



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년02월27일
(11) 등록번호 10-2503883
(24) 등록일자 2023년02월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/20 (2006.01) G01N 33/569 (2017.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/20 (2013.01)
G01N 33/56911 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7035277(분할)
(22) 출원일자(국제) 2012년11월05일
심사청구일자 2019년12월27일
(85) 번역문제출일자 2019년11월28일
(65) 공개번호 10-2019-0137172
(43) 공개일자 2019년12월10일
(62) 원출원 특허 10-2014-7015224
원출원일자(국제) 2012년11월05일
심사청구일자 2017년09월05일
(86) 국제출원번호 PCT/US2012/063594
(87) 국제공개번호 WO 2013/067524
국제공개일자 2013년05월10일
(30) 우선권주장
61/556,061 2011년11월04일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20030129680 A1
US20110136155 A1*
US06475492 B1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
조에티스 서비스즈 엘엘씨
미국 뉴저지 (우편번호 07054) 파시파니 실반 웨이 10
(72) 발명자
메라 라제쉬 케이.
미국 캘리포니아주 94544 헤이워드 #109 사우스워크 드라이브 25410
아론 케네쓰 피.
미국 캘리포니아주 94110 샌프란시스코 페어 오크 스트리트 201
(74) 대리인
(뒷면에 계속)
장훈

전체 청구항 수 : 총 14 항

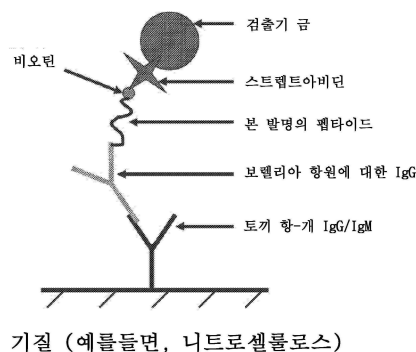
심사관 : 문명순

(54) 발명의 명칭 라임 질환 항체의 검출을 위한 펩타이드 및 방법

(57) 요약

본 발명은, 보렐리아 항원에 결합하는 항체의 검출에 유용한 조성물(예를 들면, 펩타이드 조성물)에 관한 것이다. 상기 펩타이드 조성물은 보렐리아 VlsE 단백질의 IR6 도메인 내의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 또한, 상기 펩타이드 조성물을 포함하고, 보렐리아 항원에 결합하는 항체의 검출 및 라임 질환의 진단에 유용한 장치, 방법 및 키트도 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

G01N 2333/20 (2013.01)

G01N 2469/20 (2013.01)

(72) 발명자

블레일레 데니스 엠.

미국 캘리포니아주 94583 샌 라몬 윈터사이드 씨클
800

워커 제레미

미국 캘리포니아주 94546 카스트로 밸리 센터 스트
리트 22120

쿠에시코 크리스티나

미국 캘리포니아주 94536 프리몬트 알함브라 드라
이브 4587

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

서열번호 2에 의해 한정되는 모든 가능한 펩타이드를 포함하는 단리된 펩타이드의 혼합물로서, 상기 서열번호 2는 n_1 - n_2 -S-P- n_5 - n_6 -P-L-K-K-D-D-N-I-A-A-A- X_{18} -V-L-R-G- X_{23} - X_{24} -K-D-G- X_{28} -F-A- X_{31} - X_{32} -A-V- c_{35} -E-G- c_{38} -Q-Q-E-G-A-Q-Q-P-S-C의 서열이고, 여기서, 상기 n_1 은 A 및 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n_2 는 E 및 D로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n_5 는 K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n_6 은 K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{18} 은 V 및 L로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{23} 은 L 및 I로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{24} 는 A 및 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{28} 은 R, D 및 N으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{31} 은 I, W 및 Y로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{32} 는 K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 c_{35} 는 Q 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 c_{38} 은 V 및 A로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산인, 단리된 펩타이드의 혼합물.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

제2항에 있어서, 각각의 단리된 펩타이드가 리간드에 접합되거나 상기 단리된 펩타이드의 하나 이상이 비오틴화됨, 단리된 펩타이드의 혼합물.

청구항 6

제2항에 있어서, 상기 단리된 펩타이드의 하나 이상이

- (i) 스트렙타비딘, 중합체성 스트렙타비딘, 아비딘 또는 뉴트라비딘;
- (ii) 혈청 알부민, 키홀 림펫 헤모시아닌(KLH) 및 면역글로불린 Fc 도메인으로부터 선택된 담체 단백질;
- (iii) 덴드리머(dendrimer);
- (iv) 다중 항원성 펩타이드 시스템(MAPS)의 일부; 또는
- (v) 콜로이드성 입자, 나노입자, 콜로이드성 나노입자, 코어-셸 구조 입자, 또는 중공 나노구(nanosphere)에 접합된, 단리된 펩타이드의 혼합물.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 접합이 말단 아미노산 연결 잔기를 통하여 이루어진, 단리된 펩타이드의 혼합물.

청구항 8

제2항에 있어서, 각각의 단리된 펩타이드가 고형 지지체에 고정화되고, 임의로 각각의 단리된 펩타이드가 말단 아미노산 연결 잔기를 통하여 상기 고형 지지체에 고정화된, 단리된 펩타이드의 혼합물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 고형 지지체가 비드, 측면 유동 면역검정 장치 내의 유동 경로, 미세역가 플레이트 내의 웰, 또는 로터(rotor) 내의 유동 경로인, 단리된 펩타이드의 혼합물.

청구항 10

샘플에서 보렐리아 항원의 에피토프에 대한 항체를 검출하기 위한 방법으로서, 상기 방법은

상기 샘플과 제2항의 단리된 펩타이드의 혼합물을 접촉시키는 단계; 및

상기 혼합물에서 하나 이상의 단리된 펩타이드를 포함하는 항체-펩타이드 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함하고;

이때, 상기 복합체의 형성이, 상기 샘플 중에 존재하는 보렐리아 항원의 에피토프에 대한 항체의 지표인, 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 보렐리아 항원이, 보렐리아 부르그도르페리(*Borrelia burgdorferi*), 보렐리아 아프젤리(*Borrelia afzelli*), 또는 보렐리아 가리니(*Borrelia garinii*) 중 유래인, 방법.

청구항 12

피검체에서 라임(Lyme) 질환을 진단하기 위한 정보를 제공하는 방법으로서, 상기 방법은,

상기 피검체 유래의 샘플을 제2항의 단리된 펩타이드의 혼합물과 접촉시키는 단계; 및

상기 혼합물에서 하나 이상의 단리된 펩타이드를 포함하는 항체-펩타이드 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함하고,

이때, 상기 복합체의 형성이, 라임 질환을 갖는 피검체의 지표인, 방법.

청구항 13

제10항에 있어서, 상기 검출 단계가, (i) ELISA 검정을 수행하거나, (ii) 측면 유동 검정을 수행하거나, (iii) 응집 검정을 수행하거나, (iv) 웨스턴 블롯, 슬롯 블롯, 또는 도트 블롯을 수행하거나, 또는 (v) 분석학적 로터 속으로 샘플을 유동시킴을 포함하는, 방법.

청구항 14

제10항에 있어서, 상기 샘플이 (i) 사람, 개 또는 말 피검체로부터 유래하거나 또는 (ii) 체액인, 방법.

청구항 15

제2항의 단리된 펩타이드의 혼합물 및 상기 혼합물 중의 하나 이상의 단리된 펩타이드의 에피토프를 인식하는 항체에 결합할 수 있는 표지 시약(labeling reagent)을 포함하는, 키트.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 표지 시약이

(i) 검출가능 표지에 접합된 항-사람 IgG/IgM 항체, 항-개 IgG/IgM 항체 또는 항-말 IgG/IgM 항체; 또는

(ii) 검출가능 표지에 접합된 단백질 A 및/또는 단백질 G인, 키트.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 검출가능한 표지가 콜로이드성 금 입자인, 키트.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 출원은, 2011년 11월 4일자로 출원된 미국 가출원 번호 제61/556,061호에 대한 이익을 주장하고, 이의 전문은 본원에서 인용에 의해 포함된다.

[0003] 전자 제출된 문서 파일에 대한 기재

[0004] 본 출원과 함께 전자 제출된 텍스트 파일의 내용은 이의 전문이 본원에 인용에 의해 포함된다: 서열목록의 컴퓨터 판독가능한 포맷 복사본(파일명: ABAX_039_01WO_SeqList_ST25.txt, 2012년 11월 2일자로 기록됨, 파일 크기 45 킬로바이트).

배경 기술

[0005] 라임 질환은, 상당한 대중 건강의 우려가 된 쇠약성 병태이다. 상기 질환은 병원성 보렐리아(*Borrelia*) 세균(스피로헤타(spirochete))으로의 감염에 의해 야기되고, 다양한 종의 보렐리아-감염된 익소데스(*Ixodes*) 진드기에 물려 전염된다. 라임 질환의 정확한 조기 검출이 효과적인 치료에 중요하다. 라임 질환을 진단하기에 충분한 유일한 임상 증상은 독특한 황소 눈 외형을 갖는 발진인 이동 홍반의 존재이다. 그러나, 이동 홍반은 단지 감염 초기에 존재하고, 존재한다고 해도 모든 감염된 개체에서 나타나는 것은 아니다. 벨 마비(Bell's palsy)와 같이, 라임 질환과 관련된 다른 임상 증상은 단독으로 또는 조합으로 이동 홍반의 부재에서 임상적 진단을 결정하기에는 충분히 특이적이지 않다.

[0006] 이동 홍반의 부재시, 라임 질환의 진단을 위한 근거는 보렐리아 부르그도르페리(*Borrelia burgdorferi*), 보렐리아 아프젤리(*Borrelia afzelli*), 또는 보렐리아 가리니(*Borrelia garinii*)와 같은 병원성 보렐리아 종에 대한 항체 반응이다. 북아메리카에서, 질환 통제 센터(CDC)는, 라임 질환의 혈청 진단을 위해, ELISA와 같은 민감한 제1 단계 검정에 이은 상기 제1 단계 검정이 양성이거나 불분명한 경우의 웨스턴 블롯으로 이루어진 2단계(two-tier)의 접근법을 추천한다. 제1 단계 검정은 통상적으로 전-세포 보렐리아 부르그도르페리 항원 또는 재조합 보렐리아 단백질질을 사용해왔다. 상기 검정은 해석하기가 어려울 수 있고 감염보다는 백신접종으로부터 생성되는 보렐리아 항체에 의해 복잡해진다. 추가로, 일부 보렐리아 검정에 사용되는 전 세포 초음파 처리물은 트레포네마 항체와 반응한다.

[0007] 보다 최근에는 보렐리아의 가변 표면 항원(VlsE)의 보존된 IR6 도메인을 기초로 하는 C6 펩타이드 검정은 파종성 및 후기 라임 질환에 대해 고도의 민감성을 갖는 제1 단계 검정으로서 광범위하게 수용되고 있다. 상기 C6 펩타이드 검정은 시험 항원으로서 보렐리아 부르그도르페리 VlsE 단백질의 단일 25개의 아미노산 서열을 사용한다. 상기 C6 펩타이드 검정이 라임 질환의 진단에 대한 단일-단계 접근법에 적합할 수 있는 것으로 제안되었지만, 상기 C6 검정은 이것이 감염성 보렐리아의 소정 균주를 검출하는데 실패했기 때문에 상기 목적을 위해 충분히 민감하지 않다는 것이 명백해졌다.

[0008] 따라서, 당업계에서 보렐리아 항원을 검출하고 라임 질환의 혈청 진단을 위한 추가의 검정이 여전히 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 부분적으로, 보렐리아 VlsE 단백질의 IR6 도메인 내의 몇몇 서열 변이체들이 광범위한 보렐리아 종들에 대한 항체 반응의 강한 검출을 제공한다는 발견을 기초로 한다. 따라서, 본 발명은, 보렐리아 항원에 결합하는 항체의 검출 및 라임 질환의 진단에 유용한 조성물, 장치, 방법 및 키트를 제공한다.

과제의 해결 수단

[0010] 하나의 양상에서, 본 발명은, 보렐리아 항원을 인식하는 항체에 결합할 수 있는 펩타이드를 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드는 VlsE IR6 도메인, 및 하나 이상(예를 들면, 2개, 3개 등)의 다른 보렐리아 항원 유래의 서열을 포함한다. 소정 실시형태에서, 하나 이상의 다른 보렐리아 항원은 표면 항원(예를 들면, OspC, p41, 또는 이들의 조합)이다.

- [0011] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 서열번호 1의 서열 L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-X₁₁-V-L-R-G-X₁₆-X₁₇-K-D-G-X₂₁-F-A-X₂₄-X₂₅(서열번호 1)을 포함하고, 여기서, 상기 X₁₁은, V 및 L로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₁₆은, L 및 I로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₁₇은, A 및 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₂₁은, R, D 및 N으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₂₄는, I, W 및 Y로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₂₅는, K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이다.
- [0012] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 서열번호 1의 서열을 포함하고, 추가의 N-말단 펩타이드 서열을 추가로 포함한다. 상기 추가의 N-말단 펩타이드 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이상의 아미노산을 포함할 수 있고, 천연 또는 비-천연 서열일 수 있다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 서열번호 1에 의해 정의된 서열을 포함하고, 추가의 C-말단 서열을 추가로 포함한다. 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이상의 아미노산을 포함할 수 있고, 천연 또는 비-천연 서열일 수 있다. 소정 실시형태에서, 상기 비-천연 서열은 비-V1sE 보렐리아 항원(예를 들면, 보렐리아 OspC 또는 p41 항원)을 포함한다.
- [0013] 다른 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 서열번호 2의 서열, n₁-n₂-S-P-n₅-n₆-P-L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-X₁₈-V-L-R-G-X₂₃-X₂₄-K-D-G-X₂₈-F-A-X₃₁-X₃₂-A-V-c₃₅-E-G-c₃₈-Q-Q-E-G-A-Q-Q-P-S-C(서열번호 2)를 포함하고, 여기서, 상기 n₁은, A 및 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n₂는, E 및 D로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n₅는, K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n₆은, K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₁₈은, V 및 L로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₂₃은, L 및 I로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₂₄는, A 및 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₂₈은, R, D 및 N으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₃₁은, I, W 및 Y로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₃₂는, K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 c₃₅는, Q 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 c₃₈은, V 및 A로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이다.
- [0014] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 적어도 25, 30, 35, 40 또는 45개 이상의 아미노산을 포함한다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 단리된(예를 들면, 합성 및/또는 정제된) 펩타이드이다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 리간드에 접합된다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드는 비오틴화된다. 다른 실시형태에서, 상기 펩타이드는 아비딘, 스트렙트아비딘 또는 뉴트라비딘에 접합된다. 다른 실시형태에서, 상기 펩타이드는 담체 단백질(예를 들면, 혈청 알부민, 키홀 림프 헤모시아닌(KLH), 또는 면역글로불린 Fc 도메인)에 접합된다. 또 다른 실시형태에서, 상기 펩타이드는 덴드리머 및/또는 다중 항원성 펩타이드 시스템(MAPS)의 일부에 접합된다.
- [0015] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 고정 지지체 상에 부착되거나 고정화된다. 소정 실시형태에서, 상기 고정 지지체는 비드(예를 들면, 콜로이드성 입자, 나노입자, 라텍스 비드 등), 측면 유동 면역검정 장치(예를 들면, 다공성 막) 내의 유동 경로, 분석학적 로터 내의 유동 경로 또는 튜브 또는 웰(예를 들면, ELISA 검정용으로 적합한 플레이트 내)이다.
- [0016] 다른 양상에서, 본 발명은, 본 발명의 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 조성물을 제공한다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 본 발명은, 서열번호 1의 서열을 포함하는 펩타이드, 서열번호 2의 서열을 포함하는 펩타이드, 또는 이들의 혼합물을 포함하는, 조성물을 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 조성물은 본 발명의 2개, 3개 또는 4개 이상의 상이한 펩타이드들의 혼합물을 포함하고, 여기서, 각각의 펩타이드는 서열번호 1 또는 서열번호 2의 서열을 포함한다.
- [0017] 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드는 리간드 또는 신호전달 모이어티에 접합된다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드는 비오틴화된다. 다른 실시형태에서, 상기 펩타이드는 아비딘, 스트렙트아비딘, 또는 뉴트라비딘에 접합된다. 다른 실시형태에서, 상기 펩타이드는 담체 단백질(예를 들면, 혈청 알부민, 키홀 림프 헤모시아닌(KLH), 또는 면역글로불린 Fc 도메인)에 접합된다. 또 다른 실시형태에서, 상기 펩타이드는 덴드리머에 접합되고/되거나 다중 항원성 펩타이드 시스템(MAPS)의 일부이다.

