



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0132323
(43) 공개일자 2021년11월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G16B 30/00 (2019.01) A61K 39/215 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01) C07K 14/005 (2006.01)
G16B 35/00 (2019.01)

(52) CPC특허분류

G16B 30/00 (2019.02)
A61K 39/215 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0050552

(22) 출원일자 2020년04월27일

심사청구일자 2020년04월27일

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

이상수

서울특별시 양천구 목동중앙로7길 32, 105동 901호(목동, 이편한세상)

키란지브 차크라바티

인도, 웨스트 벵갈주, 24피지애스노던시, 칼린디동, 칼린디 아파트 P-121동 6호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김남혁

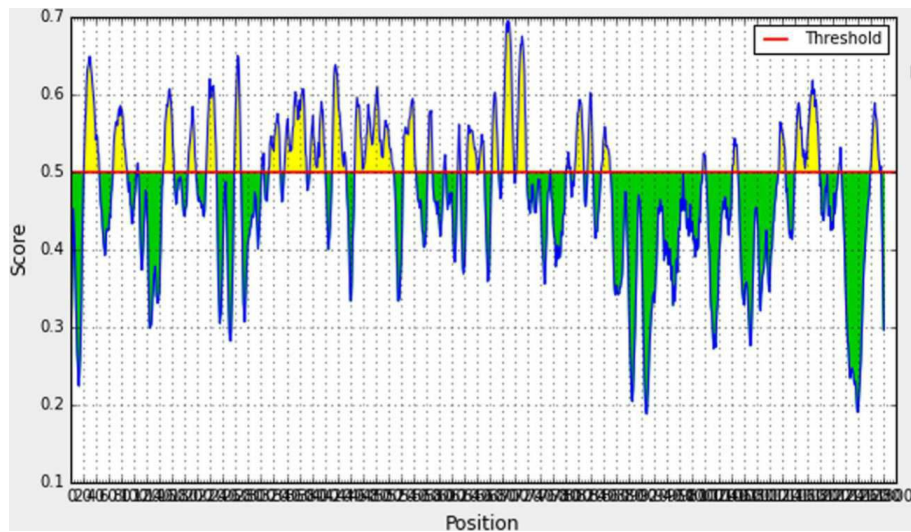
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법

(57) 요약

면역 정보학 접근법에 따른 신규 코로나 바이러스 2019 (SARS-COV-2)에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 31/14 (2018.01)

C07K 14/005 (2013.01)

G16B 35/00 (2019.02)

C12N 2770/20034 (2013.01)

(72) 발명자

아쉬시 란잔 샤르마

강원도 춘천시 성심로 67

가리마 샤르마

강원도 춘천시 성심로 67

마노짓 바타차리아

인도, 웨스트 벵갈주, 웨스트미드나포르시, 자그람
동, 아르빈다나가르 D-24

명세서

청구범위

청구항 1

SARS-COV-2 바이러스 내 표적 단백질의 아미노산 서열을 수집하는 단계;

상기 표적 단백질의 B 세포 에피토프를 식별하는 단계;

상기 식별된 B 세포 에피토프에 속하는 MHC-I 에피토프 및 MHC-II 에피토프를 식별하고 항원성을 분석하는 단계; 및

상기 식별된 MHC-I 에피토프 및 MHC-II 에피토프를 펩티드 링커와 연결하여 백신 성분을 결정하는 단계;를 포함하는 SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 표적 단백질은 스파이크 당 단백질인, SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 B 세포 에피토프는 34개의 순차적인 선형 에피토프인, SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 펩티드 링커는 (EAAAK) 3 펩티드 링커인, SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 결정된 백신 성분을 분자 도킹하는 단계;를 더 포함하는 SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 방법에 의해 개발된 백신.

청구항 7

제6항의 백신을 포함하는 제제.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 제제는 코로나19 치료용 제제인 것을 특징으로 하는 제제.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 면역 정보학 접근법에 따른 신규 코로나 바이러스 2019 (SARS-COV-2)에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 새로운 코로나 바이러스 (SARS-COV-2)는 2019년 12월 중국 우한에서 처음 발생한 뒤 중국 전역과 전 세계로 확산된 호흡기 감염질환이다. 초기에는 원인을 알 수 없는 호흡기 전염병으로만 알려졌으나, 세계보건기구(WHO)가 2020년 1월 9일 해당 폐렴의 원인이 새로운 유형의 코로나 바이러스(SARS-CoV-2, 국제바이러스분류위원회 2월 11일 명명)라고 밝히면서 병원체가 확인됐다.

[0003] 중국 정부는 2020년 1월 21일 우한 의료진 15명이 확진 판정을 받았으며 코로나19의 사람간 감염 가능성을 공식 확인했는데, 이 의료진 감염 여부는 사람 사이의 전염을 판별하는 핵심 지표로 알려져 있다. 이후 감염 확산세가 이어지자, WHO는 1월 30일 '국제적 공중보건 비상사태(PHEIC)'를 선포했다. 그러다 코로나 19 확진자가 전 세계에서 속출하자 WHO는 3월 11일 홍콩독감(1968), 신종플루(2009)에 이어 사상 세 번째로 코로나 19에 대해 팬데믹(세계적 대유행)을 선포했다.

