacaatgag atcctgctgg cagatagtgg gtacggacag	1560
ggcggaaatcc tgattAACCC agtgcagatc ctgtctatct acagtgcact ggagaacaat	1620
gggaacatta atgcccctca cctgctgaag gacaccaaga acaaagtgtg gaagaaaaat	1680
atcatcagca aggagaacat caatctgctg acagacggc tgcagcagggt ggtcaacaag	1740
actcataaag aagatatactt ccgatcctat gctaatctga tcggaaagtc tggcaccgca	1800
gagctgaaga tggaaacaggg gggaaacagga cggcagatcg ggtgggtcat tagttacgac	1860
aaggataacc ctaatatgtat gatggccatt aacgtgaaag acgtgcagga taaggaaatg	1920
gtttcatata atgcaaagat cttagaaaaa gtgtatgacg aactgtatga aaatgggaaac	1980
aaaaagtatg acattgacga atga	2004

<210> 2

<211> 667

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MRSA consensus amino acid sequence

<400> 2

Lys Lys Ile Lys Ile Val Pro Leu Ile Leu Ile Val Val Val Val Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Phe Gly Ile Tyr Phe Tyr Ala Ser Lys Asp Lys Glu Ile Asn Asn Thr

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

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

275 280 285

Lys Leu Gln His Glu Asp Gly Tyr Arg Val Thr Ile Val Asp Asp Asn

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Asn Asn Met Lys Asn Asp Tyr Gly Ser Gly Thr Ala Ile His Pro Gln

340 345 350

Thr Gly Glu Leu Leu Ala Leu Val Ser Thr Pro Ser Tyr Asp Val Tyr

355 360 365

Pro Phe Met Tyr Gly Met Ser Asn Glu Glu Tyr Asn Lys Leu Thr Glu

370 375 380

Asp Lys Lys Glu Pro Leu Leu Asn Lys Phe Gln Ile Thr Thr Ser Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Thr Leu Asp Asp Lys Thr Ser Tyr Lys Ile Asp Gly Lys Gly Trp Gln

420 425 430

Lys Asp Lys Ser Trp Gly Tyr Asn Val Thr Arg Tyr Glu Val Val

435 440 445

Asn Gly Asn Ile Asp Leu Lys Gln Ala Ile Glu Ser Ser Asp Asn Ile

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Phe Tyr Asn Ala Gln Ile Ser Asn Lys Asn Leu Asp Asn Glu Ile Leu

500 505 510

Leu Ala Asp Ser Gly Tyr Gly Gln Gly Glu Ile Leu Ile Asn Pro Val

515	520	525	
Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Ala Leu Glu Asn Asn Gly Asn Ile Asn			
530	535	540	
Ala Pro His Leu Leu Lys Asp Thr Lys Asn Lys Val Trp Lys Lys Asn			
545	550	555	560
Ile Ile Ser Lys Glu Asn Ile Asn Leu Leu Thr Asp Gly Met Gln Gln			
565	570	575	
Val Val Asn Lys Thr His Lys Glu Asp Ile Tyr Arg Ser Tyr Ala Asn			
580	585	590	
Leu Ile Gly Lys Ser Gly Thr Ala Glu Leu Lys Met Lys Gln Gly Glu			
595	600	605	
Thr Gly Arg Gln Ile Gly Trp Phe Ile Ser Tyr Asp Lys Asn Pro			
610	615	620	
Asn Met Met Met Ala Ile Asn Val Lys Asp Val Gln Asp Lys Gly Met			
625	630	635	640
Ala Ser Tyr Asn Ala Lys Ile Ser Gly Lys Val Tyr Asp Glu Leu Tyr			
645	650	655	
Glu Asn Gly Asn Lys Lys Tyr Asp Ile Asp Glu			
660	665		
<210> 3			
<211> 1935			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> MRSA fragment 1 nucleic acid			
<400> 3			
agcaaggaca aagagatcaa caatactatc gacgcattg aagataagaa cttcaaacag			60
gtgtacaaag acagctccta tatctcaaag agcgataatg gagaggtcga aatgacagag			120
cgccccatca aaatctacaa ctccctggc gtgaaggaca tcaacatcca ggtataggaaa			180
atcaagaaag tgtctaagaa caagaaacgc gtcgatgccc agtacaagat caagaccaac			240
tatggcaata tcgaccgaaa cgtcgatgtc aatttgtca aagaggatgg catgtggaag			300
ctggactggg atcactctgt gatcattctt gggatcgaga aggaccagtc aatccatatt			360
gagaatctga aaagcgaacg gggcaagatc ctggatagaa acaatgtgga gctggccaac			420