- [0018] 다른 양상에서, 본 발명은, 본 발명의 펩타이드를 암호화하는 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 추가로, 본 발명은, 상기 핵산을 포함하는 벡터, 및 상기 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 벡터는 서플 벡터이다. 다른 실시형태에서, 상기 벡터는 발현 벡터(예를 들면, 세균성 또는 진핵성 발현 벡터)이다. 소정 실시형태에서, 상기 숙주 세포는 세균 세포이다. 다른 실시형태에서, 상기 숙주 세포는 진핵 세포이다.
- [0019] 다른 양상에서, 본 발명은 장치를 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 장치는 면역검정을 수행하는데 유용하다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 장치는 측면 유동 면역검정 장치이다. 다른 실시형태에서, 상기 장치는 분석학적 로터이다. 다른 실시형태에서, 상기 장치는 예를 들면, ELISA 검정에 적합한 플레이트 내의 튜브 또는 웰이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 장치는 전기화학적, 광학적 또는 광-전기학적 센서이다.
- [0020] 소정 실시형태에서, 상기 장치는 본 발명의 펩타이드를 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 장치는 본 발명의 상이한 펩타이드들의 혼합물을 포함한다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 장치는 본 발명의 2개, 3개 또는 4개 이상의 상이한 펩타이드들을 포함한다. 소정 실시형태에서, 펩타이드 또는 혼합물 중 각각의 펩타이드는 서열번호 1 또는 서열번호 2의 서열을 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드는 장치 상에 부착되거나 고정화된다.
- [0021] 다른 양상에서, 본 발명은, 샘플에서 보렐리아 항원의 에피토프에 대한 항체를 검출하기 위한 방법을 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 방법은, 샘플을 본 발명의 펩타이드와 접촉시키고, 상기 펩타이드를 포함하는 항체-펩타이드 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함하고, 여기서, 상기 복합체의 형성은, 상기 샘플 내의 보렐리아 항원의 에피토프에 대한 항체의 존재의 지표이다. 소정 실시형태에서, 상기 보렐리아 항원은 보렐리아 부르그도르페리, 보렐리아 아프젤리 또는 보렐리아 가리니와 같은 감염성 보렐리아 종 유래이다. 소정 실시형태에서, 상기 방법은 본 발명의 2개, 3개 또는 4개 이상의 상이한 펩타이드들의 혼합물과 상기 샘플을 접촉시킴을 포함한다.
- [0022] 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 상기 혼합물 중의 각각의 펩타이드는 단리된(예를 들면, 합성 및/또는 정제된) 펩타이드이다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 펩타이드들의 혼합물은 고정 지지체 상에 부착되거나 고정화된다. 소정 실시형태에서, 상기 고정 지지체는 비드(예를 들면, 콜로이드성 입자, 나노입자, 라텍스 비드 등), 측면 유동 면역검정 장치(예를 들면, 다공성 막) 내의 유동 경로, 분석학적 로터 내의 유동 경로, 또는 튜브 또는 웰(예를 들면, ELISA 검정용으로 적합한 플레이트 내)이다. 소정 실시형태에서, 상기 고정 지지체는 금속, 유리, 셀룰로스-기반 물질(예를 들면, 니트로셀룰로스), 또는 중합체(예를 들면, 폴리스티렌, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리에스테르, 나일론, 폴리설폰 등)을 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 펩타이드들의 혼합물은 덴드리머에 부착되고/되거나 MAPS 시스템에 혼입된다. 소정 다른 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 상이한 펩타이드들의 혼합물은 BSA에 부착된다.
- [0023] 소정 실시형태에서, 상기 검출 단계는, ELISA 검정을 수행함을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는, 측면 유동 면역검정을 수행함을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는, 응집 검정을 수행함을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는, 분석학적 로터에서 상기 샘플을 회전시킴을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는, 웨스턴 블롯, 슬롯 블롯, 또는 도트 블롯을 사용하여 샘플을 분석함을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는, 전기화학적 센서, 광학적 센서, 또는 광-전기적 센서로 상기 샘플을 분석함을 포함한다.
- [0024] 소정 실시형태에서, 상기 샘플은 혈액, 혈청, 혈장, 뇌 척수액, 뇨, 점액, 또는 타액과 같은 체액이다. 다른 실시형태에서, 상기 샘플은 조직(예를 들면, 조직 파쇄물) 또는 세포 용해물이다. 소정 실시형태에서, 상기 샘플은 야생 동물(예를 들면, 사슴 또는 설치류, 예를 들면, 마우스, 침명크, 다람쥐 등) 유래이다. 다른 실시형태에서, 상기 샘플은 실험실 동물(예를 들면, 마우스, 래트, 기니아 피그, 토끼, 원숭이, 영장류 등) 유래이다. 다른 실시형태에서, 상기 샘플은 애완 또는 야성화된 동물(예를 들면, 개, 고양이, 말) 유래이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 샘플은 사람 유래이다.
- [0025] 다른 양상에서, 본 발명은, 피검체에서 라임 질환을 진단하는 방법을 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 방법은, 피검체 유래의 샘플을 본 발명의 펩타이드와 접촉시키는 단계, 및 상기 펩타이드를 포함하는 항체-펩타이드 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함하고, 여기서, 상기 복합체의 형성은, 라임 질환을 갖는 피검체의 지표이다. 소정 실시형태에서, 상기 방법은, 상기 샘플을 본 발명의 2개, 3개, 또는 4개 이상의 상이한 본 발명의 펩타이드들의 혼합물과 접촉시킴을 포함한다.

- [0026] 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 상기 샘플 내의 각각의 펩타이드는 단리된(예를 들면, 합성 및/또는 정제된) 펩타이드이다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 펩타이드들의 혼합물은 고정 지지체 상에 부착되거나 고정화된다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 고정 지지체는 비드(예를 들면, 콜로이드성 입자, 나노입자, 라텍스 비드 등), 측면 유동 면역검정 장치(예를 들면, 다공성 막) 내의 유동 경로, 분석학적 로터 내의 유동 경로 또는 튜브 또는 웰(예를 들면, ELISA 검정용으로 적합한 플레이트 내)이다. 소정 실시형태에서, 상기 고정 지지체는 금속, 유리, 셀룰로스 기반 물질(예를 들면, 니트로셀룰로스), 또는 중합체(예를 들면, 폴리스티렌, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리에스테르, 나일론, 폴리설폰 등)을 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 펩타이드들의 혼합물은 덴드리머에 부착되고/되거나 MAPS 시스템에 혼입된다. 소정 다른 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 상이한 펩타이드들의 혼합물은 BSA에 부착된다.
- [0027] 소정 실시형태에서, 상기 검출 단계는, ELISA 검정을 수행함을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는, 측면 유동 면역검정을 수행함을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는, 응집 검정을 수행함을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는, 분석학적 로터에서 상기 샘플을 회전시킴을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는, 웨스턴 블롯, 슬롯 블롯, 또는 도트 블롯을 사용하여 샘플을 분석함을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는, 전기화학적 센서, 광학적 센서, 또는 광-전기적 센서로 상기 샘플을 분석함을 포함한다.
- [0028] 소정 실시형태에서, 상기 샘플은 혈액, 혈청, 혈장, 뇌 척수액, 뇨, 점액 또는 타액과 같은 체액이다. 다른 실시형태에서, 상기 샘플은 조직(예를 들면, 조직 파쇄물) 또는 세포 용해물이다. 소정 실시형태에서, 상기 피검체는 야생 동물(예를 들면, 사슴 또는 설치류, 예를 들면, 마우스, 얼룩 다람쥐, 다람쥐 등)이다. 다른 실시형태에서, 상기 피검체는 실험실 동물(예를 들면, 마우스, 래트, 기니아 피그, 토끼, 원숭이, 영장류 등)이다. 다른 실시형태에서, 상기 피검체는 애완 또는 야생화된 동물(예를 들면, 개, 고양이, 말)이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 피검체는 사람이다.
- [0029] 또 다른 양상에서, 본 발명은 키트를 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 키트는 본 발명의 펩타이드를 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 키트는 2개, 3개 또는 4개 이상의 상이한 본 발명의 펩타이드를 포함한다. 상기 펩타이드는 서열번호 1 또는 서열번호 2의 서열을 포함할 수 있다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드는 고정 지지체 상에 부착되거나 고정화된다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 고정 지지체는 비드(예를 들면, 콜로이드성 입자, 나노입자, 라텍스 비드 등), 측면 유동 면역검정 장치 내의 유동 경로, 분석학적 로터 내의 유동 경로, 또는 튜브 또는 웰(예를 들면, 플레이트 내)이다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 상이한 펩타이드들의 혼합물은 덴드리머에 부착되고/되거나 MAPS 시스템에 혼입된다. 소정 다른 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 상이한 펩타이드들의 혼합물은 BSA에 부착된다.
- [0030] 소정 실시형태에서, 상기 키트는 한 집단의 비드 또는 플레이트(예를 들면, ELISA 검정용으로 적합한 플레이트)를 추가로 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 키트는 측면 유동 면역검정 장치, 분석학적 로터, 웨스턴 블롯, 도트 블롯, 슬롯 블롯, 전기화학적 센서, 광학 센서, 또는 광학-전기학적 센서와 같은 장치를 추가로 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 한 집단의 비드, 상기 플레이트 또는 상기 장치는 면역검정을 수행하는데 유용하다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 한 집단의 비드, 상기 플레이트 또는 상기 장치는 샘플 유래의 항체 및 본 발명의 펩타이드를 포함하는 항체-펩타이드 복합체의 형성을 검출하는데 유용하다. 소정 실시형태에서, 펩타이드 또는 본 발명의 상이한 펩타이드들의 혼합물은 상기 비드, 상기 플레이트 또는 상기 장치 상에 부착되거나 고정화된다.
- [0031] 소정 실시형태에서, 상기 키트는 지침서를 추가로 포함한다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 키트는 보렐리아 항원에 대한 항체를 검출하거나 라임 질환을 진단하기 위해 본 발명의 펩타이드를 사용하는 방법을 지시하는 지침서를 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 키트는 보렐리아 항원에 대한 항체를 검출하거나 라임 질환을 진단하기 위해 한 집단의 비드, 플레이트 또는 장치(예를 들면, 펩타이드 또는 본 발명의 상이한 펩타이드들의 혼합물을 포함함)를 사용하는 방법을 지시하는 지침서를 포함한다.
- [0032] 본 발명의 추가의 양상 및 실시형태는 이어지는 상세한 설명으로부터 자명할 것이다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명의 펩타이드 혼합물은 고도로 특이적이고 민감한 보렐리아 항체 검출 능력을 갖습니다.

도면의 간단한 설명

[0034]

도 1은 보렐리아 항원에 대한 항체를 검출하기 위해 사용될 수 있는 간접적인 샌드위치 검정의 다이어그램이다. 본 실시형태에서, 항-사람 IgG/IgM 또는 항-개 IgG/IgM 항체는 시험 부위에서 적합한 기질(예를 들면, 니트로셀룰로스 막)에 고정화시킨다. 시험 샘플 중의 항체는, 고정화된 항체에 의해 결합된다. 이어서, 적절한 보렐리아 항원에 대한 시험 샘플 항체는 본 발명의 펩타이드에 결합할 것이다. 본 발명의 펩타이드가 비오틴에 접합되는 경우, 시험 부위에서 펩타이드들의 존재를 검출하기 위해 콜로이드성 금-표지된 스트렙타비딘이 사용될 수 있다. 상기 간접적인 샌드위치 검정이 역으로 작동될 수 있는, 즉, 본 발명의 펩타이드가 시험 샘플 중의 항-보렐리아 항체를 포획하기 위해 기질에 고정화될 수 있고, 표지(예를 들면, 콜로이드성 금)에 접합된 항-사람 IgG/IgM 또는 항-개 IgG/IgM 항체가 상기 시험 부위에서 상기 고정화된 펩타이드에 결합된 항체의 존재를 검출하기 위해 사용될 수 있는 것으로 평가될 수 있다.

도 2는 도 1의 간접적인 샌드위치 검정을 기초로 하는 측면 유동 면역검정 장치의 다이어그램이다. 측면 유동 면역검정 장치의 본 실시형태에서, 샘플은 샘플 로딩 패드에 적용되고, 이어서, 접합체 패드를 통해 시험 막으로 유동한다. 펩타이드-비오틴-스트렙타비딘-금 복합체는 상기 샘플이 접합체 패드를 통과하여 가용화되고, 이어서, 본 발명의 펩타이드와 적절한 항-보렐리아 항원 항체 사이에 복합체가 형성된다. 상기 시험 부위는 샘플 중의 모든 항체에 결합하는 적절한 항-IgG 또는 항-IgM 항체 샘플을 포함한다. 예를 들면, 항-IgG 또는 항-IgM 항체 대신에 단백질 L이 사용될 수 있다. 샘플 중 충분한 항체가 본 발명의 펩타이드에 결합하는 경우, 상기 시험 부위에 양성 신호가 나타날 것이다. 측면 유동 면역검정 장치의 다른 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드가 상기 시험 부위(T)에 고정화되고 검출가능한 표지(예를 들면, 콜로이드성 금 입자)에 접합된 적절한 항-IgG 또는 항-IgM 항체(예를 들면, 항-사람 또는 항-개) 샘플이 상기 접합체 패드에 존재한다. 접합체 패드를 통과하는 샘플은 표지된 항체를 가용화시키고 상기 시험 샘플 중에 존재하는 임의의 항-보렐리아 항원 항체가 상기 표지된 항체에 결합하고, 상기 항체 복합체는 상기 시험 부위에서 본 발명의 고정화된 보렐리아 펩타이드에 의해 포획되어 양성 신호를 생성시킨다. 둘 중 한 실시형태에서, 상기 장치는 상기 접합체 패드 중의 표지된 펩타이드 또는 표지된 항체를 인식하는 결합 파트너가 고정화된 제어 부위(C)를 추가로 포함할 수 있다.

도 3은 보렐리아 항원에 대한 항체를 검출하기 위해 사용될 수 있는 이중 항원 샌드위치 검정의 다이어그램이다. 본 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 시험 부위에서 적합한 기질(예를 들면, 니트로셀룰로스 막, ELISA 플레이트의 웰)에 고정화된다. 시험 샘플 중의 항체는, 본 발명의 고정화된 펩타이드에 의해 결합된다. 이어서, 적절한 보렐리아 항원에 대한 시험 샘플 항체는 상기 시험 부위에 고정화된 제1 세트의 펩타이드에 결합된 항체의 존재를 검출하는 검출기 분자(예를 들면, 콜로이드성 금, 서양 고추냉이 퍼옥시다제(HRP), 알칼리성 포스파타제(ALP))에 접합된 본 발명의 제2 세트의 펩타이드에 결합할 것이다.