[0004] 코로나바이러스감염증-19(코로나19)의 병원체는 '사스-코로나바이러스-2(SARS-CoV-2)'이다. 국제바이러스분류위원회(ICTV)는 2020년 2월 11일 코로나19의 병원체에 SARS-CoV-2라는 이름을 제안한 논문을 발표했는데, 위원회는 이 바이러스가 2003년 유행한 사스(SARS, 중증급성호흡기증후군)와 비슷하다는 점을 강조한 것이라고 밝혔다.

[0005] 한편, 우리 질병관리본부는 중국이 학계를 통해 공개한 해당 바이러스의 유전자염기서열을 입수해 분석한 결과 박쥐 유래 유사 코로나바이러스와 가장 높은 상동성(89.1%)이 있음을 확인했다. 또 사람 코로나바이러스 4종과의 상동성은 39%~43%로 낮았으며, 메르스와는 50%, 사스와는 77.5%의 상동성을 확인했다.

[0006] 코로나바이러스감염증-19(코로나19)는 감염자의 비말(침방울)이 호흡기나 눈·코·입의 점막으로 침투될 때 전염된다. 여기서 비말감염은 감염자가 기침·재채기를 할 때 침 등의 작은 물방울(비말)에 바이러스·세균이 섞여 나와 타인에게 감염되는 것으로 통상 이동거리는 2m로 알려져 있다. 눈의 경우 환자의 침 등이 눈에 직접 들어가거나, 바이러스에 오염된 손으로 눈을 비비면 눈을 통해 전염될 수 있다. 여기에 중국 당국은 2월 19일 공기 중에 떠 있는 고체 또는 액체 미립자, 즉 에어로졸에 의한 코로나19의 전파 가능성을 처음 인정한 바 있다.

[0007] 따라서 상황이 악화됨에 따라 SARS-COV-2에 적합한 백신 구성 요소를 설계해야 할 필요성이 커지고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 따라서, 본 발명은 상기한 실정을 고려하여 전 세계가 당면한 현재의 비극을 빠르게 해결하고자 하는 것으로, 면역 정보학 분석을 수행하여 백신을 개발하는 것을 목적으로 한다.

[0009] 또한, 본 발명이 해결하고자 하는 과제들은 이상에서 언급된 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 실시예에 따르면 SARS-COV-2 바이러스 내 표적 단백질의 아미노산 서열을 수집하는 단계, 상기 표적 단백질의 B 세포 에피토프를 식별하는 단계, 상기 식별된 B 세포 에피토프에 속하는 MHC-I 에피토프 및 MHC-II 에피토프를 식별하고 항원성을 분석하는 단계, 및 상기 식별된 MHC-I 에피토프 및 MHC-II 에피토프를 펩티드 링커와 연결하여 백신 성분을 결정하는 단계를 포함하는 SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법이 제공된다.

[0011] 또한, 본 발명의 다른 일 실시예에 따라 전술한 표적 단백질은 스파이크 당 단백질일 수 있다.

[0012] 또한, 본 발명의 다른 일 실시예에 따라 전술한 B 세포 에피토프는 34개의 순차적인 선형 에피토프일 수 있다.

- [0013] 또한, 전술한 펩티드 링커는 (EAAAK) 3 펩티드 링커일 수 있다.
- [0014] 또한, 전술한 결정된 백신 성분을 분자 도킹하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0015] 한편, 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 전술한 SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법에 의해 개발된 백신이 제공된다.
- [0016] 아울러, 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, 전술한 백신을 포함하는 제제가 제공된다.
- [0017] 이때, 상기 제제는 코로나 19 치료용 제제일 수 있다.