acaggcactg cttacgaaat cgggattgtg cctaagaatg tcagcaagaa agactacaag	480
gccatcgcta aagagctgtc catctctgaa gactatatca agcagcagat ggatcagaac	540
tgggtcagg acgataccctt tgtgccactg aagacagtca agaaaatgga cgagtacctg	600
agcgatttcg ccaagaaatt tcacctgacc acaaacgaga ctgaaagtag gaattacccc	660
ctggcaagg ctacccatac tctgctggc tatgtggac ctattaactc cgaggaactg	720
aagcagaag agtacaaggg gtataaagac gatgccgtga tcggcaagaa agggctggag	780
aagctgtacg acaagaaact gcagcacgaa gatggatatc gggtaccat cgtcgacat	840
aacagcaata ccatcgacatacactgatt gagaagaaaa agaaagacgg caaagatatc	900
cagctgacaa ttgacgctaa ggtgcagaag tctatctaca acaacatgaa gaacgattat	960
gggagtggaa ctgcacatcca cccacagacc ggggaactgc tggctctggt gagtacacca	1020
tcatacgacg tgtacccctt catgtacgga atgtccaacg aggaatataa caagctgact	1080
gaggataaga aagaacctct gctgaataag tttcagatatacctt ctaccagccc agggtccact	1140
cagaaaatcc tgaccgcatt gattggactg aacaataaga cactggacga taagacttca	1200
tacaaaatcg acggcaaggg gtggcagaag gataaaagct gggcgggta caacgtgacc	1260
agatatgagg tggtaacgg caatatcgac ctgaaggcagg ccatcgaatc tagtgataac	1320
atcttcttg caagggtcgc cctggagctg ggatctaaga aattcgaaaa gggcatgaag	1380
aaactgggatg tggcggagga catccccagg gattaccctt ttataaacgc tcagattcc	1440
aacaagaatc tggacaatga gatcctgctg gcagatagt ggtacggaca gggcgaatc	1500
ctgattaacc cagtgcacat cctgtctatc tacagtgcac tggagaaccaa tggaaacatt	1560
aatgcccctc acctgctgaa ggacaccaag aacaaagtgt ggaagaaaaa tatcatcgc	1620
aaggagaaca tcaatctgct gacagacggc atgcagcagg tggtaaccaa gactcataaa	1680
gaagatatct accgatccta tgctaatctg atcgaaagt ctggcaccgc agagctgaag	1740
atgaaacagg gggaaacagg acggcagatc gggtggttca ttagttacga caaggataac	1800
cctaataatgatgatggccat taacgtgaaa gacgtgcagg ataagggat ggcttcatat	1860
aatgcaaaga tctcaggaaa agtgtatgac gaactgtatg aaaatggaaa taagaaatat	1920
gacattgacg aatga	1935

<210> 4

<211> 644

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MRSA fragment 2 amino acid

<400> 4

Ser Lys Asp Lys Glu Ile Asn Asn Thr Ile Asp Ala Ile Glu Asp Lys

1 5 10 15

Asn Phe Lys Gln Val Tyr Lys Asp Ser Ser Tyr Ile Ser Lys Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

Leu Gly Val Lys Asp Ile Asn Ile Gln Asp Arg Lys Ile Lys Lys Val

50 55 60

Ser Lys Asn Lys Lys Arg Val Asp Ala Gln Tyr Lys Ile Lys Thr Asn

65 70 75 80

Tyr Gly Asn Ile Asp Arg Asn Val Gln Phe Asn Phe Val Lys Glu Asp

85 90 95

Gly Met Trp Lys Leu Asp Trp Asp His Ser Val Ile Ile Pro Gly Met

100 105 110

Gln Lys Asp Gln Ser Ile His Ile Glu Asn Leu Lys Ser Glu Arg Gly

115 120 125

Lys Ile Leu Asp Arg Asn Asn Val Glu Leu Ala Asn Thr Gly Thr Ala

130 135 140

Tyr Glu Ile Gly Ile Val Pro Lys Asn Val Ser Lys Lys Asp Tyr Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