도 4는 보렐리아 항원에 대한 항체를 검출하기 위해 사용될 수 있는 측면 유동 면역검정 장치의 다이어그램이다. 측면 유동 면역검정 장치의 본 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드를 시험 부위에서 적합한 기질(예를 들면, 니트로셀룰로스 막)에 고정화시킨다. 시험 샘플 중의 항-보렐리아 항체는, 본 발명의 고정화된 펩타이드에 의해 결합된다. 금-접합된 단백질 A 및/또는 금-접합된 단백질 G는 상기 시스템에 부가되고 상기 포획된 항-보렐리아 항체의 Fc 부분에 결합하여 양성 신호를 생성시킨다. 본 실시형태에서, 상기 장치는 금-접합된 단백질 A 및/또는 금-접합된 단백질 G를 인식하는 결합 파트너가 고정화된 제어 부위를 추가로 포함할 수 있다. 상기 결합 파트너는 항-단백질 A, 항-단백질 G, 마우스 IgG, 및/또는 다른 유사 IgG 분자를 포함할 수 있지만 이들에 제한되지 않는다.

도 5는 보렐리아 항원에 대한 항체를 검출하기 위해 사용될 수 있는 측면 유동 면역검정 장치의 다이어그램이다. 측면 유동 면역검정 장치의 본 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 시험 부위에서 적합한 기질(예를 들면, 니트로셀룰로스 막)에 고정화된다. 시험 샘플 중의 항-보렐리아 항체는, 본 발명의 고정화된 펩타이드에 의해 결합된다. 항-보렐리아 항체는 본 발명의 금-접합된 펩타이드에 의해 검출됨으로써 양성 신호를 생성시킬 수 있다. 금-접합된 단백질 A 및/또는 금-접합된 단백질 G는 상기 시스템에 부가되어 상기 포획된 항-보렐리아 항체의 Fc 부분에 결합함으로써 상기 신호를 증진시킬 수 있다. 본 실시형태에서, 상기 장치는 금-접합된 단백질 A 및/또는 금-접합된 단백질 G를 인식하는 결합 파트너가 고정화된 제어 부위를 추가로 포함할 수 있다. 상기 결합 파트너는 항-단백질 A, 항-단백질 G, 마우스 IgG 및/또는 다른 유사 IgG 분자를 포함할 수 있지만 이들에 제한되지 않는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035]

본원에 사용된 바와 같이, 하기의 용어는 하기의 의미를 갖는다:

- [0036] 본원에 사용된 용어 "항원"은, 항체에 의해 인식될 수 있는 분자를 말한다. 항원은, 예를 들면, 펩타이드 또는 이의 변형된 형태일 수 있다. 항원은 하나 이상의 에피토프를 포함할 수 있다.
- [0037] 본원에 사용된 용어 "에피토프"는 항체에 의해 특이적으로 인식되는 항원 부분이다. 에피토프는, 예를 들면, 펩타이드 부분(예를 들면, 본 발명의 펩타이드)을 포함할 수 있거나 이것으로 이루어질 수 있다. 에피토프는 선형 에피토프, 연속 에피토프, 또는 입체구조적 에피토프일 수 있다. 소정 실시형태에서, 에피토프는 비인접 영역을 포함할 수 있다.
- [0038] 용어 "핵산", "올리고뉴클레오타이드" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 본원에서 상호교환적으로 사용되고 단일 가닥 또는 이중 가닥에 관계없이 DNA, RNA 및 cDNA, 및 이들의 화학적 변형을 포함한다.
- [0039] 본원에 사용된 1문자 아미노산 약어는 당업계에서의 이들의 표준 의미를 갖고, 본원에 기재된 모든 펩타이드 서열은 왼쪽의 N-말단에서 오른쪽의 C-말단으로 협약에 따라 서술된다.
- [0040] 추가의 용어는 하기의 상세한 설명에서 필요에 따라 정의된다.
- [0041] **조성물 및 장치**
- [0042] 본 발명은, 부분적으로, 보렐리아 VlsE 단백질의 IR6 도메인 내의 소정 서열 변이체가 광범위한 보렐리아 종에 대한 항체 반응의 강한 검출을 제공한다는 발견에 기초한다. 따라서, 한 양상에서, 본 발명은, 보렐리아 항원을 인식하는 항체에 결합할 수 있는 펩타이드를 제공한다.
- [0043] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 VlsE IR6 도메인 또는 이의 단편, 및 하나 이상(예를 들면, 2개, 3개 등)의 다른 보렐리아 항원 유래의 서열(예를 들면, 에피토프를 포함하는 서열)을 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 하나 이상의 다른 보렐리아 항원은 표면 항원 또는 OspA, OspB, OspC, p41, 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 항원이다. 따라서, 예를 들면, 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 (i) VlsE IR6 도메인 또는 이의 단편, 및 (ii) OspA 단백질의 에피토프를 포함하는 서열, OspB 단백질의 에피토프를 포함하는 서열, OspC 단백질의 에피토프를 포함하는 서열, p41 단백질의 에피토프를 포함하는 서열, 또는 상기 서열들의 조합을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 (i) VlsE IR6 도메인, 또는 이의 단편, (ii) OspC 단백질의 에피토프를 포함하는 서열, 및 (iii) p41 단백질의 에피토프를 포함하는 서열을 포함한다.
- [0044] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 서열번호 1의 서열, L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-X₁₁-V-L-R-G-X₁₆-X₁₇-K-D-G-X₂₁-F-A-X₂₄-X₂₅(서열번호 1)을 포함하거나 이것으로 이루어지고, 여기서, 상기 X₁₁은, V 및 L로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₁₆은, L 및 I로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₁₇은, A 및 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₂₁은, R, D 및 N으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₂₄는, I, W, 및 Y로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X₂₅는, K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이다.
- [0045] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는, 서열 L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-L-R-G-L-A-K-D-G-R-F-A-I-K(서열번호 3); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-A-K-D-G-R-F-A-I-K(서열번호 4); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-A-K-D-G-R-F-A-I-K(서열번호 5); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-A-K-D-G-R-F-A-I-K(서열번호 6); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-V-K-D-G-R-F-A-I-K(서열번호 7); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-V-K-D-G-R-F-A-I-K(서열번호 8); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-V-K-D-G-R-F-A-I-K(서열번호 9); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-V-K-D-G-R-F-A-I-K(서열번호 10); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-A-K-D-G-D-F-A-I-K(서열번호 11); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-A-K-D-G-D-F-A-I-K(서열번호 12); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-A-K-D-G-D-F-A-I-K(서열번호 13); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-A-K-D-G-D-F-A-I-K(서열번호 14); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-V-K-D-G-D-F-A-I-K(서열번호 15); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-V-K-D-G-D-F-A-I-K(서열번호 16); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-V-K-D-G-D-F-A-I-K(서열번호 17); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-V-K-D-G-D-F-A-I-K(서열번호 18); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-A-K-D-G-N-F-A-I-K(서열번호 19); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-A-K-D-G-N-F-A-I-K(서열번호 20); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-A-K-D-G-N-F-A-I-K(서열번호 21); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-A-K-D-G-N-F-A-I-K(서열번호 22); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-V-K-D-G-N-F-A-I-K(서열번호 23); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-V-K-D-G-N-F-A-I-K(서열번호 24); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-V-K-D-G-N-F-A-I-K(서열번호 25); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-V-K-D-G-N-F-A-I-K(서열번호 26); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-A-K-D-G-R-F-A-W-K(서열

[illegible]

열번호 108); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-A-K-D-G-D-F-A-W-R(서열번호 109); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-A-K-D-G-D-F-A-W-R(서열번호 110); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-V-K-D-G-D-F-A-W-R(서열번호 111); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-V-K-D-G-D-F-A-W-R(서열번호 112); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-V-K-D-G-D-F-A-W-R(서열번호 113); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-V-K-D-G-D-F-A-W-R(서열번호 114); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-A-K-D-G-N-F-A-W-R(서열번호 115); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-A-K-D-G-N-F-A-W-R(서열번호 116); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-A-K-D-G-N-F-A-W-R(서열번호 117); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-A-K-D-G-N-F-A-W-R(서열번호 118); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-V-K-D-G-N-F-A-W-R(서열번호 119); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-V-K-D-G-N-F-A-W-R(서열번호 120); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-V-K-D-G-N-F-A-W-R(서열번호 121); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-V-K-D-G-N-F-A-W-R(서열번호 122); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-A-K-D-G-R-F-A-Y-R(서열번호 123); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-A-K-D-G-R-F-A-Y-R(서열번호 124); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-A-K-D-G-R-F-A-Y-R(서열번호 125); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-A-K-D-G-R-F-A-Y-R(서열번호 126); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-V-K-D-G-R-F-A-Y-R(서열번호 127); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-V-K-D-G-R-F-A-Y-R(서열번호 128); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-V-K-D-G-R-F-A-Y-R(서열번호 129); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-V-K-D-G-R-F-A-Y-R(서열번호 130); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-A-K-D-G-D-F-A-Y-R(서열번호 131); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-A-K-D-G-D-F-A-Y-R(서열번호 132); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-A-K-D-G-D-F-A-Y-R(서열번호 133); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-A-K-D-G-D-F-A-Y-R(서열번호 134); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-V-K-D-G-D-F-A-Y-R(서열번호 135); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-V-K-D-G-D-F-A-Y-R(서열번호 136); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-V-K-D-G-D-F-A-Y-R(서열번호 137); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-V-K-D-G-D-F-A-Y-R(서열번호 138); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-A-K-D-G-N-F-A-Y-R(서열번호 139); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-A-K-D-G-N-F-A-Y-R(서열번호 140); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-A-K-D-G-N-F-A-Y-R(서열번호 141); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-A-K-D-G-N-F-A-Y-R(서열번호 142); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-L-V-K-D-G-N-F-A-Y-R(서열번호 143); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-L-V-K-D-G-N-F-A-Y-R(서열번호 144); L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-V-V-L-R-G-I-V-K-D-G-N-F-A-Y-R(서열번호 145); 또는 L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-L-V-L-R-G-I-V-K-D-G-N-F-A-Y-R(서열번호 146)을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0046] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 서열번호 1의 서열 및 추가의 N-말단 펩타이드 서열(예를 들면, N-말단 연장부)을 포함한다. 상기 추가의 N-말단 펩타이드 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20 또는 25개 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. 소정 실시형태에서, 상기 N-말단 펩타이드 서열은 약 5 내지 약 10, 약 10 내지 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 40, 또는 약 40 내지 약 50개 아미노산 길이를 갖는다. 상기 추가의 N-말단 펩타이드 서열은 천연 서열일 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, "천연" 서열은 천연 발생 보렐리아 VlsE 서열 유래의 펩타이드 서열, 또는 이의 변이체이다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드 서열은 천연 발생 보렐리아 VlsE 서열의 단편이다. 상기 펩타이드 서열은, 예를 들면, VlsE의 보존되거나 비보존된 영역 유래일 수 있다. 상기 펩타이드 서열은, 예를 들면, 숙주(예를 들면, 사람, 개 등) 면역계에 의해 인식가능한 면역우성 에피토프 또는 임의의 다른 에피토프와 같은 에피토프를 포함할 수 있다. VlsE 단백질 및 이의 펩타이드는, 예를 들면, 이의 내용이 본원에 인용에 의해 포함되는 미국 특허 제6,475,492호, 제6,660,274호, 제6,719,983호, 제6,740,744호, 및 제7,887,815호, 및 유럽 특허 제0894143호, 제1012181호, 제1171605호, 및 제1589109호에 기재되어 있다.

[0047] 변이체 폴리펩타이드는 서열번호 1 내지 서열번호 146에 나타난 펩타이드와 적어도 약 80, 85, 90, 95, 98, 또는 99% 이상 동일하고, 또한, 본 발명의 폴리펩타이드이다. % 서열 동일성은, 당업계에 인지된 의미를 갖고, 2개의 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열간에 동일성을 측정하기 위한 다수의 방법들이 존재한다. 예를 들면, 문헌[참조: Lesk, Ed., Computational Molecular Biology, Oxford University Press, New York, (1988); Smith, Ed., Biocomputing: Informatics And Genome Projects, Academic Press, New York, (1993); Griffin & Griffin, Eds., Computer Analysis Of Sequence Data, Part I, Humana Press, New Jersey, (1994); von Heinje, Sequence Analysis In Molecular Biology, Academic Press, (1987); 및 Gribskov & Devereux, Eds., Sequence Analysis Primer, M Stockton Press, New York, (1991)]을 참조한다. 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드를 정렬하기 위한 방법은 스미스 및 워터맨(Adv. App. Math., 2:482-489 (1981))의 국부 상동성 알고리즘을 사용하는 GCG 프로그램 팩키지(Devereux et al, Nuc. Acids Res. 12:387 (1984)), BLASTP, BLASTN, FASTA(Atschul et al., J Molec. Biol. 215:403 (1990)), 및 베스트피트 프로그램(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711)를 포함하는 컴퓨터 프로그램에 입력되어 있다. 예를 들면, FASTA 알고리즘을 사용

하는 컴퓨터 프로그램 ALIGN이, 아핀 갭 서치와 함께, -12의 갭 오픈 페널티 및 -2의 갭 연장 페널티로 하여, 사용될 수 있다.