발명의 효과

- [0018] 본 발명의 SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법에 따르면, 면역 정보학을 사용하여 SARS-COV-2에 대한 다양한 B- 세포 및 T- 세포 에피토프를 찾을 수 있으며, B- 세포 및 T- 세포 에피토프의 빠른 식별로 코로나바이러스감염증-19의 백신 성분을 설계할 수 있는 효과가 있다.
- [0019] 본 발명의 효과들은 이상에서 언급된 효과로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0020] 도 1은 SARS-COV-2의 스파이크 당 단백질 내 선형 B 세포 에피토프를 그래프로 나타낸 것이다.
- 도 2는 백신 구성 요소의 3차 구조를 나타낸 것이다.
- 도 3은 백신 모델의 다른 분자 특성. (a) Ramachandran 플롯의 모든 원자, (b) ProSA 서버에서 백신 모델의 "Z"스코어 플롯, 및 (c) 모든 잔류 에너지 그래프이다.
- 도 4는 백신 성분 (청록색)과 톨-유사 수용체 -5 (녹색) 사이의 표면 상호 작용을 나타내는 도킹 콤플렉스이다.
- 도 5는 백신 성분과 톨-유사 수용체 -5 사이의 결합 상호 작용을 나타내는 도킹 콤플렉스이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 이하, 본 발명에 대하여 상세히 설명하기로 한다. 이에 앞서, 본 명세서 및 특허청구범위에 사용된 용어 또는 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 아니되며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다. 따라서, 본 명세서에 기재된 실시예에 기재된 구성은 본 발명의 가장 바람직한 일 실시예에 불과할 뿐이고, 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로, 본 발명의 출원 시점에 있어서 이들을 대체할 수 있는 다양한 균등물과 변형예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.
- [0022] 본 발명을 일 실시예에 따른 SARS-COV-2 바이러스에 대한 에피토프 기반 펩타이드 백신의 개발 방법은, SARS-COV-2 바이러스 내 표적 단백질의 아미노산 서열을 수집하는 단계, 상기 표적 단백질의 B 세포 에피토프를 식별하는 단계, 상기 식별된 B 세포 에피토프에 속하는 MHC-I 에피토프 및 MHC-II 에피토프를 식별하고 항원성을 분석하는 단계, 및 상기 식별된 MHC-I 에피토프 및 MHC-II 에피토프를 펩티드 링커와 연결하여 백신 성분을 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명에 따르면, SARS-COV-2 감염에 대해 충분한 면역 반응을 일으킬 수 있는 적절한 에피토프를 찾을 수 있다. 보다 구체적으로 면역 정보학을 사용하여, 우리는 SARS-COV-2에 대한 에피토프 백신의 생성에 대한 잠재적인 B 및 T- 세포 에피토프를 인식하고 특성화 할 수 있다. 구체적으로, SARS-COV-2의 스파이크 당 단백질은 특성 크라운을 형성하기 때문에 표적으로 간주되었다. 따라서, 효과적인 면역 증강을 위한 다양한 에피토프를 확인하기 위해 다수의 면역 정보 기반 서버 및 소프트웨어를 사용하여 스파이크 당 단백질의 단백질 서열을 철저히 탐색하였다.
- [0024] 이때, 상기 SARS-COV-2 바이러스 내 표적 단백질의 아미노산 서열을 수집하는 단계의 SARS-COV-2에서 표적 단백질의 아미노산 서열은 국립 생명 공학 정보 센터 (NCBI) 데이터베이스에서 수집되었다. 단백질 서열은 표적 단백질의 잠재적 에피토프를 식별하는데 매우 중요하다.
- [0025] 한편, 상기 표적 단백질의 B 세포 에피토프를 식별하는 단계는, Immune Epitope Database (IEDB)를 사용하여 통합된 BepiPred 2.0 예측 모듈을 사용하여 선형 B 세포 에피토프를 식별하였다. 모든 기본 매개 변수를 고려하여

대상 단백질의 FASTA 시퀀스를 입력으로 제공하였다.

- [0026] 또한, 상기 식별된 B 세포 에피토프에 속하는 MHC-I 에피토프 및 MHC-II 에피토프를 식별하고 항원성을 분석하는 단계는, MHC-I 및 MHC-II 대립 유전자에 대한 결합친화성을 갖는 T- 세포 에피토프를 선택하여 세포 독성 T- 세포 및 헬퍼 T- 세포 매개 면역 반응을 모두 증가시켰다. 우리는 사전 식별된 B- 세포 에피토프 영역 내에서 각각 MHC-I 및 MHC-II 결합 에피토프를 선택하기 위해 ProPred-I 및 ProPred 서버인 두 서버를 채택하였다. 선택된 에피토프를 바이러스 성향을 분석하기 위해 주어진 역치 값 0.4로 바이러스를 표적 필드로서 적용하는 VaxiJen v.2.0 서버에 제출하였다.
- [0027] 또한, 상기 식별된 MHC-I 에피토프 및 MHC-II 에피토프를 펩티드 링커와 연결하여 백신 성분을 결정하는 단계는, 특정 펩티드 링커의 도움으로, 항원성 에피토프를 융합시켜 효과적인 백신 성분을 구축하는 것이다. 나중에 백신 구성 요소가 SPARKS-X 서버에서 모델링 되었다. 적응 면역 반응을 가속화시키기 위해 백신 성분과 함께 보조제를 첨가하였다. 백신 모델은 모델의 구조적 정확성을 평가하기 위해 두 가지 다른 서버인 ProSA-web과 PROCHECK를 통과하였다.
- [0028] 한편, 상기 결정된 백신 성분을 분자 도킹하는 단계는, 수용체-리간드 도킹에 PatchDock (Beta 1.3 버전) 도킹 서버를 채택하였다. PatchDock 서버는 백신 성분과 TLR (Toll-like Receptor) -5 사이의 분자 도킹을 분석하였다. 단백질-펩타이드 도킹 복합체의 생성된 단백질 데이터뱅크 (PDB) 파일은 PyMOL 소프트웨어 v.2.3.21에서 시각화되었다.
- [0030] 이하, 실시예를 통해 본 발명을 더욱 상술하나 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.
- [0032] 실시예 1 - 표적 단백질 서열의 수집
- [0033] NCBI에서 회수한 SARS-COV-2의 스파이크 당 단백질은 GenBank 수탁 ID: QHR63290.1이다. 이 스파이크 당 단백질은 1282- 길이의 아미노산 서열을 가지며 이 서열은 FASTA 포맷으로 다운로드되어 추가 공정을 수행하였다.
- [0035] 실시예 2 - B 세포 에피토프의 식별
- [0036] SARS-COV-2의 스파이크 당 단백질 내에서 IEDB 서버로부터 다양한 길이의 총 34 개의 순차적 선형 B 세포 에피토프를 얻었다. 이들 B- 세포 에피토프는 위치 값, 서열 및 길이에 기초하여 표 1에 위치시켰다. 도 1은 SARS-COV-2의 스파이크 당 단백질 내 선형 B 세포 에피토프의 그래프로, 도 1을 참고하면, 노란색 피크는 에피토프 영역을 나타내고 녹색 경사는 비피 토픽 영역을 나타낸다.