Met Asp Gln Asn Trp Val Gln Asp Asp Thr Phe Val Pro Leu Lys Thr

180 185 190

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

195 200 205

Leu Thr Thr Asn Glu Thr Glu Ser Arg Asn Tyr Pro Leu Gly Lys Ala

210 215 220

Thr Ser His Leu Leu Gly Tyr Val Gly Pro Ile Asn Ser Glu Glu Leu

225 230 235 240

Lys Gln Lys Glu Tyr Lys Gly Tyr Lys Asp Asp Ala Val Ile Gly Lys

245 250 255

Lys Gly Leu Glu Lys Leu Tyr Asp Lys Lys Leu Gln His Glu Asp Gly

260 265 270

Tyr Arg Val Thr Ile Val Asp Asp Asn Ser Asn Thr Ile Ala His Thr

275 280 285

Leu Ile Glu Lys Lys Lys Asp Gly Lys Asp Ile Gln Leu Thr Ile

290 295 300

Asp Ala Lys Val Gln Lys Ser Ile Tyr Asn Asn Met Lys Asn Asp Tyr

305 310 315 320

Gly Ser Gly Thr Ala Ile His Pro Gln Thr Gly Glu Leu Leu Ala Leu

325 330 335

Val Ser Thr Pro Ser Tyr Asp Val Tyr Pro Phe Met Tyr Gly Met Ser

340 345 350

Asn Glu Glu Tyr Asn Lys Leu Thr Glu Asp Lys Lys Glu Pro Leu Leu

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Tyr Lys Ile Asp Gly Lys Gly Trp Gln Lys Asp Lys Ser Trp Gly Gly

405 410 415

Tyr Asn Val Thr Arg Tyr Glu Val Val Asn Gly Asn Ile Asp Leu Lys

420 425 430

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

435 440 445

Glu Leu Gly Ser Lys Lys Phe Glu Lys Gly Met Lys Lys Leu Gly Val

450 455 460

Gly Glu Asp Ile Pro Ser Asp Tyr Pro Phe Tyr Asn Ala Gln Ile Ser

465 470 475 480

Asn Lys Asn Leu Asp Asn Glu Ile Leu Leu Ala Asp Ser Gly Tyr Gly

485	490	495
Gln Gly Glu Ile Leu Ile Asn Pro Val Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser		
500	505	510
Ala Leu Glu Asn Asn Gly Asn Ile Asn Ala Pro His Leu Leu Lys Asp		
515	520	525

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

Phe Ile Ser Tyr Asp Lys Asp Asn Pro Asn Met Met Met Ala Ile Asn		
595	600	605
Val Lys Asp Val Gln Asp Lys Gly Met Ala Ser Tyr Asn Ala Lys Ile		
610	615	620
Ser Gly Lys Val Tyr Asp Glu Leu Tyr Glu Asn Gly Asn Lys Lys Tyr		
625	630	635
Asp Ile Asp Glu		

<210> 5
 <211> 729
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MRSA fragment 3 nucleic acid

<400> 5	
atcgacggca aggggtggca gaaggataaa agctggggcg ggtacaacgt gaccagat	60
gagggtggta acggcaatat cgacctgaag caggccatcg aatctagtga taacatcttc	120
tttgcaggg tcgcctgga gctggatct aagaaattcg aaaaggccat gaagaaactg	180
ggagtggcg aggacatccc cagcgattac cttttata acgctcagat ttccaacaag	240
aatctggaca atgagatcct gctggcagat agtgggtacg gacagggcga aatcctgatt	300

aaccaggc	agatcctg	tatctacagt	gcactggaga	acaatggaa	cattaa	360
cctcacctgc	tgaaggacac	caagaacaaa	gtgtggaaga	aaaatatcat	cagcaaggag	420

aacatcaatc	tgcgtacaga	cggcatgcag	caggtggta	acaagactca	taaagaagat	480
atctaccat	cctatgctaa	tctgatcgga	aagtctggca	ccgcagagct	gaagatgaaa	540
cagggggaaa	caggacggca	gatcgggtgg	ttcattagtt	acgacaagga	taacccta	600
atgatgatgg	ccattaacgt	gaaagacgtg	caggataagg	gaatggcttc	atataatgca	660
aagatctcag	gaaaagtgt	tgacgaactg	tatgaaaatg	ggaacaaaaa	gtatgacatt	720
gacgaatga						729

<210> 6

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MRSA fragment 4 amino acid

<400> 6

Ile Asp Gly Lys Gly Trp Gln Lys Asp Lys Ser Trp Gly Gly Tyr Asn

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ser Lys Lys Phe Glu Lys Gly Met Lys Lys Leu Gly Val Gly Glu