- [0048] 특정 서열이, 예를 들면, 표준 서열과 약 95% 동일한지를 결정하기 위해 상기 서열 정렬 프로그램 중 임의의 것을 사용하는 경우, 동일성 %가 표준 폴리뉴클레오타이드의 전장 길이에 대해 계산되고 상기 참조 폴리뉴클레오타이드 내의 총 뉴클레오타이드 수의 5%까지의 동일성 갭이 허용되도록 파라미터를 설정한다.
- [0049] 상기 펩타이드 서열의 변이체는 부분적으로 상기 서열의 공지된 성질에 기초하여 당업자가 용이하게 선택할 수 있다. 예를 들면, 변이체 펩타이드는 아미노산 치환(예를 들면, 보존성 아미노산 치환) 및/또는 결실(예를 들면, 소형, 단일의 아미노산 결실 또는 2, 3, 4, 5, 10, 15 또는 20개 이상의 인접 아미노산을 포함하는 결실)을 포함할 수 있다. 따라서, 소정 실시형태에서, 천연 펩타이드 서열의 변이체는 (i) 하나 이상(예를 들면, 2, 3, 4, 5 또는 6개 이상)의 보존성 아미노산 치환, (ii) 1개 이상(예를 들면, 2, 3, 4, 5 또는 6개 이상)의 아미노산의 결실, 또는 (iii) 이들의 조합으로 천연 발생 서열과 상이한 변이체이다. 결실된 아미노산은 인접하거나 비인접할 수 있다. 보존성 아미노산 치환은 이들의 측쇄 및 화학적 성질에서 관련된 한 집단의 아미노산 내에서 일어나는 치환이다. 이들은, 예를 들면, (1) 산성 아미노산: 아스파르테이트, 글루타메이트; (2) 염기성 아미노산: 라이신, 아르기닌, 히스티딘; (3) 비극성 아미노산: 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판; (4) 비하전된 극성 아미노산: 글라이신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 티로신; (5) 지방족 아미노산: 글라이신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌(여기서, 세린 및 트레오닌은 임의로 지방족-하이드록실로서 별도로 분류된다); (6) 방향족 아미노산: 페닐알라닌, 티로신, 트립토판; (7) 아미드 아미노산: 아스파라긴, 글루타민; 및 (9) 황-함유 아미노산: 시스테인 및 메티오닌을 포함한다. 예를 들면, 문헌[Biochemistry, 2nd ed., Ed. by L. Stryer, W H Freeman and Co.: 1981]을 참조한다. 변이체 펩타이드가 적합한지를 확인하는 방법은 통상적인 것이다.
- [0050] 상기 펩타이드 서열의 변이체는 이전에 정의된 펩타이드 서열 상의 변이를 포함한다. 예를 들면, 공지된 에피토프를 포함하는 이전에 기재된 펩타이드 서열은 하나의 말단 또는 양 말단에서 연장 또는 단축(예를 들면, 약 1 내지 3개의 아미노산까지)될 수 있고/있거나, 1개, 2개, 3개 또는 4개 이상의 아미노산이 보존성 아미노산 등으로 치환될 수 있다. 추가로, 단백질 영역이, 목적하는 에피토프를 포함하는 것으로 동정된 경우, 연구자는 상기 활성을 최적화하기 위해 본래의 개략적 영역의 종점으로부터 목적하는 영역을 (예를 들면, 어느 한 방향으로 약 5개 아미노산까지) "시프트"할 수 있다.
- [0051] 소정 실시형태에서, 상기 추가의 N-말단 펩타이드 서열은 다른 IR6 도메인 펩타이드를 포함하거나 이것으로 이루어질 수 있다. 다른 실시형태에서, 상기 천연 서열은 천연적으로 VlsE IR6 도메인의 N-말단에 인접한 VlsE 서열이다.
- [0052] 소정 실시형태에서, 상기 추가의 N-말단 펩타이드 서열은 비-천연 서열이다. 본원에 사용된 바와 같이, "비-천연" 서열은 보렐리아 단백질 또는 기타 다른 단백질 유래인 것에 관계없이 천연 VlsE 펩타이드 서열 이외의 임의의 단백질 서열이다. 소정 실시형태에서, 상기 추가의 N-말단 펩타이드 서열은 OspA, OspB, DbpA, 플라젤라-연합 단백질 F1aA(p37) 및 F1aB(p41), OspC(25 kd), BBK32, BmpA(p39), p21, p39, p66 또는 p83과 같은 보렐리아 항원의 에피토프를 포함한다. 다른 미생물로부터 유도된 폴리펩타이드 또는 펩타이드가 또한 사용될 수 있다.
- [0053] 추가의 N-말단 펩타이드 서열을 포함하는 본 발명의 펩타이드는, 감염 후 초기(예를 들면, 감염 개시 후 1주 내지 2주 이내)에 보렐리아 감염을 진단하기 위해 고안될 수 있다. 이의 발현이 감염의 초기 단계에 인지되는 병원성 보렐리아 단백질들(예를 들면, 이에 대한 IgM 항체가 감염 후 초기에 나타난다) 중에는 OspC, BBK32, 플라젤라-연합 단백질 F1aB(p41), 및 보다 드물게는 BmpA(p39), 및 플라젤라-연합 단백질 F1aA(p37)가 있다. 폴리펩타이드, 또는 이들 폴리펩타이드로부터 유도되는 펩타이드들은 초기 감염에 대한 검정에 적합하다. 예를 들면, 초기 감염의 진단을 위해 사용될 수 있는 일부 적합한 선형 에피토프는 이의 내용이 본원에 인용에 의해 포함되는 문헌[참조: Jobe et al. (2003) Clin Diagn Lab Immunol 10, 573-8]에 보고된 바와 같이 OspC 내 펩타이드: PVVAESPKKP(서열번호 147), ILMTLFLFISCNNS(서열번호 148), 및 아미노산 161번 내지 210번 사이에 포함된 하나 이상의 에피토프를 포함한다. 이의 내용이 본원에 인용에 의해 포함되는 미국 특허 제6,716,574호에 기재된 상기 OspC 펩타이드가 또한 사용될 수 있다. 주요 교차-반응성 에피토프를 함유하지 않는 것으로 나타난 다른 적합한 영역은 F1aB(p41), 예를 들면, 잔기 120번 내지 235번에서 동정되었다. 예를 들면, 이의 내용이 본원에 인용에 의해 포함되는 문헌[Crother et al. ((2003) Infect. Immun. 71, 3419-3428; Wang et al. (1999)) Clin Microbial Rev 12, 633- 653; 및 미국 특허 제5,618,533호, 제5,643,733호, 제5,643,751호, 제5,932,220

호, 및 제6,617,441호]을 참조한다. 선형 또는 입체구조적 에피토프를 갖는 다른 펩타이드들이 당업계에 공지되어 있다. 특히, 예를 들면, OspC, BBK32 또는 DbpA의 가변 영역 유래의 추가의 비-천연 에피토프 서열을 동정하기 위한 방법은, 미국 특허 제7,887,815호에서 논의된다.

[0054] 소정 실시형태에서, 상기 추가의 N-말단 펩타이드 서열은 OspC 유래이다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 추가의 N-말단 펩타이드 서열은 서열번호 149의 서열 $n_1-n_2-S-P-n_5-n_6-P$ (서열번호 149) 또는 이의 단편(예를 들면, C-말단 단편)이고, 여기서, 상기 n_1 은, A 및 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n_2 는, E 및 D로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n_5 는, K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n_6 은, K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이다.

[0055] 소정 실시형태에서, 상기 추가의 N-말단 펩타이드 서열은 서열들의 조합이다. 예를 들면, 상기 추가의 N-말단 펩타이드 서열은 천연, 비-천연 서열, 또는 상기 서열들의 임의의 조합(예를 들면, 2개 이상의 천연 서열, 2개 이상의 비-천연 서열, 천연 및 비-천연 서열 등)을 포함할 수 있다.

[0056] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 서열번호 1에 의해 정의된 서열을 포함하고, 추가의 C-말단 서열을 추가로 포함한다. 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20 또는 25개 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은 천연 서열일 수 있다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은 다른 IR6 도메인 펩타이드를 포함하거나 이것으로 이루어질 수 있다. 다른 실시형태에서, 상기 천연 서열은, VlsE IR6 도메인의 C 말단에 본래 인접한 VlsE 서열이다.

[0057] 소정 실시형태에서, 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은 비-천연 서열이다. 소정 실시형태에서, 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은, 상기 논의된 바와 같이, OspA, OspB, DbpA, 플라젤라-연합 단백질 FlaA(p37) 및 FlaB(p41), OspC(25 kd), BBK32, BmpA(p39), p21, p39, p66 또는 p83과 같은 보렐리아 항원의 에피토프를 포함한다. 또한, 다른 미생물로부터 유도된 폴리펩타이드 또는 펩타이드도 사용될 수 있다.

[0058] 소정 실시형태에서, 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은 FlaB(p41) 유래이다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은 서열번호 150의 서열, $V-c_2-E-G-c_5-Q-Q-E-G-A-Q-Q-P-S-C$ (서열번호 150) 또는 이의 단편(예를 들면, N-말단 단편)이고, 여기서, 상기 c_2 는, Q 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 c_5 는, V 및 A로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이다. 다른 실시형태에서, 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은 서열번호 151의 서열, $A-V-c_3-E-G-c_6-Q-Q-E-G-A-Q-Q-P-S-C$ (서열번호 151) 또는 이의 단편(예를 들면, N-말단 단편)이고, 여기서, 상기 c_3 은, Q 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 c_6 은, V 및 A로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이다.

[0059] 소정 실시형태에서, 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은 서열들의 조합이다. 예를 들면, 상기 추가의 C-말단 펩타이드 서열은 천연, 비-천연 서열, 또는 상기 서열들의 임의의 조합(예를 들면, 2개 이상의 천연 서열, 2개 이상의 비-천연 서열, 천연 및 비-천연 서열 등)을 포함할 수 있다.

[0060] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 서열번호 1에 의해 정의된 서열을 포함하고, 추가의 N-말단 펩타이드 서열 및 추가의 C-말단 펩타이드 서열을 추가로 포함한다. 상기 추가의 N-말단 및 C-말단 펩타이드 서열은 상기된 바와 같을 수 있다. 본 발명의 펩타이드는 전장 VlsE 단백질로 이루어지지 않는다. 그러나, 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 전장 VlsE 단백질을 포함할 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 전장 VlsE 단백질을 포함하지 않는다.

[0061] 상기된 서열 이외에, 상기 추가의 N-말단 및 C-말단 서열은 면역검정(예를 들면, ELISA 검정, 측면 유동 면역검정, 응집 검정 등)에서 검출하기 위한 본 발명의 펩타이드를 보다 우수하게 제시하도록 고안된 유연성 서열을 포함하거나 이것으로 이루어질 수 있다. 상기 유연성 서열은 당업자에 의해 용이하게 동정될 수 있다.

[0062] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 서열번호 2의 서열, $n_1-n_2-S-P-n_5-n_6-P-L-K-K-D-D-N-I-A-A-A-X_{18}-V-L-R-G-X_{23}-X_{24}-K-D-G-X_{28}-F-A-X_{31}-X_{32}-A-V-c_{35}-E-G-c_{38}-Q-Q-E-G-A-Q-Q-P-S-C$ (서열번호 2)를 포함하거나 이것으로 이루어지고, 여기서, 상기 n_1 은, A 및 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n_2 는, E 및 D로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 n_5 는, K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고,

상기 n_6 은, K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{18} 은, V 및 L로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{23} 은, L 및 I로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{24} 는, A 및 V로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{28} 은, R, D 및 N으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{31} 은, I, W 및 Y로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 X_{32} 는, K 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 c_{35} 는, Q 및 R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이고, 상기 c_{38} 은, V 및 A로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아미노산이다.

[0063] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 서열번호 2에 의해 정의된 서열을 포함하고, 추가의 N-말단 펩타이드 서열, 추가의 C-말단 펩타이드 서열, 또는 이들의 조합을 추가로 포함한다. 상기 추가의 N-말단 및 C-말단 펩타이드 서열은 상기된 바와 같을 수 있다.

[0064] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 25개 이상(예를 들면, 26, 27, 28 또는 29개 이상)의 아미노산 잔기를 포함하거나 이들로 이루어진다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 30개 이상(예를 들면, 31, 32, 33 또는 34개 이상)의 아미노산 잔기를 포함하거나 이들로 이루어진다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 35개 이상(예를 들면, 36, 37, 38 또는 39개 이상)의 아미노산 잔기를 포함하거나 이들로 이루어진다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 40개 이상(예를 들면, 41, 42, 43 또는 44개 이상)의 아미노산 잔기를 포함하거나 이들로 이루어진다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 45개 이상(예를 들면, 46, 47, 48 또는 49개 이상)의 아미노산 잔기를 포함하거나 이들로 이루어진다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 50개 이상(예를 들면, 51, 52, 53 또는 54개 이상)의 아미노산 잔기를 포함하거나 이들로 이루어진다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100개 이상의 아미노산 잔기를 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0065] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 본원에 기재된 펩타이드 서열의 에피토프를 포함한다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는, 서열번호 1 내지 서열번호 146으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 서열의 에피토프를 포함한다.

[0066] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 본원에 기재된 펩타이드 서열의 단편을 포함한다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는, 서열번호 1 내지 서열번호 146으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 서열의 단편을 포함한다. 상기 단편은, 예를 들면, 길이가 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 또는 44개 이상의 아미노산일 수 있다. 상기 단편은 인접할 수 있거나 하나 이상의 결실(예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이상의 아미노산 잔기의 결실)을 포함할 수 있다. 소정 실시형태에서, 상기 단편은 미국 특허 제6,475,492호, 제6,660,274호, 제6,719,983호, 제6,740,744호, 또는 제7,887,815호, 또는 유럽 특허 제0894143호, 제1012181호, 제1171605호 또는 제1589109호에 제시된 서열을 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 단편은 미국 특허 제6,475,492호, 제6,660,274호, 제6,719,983호, 제6,740,744호 및 제7,887,815호, 및 유럽 특허 제0894143호, 제1012181호, 제1171605호 및 제1589109호 중 하나 이상에 제시된 서열로 이루어지지 않는다. 본원에 기재된 펩타이드 서열의 단편을 포함하는 본 발명의 펩타이드는 추가의 N-말단 펩타이드 서열, 추가의 C-말단 펩타이드 서열, 또는 이들의 조합을 추가로 포함할 수 있다. 상기 추가의 N-말단 및 C-말단 펩타이드 서열은 상기된 바와 같을 수 있다.

[0067] 추가의 N-말단 또는 C-말단 펩타이드 서열을 포함하는 본 발명의 펩타이드는 추가의 N-말단 또는 C-말단 펩타이드 서열과 상기 펩타이드(예를 들면, 서열번호 1 또는 서열번호 2의 펩타이드 또는 이의 단편)를 연결하는 링커를 추가로 포함할 수 있다. 상기 링커는, 예를 들면, 펩타이드 스페이서일 수 있다. 상기 스페이서는, 예를 들면, 약 1개 내지 5개(예를 들면, 약 3개)의 아미노산 잔기, 바람직하게는 비하전된 아미노산, 예를 들면, 지방족 잔기, 예를 들면, 글라이신 또는 알라닌으로 이루어질 수 있다. 하나의 실시형태에서, 상기 스페이서는 트리플렛 글라이신 스페이서이다. 다른 실시형태에서, 상기 스페이서는 트리플렛 알라닌 스페이서이다. 다른 실시형태에서, 상기 스페이서는 글라이신 및 알라닌 잔기 둘 다를 포함한다. 대안으로, 상기 링커는 화학적(즉, 비펩타이드) 링커일 수 있다.

[0068] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 합성 화학에 의해 제조된다(즉, "합성 펩타이드"). 다른 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 생물학적으로(즉, 리보솜과 같은 세포 기구에 의해) 제조된다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 단리된다. 본원에 사용된 바와 같이, "단리된" 펩타이드는 합성적으로 또는 생물학적으로 제조되고, 이어서, 적어도 부분적으로, 상기 펩타이드를 제조하기 위해 사용되는 화학물질 및/또는 세포 기구로

부터 정제된 펩타이드이다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 단리된 펩타이드는 실질적으로 정제된다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "실질적으로 정제된"은, 실질적으로 세포 물질(단백질, 지질, 탄수화물, 핵산 등), 배양 배지, 화학적 전구체, 펩타이드의 합성에 사용되는 화학물질, 또는 이의 조합을 포함하지 않는 펩타이드와 같은 분자를 말한다. 실질적으로 정제된 펩타이드는 약 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 2%, 1% 이하의 세포 물질, 배양 배지, 다른 폴리펩타이드, 화학적 전구체 및/또는 펩타이드 합성에 사용되는 화학물질을 갖는다. 따라서, 펩타이드와 같은 실질적으로 순수한 분자는 무수 중량으로 약 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 또는 99% 이상의 목적하는 분자일 수 있다. 본 발명의 단리된 펩타이드는 물, 완충액 또는 예를 들면, 키트의 일부로서 재구성될 무수 형태로 존재할 수 있다. 본 발명의 단리된 펩타이드는 약제학적으로 허용되는 염 형태로 존재할 수 있다. 본 발명의 펩타이드와 염을 형성할 수 있는 적합한 산 및 염기는 당업자에게 널리 공지되어 있고, 무기산 및 유기산 및 염기를 포함한다.

[0069] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 친화성 정제된다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는, 항체를 본 발명의 펩타이드와 접촉시켜 펩타이드-항체 복합체가 형성될 수 있도록 하고 불순물을 제거하기 위해 상기 펩타이드-항체 복합체를 세척함에 있어서, 상기 항체로부터 상기 펩타이드를 용출시킴으로써 항-보렐리아 항체(예를 들면, VlsE 단백질 및 임의로 다른 보렐리아 항원에 대한 항체)에 결합하는 이들의 능력에 의해 정제된다. 상기 항체는, 예를 들면, 고형 지지체에 부착될 수 있다. 친화성 정제 방법은 당업자에게 널리 공지되어 있고 통상적인 것이다.