표 1

Serial no.	Start	End	Sequence	Length
1	22	46	SQCVNLTTTRQLPPAYTNSFTRGVY	25
2	68	90	FSNVTWFHAIHVSNGTKRFDN	23
3	106	107	KS	2
4	147	163	DPFLGVYYHKNNKSWME	17
5	186	198	MDLEGKQGNFKNL	13
6	215	230	KHTPINLVRLPQGFS	16
7	259	269	TPGDSSSGWTA	11
8	302	305	LDPL	4
9	313	331	KSFTVEKGIYQTSNFRVQP	19
10	338	372	FPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNKRKISNCVA	35
11	378	402	YNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT	25
12	413	435	GDEVRLQIAPGQTGKIADYNYKLP	23
13	449	510	NLDSKVGNNYNYLRLFRKSNLKPFERDISTEYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTN	62
14	525	545	ELLHAPATVCGPKKSTNLVKN	21
15	564	571	SNKKFLPF	8
16	589	592	QTLE	4
17	611	615	TNTSN	5
18	625	641	NCTEVPVAIHADQLTPT	17
19	643	653	RVYSTGSNVFQ	11
20	665	675	VNNSYECDIPI	11
21	681	699	ASYQTQTNSPRRARSVASQ	19
22	704	719	YTMSLGAENSVAYSNN	16
23	757	757	E	1
24	782	788	EQDKNTQ	7
25	795	809	KQIYKTPPIKDFGGF	15
26	816	823	PDPSKPSK	8
27	837	851	LADAGFIKQYGDCLG	15
28	997	1001	EAEVQ	5
29	1044	1052	GQSKRVDFC	9
30	1116	1127	RNFYEQIITD	12
31	1142	1181	VNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPOVDLGDISGI	40
32	1212	1215	LGKY	4
33	1261	1276	SCCKFDEDDSEPVKLG	16
34	1278	1278	K	1

[0038]

[0040]

실시예 3 - T 세포 에피토프의 식별 및 항원성 분석

[0041]

우리는 식별된 B 세포 epitopic 지역에 속하는 29 MHC-I epitopes 및 8 MHC II epitopes을 식별하였다. VaxiJen v.2.0 서버 분석에 따르면 그 중에서 13 개의 MHC-I 에피토프와 3 개의 MHCII 에피토프에 항원 성향이 있었다. MHC-I 및 MHC-II 에피토프는 표 2 및 3에 MHC 대립 유전자 및 항원성 점수가 발생하는 것으로 기재되어 있다.

표 2

[0043]

Serial no.	Epitopic sequence	MHC-I alleles	Position	Antigenicity
1	SQCVNLTTTR	HLA-A*3101 HLA -A*3302 HLA-A68.1 HLA-A20 Cattle HLA-B*2705 MHC-Db revised	22-30	1.5476 (Probable Antigen).

2	YTNSFTRGV	HLA-A2 HLA -A*0201 HLA-A2.1 HLA-B*5301 HLA-B*5401 HLA-B*51 HLA-B*5801 HLA-B61	37-45	-0.6177 (Probable Nonantigen)
3	GVYYHKNNK	HLA-A*1101 HLA -A3 HLA-A*3101 HLA-A68.1 HLA-B*2705	151-159	0.8264 (Probable Antigen).
4	GKQGNFKNL	HLA-A2 HLA -A20 Cattle HLA-B*3902 HLA-Cw*0301 MHC-Db MHC-Db revised MHC-Dd MHC-Kb	190-198	1.0607 (Probable Antigen).
5	TPINLVRDL	HLA-A24). HLA -B14 HLA-B*3501 HLA-B*3801 HLA-B*3901 HLA-B*3902 HLA-B40 HLA-B*4403 HLA-B*5101 HLA-B*5102 HLA-B*5103 HLA-B*5301 HLA-B*5401 HLA-B*51 HLA-B60 HLA-B7 HLA-B*0702 HLA-B8 HLA-Cw*0301 HLA-Cw*0401 HLA-Cw*0602 HLA-Cw*0702 MHC-Kd MHC-Ld	217-225	0.3862 (Probable Nonantigen)
6	GIYQTSNFR	HLA-A*1101 HLA -A3 HLA-A*3101 HLA-A*3302 HLA-A68.1 HLA-A20 Cattle HLA-B*2705	320-328	0.5380 (Probable Antigen).

7	NLCPFGEVF	HLA-A1 HLA -A3 HLA-A2.1 HLA-B*2702 HLA-B*5201 HLA-B*5801 HLA-B62 MHC-Ld	343-351	0.1999 (Probable Nonantigen).
8	FASVYAWNR	HLA-A*3101 HLA -A*3102 HLA-A68.1 HLA-A20 Cattle HLA-B*5301 HLA-B*5401	356-364	0.0713 (Probable Nonantigen)
9	ASFSTFKCY	HLA-A1 HLA -B*2702 HLA-B*3501 HLA-B*4403 HLA-B*5401 HLA-B*51 HLA-B*5801 HLA-Cw*0702 MHC-Ld	381-389	0.2795 (Probable Nonantigen).
10	VSPTKLNDL	HLA-A24 HLA -A2.1 HLA-B*3501 HLA-B*3902 HLA-B*51 HLA-B*5801 HLA-B60 HLA-B7 HLA-B8 HLA-Cw*0401 HLA-Cw*0602 MHC-Dd MHC-Kb MHC-Ld	391-399	1.4610 (Probable Antigen).
11	KIADYNYKL	HLA-A2 HLA -A*0201 HLA-A*0205 HLA-A24 HLA-A3 HLA-A*3101 HLA-A2.1 HLA-B*2705 HLA-B*3501 HLA-B*3801 HLA-B*3902 HLA-B7 HLA-Cw*0401	426-434	1.6639 (Probable Antigen).