50 55 60

Asp Ile Pro Ser Asp Tyr Pro Phe Tyr Asn Ala Gln Ile Ser Asn Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Ile Leu Ile Asn Pro Val Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Ala Leu

100 105 110

Glu Asn Asn Gly Asn Ile Asn Ala Pro His Leu Leu Lys Asp Thr Lys

115 120 125

Asn Lys Val Trp Lys Lys Asn Ile Ile Ser Lys Glu Asn Ile Asn Leu

130	135	140
Leu Thr Asp Gly Met Gln Gln Val Val Asn Lys Thr His Lys Glu Asp		
145	150	155
Ile Tyr Arg Ser Tyr Ala Asn Leu Ile Gly Lys Ser Gly Thr Ala Glu		
165	170	175
Leu Lys Met Lys Gln Gly Glu Thr Gly Arg Gln Ile Gly Trp Phe Ile		
180	185	190
Ser Tyr Asp Lys Asp Asn Pro Asn Met Met Ala Ile Asn Val Lys		
195	200	205
Asp Val Gln Asp Lys Gly Met Ala Ser Tyr Asn Ala Lys Ile Ser Gly		
210	215	220
Lys Val Tyr Asp Glu Leu Tyr Glu Asn Gly Asn Lys Lys Tyr Asp Ile		
225	230	235
Asp Glu		

<210> 7

<211> 2058

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Full MRSA antigen + IgE nucleic acid

<400> 7

atggactgga catggattct gttcctggtc gctgctgcta cacgggtgca ttctaaaaag	60
atcaagattg tgcctctgat tctgatttg gtcgtggtcg gattcggcat ctacttctac	120
gcaagcaagg acaaagagat caacaatact atcgacgcca ttgaagataa gaacttcaa	180
caggtgtaca aagacagctc ctatatctca aagagegata atggagaggt cgaaatgaca	240
gagcgccccca tcaaaatcta caactccctg ggcgtgaagg acatcaacat ccaggatagg	300
aaaatcaaga aagtgtctaa gaacaagaaa cgcgtcgatg cccagtacaa gatcaagacc	360

aactatggca atatcgaccg aaacgtgcag ttcaatttg tcaaagagga tggcatgtgg	420
aagctggact gggatcactc tgtgatcatt cctggatgc agaaggacca gtcaatccat	480
attgagaatc tggaaagcga acggggcaag atcctggata gaaacaatgt ggagctggcc	540
aacacaggca ctgcttacga aatcgggatt gtgcctaaga atgtcagcaa gaaagactac	600
aaggccatcg ctaaagagct gtccatctc gaagactata tcaagcagca gatggatcag	660

aactgggtgc aggacgatac ctttgtcca ctgaagacag tcaagaaaat ggacgagtac 720
 ctgagcgatt tcgccaagaa atttcacctg accacaaacg agactgaaag taggaattac 780

ccccctggca aggttacctc acatctgtcg ggctatgtgg gacctattaa ctccgaggaa 840
 ctgaagcaga aagagtacaa ggggtataaa gacgtgccc tgatcgccaa gaaaggcgtg 900
 gagaagctgt acgacaagaa actgcagcac gaagatggat atcgggtgac catgtcgac 960
 gataacagca ataccatcgc acatacactg attgagaaga aaaagaaaga cggcaaagat 1020
 atccagctga caattgacgc taaggtgcag aagtctatct acaacaacat gaagaacgat 1080
 tatggagtg gaactgccat ccacccacag accggggAAC tgctggctct ggtgagtaca 1140
 ccatcatacg acgtgtaccc cttcatgtac ggaatgtcca acgaggaata taacaagctg 1200

actgaggata agaaaagaacc tctgctgaat aagttcaga ttactaccag cccagggtcc 1260
 actcagaaaa tcctgaccgc catgattgga ctgaacaata agacactgga cgataagact 1320
 tcatacataaa tcgacggcaa ggggtggcag aaggataaaa gctggggcgg gtacaacgtg 1380
 accagatatg aggtggtcaa cgcaatatc gacctgaagc aggccatcga atctagtatg 1440
 aacatttct ttgcaagggt cgccctggag ctggatcta agaaattcga aaagggcatg 1500
 aagaaaactgg gagtggcga ggacatcccc agcgattacc cttttataa cgctcagatt 1560
 tccacaacaaga atctggacaa tgagatcctg ctggcagata gtgggtacgg acagggcga 1620