[0070] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 변형된다. 본 발명의 펩타이드는 열 및/또는 세제(예를 들면, SDS)를 사용한 변성과 같은 다양한 기술에 의해 변형시킬 수 있다. 대안으로, 본 발명의 펩타이드는 하나 이상의 추가의 모이어티와 연합시킴에 의해 변형시킬 수 있다. 상기 연합은 공유 또는 비공유일 수 있고, 예를 들면, 라이신 또는 시스테인, 화학적 커플링제 또는 펩타이드 결합과 같은 말단 아미노산 링커를 통한 것일 수 있다. 상기 추가의 모이어티는, 예를 들면, 리간드, 리간드 수용체, 융합 파트너, 검출가능한 표지, 효소, 또는 펩타이드를 고정화시키는 기질일 수 있다.

[0071] 본 발명의 펩타이드는 비오틴(예를 들면, 시스테인 또는 라이신 잔기를 통해), 지질 분자(예를 들면, 시스테인 잔기를 통해), 또는 담체 단백질(예를 들면, 시스테인 또는 라이신 잔기를 통한 혈청 알부민, 키홀 림펫 헤모시아닌(KLH), 면역글로불린 Fc 도메인)과 같은 리간드에 결합될 수 있다. 비오틴과 같은 리간드로의 부착은, 상기 펩타이드를, 아비딘, 스트렙타아비딘, 중합성 스트렙타아비딘(예를 들면, 둘 다 본원에 인용에 의해 포함되는 미국 출원번호 제2010/0081125 및 제2010/0267166호) 또는 뉴트라비딘과 같은 리간드 수용체와 연합시키는데 유용할 수 있다. 이어서, 아비딘, 스트렙타아비딘, 중합성 스트렙타아비딘 또는 뉴트라비딘은 신호 전달 모이어티(예를 들면, 콜로이드성 금, 형광성 모이어티 또는 효소(서양 고추냉이 과옥시다제 또는 알칼리성 포스파타제)와 같은 가시화될 수 있는 모이어티) 또는 고형 기질(예를 들면, 임모빌론 또는 니트로셀룰로스 막)에 연결될 수 있다. 대안으로, 본 발명의 펩타이드는 아비딘, 스트렙타아비딘, 중합성 스트렙타아비딘, 또는 뉴트라비딘과 같은 리간드 수용체에 융합시키거나 연결시켜 비오틴 및 임의의 모이어티(예를 들면, 신호 전달 모이어티) 또는 이에 부착된 고형 기질과 같은 상응하는 리간드와 상기 펩타이드의 연합을 촉진시킬 수 있다. 다른 리간드-수용체 쌍의 예는 당업계에 널리 공지되어 있고 유사하게 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 신호 전달 모이어티에 직접 연결되거나 결합될 수 있다.

[0072] 본 발명의 펩타이드는 융합 파트너(예를 들면, 펩타이드 또는 다른 모이어티)에 융합되거나 결합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 융합 파트너는 숙주 세포에서 펩타이드의 정제, 발현, 검출을 촉진시킬 수 있거나 상기 펩타이드를 표면 또는 다른 실체 등에 연결하여 상기 펩타이드를 안정화시킬 수 있다. 융합 파트너에 적합한 화합물들의 예로는 담체 단백질(예를 들면, 혈청 알부민, 면역글로불린 Fc 도메인, 텐드리머 등), 베타-갈락토시다제, 글라타타온-S-트랜스퍼라제, 히스티딘 태그 등이 포함된다. 상기 융합은, 예를 들면, 펩타이드 결합에 의해 성취될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 펩타이드 및 융합 파트너는 융합 단백질일 수 있고, 프레임 내에서 직접 융합되거나, 추가의 N-말단 및 C-말단 펩타이드 서열에 관하여 상기 논의된 바와 같이 펩타이드 링커를 포함할 수 있다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드들의 혼합물은, 예를 들면, MAPS 구조에서와 같이 텐드리머에 의해 연결될 수 있다.

[0073] 추가로, 본 발명의 펩타이드는 임의의 다양한 공지의 화학 그룹 또는 분자를 포함하도록 변형시킬 수 있다. 상기 변형은, 글리코실화, 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아미드화, 폴리에틸렌 글리콜에의 공유 부착(예를 들면, 폐길화), 플라빈의 공유 부착, 헴 모이어티의 공유 부착, 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유도체의 공유 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스포타일리노시톨의 공유 부착, 교차-결합, 사이클화, 디설파이드 결합 형성, 탈메틸화, 공유 교차결합의 형성, 시스틴의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포밀화, 감마 카

복식화, 글리코실화, GPI 앵커 형성, 하이드록실화, 요오드화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 단백질을 프로세싱, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 황화, 유비퀴틴화, 지방산을 사용한 변형, 운반-RNA 매개된 아미노산의 단백질로의 부가(예를 들면, 아르기닐화) 등을 포함하지만 이들에 제한되지 않는다. 아미노산(비천연 아미노산을 포함하는)의 유사체 및 치환된 연결을 갖는 펩타이드가 또한 포함된다. 본원에서 논의된 임의의 서열로 이루어진 본 발명의 펩타이드는 논의된 임의의 변형에 의해 변형시킬 수 있다. 상기 펩타이드는 여전히 아미노산으로 이루어진다.

[0074] 상기 제시된 변형은 당업자에게 널리 공지되어 있고, 과학적 문헌에 보다 상세하게 기재되어 있다. 예를 들면, 특히 몇몇의 공통된 변형, 글리코실화, 지질 부착, 황화, 글루탐산 잔기의 감마-카복실화, 하이드록실화 및 ADP-리보실화는 많은 기본 교과서에 기재되어 있다[문헌참조: Proteins-Structure and Molecular Properties, 2nd ed., T. E. Creighton, W.H. Freeman and Company, New York (1993)]. 많은 세부적인 검토가 상기 주제에 대해 이용가능하고, 예를 들면, 문헌[Wold, F., Posttranslational Covalent Modification of Proteins, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York 1-12 (1983); Seifter et al. (1990) Meth. Enzymol. 182:626-646 및 Rattan et al. (1992) Ann. N.Y. Acad. Sci. 663:48-62]을 참조한다.

[0075] 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 고정 또는 반고형 지지체와 같은 기질 상에 부착되거나 고정화된다. 상기 부착은 공유 또는 비공유일 수 있고, 담체, 지지체 또는 표면에 부착된 성분에 대해 고정화를 갖는 모이어티와 같이 공유 또는 비공유 결합을 가능하게 하는 펩타이드와 연합된 모이어티에 의해 촉진될 수 있다. 예를 들면, 상기 펩타이드는 리간드, 예를 들면, 비오틴과 연합될 수 있고, 상기 표면과 연합된 성분은 상응하는 리간드 수용체, 예를 들면, 아비딘일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 펩타이드는 상기 펩타이드의 기질의 부착을 촉진시키는 융합 파트너, 예를 들면, 소 혈청 알부민(BSA)과 연합될 수 있다. 상기 펩타이드는 면역검정 동안에 항체를 함유하는 샘플의 첨가 전에 또는 후에 기질 상에 부착되거나 고정화될 수 있다.

[0076] 소정 실시형태에서, 상기 기질은 비드, 예를 들면, 콜로이드성 입자(예를 들면, 금, 은, 백금, 구리, 금속 성분, 다른 연결 금속, 코어-셸 구조 입자, 또는 중공 금 나노구로 이루어진 콜로이드성 나노입자) 또는 다른 유형의 입자(예를 들면, 실리카, 라텍스, 폴리스티렌, 폴리카보네이트, 폴리아크릴레이트, 또는 PVDF를 포함하는 자기비드 또는 입자 또는 나노입자)이다. 상기 입자는 표지(예를 들면, 비색, 화학발광 또는 형광 표지)를 포함할 수 있고, 면역검정 동안에 상기 펩타이드의 위치를 가지화하는데 유용할 수 있다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드의 말단 시스테인을 사용하여 펩타이드를 금, 은, 백금, 구리, 금속 성분, 다른 연결 금속 등으로 이루어진 나노입자에 직접 결합시킨다.

[0077] 소정 실시형태에서, 상기 기질은 도트 블롯 또는 측면 유동 면역검정 장치 내의 유동 경로이다. 예를 들면, 상기 펩타이드는 PVDF 막(예를 들면, ImmobilonTM 막), 니트로셀룰로스 막, 폴리에틸렌 막, 나일론 막, 또는 유사한 유형의 막과 같은 다공성 막 상에 부착되거나 고정화될 수 있다.

[0078] 소정 실시형태에서, 상기 기질은 분석학적 로터 내의 유동 경로이다. 다른 실시형태에서, 상기 기질은 튜브 또는 ELISA 검정에 사용하기에 적합한 플레이트(예를 들면, 미세역가 플레이트) 내의 웰에서와 같은 웰이다. 상기 기질은 유리, 셀룰로스-기반 물질, 열가소성 중합체(예를 들면, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌 또는 폴리에스테르), 미립자 물질로 구성된 소결 구조(예를 들면, 유리 또는 다양한 열가소성 중합체), 또는 니트로셀룰로스, 나일론, 또는 폴리설펜 등으로 구성된 구조 막 필름을 포함할 수 있다. 기질은 통상적으로 다공성 폴리에틸렌으로서 공지된 폴리에틸렌의 소결된 미세 입자, 예를 들면, 제조원(Chromex Corporation (Albuquerque, NM))의 0.2 내지 15 마이크론 다공성 폴리에틸렌일 수 있다. 이들 기질 물질 모두는 필름, 시트 또는 플레이트와 같은 적합한 형태로 사용될 수 있거나, 이들은 종이, 유리, 플라스틱 필름 또는 직물과 같은 적절한 불활성 담체 상에 코팅되거나 결합되거나 적층될 수 있다. 고정상에 펩타이드를 고정화시키기에 적합한 방법은 이온, 소수성, 및 공유 상호작용 등을 포함한다.

[0079] 따라서, 다른 양상에서, 본 발명은 장치를 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 장치는 면역검정을 수행하는데 유용하다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 장치는 측면 유동 면역검정 장치이다. 다른 실시형태에서, 상기 장치는 분석학적 로터이다. 다른 실시형태에서, 상기 장치는 도트 블롯, 슬롯 블롯, 또는 웨스턴 블롯이다. 다른 실시형태에서, 상기 장치는 튜브, 또는 예를 들면, ELISA 검정용으로 적합한 플레이트 내의 웰이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 장치는 전기화학적 센서, 광학 센서, 또는 광전기 센서이다.

[0080] 소정 실시형태에서, 상기 장치는 본 발명의 펩타이드를 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 장치는 본 발명의 상이한 펩타이드들의 혼합물을 포함한다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 장치는 2개, 3개 또는 4개 이상의 상이한 본 발명의 펩타이드를 포함한다. 소정 실시형태에서, 펩타이드 또는 상기 혼합물 중 각각의 펩타이드

는 서열번호 1 또는 서열번호 2의 서열을 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드는 장치 상에 부착되거나 고정화된다.

[0081] 다른 양상에서, 본 발명은, 본 발명의 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 조성물을 제공한다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 본 발명은, 서열번호 1의 서열을 포함하는 펩타이드, 서열번호 2의 서열을 포함하는 펩타이드, 또는 이들의 혼합물을 포함하는 조성물을 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 조성물은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400 또는 500개 이상의 펩타이드 (예를 들면, 모든 가능한 펩타이드는 서열번호 1 또는 서열번호 2로 정의된다)의 혼합물을 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드는 본원에 기재된 바와 같이, (예를 들면, 하나 이상의 추가의 모이어티와의 연합에 의해) 변형시킨다.

[0082] 소정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 본 발명의 하나 이상의 펩타이드 및 하나 이상의 추가의 펩타이드, 예를 들면, 보렐리아 펩타이드 또는 항원, 하나 이상의 감염성 보렐리아 종 유래의 펩타이드 또는 항원, 또는 라임 질환의 하나 이상의 원인 제제 유래의 펩타이드 또는 항원을 포함한다. 상기 보렐리아 펩타이드 또는 항원은 본원에 기재된 임의의 보렐리아 펩타이드 또는 항원(예를 들면, OspA, OspB, DbpA, 플라젤라 연합된 단백질 FlaA(p37) 및 FlaB(p41), OspC(25 kd), BBK32, BmpA(p39), p21, p39, p66, p83, 또는 VlsE 단백질), 또는 임의의 단편 또는 에피토프일 수 있다. 몇몇의 적합한 보렐리아 펩타이드는, 예를 들면, 미국 특허 제 7,887,815호에 기재되어 있다. 상기 조합은 개별 펩타이드 또는 폴리펩타이드들의 각테일(단순 혼합물)을 포함할 수 있거나, 이것은 융합 펩타이드 또는 폴리펩타이드(예를 들면, 다량체 펩타이드)의 형태로 존재할 수 있거나, 상기 펩타이드는 임의로 연결 잔기(예를 들면, 라이신 잔기)를 통해 덴드리머(예를 들면, MAPS 구조에서와 같이)에 의해 연결될 수 있다. 본 발명의 펩타이드는 임의의 N-말단 또는 C-말단에서 다른 적합한 펩타이드에 융합될 수 있다. 본 발명의 펩타이드의 2개 이상의 복사체는 단독으로 또는 하나 이상의 추가의 펩타이드와 함께 조합하여 서로 연결될 수 있다. 융합되고 비융합된 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 조합이 사용될 수 있다. 하나의 실시형태에서, 상기 추가의 펩타이드(들)은 보렐리아 펩타이드 또는 항원, 감염성 보렐리아 종 유래의 펩타이드 또는 항원, 또는 라임 질환의 원인 제제 유래의 펩타이드 또는 항원으로부터의 B 세포 및/또는 T 세포 에피토프를 포함한다.

[0083] 다른 양상에서, 본 발명은, 본 발명의 펩타이드를 암호화하는 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 본 발명의 핵산은, 전체 미생물 게놈보다 적은 핵산을 함유하고, 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 핵산은 RNA, DNA, cDNA, 게놈 DNA, 화학적으로 합성된 RNA 또는 DNA 또는 이들의 조합일 수 있다. 상기 핵산은 단백질, 지질 및 다른 폴리뉴클레오타이드와 같은 다른 성분들을 포함하지 않도록 정제될 수 있다. 예를 들면, 핵산은 50%, 75%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 정제될 수 있다. 본 발명의 핵산은 본원에 기재된 펩타이드를 암호화한다. 소정 실시형태에서, 상기 핵산은 서열번호 1 내지 서열번호 146의 서열 또는 이들의 조합을 갖는 펩타이드를 암호화한다. 본 발명의 핵산은 링커, 신호 서열, TMR 스톱 전달 서열, 막관통 도메인, 또는 글루타티온-S-트랜스퍼라제, 히스티딘 태그 및 스타필로코커스 단백질 A와 같이 단백질 정제에 유용한 리간드를 암호화하는 서열과 같은 다른 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0084] 본 발명의 핵산은 단리될 수 있다. "단리된" 핵산은 이것이 천연적으로 연합되어 있는 5' 및 3' 플랭킹 게놈 서열 중 하나 또는 둘 다와 바로 연속적이지 않은 핵산이다. 단리된 핵산은 예를 들면, 임의의 길이의 재조합 DNA 분자일 수 있고, 단, 천연의 게놈에서 재조합 DNA 분자를 바로 플랭킹하는 것으로 밝혀진 천연 핵산 서열이 제거되거나 부재이다. 단리된 핵산은 또한 비천연 핵산 분자를 포함할 수 있다. 본 발명의 핵산은 또한 면역원성 펩타이드를 암호화하는 단편을 포함할 수 있다. 본 발명의 핵산은 전장 폴리펩타이드, 펩타이드 단편 및 변이체 또는 융합 펩타이드를 암호화할 수 있다.