12	KVGGNYNYL	HLA-A*0201 HLA -A*0205 HLA-A24 HLA-A68.1 HLA-B*2705 HLA-B*3501 HLA-B*3801 HLA-B*3902 HLA-B7 HLA-B*0702 HLA-Cw*0301 MHC-Db MHC-Db revised MHC-Kb	453-461	0.5994 (Probable Antigen)
13	RLFRKSNLK	HLA-A2 HLA -A*1101 HLA-A3 HLA-A*3101 HLA-A68.1 HLA-A20 Cattle HLA-B*2705	463-471	-0.2829 (Probable Nonantigen)
14	FERDISTEI	HLA-B*3701 HLA -B40 HLA-B*4403 HLA-B*5301 HLA-B*5401 HLA-B*51 HLA-B60 HLA-B61 MHC-Kk	473-481	-0.7442 (Probable Nonantigen)
15	EGFNCYFPL	HLA-A2 HLA -B14 HLA-B*3902 HLA-B40 HLA-B*5101 HLA-B*5102 HLA-B*5103 HLA-B*5401 HLA-B60 HLA-B7 HLA-Cw*0301 MHC-Dd	493-501	0.5453 (Probable Antigen)
16	ELLHAPATV	HLA-A2 HLA -A*0201 HLA-A2.1 HLA-B*5103 HLA-B62	525-533	0.2109 (Probable Nonantigen)

17	GPKKSTNLV	HLA-B*3501 HLA -B*5101 HLA-B*5102 HLA-B*5103 HLA-B*5301 HLA-B*5401 HLA-B*51 HLA-B61 HLA-B7 HLA-B*0702 HLA-B8 HLA-Cw*0401 MHC-Ld	535-543	0.6828 (Probable Antigen)
18	TEVPVAIHA	HLA-B*3701 HLA -B40 HLA-B*4403 HLA-B60 HLA-B61 MHC-Kk	627-635	0.2687 (Probable Nonantigen)
19	RVYSTGSNV	HLA-A2 HLA -A*0201 HLA-A*0205 HLA-A2.1 HLA-B*2702 HLA-B*2705 HLA-B*5102 HLA-B*5103 HLA-B*5201 HLA-B*5401 HLA-B*0702	643-651	0.2636 (Probable Nonantigen)
20	NSYECDIPI	HLA-B* HLA -B*3501 HLA-B*5101 HLA-B*5102 HLA-B*5103 HLA-B*5401 HLA-B*5801 MHC-Db revised MHC-Kk	667-675	0.2216 (Probable Nonantigen)
21	SPRRARSA	HLA -B*5101 HLA-B*5301 HLA-B*5401 HLA-B*51 HLA-B7 HLA-B*0702 HLA-B8 MHC-Ld	689-697	0.7729 (Probable Antigen)
22	LGAENSVAY	HLA-B*3501 HLA -B*4403 HLA-B*51 HLA-B62 HLA-Cw*0702 MHC-Dd	707-715	0.4173 (Probable Antigen).

23	KQIYKTPPI	HLA-A2 795-803 HLA -A*0201 HLA-A*0205 HLA-B*2702 HLA-B*2705 HLA-B*5102 HLA-B*5201 HLA-B62 HLA-B*0702 MHC-Dd MHC-Kd	795-803	0.2705 (Probable Nonantigen).
24	FIKQYGDCL	HLA-A2.1 HLA -B*3501 HLA-B*5301 HLA-B*5401 HLA-B*51 HLA-B7 HLA-B8	842-850	-0.4436 (Probable Nonantigen)
25	RNFYEPQII	HLA-B*2702 HLA -B*2705 HLA-B*5102 HLA-B*5201 HLA-B*5401	1116-1124	0.3282 (Probable Nonantigen)
26	VNNTVYDPL	HLA-A24 HLA -B*3701 HLA-B*3902 HLA-B*5301 HLA-B*51 HLA-B60 HLA-B7 HLA-Cw*0301 MHC-Kb	1142-1150	0.2397 (Probable Nonantigen)
27	ELDSFKEEL	HLA-A2 HLA -A3 HLA-A2.1 HLA-B*3801 HLA-B*3902 HLA-Cw*0401 HLA-Cw*0602	1153-1161	-0.6805 (Probable Nonantigen).
28	FKNHTSPDV	HLA-A2 HLA -A20 Cattle HLA-A2.1 HLA-B*5301 HLA-B*5401 HLA-B*51	1165-1173	0.4846 (Probable Antigen)
29	DEDDSEPVL	HLA-B*3701 HLA -B40 HLA-B*4403 HLA-B60 HLA-B61 MHC-Kk	1266-1274	0.5104 (Probable Antigen)

표 3

[0045]