atcctgatta acccagtgcgatcctgtct atctacagtg cactggagaa caatggaaac 1680
 attaatgccc ctacacgtct gaaggacacc aagaacaaag tgtggaagaa aaatatcatc 1740
 agcaaggaga acatcaatct gctgacagac ggcatgcagc aggtggtcaa caagactcat 1800
 aaagaagata tctaccgatc ctatgcta at ctgatcgaa agtctggcac cgccagactg 1860
 aagatgaaac agggggaaac aggacggcag atcgggttgt tcattagttt cgacaaggat 1920
 aaccctaata tcatgtatggc cattaacgtc aaagacgtgc aggataaggg aatggctca 1980
 tataatgaa agatctcagg aaaagtgtat gacgaactgt atgaaaatgg gaacaaaaag 2040

tatgacattg acgaatga 2058

<210> 8

<211> 685

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Full MRSA antigen + IgE amino acid

<400> 8

Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val

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

Ser Arg Asn Tyr Pro Leu Gly Lys Ala Thr Ser His Leu Leu Gly Tyr
 260 265 270
 Val Gly Pro Ile Asn Ser Glu Glu Leu Lys Gln Lys Glu Tyr Lys Gly
 275 280 285
 Tyr Lys Asp Asp Ala Val Ile Gly Lys Gly Leu Glu Lys Leu Tyr
 290 295 300
 Asp Lys Lys Leu Gln His Glu Asp Gly Tyr Arg Val Thr Ile Val Asp
 305 310 315 320
 Asp Asn Ser Asn Thr Ile Ala His Thr Leu Ile Glu Lys Lys Lys
 325 330 335
 Asp Gly Lys Asp Ile Gln Leu Thr Ile Asp Ala Lys Val Gln Lys Ser
 340 345 350
 Ile Tyr Asn Asn Met Lys Asn Asp Tyr Gly Ser Gly Thr Ala Ile His
 355 360 365
 Pro Gln Thr Gly Glu Leu Leu Ala Leu Val Ser Thr Pro Ser Tyr Asp
 370 375 380
 Val Tyr Pro Phe Met Tyr Gly Met Ser Asn Glu Glu Tyr Asn Lys Leu
 385 390 395 400
 Thr Glu Asp Lys Lys Glu Pro Leu Leu Asn Lys Phe Gln Ile Thr Thr
 405 410 415
 Ser Pro Gly Ser Thr Gln Lys Ile Leu Thr Ala Met Ile Gly Leu Asn
 420 425 430
 Asn Lys Thr Leu Asp Asp Lys Thr Ser Tyr Lys Ile Asp Gly Lys Gly
 435 440 445
 Trp Gln Lys Asp Lys Ser Trp Gly Gly Tyr Asn Val Thr Arg Tyr Glu
 450 455 460 465
 Val Val Asn Gly Asn Ile Asp Leu Lys Gln Ala Ile Glu Ser Ser Asp
 470 475 480
 Asn Ile Phe Phe Ala Arg Val Ala Leu Glu Leu Gly Ser Lys Lys Phe
 485 490 495
 Glu Lys Gly Met Lys Lys Leu Gly Val Gly Glu Asp Ile Pro Ser Asp

500	505	510
Tyr Pro Phe Tyr Asn Ala Gln Ile Ser Asn Lys Asn Leu Asp Asn Glu		
515	520	525
Ile Leu Leu Ala Asp Ser Gly Tyr Gly Gln Gly Glu Ile Leu Ile Asn		
530	535	540
Pro Val Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Ala Leu Glu Asn Asn Gly Asn		
545	550	555
Ile Asn Ala Pro His Leu Leu Lys Asp Thr Lys Asn Lys Val Trp Lys		
565	570	575
Lys Asn Ile Ile Ser Lys Glu Asn Ile Asn Leu Leu Thr Asp Gly Met		
580	585	590
Gln Gln Val Val Asn Lys Thr His Lys Glu Asp Ile Tyr Arg Ser Tyr		
595	600	605
Ala Asn Leu Ile Gly Ser Gly Thr Ala Glu Leu Lys Met Lys Gln		
610	615	620
Gly Glu Thr Gly Arg Gln Ile Gly Trp Phe Ile Ser Tyr Asp Lys Asp		
625	630	635
Asn Pro Asn Met Met Ala Ile Asn Val Lys Asp Val Gln Asp Lys		
645	650	655
Gly Met Ala Ser Tyr Asn Ala Lys Ile Ser Gly Lys Val Tyr Asp Glu		
660	665	670
Leu Tyr Glu Asn Gly Asn Lys Tyr Asp Ile Asp Glu		
675	680	685