[0085] 본 발명의 핵산은 적어도 부분적으로 예를 들면, 생물학적 샘플, 예를 들면, 혈액, 혈청, 타액 또는 감염된 개체 유래의 조직과 같은 생물학적 샘플에 존재하는 핵산 서열로부터 단리될 수 있다. 핵산은 또한 예를 들면, 자동 합성기를 사용하여 실험실에서 합성될 수 있다. PCR과 같은 증폭 방법을 사용하여 폴리펩타이드를 암호화하는 게놈 DNA 또는 cDNA로부터 적어도 부분적으로 핵산을 증폭시킬 수 있다.

[0086] 본 발명의 핵산은 천연 폴리펩타이드에 대한 암호화 서열을 포함할 수 있거나 천연에 존재하지 않는 변형된 서열을 암호화할 수 있다. 경우에 따라, 핵산은 예를 들면, 복제 오리진, 프로모터, 인핸서 또는 숙주 세포에서 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 발현을 구동하는 다른 조절 요소를 포함하는 발현 조절 요소를 포함하는 발현 벡터에 클로닝시킬 수 있다. 발현 벡터는 예를 들면, pBR322, pUC, 또는 ColEI와 같은 플라스미드, 또는 아데노바이러스 2형 벡터 또는 5형 벡터와 같은 아데노바이러스 벡터일 수 있다. 임의로, 신드비스 바이러스, 시미안

바이러스 40, 알파바이러스 벡터, 포크바이러스 벡터 및 시토크로마바이러스 및 레트로바이러스 벡터, 예를 들면, 쥐 육종 바이러스, 마우스 젓샘 종양 바이러스, 몰로니 쥐 백혈병 바이러스 및 라우스 육종 바이러스 벡터를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 벡터가 사용될 수 있다. MC 및 MCI와 같은 소형염색체, 박테리오파지, 파지미드, 효모 인공 염색체, 세균 인공 염색체, 바이러스 입자, 바이러스형 입자, 코스미드(파이지람다 cos 부위가 삽입된 플라스미드) 및 레플리콘(세포내에서 자신의 통제하에 복제할 수 있는 유전학적 요소)이 또한 사용될 수 있다.

[0087] 발현 조절 서열에 작동적으로 연결된 폴리뉴클레오타이드를 제조하고 이들을 숙주 세포에서 발현하기 위한 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 예를 들면, 문헌[미국 특허 제4,366,246호]를 참조한다. 본 발명의 핵산은 이것이 폴리뉴클레오타이드의 전사 및/또는 해독을 지시하는 하나 이상의 발현 조절 요소에 인접하거나 가깝게 위치되는 경우 작동적으로 연결된다.

[0088] 따라서, 예를 들면, 본 발명의 펩타이드는 통상적인 유전학적 재조합 기술에 따라 제조될 수 있다. 본 발명의 재조합 펩타이드를 제조하기 위해, 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산은 적합한 발현 시스템으로 삽입된다. 일반적으로, 재조합 분자 또는 벡터는 상기 선택된 펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 펩타이드의 발현을 허용하는 발현 조절 서열에 작동적으로 연결되도록 작제된다. 예를 들면, 세균, 바이러스, 효모, 진균류, 곤충 또는 포유동물 발현 시스템을 포함하는 벡터를 포함하는 다수 유형의 적당한 발현 벡터가 당업계에 공지되어 있다. 상기 발현벡터를 수득하고 사용하기 위한 방법은 널리 공지되어 있다. 본 발명의 조성물 또는 방법에 사용되는 상기 및 다른 분자 생물학적 기술에 대한 지침은 예를 들면, 문헌[Sambrook et al, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, current edition, Cold Spring Harbor Laboratory, New York; Miller et al, Genetic Engineering, 8:277-298 (Plenum Press, current edition), Wu et al, Methods in Gene Biotechnology (CRC Press, New York, N.Y., current edition), Recombinant Gene Expression Protocols, in Methods in Molecular Biology, Vol. 62, (Tuan, ed., Humana Press, Totowa, N.J., current edition), and Current Protocols in Molecular Biology, (Ausabel et al, Eds.,) John Wiley & Sons, NY (current edition)]을 참조하고, 상기 문헌은 본원에 인용에 의해 포함된다.

[0089] 따라서, 본 발명은 또한 본 발명의 핵산을 포함하는 벡터 및 상기 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 벡터는 서틀 벡터이다. 다른 실시형태에서, 상기 벡터는 발현 벡터(예를 들면, 세균 또는 진핵성 발현 벡터)이다. 소정 실시형태에서, 상기 숙주 세포는 세균 세포이다. 다른 실시형태에서, 상기 숙주 세포는 진핵 세포이다.

[0090] 상기 방법에 의한 형질감염의 본 발명의 재조합 핵산 또는 벡터에 대해 적합한 숙주 세포 또는 세포주는 세균 세포를 포함한다. 예를 들면, 이. 콜라이(*E. coli*)의 다양한 균주(예를 들면, HB101, MC1061)은 생물공학 분야에서 숙주 세포로서 널리 공지되어 있다. 비. 서브틸리스(*B. subtilis*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 스트렙토마이세스(*Streptomyces*) 및 다른 바실리 등의 다양한 균주가 또한 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 펩타이드는 효모, 곤충, 포유동물 또는 기타 세포 유형에서 통상적인 과정을 사용하여 발현될 수 있다. 세포 부재 시험관내 합성 및/또는 효소 매개된 합성 기구가 또한 사용될 수 있다.

[0091] 본 발명은 또한 예를 들면, 전기천공과 같은 통상적인 수단에 의해 숙주 세포를 발현 조절 서열(예를 들면, 전사 조절 서열)의 통제하에 본 발명의 뉴클레오타이드를 함유하는 하나 이상의 벡터로 형질감염시키거나 형질전환시킴을 포함하는, 재조합 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 제조하기 위한 방법을 제공한다. 이어서, 형질감염되거나 형질전환된 숙주 세포를 상기 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 발현을 허용하는 조건하에서 배양한다. 상기 발현된 펩타이드 또는 폴리펩타이드를, 액체 크로마토그래피(예를 들면, 정상 또는 역상), HPLC, FPLC 등, 친화성 크로마토그래피(예를 들면, 무기 리간드 또는 모노클로날 항체와 함께), 크기 배척 크로마토그래피, 고정화된 금속 킬레이트 크로마토그래피, 겔 전기영동 등을 포함하는 당업자에게 공지된 적당한 수단으로 세포로부터 (또는 배양 배지로부터) 회수하고 분리하고 임의로 정제한다. 당업자는 본 발명의 범위로부터 벗어나는 것 없이 가장 적당한 분리 및 정제 기술을 선택할 수 있다. 당업자는 예를 들면, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(예를 들면, SDS-PAGE), 모세관 전기영동, 컬럼 크로마토그래피(예를 들면, 고수행능 액체 크로마토그래피(HPLC)), 아미노-말단 아미노산 분석 및 정량적 아미노산 분석을 포함하는 표준 방법을 사용함에 의해 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 순도를 결정할 수 있다.

[0092] 방법

[0093] 다른 양상에서, 본 발명은 샘플에서 보렐리아 항원의 에피토프에 대한 항체를 검출하는 방법을 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 방법은 샘플과 본 발명의 펩타이드를 접촉시키고 상기 펩타이드를 포함하는 항체-펩타이드

복합체의 형성을 검출함을 포함하고, 여기서, 상기 복합체의 형성은 상기 샘플 중에 보렐리아 항원의 에피토프에 대한 항체의 존재를 지적한다. 소정 실시형태에서, 상기 보렐리아 항원은 감염성 보렐리아 중 유래이다. 소정 실시형태에서, 상기 보렐리아 항원은 병원성 보렐리아 중, 예를 들면, 보렐리아 부르그도르페리 센수 스트릭토(*Borrelia burgdorferi sensu stricto*), 보렐리아 아프젤리(*Borrelia afzelli*), 또는 보렐리아 가리니(*Borrelia garinii*) 유래이다. 비. 루시타니아에(*B. lusitaniae*) 및 비. 발라이시아나에(*B. valaisianae*)와 같은 라임 질환에 연루된 다른 보렐리아 종이 또한 본 발명의 방법을 사용하여 검출될 수 있고, 단, 이들은 본 발명의 펩타이드와 특이적으로 반응할 수 있는 항체를 유도한다. 따라서, 본원에 사용된 바와 같은 용어 "병원성 보렐리아"는 라임 질환을 유발하는 임의의 상기 보렐리아 종을 언급한다.

[0094] 소정 실시형태에서, 상기 방법은 본 발명의 2개, 3개 또는 4개 이상(예를 들면, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400 또는 500개 이상)의 상이한 펩타이드들의 혼합물과 샘플을 접촉시킴을 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 방법은 상기 샘플을 본 발명의 하나 이상의 펩타이드 및 하나 이상의 다른 펩타이드(예를 들면, 보렐리아 펩타이드 또는 이의 항원성 단편 또는 에피토프, 예를 들면, OspA, OspB, DbpA, 플라젤라-연합 단백질 FlaA(p37) 및 FlaB(p41), OspC(25 kd), BBK32, BmpA(p39), p21, p39, p66, p83, 또는 VlsE 단백질)의 혼합물과 접촉시킴을 포함한다.

[0095] 소정 실시형태에서, 펩타이드 또는 상기 혼합물 중 각각의 펩타이드는 단리된(예를 들면, 합성 및/또는 정제된) 펩타이드이다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 펩타이드들의 혼합물은 고정 지지체 상에 부착시키거나 고정화시킨다. 소정 실시형태에서, 상기 고정 지지체는 비드(예를 들면, 콜로이드성 입자, 나노입자, 라텍스 비드 등), 측면 유동 면역검정 장치(예를 들면, 다공성 막) 내의 유동 경로, 분석학적 로터 내의 유동 경로, 블롯(웨스턴 블롯, 도트 블롯, 또는 슬롯 블롯), 튜브 또는 웰(예를 들면, ELISA 검정용으로 적합한 플레이트 내) 또는 센서(예를 들면, 전기화학적, 광학적, 또는 광전기 센서)이다.

[0096] 소정 실시형태에서, 상기 검출 단계는 ELISA 검정을 수행함을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는 측면 유동 면역검정을 수행함을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는 응집 검정을 수행함을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는 분석학적 로터 내에서 상기 샘플을 회전시킴을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 상기 검출 단계는 상기 샘플을 전기화학적, 광학적 또는 광전기 센서로 분석함을 포함한다.

[0097] 본 발명의 펩타이드를 포함하는 항체-펩타이드 복합체의 형성을 검출하기 위한 다수의 상이한 통상적인 분석법이 있다. 예를 들면, 상기 검출 단계는 ELISA 검정을 수행하거나, 측면 유동 면역검정을 수행하거나, 응집 검정을 수행하거나, 웨스턴 블롯, 슬롯 블롯, 또는 도트 블롯을 수행하거나, 분석학적 로터에서 상기 샘플을 분석하거나 상기 샘플을 전기화학적, 광학적 또는 광전기 센서로 분석함을 포함할 수 있다. 이들 상이한 분석은 상기 되고/되거나 당업자에게 널리 공지되어 있다.

[0098] 하나의 실시형태에서, 상기 방법은 생물학적 유체 또는 조직에서 감염된 피검체의 면역계에 의해 생성되고 본 발명의 펩타이드 또는 본 발명의 펩타이드의 조합 및 임의로 하나 이상의 적합한 추가의 항원성 폴리펩타이드 또는 펩타이드에 특이적으로 결합할 수 있는 보렐리아 항원(예를 들면, 병원성 보렐리아, 예를 들면, 비. 부르그도르페리)에 대한 천연 항체의 존재를 검출함을 포함한다.

[0099] 적합한 면역검정 방법은 전형적으로 예를 들면, 환자로부터 항체를 함유할 것으로 예상되는 체액 또는 조직 샘플을 수확하거나 수득하는 단계; 특이적 펩타이드-항체 복합체의 형성(예를 들면, 펩타이드의 항체로의 특이적 결합을 위해)을 위해 효과적인 조건하에서 분석될 샘플을 본 발명의 펩타이드와 접촉(예를 들면, 항온처리하거나 반응시키는)시키는 단계; 및 항체-펩타이드 반응의 존재에 대해 접촉된(반응된) 샘플을 분석하는 단계(예를 들면, 항체-펩타이드 복합체의 양을 결정하는 단계)를 포함한다. 상승된 양의 항체-펩타이드 복합체의 존재는 상기 피검체가 감염성 보렐리아 종에 노출되어 감염되었음을 지적한다. 예를 들면, 보렐리아 항원에 대한 항체에 특이적으로 결합하는(예를 들면, 항체에 특이적이거나 우선적으로 결합하는), 변형된 형태를 포함하는 펩타이드는 항체의 검출을 허용하기에 충분한 시간 및 양으로 항체와 상호작용하거나 이와는 물리적 연합을 형성하거나 진행한다. "특이적으로" 또는 "우선적으로"란 펩타이드가 샘플 중 다른 항체에 대해서 보다 상기 항체에 대해 보다 높은 친화성(예를 들면, 보다 높은 선택도)을 가짐을 의미한다. 예를 들면, 상기 펩타이드는 샘플 중에 다른 항체에 대한 것 보다 적어도 약 1.5배, 2배, 2.5배 또는 3배 이상으로 항체에 대한 친화성을 가질 수 있다. 상기 친화성 또는 선택도는 다양한 통상적인 과정에 의해 결정할 수 있고 이는 예를 들면, 경쟁 결합 연구를 포함한다. ELISA 검정에서, 양성 반응은 건강한 대조군 그룹의 평균값 보다 높은 2 또는 3의 표준 이탈로서 정의된다. 몇몇 실시형태에서, 제2단계 분석은 라임 질환의 명료한 혈청 진단을 제공하기 위해 요구된다.

[0100] "항체를 함유하는 샘플" 또는 샘플 내 항체를 검출하는"과 같은 문장은 어떠한 항체가 함유되거나 검출되지 않

는 경우 상기 샘플 또는 측정(예를 들면, 검출 시도)을 배제함을 의미하지 않는다. 일반적인 감각에서 본 발명은 감염성 보렐리아의 감염에 응답하여 생성되는 항체가 이것이 검출되는지에 상관없이 샘플 중에 존재하는지를 결정하기 위한 분석을 포함한다.

[0101] 펩타이드와 항체가 특이적으로 반응하도록 하는 상기 펩타이드 및 항체에 대한 조건은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 예를 들면, 문헌[Current Protocols in Immunology (Coligan et al, editors, John Wiley & Sons, Inc)]을 참조한다.

[0102] 상기 방법은 피검체 유래의 항체를 함유할 것으로 보이는 체액 또는 조직의 샘플을 수용하거나 수득함을 포함한다. 상기 항체는 예를 들면, IgG, IgE, IgD, IgM, 또는 IgA형일 수 있다. 일반적으로, IgM 및/또는 IgA 항체는 예를 들면, 감염의 초기 단계에서 검출을 위해 검출된다. 보렐리아 감염의 경우에도, IgM 항체가 오랫동안 지속할 수 있다. IgG 항체는 상기 논의된 추가의 펩타이드(예를 들면, 플라젤럼 단백질의 검출을 위해)의 일부가 상기 방법에 사용되는 경우 검출될 수 있다. 상기 샘플은 바람직하게 수득하기가 용이하고 정맥 혈액 샘플로부터 유래되거나 심지어 손가락을 뺀 것으로 찔러 유래된 혈청 또는 혈장일 수 있다. 다른 신체 부분 유래의 조직 또는 기타 체액, 예를 들면, 뇌 척수액(CSF), 타액, 위 분비액, 점액, 뇨 등이 항체를 함유하는 것으로 공지되어 있고 샘플 공급원으로서 사용될 수 있다.