Serial no	Sequence	Alleles	Position	VaxiJen score
1	IHVSGTNGT	DRB1_0306 DRB1_0307 DRB1_0308 DRB1_0311 DRB1_0401 DRB1_0404 DRB1_0410 DRB1_0421 DRB1_0423 DRB1_0426	77-85	0.8621 (Probable Antigen).
2	VYYHKNNKS	DRB1_0306 DRB1_0307 DRB1_0308 DRB1_0311 DRB1_0401 DRB1_0402 DRB1_0404 DRB1_0405 DRB1_0408 DRB1_0410 DRB1_0421 DRB1_0423 DRB1_0426 DRB1_1102 DRB1_1114 DRB1_1120 DRB1_1121 DRB1_1322 DRB1_1323 DRB1_1327 DRB1_1328 DRB1_1501 DRB1_1506	152-160	0.4510 (Probable Antigen).
3	LVRDLPQGF	DRB1_0301 DRB1_0305 DRB1_0306 DRB1_0307 DRB1_0308 DRB1_0309 DRB1_0311 DRB1_0421 DRB1_0426 DRB1_1107	221-229	0.1234 (Probable Nonantigen).

4	VFNATRFAS	DRB1_0301	350-358	0.1739 (Probable Nonantigen).
		DRB1_0305		
		DRB1_0309		
		DRB1_0802		
		DRB1_0804		
		DRB1_0813		
		DRB1_1101		
		DRB1_1102		
		DRB1_1106		
		DRB1_1107		
		DRB1_1114		
		DRB1_1120		
		DRB1_1121		
		DRB1_1301		
		DRB1_1302		
		DRB1_1304		
		DRB1_1307		
		DRB1_1311		
		DRB1_1322		
		DRB1_1323		
		DRB1_1327		
		DRB1_1328		
		DRB1_1501		
		DRB1_1506		

5	YRLFRKSNL	DRB1_0101 DRB1_0305 DRB1_0309 DRB1_0405 DRB1_0408 DRB1_0701 DRB1_0703 DRB1_0801 DRB1_0802 DRB1_0804 DRB1_0806 DRB1_0813 DRB1_0817 DRB1_1101 DRB1_1102 DRB1_1114 DRB1_1120 DRB1_1121 DRB1_1128 DRB1_1301 DRB1_1302 DRB1_1304 DRB1_1305 DRB1_1307 DRB1_1321 DRB1_1322 DRB1_1323 DRB1_1327 DRB1_1328 DRB1_1501 DRB1_1502 DRB1_1506	462-470	0.0522 (Probable Nonantigen).
6	FERDISTEI	DRB1_0305 DRB1_0401 DRB1_0426 DRB1_0309 DRB1_0421 DRB1_0701 DRB1_0703	473-481	0.7442 (Probable Nonantigen).
7	FERDISTEI	DRB1_0421 DRB1_0401 DRB1_0405 DRB1_0408 DRB1_0426	683-691	0.1787 (Probable Nonantigen).

8	FKNHTSPDV	DRB1_0101	1166-1174	0.4846 (Probable Antigen).
		DRB1_0309		
		DRB1_0401		
		DRB1_0405		
		DRB1_0421		
		DRB1_0426		
		DRB1_0701		
		DRB1_0703		
		DRB1_1114		
		DRB1_1120		
		DRB1_1302		
		DRB1_1323		
		DRB1_1502		

[0047] 실시예 4- 백신 제작, 모델링 및 검증

[0048] 13 MHC-1 및 3 MHC II 항원 에피토프를 (EAAAK) 3 링커 펩티드와 연결하여 백신 성분을 구성하였다. 이 링커 펩티드는 바이러스 코트 단백질과 쉽게 융합되고 백신 성분의 접힘뿐만 아니라 안정성이 증가했다. 백신 성분의 예측 구조는 도 2에 나타나 있다. Ramachandran 플롯을 생성하기 위한 검증 서버로서 PROCHECK 내에서 각각 가장 선호되고, 추가로 허용되고, 관대하게 허용되고 허용되지 않는 영역에 90.0 %, 7.1 %, 1.6 % 및 1.3 % 잔기가 있습니다. ProSA 서버를 사용하여 “Z” 점수는 -3.82이고 대부분의 잔류물은 그림 3과 같이 음의 에너지 값을 가진다. 두 서버의 결과는 모델의 품질이 양호함을 나타낸다.

[0050] 실시예 5 - 분자 도킹 분석

[0051] PatchDock 서버는 20 개의 도킹 컴플렉스를 제공했으며 그 중에서도 분석을 위해 가장 큰 음의 원자 접촉 에너지 (ACE) 값을 가진 도킹 컴플렉스만 선택하였다. 도킹 복합체의 ACE 값은 -259.62로, 백신 성분과 TLR-5 사이의 자발적인 반응성을 나타낸다. 적절한 단백질 - 단백질 도킹이 세포 기능을 조절함에 따라 백신 성분과 TLR-5 사이의 도킹은 파괴를 위해 면역 캐스케이드를 활성화한다. 선택된 도킹 복합체는 분자 표면 상호 작용 및 일부 결합 상호 작용과 함께 도 4 및 5에 도시되어있다.