<210> 9

<211> 1989

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> No Anchor antigen coding sequence nucleic acid

<400> 9

atggactgga cctggattct gttcctggtc gccgcccaca cccgcgtgca ttcaagcaag	60
gacaaagaga tcaacaatac tatcgacgcc attgaagata agaacttcaa acaggtgtac	120
aaagacagct cctatatctc aaagagcgt aatggagagg tcgaaatgac agagcgcccc	180

atcaaatct acaactccct gggcgtgaag gacatcaaca tccaggatag gaaaatcaag	240
aaagtgtcta agaacaagaa acgcgtcgat gcccagtaca agatcaagac caactatggc	300
aatatcgacc gaaacgtgca gttcaattt gtcaaagagg atggcatgtg gaagctggac	360
tgggatcaact ctgtgatcat tcctggatg cagaaggacc agtcaatcca tattgagaat	420
ctgaaaagcg aacggggcaa gatcctggat agaaacaatg tggagctggc caacacaggc	480
actgcttacg aaatcggat tgcgttaag aatgtcagca agaaagacta caaggccatc	540
gctaaagagc tgtccatctc tgaagactat atcaagcagc agatggatca gaactgggtg	600
caggacgata ctttgcactt actgaagaca gtcaagaaaa tggacgagta cctgagcgat	660
ttcggcaaga aatttcacct gaccacaaac gagactgaaa gtaggaatta cccctggc	720
aaggctacct cacatctgct gggctatgtg ggacctatta actccgagga actgaagcag	780
aaagagtaca aggggtataa agacgatgcc gtgatcgca agaaaggct ggagaagctg	840
tacgacaaga aactgcagca cgaagatgga tatcgggtga ccatcgatcg cgataacagc	900
aataccatcg cacatacact gattgagaag aaaaagaaag acggcaaaga tatccagctg	960
acaattgacg ctaaggtgca gaagtctatc tacaacaaca tgaagaacga ttatggagt	1020
ggaactgcca tccacccaca gaccgggaa ctgctggctc tggtagtac accatcatac	1080
gacgttacc cttcatgta cgaaatgtcc aacgaggaat ataacaagct gactgaggat	1140
aagaaagaac ctctgctgaa taagtttcg attactacca gcccagggtc cactcagaaa	1200
atcctgaccg ccatgattgg actgaacaat aagacactgg acgataagac ttcatacaaa	1260
atcgacggca aggggtggca gaaggataaa agctggggcg ggtacaacgt gaccagat	1320
gaggtggtca acggcaatat cgacctgaaag caggccatcg aatctagtga taacatctc	1380
tttgcaggg tcgcctgga gctggatct aagaattcg aaaagggcat gaagaaactg	1440
ggagtggcg aggacatccc cagcgattac cttttata acgctcagat ttccaacaag	1500
aatctggaca atgagatct gctggcagat agtggatcg gacagggcga aatctgtt	1560
aaccctgtgc agatcctgtc tatctacagt gcactggaga acaatggaa cattaaatgcc	1620
cctcacctgc tgaaggacac caagaacaaa gtgtggaaaga aaaatatcat cagcaaggag	1680
aacatcaatc tgcgtacaga cggcatgcag cagggtggca acaagactca taaagaagat	1740
atctaccat cctatgctaa tctgatcgaa aagtctggca ccgcagagct gaagatgaaa	1800
cagggggaaa caggacggca gatcgggtgg ttcatgtt acgacaagga taaccctaat	1860
atgatgtatgg ccattaaacgt gaaagacgtg caggataagg gaatggcttc atataatgca	1920
aagatctcag gaaaagtgtta tgacgaactg tatgaaaatg gaaataagaa atatgacatt	1980