[0103] 펩타이드 항원 및 샘플 항체가 적합한 배지에서 반응하도록 허용되는 한, 분석을 수행하여 항체-펩타이드 반응의 존재 또는 부재를 결정한다. 당업자에게 자명한 많은 유형의 적합한 분석들 중에는 면역침전 및 응집 검정이 있다.

[0104] 본 발명의 소정 실시형태에서, 상기 분석은 샘플 중에 항체를, 예를 들면, 직간접적으로 본 발명의 펩타이드에 결합시킴을 통해 고정화시키는 단계; 본 발명의 펩타이드를 부가하는 단계; 및 예를 들면, 펩타이드를 표지시키거나 표지된 물질, 예를 들면, 표지된 결합 파트너(예를 들면, 스트렙타비딘-콜로이드성 금 복합체) 또는 펩타이드를 특이적으로 인식하는 표지된 항체를 부가함에 의해 펩타이드에 결합된 항체의 정도를 검출하는 단계를 포함한다. 예를 들면, 도 1을 참조한다. 다른 실시형태에서, 상기 분석은 본 발명의 펩타이드를 고정화시키는 단계; 항체 함유 샘플을 부가하는 단계; 및 예를 들면, 표지(예를 들면, 콜로이드성 금 복합체, 형광성 표지, 효소(예를 들면, 서양 고추냉이 퍼옥시다제 또는 알칼리성 포스파타제))에 직간접적으로 접합된 본 발명의 다른 펩타이드를 부가하거나 표지된 물질, 예를 들면, 결합 파트너 또는 샘플 항체(예를 들면, 항-사람 IgG 항체, 항-사람 IgM 항체, 항-개 IgG 항체, 항-개 IgM 항체, 단백질 A, 단백질 G, 단백질 L 등)를 부가하거나 이의 조합으로 펩타이드에 결합된 항체의 양을 검출하는 단계를 포함한다. 도 3을 참조한다. 다른 실시형태에서, 상기 분석은 본 발명의 펩타이드를 고정화시키는 단계; 항체 함유 샘플을 부가하는 단계; 및 예를 들면, 상기 샘플 항체(예를 들면, 항-사람 IgG 항체, 항-사람 IgM 항체, 항-개 IgG 항체, 항-개 IgM 항체, 단백질 A, 단백질 G, 단백질 L 등)을 특이적으로 인식하는 제1 결합 파트너를 부가하고 추가로 제2 결합 파트너(예를 들면, 단백질 A, 단백질 G, 단백질 L 등)를 추가로 부가함에 의해 펩타이드에 결합된 항체의 양을 검출하는 단계를 포함하고, 여기서, 제2 결합 파트너는 표지되고 상기 제1 결합 파트너를 인식한다. 또 다른 실시형태에서, 상기 분석은 상기 펩타이드, 및 항체 함유 샘플을 고정화된 임의의 반응물 없이 반응시키는 단계 및 이어서, 예를 들면, 펩타이드를 표지시키거나 표지된 물질, 예를 들면, 표지된 결합 파트너(예를 들면, 스트렙타비딘-콜로이드성 금 복합체) 또는 상기 펩타이드를 특이적으로 인식하는 표지된 항체를 부가함에 의해 항체와 펩타이드의 복합체의 양을 검출하는 단계를 포함한다.

[0105] 본 발명의 펩타이드의 고정화는 공유 또는 비공유일 수 있고 비공유 고정화는 비특이적(예를 들면, 미세역가 웰에서 폴리스티렌 표면으로의 비특이적 결합)일 수 있다. 고정 또는 반고형 담체, 지지체 또는 표면으로의 특이적 또는 반-특이적 결합은 이와 연합되어 고정 또는 반고형 담체, 지지체 또는 표면으로 이의 공유 또는 비공유 결합을 가능하게 하는 잔기를 갖는 펩타이드에 의해 성취될 수 있다. 예를 들면, 상기 잔기는 담체, 지지체 또는 표면에 부착된 성분에 대해 친화성을 가질 수 있다. 이 경우에, 상기 잔기는 예를 들면, 6-아미노헥산산과 같은, 펩타이드의 아미노산 그룹에 결합된 비오틴 또는 비오틴릴 그룹 또는 이의 유사체일 수 있고 이어서, 상기 성분은 아비딘, 스트렙타아비딘, 뉴트라비딘, 또는 이의 유사체일 수 있다. 다른 대안은 아미노산 서열 His-His-His-His-His(서열번호 152)을 갖고 담체가 Ni^{++} 또는 Co^{++} 로 하전된 니트릴로트리아세트산(NTA) 유도체를 포함하는 경우이다. 소정 실시형태에서, 상기 잔기는 융합 파트너, 예를 들면, BSA이다. 예시적인 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 펩타이드의 N-말단 및/또는 C-말단 잔기를 통해 BSA에 접합될 수 있다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 또는 30개 이상의 펩타이드는 예를 들면, BSA에 접합된 것으로 치환될 수 있다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 치환 수준은 분석의 민감성에 영향을 미칠 수

있다. 보다 적은 펩타이드 분자를 함유하는 고농도의 BSA-펩타이드에 의해 제공된 민감성을 성취하기 위해 고도로 치환된 BSA의 보다 낮은 농도가 요구된다. 소정 다른 실시형태에서, 상기 융합 파트너는 MAPS일 수 있다. 소정 예시적인 실시형태에서, MAPS는 4 또는 8개 이상의 비대칭 브랜치로 이루어질 수 있다.

[0106] 적합한 담체, 지지체 및 표면은 비드(예를 들면, 자기 비드, 콜로이드성 입자 또는 나노입자, 예를 들면, 콜로이드성 금, 또는 실리카, 라텍스, 폴리스티렌 또는 폴리카보네이트 또는 PDVF를 포함하는 나노입자), 스티렌-디비닐 벤젠과 같은 공중합체의 라텍스, 하이드록실화된 스티렌-디비닐 벤젠, 폴리스티렌, 카복실화된 폴리스티렌, 카본 블랙의 비드, 비-활성화되거나 폴리스티렌 또는 폴리비닐 클로라이드 활성화된 유리, 에폭시-활성화된 다공성 자기성 유리, 겔라틴 또는 폴리스카라이드 입자 또는 다른 단백질 입자, 적혈구 세포, 모노클로날 또는 폴리클로날 항체 또는 상기 항체의 Fab 단편을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0107] 특이적 항체의 검출을 위해 항원을 사용하는 면역검정을 위한 프로토콜은 당업계에 널리 공지되어 있다. 예를 들면, 통상적인 샌드위치 분석이 사용될 수 있거나 통상적인 경쟁 분석 포맷이 사용될 수 있다. 임의의 적합한 유형의 분석에 대한 논의를 위해, 문헌[Current Protocols in Immunology (supra)]을 참조한다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드는 항체 함유 샘플의 첨가 전후 공유 또는 비공유 결합에 의해 고정 또는 반고형 표면 또는 담체상에 고정화시킨다.

[0108] 특이적 결합 분석, 특히 면역검정을 수행하기 위한 장치는 공지되어 있고 본 발명의 방법에 사용하기 위해 용이하게 채택될 수 있다. 일반적으로 고정상 분석은 침전, 원심단리, 여과, 크로마토그래피 또는 자기화와 같은 단리 단계를 필요로 하는 이중성 분석 방법 보다 수행하기가 용이한데 그 이유는 시약의 단리가 보다 신속하고 단순하기 때문이다. 고정상 분석 장치는 미세역가 플레이트, 통류 분석 장치(예를 들면, 측면 유동 면역검정 장치), 덤스트 및 면역모세관 또는 면역크로마토그래피 면역검정 장치를 포함한다.

[0109] 본 발명의 실시형태에서, 상기 고정 또는 반고형 표면 또는 담체는 미세역가 웰 내 바닥 또는 벽, 여과기 표면 또는 막(예를 들면, 니트로셀룰로스 막 또는 PVDF(폴리비닐리덴 플루오라이드) 막, 예를 들면, Immobilon™ 막)), 중공 섬유, 비드화된 크로마토그래피 매질(예를 들면, 아가로스 또는 폴리아크릴아미드 겔), 자기화된 비드, 섬유성 셀룰로스 매트릭스, HPLC 매트릭스, FPLC 매트릭스, 액체상에 용해되거나 분산되는 경우 여기에 결합된 펩타이드와 함께 분자가 여과기에 의해 보유될 수 있도록 하는 크기의 분자를 갖는 물질, 마이셀을 형성할 수 있거나 액체상이 마이셀을 비말시키는 것 없이 변화되거나 교환되도록 하는 마이셀의 형성에 관여할 수 있는 물질, 수용성 중합체 또는 임의의 다른 적합한 담체, 지지체 또는 표면이다.

[0110] 본 발명의 몇몇 실시형태에서, 상기 펩타이드는 검출을 가능하게 하는 적합한 표지와 함께 제공된다. 단독으로 또는 다른 조성물 또는 화합물과 협력하여 검출가능한 신호를 제공할 수 있는 통상적인 표지가 사용될 수 있다. 적합한 검출 방법은 예를 들면, 공초점 현미경을 포함하는 면역형광 현미경에 의해 또는 유동 세포측정(FACS)에 의해 형광 표지로 직간접적으로 태그된 제제의 검출 또는 자가방사선촬영술, 전자 현미경, 면역염색, 준세포 분획화 등에 의한 방사능적으로 표지된 제제의 검출을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 방사능활성 요소(예를 들면, 방사능 활성 아미노산)는 직접 펩타이드 쇄에 혼입되고; 다른 실시형태에서, 형광 표지가 비오틴/아비딘 상호작용을 통해 펩타이드와 결합되거나 플루오레세인 결합된 항체 등과 결합된다. 하나의 실시형태에서, 상기 항체에 대한 검출가능한 특이적 결합 파트너는 혼합물에 첨가한다. 예를 들면, 상기 결합 파트너는 제1 항체와 결합하는 검출가능한 2차 항체 또는 다른 결합 제제(예를 들면, 단백질 A, 단백질 G, 단백질 L)일 수 있다. 상기 2차 항체 또는 다른 결합제는 예를 들면, 아비딘/비오틴 시스템과 같은 방사능 활성, 효소적, 형광성, 발광성 또는 다른 검출가능한 표지와 표지시킬 수 있다. 다른 실시형태에서, 상기 결합 파트너는 직간접적으로(예를 들면, 비오틴/아비딘 상호작용을 사용하여) 서양 고추냉이 퍼옥시다제 또는 알칼리성 포스파타제 또는 기타 신호 전달 모이어티와 같은 효소에 결합될 수 있는 본 발명의 펩타이드이다. 효소의 경우에, 상기 검출가능한 신호는 발색성, 형광성 또는 화학발광성 기질과 같이, 검출가능한 신호를 생성하는 효소의 기질을 부가함에 의해 생성된다.

[0111] 본원에 사용된 바와 같이, 결합된 펩타이드를 검출하기 위한 "검출 시스템"은 펩타이드에 특이적인 항체와 같은 검출가능한 결합 파트너를 포함할 수 있다. 하나의 실시형태에서, 상기 결합 파트너는 직접 표지된다. 다른 실시형태에서, 상기 결합 파트너는 적합한 기질의 존재하에 검출가능한 신호를 생성할 수 있는 효소와 같은 신호 생성 시약에 부착된다. 상기 펩타이드를 고정화시키기 위한 표면은 임의로 검출 시스템을 수반할 수 있다.

[0112] 본 발명의 실시형태에서, 상기 검출 과정은 색상 변화에 대해 항체-펩타이드 복합체를 가시적으로 조사하거나 물리화학적 변화에 대한 항체-펩타이드 복합체를 조사함을 포함한다. 물리화학적 변화는 산화 반응 또는 기타 화학적 반응과 함께 일어날 수 있다. 이들은 분광측정기 등을 사용하여 눈에 의해 검출될 수 있다.