[0052] 상기 제조예에 따라 본 발명자들은 면역 정보학을 사용하여 SARS-COV-2에 대한 다양한 B- 세포 및 T- 세포 에피토프를 도출하였다. B- 세포 및 T- 세포 에피토프의 빠른 식별은 이 질병의 백신 성분의 설계에 중요하다. 스파이크 당 단백질은 IEDB 서버에서 B- 세포 에피토프 식별에 대해 분석되었고, 그 결과 34 개의 선형 B- 세포 에피토프가 확인되었다. 이어서, MHC-I 및 MHC-II 분자와 결합할 수 있는 T- 세포 에피토프의 식별을 위해 ProPred-I 및 ProPred 서버에서 서열을 분석하였다. 다행히도 백신에 사용될 수 있는 MHC-I에 대한 29 개의 에피토프와 MHC-II에 대한 8 개의 에피토프를 발견하였다. 불행하게도, VaxiJen v.2.0의 항원 특성은 본질적으로 비항원성인 것으로 보였으므로 8 개의 MHC-II 에피토프 중 29 개 및 5 개 중 16 개의 MHC-1 에피토프를 폐기하였다. 그럼에도 불구하고, 본 발명자들은 (EAAAK) 3 펩티드 링커를 사용하여 항원성 에피토프를 단일 백신 성분으로 전환시켰다. 나중에 백신 구성 요소는 SPARK-X 서버에서 모델링 되었으며 PROCHECK 및 ProSA에서 검증되었다. 비-글리신 및 비 프롤린 잔기의 총 90 %가 가장 선호되는 영역 내에 존재하는 반면, 모델의 “Z”점수는 -3.82였다. 두 서버의 결과는 모델의 품질이 양호함을 나타낸다. 백신 성분과 TLR-5 사이의 분자 도킹은 수용체-리간드 복합체 내에서 자발적인 반응성을 나타내는 유의한 ACE 값을 나타냈다. 우리의 현재 작업의 모든 관찰은 SARS-COV-2의 스파이크 당 단백질 내에서 선택된 에피토프의 효과를 나타낸다. 이 에피토프를 사용하여 SARS-COV-2에 대한 면역원성 다중 에피토프 펩타이드 백신을 만들 수 있다.

[0053] 또한, 본 발명의 면역 정보 분석은 SARS-COV-2의 스파이크 당 단백질 내에서 13 개의 MHC-1 및 3 개의 MHC-II 에피토프를 지적했다. 이들 에피토프는 선형 B- 세포 에피토프 영역으로부터 선택될 뿐만 아니라 그의 항원 특성으로 인해 다중-에피토프 펩티드 백신을 제형화하기 위한 이상적인 후보이다. 또한, 백신의 분자 도킹 TLR-5 구성 요소는 SARS-COV-2에 대한 이상적인 백신 후보로서 이러한 에피토프의 중요성과 효과를 입증한다.

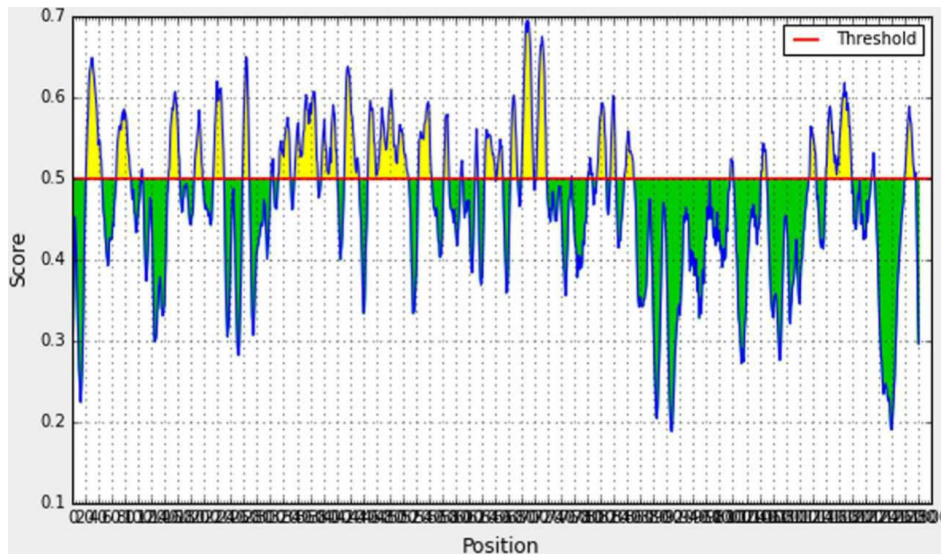
[0054] 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명

의 기술적사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

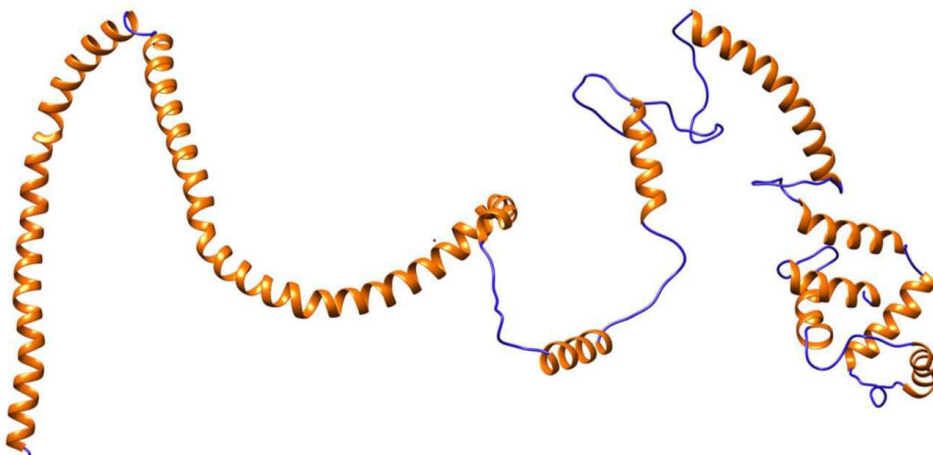
[0055] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