gacgaatga	1989
<210> 10	
<211> 662	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> No Anchor antigen amino acid sequence	
<400> 10	
Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val	
1 5 10 15	
His Ser Ser Lys Asp Lys Glu Ile Asn Asn Thr Ile Asp Ala Ile Glu	
20 25 30	
Asp Lys Asn Phe Lys Gln Val Tyr Lys Asp Ser Ser Tyr Ile Ser Lys	
35 40 45	
Ser Asp Asn Gly Glu Val Glu Met Thr Glu Arg Pro Ile Lys Ile Tyr	
50 55 60	
Asn Ser Leu Gly Val Lys Asp Ile Asn Ile Gln Asp Arg Lys Ile Lys	
65 70 75 80	
Lys Val Ser Lys Asn Lys Lys Arg Val Asp Ala Gln Tyr Lys Ile Lys	
85 90 95	
Thr Asn Tyr Gly Asn Ile Asp Arg Asn Val Gln Phe Asn Phe Val Lys	
100 105 110	
Glu Asp Gly Met Trp Lys Leu Asp Trp Asp His Ser Val Ile Ile Pro	
115 120 125	
Gly Met Gln Lys Asp Gln Ser Ile His Ile Glu Asn Leu Lys Ser Glu	
130 135 140	
Arg Gly Lys Ile Leu Asp Arg Asn Asn Val Glu Leu Ala Asn Thr Gly	
145 150 155 160	
Thr Ala Tyr Glu Ile Gly Ile Val Pro Lys Asn Val Ser Lys Lys Asp	
165 170 175	
Tyr Lys Ala Ile Ala Lys Glu Leu Ser Ile Ser Glu Asp Tyr Ile Lys	
180 185 190	
Gln Gln Met Asp Gln Asn Trp Val Gln Asp Asp Thr Phe Val Pro Leu	

195	200	205	
Lys Thr Val Lys Lys Met Asp Glu Tyr Leu Ser Asp Phe Ala Lys Lys			
210	215	220	
Phe His Leu Thr Thr Asn Glu Thr Glu Ser Arg Asn Tyr Pro Leu Gly			
225	230	235	240
Lys Ala Thr Ser His Leu Leu Gly Tyr Val Gly Pro Ile Asn Ser Glu			
245	250	255	
Glu Leu Lys Gln Lys Glu Tyr Lys Gly Tyr Lys Asp Asp Ala Val Ile			
260	265	270	
Gly Lys Lys Gly Leu Glu Lys Leu Tyr Asp Lys Lys Leu Gln His Glu			
275	280	285	
Asp Gly Tyr Arg Val Thr Ile Val Asp Asp Asn Ser Asn Thr Ile Ala			
290	295	300	
His Thr Leu Ile Glu Lys Lys Lys Asp Gly Lys Asp Ile Gln Leu			
305	310	315	320
Thr Ile Asp Ala Lys Val Gln Lys Ser Ile Tyr Asn Asn Met Lys Asn			
325	330	335	
Asp Tyr Gly Ser Gly Thr Ala Ile His Pro Gln Thr Gly Glu Leu Leu			
340	345	350	
Ala Leu Val Ser Thr Pro Ser Tyr Asp Val Tyr Pro Phe Met Tyr Gly			
355	360	365	
Met Ser Asn Glu Glu Tyr Asn Lys Leu Thr Glu Asp Lys Glu Pro			
370	375	380	
Leu Leu Asn Lys Phe Gln Ile Thr Thr Ser Pro Gly Ser Thr Gln Lys			
385	390	395	400
Ile Leu Thr Ala Met Ile Gly Leu Asn Asn Lys Thr Leu Asp Asp Lys			
405	410	415	
Thr Ser Tyr Lys Ile Asp Gly Lys Gly Trp Gln Lys Asp Lys Ser Trp			
420	425	430	
Gly Gly Tyr Asn Val Thr Arg Tyr Glu Val Val Asn Gly Asn Ile Asp			
435	440	445	

Leu Lys Gln Ala Ile Glu Ser Ser Asp Asn Ile Phe Phe Ala Arg Val

450 455 460

Ala Leu Glu Leu Gly Ser Lys Lys Phe Glu Lys Gly Met Lys Lys Leu

465 470 475 480

Gly Val Gly Glu Asp Ile Pro Ser Asp Tyr Pro Phe Tyr Asn Ala Gln

485 490 495

Ile Ser Asn Lys Asn Leu Asp Asn Glu Ile Leu Leu Ala Asp Ser Gly

500 505 510

Tyr Gly Gln Gly Glu Ile Leu Ile Asn Pro Val Gln Ile Leu Ser Ile

515 520 525

Tyr Ser Ala Leu Glu Asn Asn Gly Asn Ile Asn Ala Pro His Leu Leu

530 535 540

Lys Asp Thr Lys Asn Lys Val Trp Lys Lys Asn Ile Ile Ser Lys Glu

545 550 555 560

Asn Ile Asn Leu Leu Thr Asp Gly Met Gln Gln Val Val Asn Lys Thr

565 570 575

His Lys Glu Asp Ile Tyr Arg Ser Tyr Ala Asn Leu Ile Gly Lys Ser

580 585 590

Gly Thr Ala Glu Leu Lys Met Lys Gln Gly Glu Thr Gly Arg Gln Ile

595 600 605

Gly Trp Phe Ile Ser Tyr Asp Lys Asp Asn Pro Asn Met Met Met Ala

610 615 620

Ile Asn Val Lys Asp Val Gln Asp Lys Gly Met Ala Ser Tyr Asn Ala

625 630 635 640

Lys Ile Ser Gly Lys Val Tyr Asp Glu Leu Tyr Glu Asn Gly Asn Lys

645 650 655

Lys Tyr Asp Ile Asp Glu

660

<210> 11

<211> 783

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Short PBP2a catalytic + IgE nucleic acid

<400> 11

atggactgga catggattct gttcctggtc gctgcgtgcta cacgggtgca ttctatcgac	60
ggcaagggtt ggcagaagga taaaagctgg ggcgggtaca acgtgaccag atatgaggtg	120
gtcaacggca atatcgacct gaagcaggcc atcgaatcta gtgataacat cttcttgca	180
agggtcgccc tggagctggg atctaagaaa ttcgaaaagg gcatgaagaa actgggagtg	240
ggcgaggaca tccccagcga ttacccttt tataacgctc agatttccaa caagaatctg	300
gacaatgaga tcctgctggc agatagtggg tacggacagg gcgaaatctt gattaaccca	360
gtgcagatcc tgtctatcta cagtgcactg gagaacaatg ggaacattaa tgccctcac	420
ctgctgaagg acaccaagaa caaagtgtgg aagaaaaata tcatcagcaa ggagaacatc	480
aatctgtga cagacggcat gcagcagggtg gtcaacaaga ctcataaaaga agatatctac	540
cgatcctatg ctaatctgat cgaaaagtct ggcaccgcag agctgaagat gaaacagggg	600
gaaacaggac ggcagatcgg gtggttcatt agttacgaca aggataaccc taatgtatg	660
atggccatta acgtgaaaga cgtgcaggat aaggaaatgg cttcatataa tgcaaagatc	720
tcagggaaag tgtatgacga actgtatgaa aatggaaaca aaaagtatga cattgacgaa	780
tga	783

<210> 12

<211> 260

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Short PBP2a catalytic + IgE amino acid

<400> 12

Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val

1	5	10	15
---	---	----	----

His Ser Ile Asp Gly Lys Gly Trp Gln Lys Asp Lys Ser Trp Gly Gly

20	25	30
----	----	----

Tyr Asn Val Thr Arg Tyr Glu Val Val Asn Gly Asn Ile Asp Leu Lys

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

Glu Leu Gly Ser Lys Lys Phe Glu Lys Gly Met Lys Lys Leu Gly Val

65 70 75 80

Gly Glu Asp Ile Pro Ser Asp Tyr Pro Phe Tyr Asn Ala Gln Ile Ser

85 90 95

Asn Lys Asn Leu Asp Asn Glu Ile Leu Leu Ala Asp Ser Gly Tyr Gly

100 105 110

Gln Gly Glu Ile Leu Ile Asn Pro Val Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser

115 120 125

Ala Leu Glu Asn Asn Gly Asn Ile Asn Ala Pro His Leu Leu Lys Asp

130 135 140

Thr Lys Asn Lys Val Trp Lys Lys Asn Ile Ile Ser Lys Glu Asn Ile

145 150 155 160

Asn Leu Leu Thr Asp Gly Met Gln Gln Val Val Asn Lys Thr His Lys

165 170 175

Glu Asp Ile Tyr Arg Ser Tyr Ala Asn Leu Ile Gly Lys Ser Gly Thr

180 185 190

Ala Glu Leu Lys Met Lys Gln Gly Glu Thr Gly Arg Gln Ile Gly Trp

195 200 205

Phe Ile Ser Tyr Asp Lys Asp Asn Pro Asn Met Met Met Ala Ile Asn

210 215 220

Val Lys Asp Val Gln Asp Lys Gly Met Ala Ser Tyr Asn Ala Lys Ile

225 230 235 240

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

245 250 255

Asp Ile Asp Glu

260

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgE leader

<400> 13

Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val

1

5

10

15

His