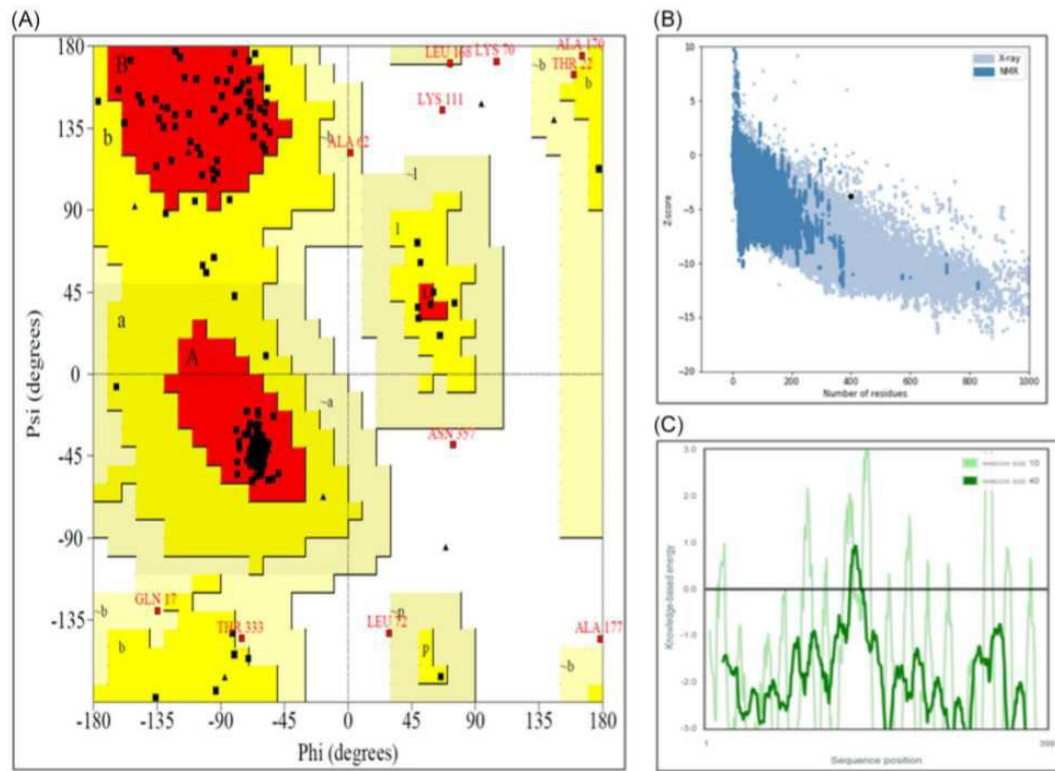
도면1



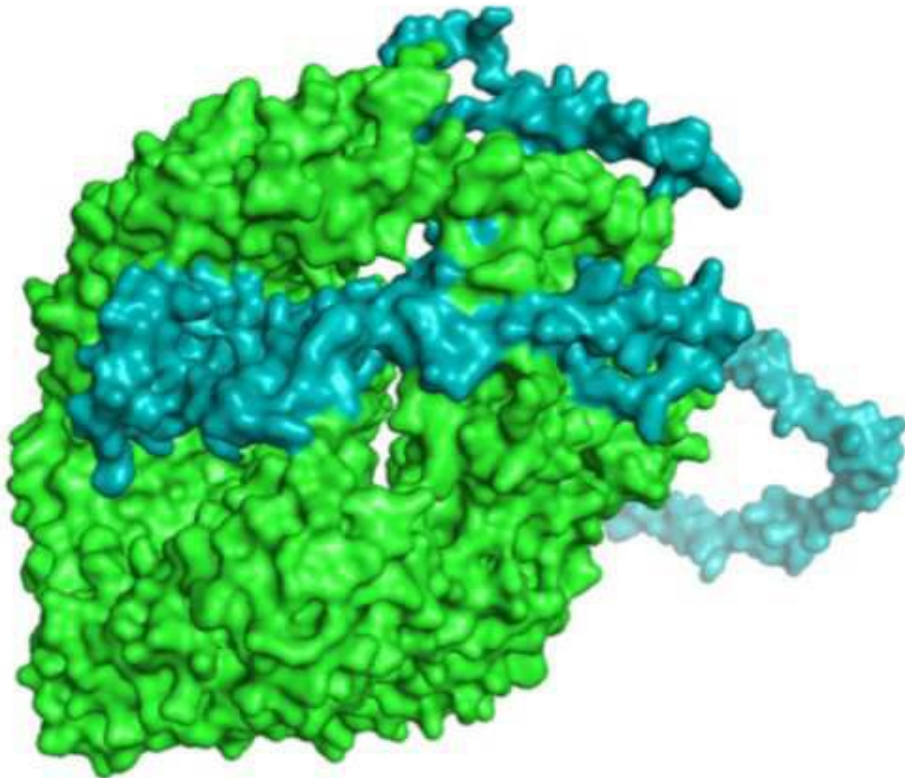
도면2



도면3



도면4



도면5