- [0113] 특히 유용한 분석 포맷은 측면 유동 면역검정 포맷이다. 사람 또는 동물(예를 들면, 개, 마우스, 사슴 등)에 대한 항체 면역글로불린, 또는 staph A 또는 G 단백질 항체는 유리 섬유 패드(샘플 적용 패드 또는 접합체 패드) 상에 건조되거나 위치되는 신호 생성기 또는 리포터(예를 들면, 콜로이드성 금)로 표시시킬 수 있다. 상기 진단학적 펩타이드는 니트로셀룰로스 또는 PVDF(폴리비닐리덴 플루오라이드) 막(예를 들면, Immobilon™ 막)과 같은 막상에 고정화시킨다. 샘플 용액(혈액, 혈청 등)이 상기 샘플 적용 패드에 적용(또는 상기 접합체 패드에 통과시키는)되는 경우 이것은 상기 표시된 리포터를 용해시키고 이는 이어서, 샘플 중 모든 항체에 결합한다. 이어서, 상기 수득한 복합체는 모세관 작용에 의해 다음 막(진단학적 펩타이드를 함유하는 PVDF 또는 니트로셀룰로스)으로 수송된다. 진단학적 펩타이드에 대한 항체가 존재하는 경우, 이들은 막 상에 스트립된 진단학적 펩타이드에 결합하므로써 신호(예를 들면, 보이거나 가시화될 수 있는 밴드)를 생성한다. 상기 표시된 항체 또는 2차 표시된 항체에 특이적인 추가의 항체를 사용하여 대조군 신호를 생성시킬 수 있다.
- [0114] 측면 유동 면역검정을 위한 또 대안적 포맷은 리간드(예를 들면, 비오틴)에 접합되고 표시된 리간드 수용체(예를 들면, 스트렙타아비딘-콜로이드성 금)와 복합체를 형성하는 본 발명의 펩타이드 또는 조성물을 포함한다. 상기 표시된 펩타이드 복합체는 샘플 적용 패드 또는 접합체 패드 상에 위치할 수 있다. 항-사람 IgG/IgM 또는 항-동물(예를 들면, 개, 마우스, 사슴) IgG/IgM 항체 또는 본 발명의 다른 펩타이드는 시험 부위(예를 들면, 시험 라인)에서 PVDF의 니트로셀룰로스와 같은 막 상에 고정화시킨다. 샘플이 상기 샘플 적용 패드에 추가되는 경우, 샘플내 항체는 본 발명의 펩타이드에 결합하는 항체가 간접적으로 표시되도록 표시된 펩타이드 복합체와 반응한다. 이어서, 상기 샘플 내 항체는 모세관 작용에 의해 다음 막(진단학적 펩타이드를 포함하는 PVDF 또는 니트로셀룰로스)으로 이동되고 고정화된 항-사람 IgG/IgM 또는 항-동물 IgG/IgM 항체(또는 단백질 A, 단백질 G, 단백질 L 또는 이들의 조합) 또는 본 발명의 고정화된 펩타이드에 결합한다. 임의의 샘플 항체가 본 발명의 표시된 펩타이드에 결합되는 경우, 상기 펩타이드와 연합된 표시는 시험 부위에 보이거나 가시화될 수 있다. 상기 유형의 측면 유동 장치의 하나의 실시형태는 도 2에 나타난다. 본 발명의 펩타이드가 시험 부위에서 고정화된 포획제로서 및 샘플내 항체와 반응하는 가용성 표시된 복합체로서 둘 다 사용되는 상기 유형의 측면 유동 장치의 다른 실시형태는 도 3에 나타난다. 상기 분석에 적합한 대조군은 예를 들면, 샘플 적용 패드 또는 접합체 패드에 위치하는 닭 IgY-콜로이드성 금 접합체 및 상기 시험 부위에 인접하게 위치한 대조군 부위에 고정화된 항-닭 IgY 항체를 포함할 수 있다.
- [0115] 상기된 측면 유동 면역검정 포맷을 사용하는 실시형태에서, 상기 측면 유동 장치는 2개의 포트, 접합체 패드(표시된 분석물 결합 파트너를 함유하는)와 시험 부위 또는 라인(고정화된 분석물 결합 파트너) 사이에 위치하는 샘플 포트 및 접합체 패드의 업스트림(예를 들면, 시험 부위로부터 떨어진 장치의 말단을 향하여)에 위치한 체이스 포트를 포함할 수 있다. 2개의 포트를 포함하는 상기 장치에서, 샘플은 샘플 포트를 통해 시험 부위의 업스트림에 침적되고 접합체 패드를 통한 유체 유동은 체이스 포트를 통해 용액(예를 들면, 희석액, 완충액 등)을 침적시킴에 의해 개시된다. 상기 "체이스" 용액은 접합체 패드에서 표시된 시약을 용해시키고 상기 시험 부위에서 동일하고 고정화된 시약과 상호작용하도록 통류한다.
- [0116] 혈액 생성물 또는 기타 생리학적 또는 생물학적 유체의 스크리닝을 위한 다른 분석은 효소 결합된 면역흡착 분석, 즉 ELISA이다. 전형적으로, ELISA에서, 본 발명의 단리된 펩타이드 또는 조성물은 직접적으로 또는 포획 매트릭스(예를 들면, 항체)를 통해 미세역가 웰의 표면에 흡착된다. 이어서, 상기 표면상의 잔여 비특이적 단백질-결합 부위는 소 혈청 알부민(BSA), 열 불활성화된 정상 염소 혈청(NGS) 또는 BLOTTO(보존제, 염 및 소포제를 또한 함유하는 비지방 건조 밀크의 완충 용액)와 같은 적당한 제제로 차단된다. 이어서, 상기 웰은 특이적 항-보렐리아(예를 들면, 비. 부르그도르페리) 항체를 함유하는 것으로 의심되는 생물학적 샘플로 항온처리한다. 상기 샘플은 순수하게 적용되거나 보다 흔하게는 대개 소량(0.1 내지 5.0중량%)의 단백질, 예를 들면, BSA, NGS 또는 BLOTTO를 함유하는 완충액 용액 중에 희석될 수 있다. 특이적 결합이 일어나도록 하기에 허용되는 충분한 시간 동안 항온처리한 후, 상기 웰을 세척하여 비결합된 단백질을 제거하고 이어서, 최적 농도의 항-면역글로불린 항체(예를 들면, 사람 피검체에 대한, 개, 마우스, 소 등과 같은 다른 동물 유래의 항-사람 면역글로불린(α HuIg)) 또는 표준 과정에 의해 효소 또는 다른 표지에 접합되고 차단 완충액 중에 용해된 본 발명의 다른 펩타이드로 항온처리한다. 상기 표시는 서양 고추냉이 퍼옥시다제(HRP), 베타-갈락토시다제, 알칼리성 포스파타제, 글루코스 옥시다제 등을 포함하는 다양한 효소로부터 선택될 수 있다. 특이적 결합이 다시 일어나도록 충분한 시간이 허용되고 이어서, 상기 웰을 다시 세척하여 비결합된 접합체를 제거하고 효소에 대해 적합한 기질을 첨가한다. 발색되도록 하고 웰의 내용물의 밀도를 가시적으로 또는 장치로(적당한 파장 길이에서 측정된) 측정한다. 컷오프 OD 값은 라인 질환이 만연되지 않는 지역의 개체들로부터 수거된 50개 이상의 혈청 샘플의 평균 OD+3 표준 이탈(SD)로서 정의되거나 다른 통상적인 정의에 의해 정의될 수 있다. 매우 특이적 분석의 경우에,

OD+2 SD는 컷오프 값으로서 사용될 수 있다.

- [0117] ELISA의 한 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드 또는 펩타이드들의 혼합물은 알칼린 코팅 완충액 중에 최적의 농도로, 스트렙타비딘 또는 아비딘 또는 뉴트라비딘과 같은 균등 비오틴 결합 화합물로 코팅된 96웰 ELISA 플레이트 또는 균등 고품성과 같은 표면에 고정화시키고 4℃에서 밤새 항온처리한다. 표준 세척 완충액을 사용한 적절한 수의 세척 후, 통상적인 차단 완충액 중에 용해된, 본 발명의 비오틴화된 형태의 펩타이드 또는 조성물의 최적의 농도를 각각의 웰에 적용한다. 이어서, 샘플을 첨가하고 상기 분석을 상기와 같이 진행한다. ELISA 검정을 수행하기 위한 조건은 당업계에 널리 공지되어 있다.
- [0118] ELISA의 다른 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드 또는 펩타이드들의 혼합물은 용합 파트너, 예를 들면, BSA 또는 MAPS를 통해 96웰 ELISA 플레이트 또는 균등한 고품성과 같은 표면에 고정화시킨다. 이어서, 샘플을 첨가하고 분석을 상기와 같이 진행한다.
- [0119] 다른 실시형태에서, 상기 방법은 응집 검정을 포함한다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 콜로이드성 입자(예를 들면, 콜로이드성 금 등) 또는 라텍스 비드를 본 발명의 펩타이드 또는 조성물에 접합시킨다. 후속적으로, 상기 생물학적 유체는 비드/펩타이드 접합체와 항온처리함으로써 반응 혼합물을 형성한다. 이어서, 상기 반응 혼합물을 분석하여 상기 항체의 존재를 측정한다. 소정 실시형태에서, 상기 응집 검정은 (1) 경쟁 분석의 경우에 본 발명의 조성물의 펩타이드에 특이적인 항체 또는 (2) 샌드위치 분석의 경우에 샘플 항체(예를 들면, 항-사람 IgG 또는 IgM 항체, 항-개 IgG 또는 IgM 항체 등)를 검출할 수 있는 항체와 접합된, 콜로이드성 입자(예를 들면, 콜로이드성 금 등)와 같은 제2 집단의 입자 또는 라텍스 비드의 용도를 포함한다. 적절한 응집 방법은 응집 정도를 평가하는 수단으로서 원심단리를 포함할 수 있다.
- [0120] 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드 또는 조성물은 니트로셀룰로스 종이상으로 전기- 또는 도트-블롯팅된다. 후속적으로, 생물학적 유체(예를 들면, 혈청 또는 혈장)와 같은 샘플은 블롯팅된 항원과 항온처리하고 상기 생물학적 유체 중 항체는 상기 항원(들)에 결합하도록 한다. 이어서, 상기 결합된 항체는 예를 들면, 표준 면역효소학적 방법에 의해 또는 제2 항체 또는 다른 항체 결합체, 예를 들면, 단백질 A, 단백질 G, 단백질 L 또는 이들의 조합으로의 콜로이드성 나노입자 커플링제를 사용하는 가시화에 의해 검출할 수 있다.
- [0121] 당업자는 임의의 다수의 통상적인 단백질 분석 포맷, 특히, 면역검정 포맷이 피검체내 보렐리아 항체, 및 병원성 보렐리아(예를 들면, 비. 부르그도르페리)에 의한 감염의 검출을 위한 본 발명의 단리된 펩타이드를 사용하도록 고안될 수 있는 것으로 이해해야만 한다. 따라서, 본 발명은 소정 분석 포맷의 선별에 의해 제한되지 않고 당업자에게 공지된 분석 포맷을 포괄하는 것으로 사료된다.
- [0122] 소정 실시형태에서, 상기 방법에 사용된 샘플은 혈액, 혈청, 뇌 척수액, 뇨 또는 타액과 같은 체액이다. 다른 실시형태에서, 상기 샘플은 조직(조직 파쇄물) 또는 세포 용해물이다. 소정 실시형태에서, 상기 샘플은 야생 동물(예를 들면, 사슴 또는 설치류, 예를 들면, 마우스, 침팬지, 다람쥐 등) 유래이다. 다른 실시형태에서, 상기 샘플은 실험실 동물(예를 들면, 마우스, 래트, 기니아피그, 토끼, 원숭이, 영장류 등) 유래이다. 다른 실시형태에서, 상기 샘플은 애완동물 또는 야생화된 동물(예를 들면, 개, 고양이, 말) 유래이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 샘플은 사람 유래이다.
- [0123] 이전에 많은 논의는 병원성 보렐리아에 대한 항체의 검출에 관한 것이다. 그러나, 상기 논의가 또한 시험관내 또는 생체내 프라이밍된 T-세포의 검출에 적용되는 것으로 이해되어야만 한다.
- [0124] 세포-매개된 면역 반응(예를 들면, T-헬퍼 반응)은 IgG가 생성되기 때문에 발생하는 것으로 예상된다. 따라서, 프라이밍된 T 세포와 본 발명의 펩타이드의 면역학적 반응성을 결정할 수 있는 것으로 예상된다. 시험관내 방법은 피검체로부터 단리된 T-세포를 본 발명의 펩타이드와 항온처리하고 예를 들면, 후속적 T-세포 증식을 측정하거나 T-세포로부터 사이토킨, 예를 들면, IFN- γ 의 방출을 측정함에 의해 상기 면역원성을 측정함에 의해 수행될 수 있다. 이들 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다.
- [0125] 본 발명의 방법이 생체내에서 수행되는 경우, 임의의 다양한 통상적인 분석이 사용될 수 있다. 예를 들면, 피검체에서 본 발명의 펩타이드를 피내 주사함에 의해 피부 시험 형태로 분석을 수행할 수 있다. 주사 위치에서 양성 피부 반응은 상기 피검체가 라임 질환을 유발할 수 있는 병원성 보렐리아에 노출되고 감염되었음을 지적하고 주사 위치에서 음성 피부 반응은 피검체가 노출/감염되지 않았음을 지적한다. 이러한 시험 또는 기타 생체내 시험은 피검체 중 T-세포 반응의 검출에 의존한다.
- [0126] 다른 양상에서, 본 발명은 피검체에서 라임 질환을 진단하는 방법을 제공한다. 상기 피검체는 라임 질환의 원인 체제에 대하여 항체를 갖는 것으로 의심되는 피검체일 수 있다. 상기 진단학적 방법은 라임 질환의 임상적 증상

을 나타내는 피검체를 진단하는데 유용하다.

- [0127] 소정 실시형태에서, 상기 방법은 피검체 유래의 샘플을 본 발명의 펩타이드와 접촉시키는 단계 및 상기 펩타이드를 포함하는 항체-펩타이드 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함하고, 여기서, 상기 복합체의 형성은 피검체가 라임 질환을 가짐을 지적한다. 소정 실시형태에서, 상기 방법은 상기 샘플과 2개, 3개 또는 4개 이상(예를 들면, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400 또는 500 개 이상)의 상이한 펩타이드를 접촉시킴을 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 방법은 상기 샘플과 본 발명의 하나 이상의 펩타이드들의 혼합물 및 하나 이상의 다른 펩타이드(예를 들면, 보렐리아 펩타이드 또는 항원성 단편 또는 이의 에피토프, 예를 들면, OspA, OspB, DbpA, 플라젤라-연합된 단백질 FlaA(p37) 및 FlaB(p41), OspC(25 kd), BBK32, BmpA(p39), p21, p39, p66, p83, 또는 VlsE 단백질)를 접촉시킴을 포함한다.
- [0128] 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드 또는 상기 혼합물 중 각각의 펩타이드는 단리된(예를 들면, 합성 및/또는 정제된) 펩타이드이다. 소정 실시형태에서, 펩타이드 또는 상이한 펩타이드들의 혼합물은 기질(예를 들면, 고정 또는 반고형 지지체)상에 부착되거나 고정화된다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 기질은 비드(예를 들면, 콜로이드성 또는 다른 유형의 입자 또는 나노입자), 측면 유동 면역검정 장치(예를 들면, 다공성 막) 중에 유동 경로, 블롯(예를 들면, 웨스턴 블롯, 도트 블롯, 또는 슬롯 블롯), 분석학적 로터 내의 유동 경로, 튜브 또는 웰(예를 들면, ELISA 검정에 적합한 플레이트 내)이다.
- [0129] 본 발명의 펩타이드를 포함하는 항체-펩타이드 복합체의 형성을 검출하기 위한 다수의 상이한 통상적인 분석법이 있다. 예를 들면, 상기 검출 단계는 ELISA 검정을 수행하거나, 측면 유동 면역검정을 수행하거나, 응집 검정을 수행하거나, 웨스턴 블롯, 슬롯 블롯, 또는 도트 블롯을 사용하여 샘플을 분석하거나, 분석학적 로터 내의 샘플을 분석하거나 전기화학적, 광학적 또는 광전기 센서로 분석함을 포함할 수 있다. 이들 상이한 분석법은 상기되어 있고/있거나 당업자에게 널리 공지되어 있다.
- [0130] 소정 실시형태에서, 상기 샘플은 혈액, 혈청, 뇌 척수액, 뇨 또는 타액과 같은 체액이다. 다른 실시형태에서, 상기 샘플은 조직(조직 파쇄물) 또는 세포 용해물이다. 소정 실시형태에서, 상기 피검체는 야생 동물(예를 들면, 사슴 또는 설치류, 예를 들면, 마우스, 침팬지, 다람쥐 등)이다. 다른 실시형태에서, 상기 피검체는 실험실 동물(예를 들면, 마우스, 래트, 기니아피그, 토끼, 원숭이, 영장류 등)이다. 다른 실시형태에서, 상기 피검체는 애완동물 또는 야생화된 동물(예를 들면, 개, 고양이, 말)이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 피검체는 사람이다.
- [0131] 키트
- [0132] 또 다른 양상에서, 본 발명은 키트를 제공한다. 소정 실시형태에서, 상기 키트는 본 발명의 펩타이드를 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 키트는 본 발명의 2개, 3개 또는 4개 이상의 상이한 펩타이드들을 포함한다. 상기 펩타이드는 서열번호 1 또는 서열번호 2의 서열을 포함할 수 있다. 소정 실시형태에서, 상기 펩타이드는 고정 지지체 상에 부착되거나 고정화된다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 고정 지지체는 비드(예를 들면, 콜로이드성 입자 또는 나노입자), 측면 유동 면역검정 장치 내의 유동 경로, 분석학적 로터 내의 유동 경로 또는 튜브 또는 웰(예를 들면, 플레이트 내)이다.
- [0133] 소정 유형의 분석을 위한 시약은 또한 본 발명의 키트에 제공될 수 있다. 따라서, 상기 키트는 한 집단의 비드(예를 들면, 응집 검정 또는 측면 유동 검정에 적합한) 또는 플레이트(예를 들면, ELISA 검정에 적합한 플레이트)를 포함할 수 있다. 다른 실시형태에서, 상기 키트는 측면 유동 면역검정 장치, 분석학적 로터, 웨스턴 블롯, 도트 블롯, 슬롯 블롯 또는 전기화학적, 광학적 또는 광전기 센서와 같은 장치를 포함한다. 한 집단의 비드, 플레이트 및 장치는 면역검정을 수행하는데 유용하다. 예를 들면, 이들은 샘플 유래의 항체 및 본 발명의 펩타이드를 포함하는 항체-펩타이드 복합체의 형성을 검출하는데 유용할 수 있다. 소정 실시형태에서, 본 발명의 펩타이드, 상이한 펩타이드들의 혼합물 또는 펩타이드 조성물은 비드, 플레이트 또는 장치 상에 부착되거나 고정화된다.
- [0134] 추가로, 상기 키트는 다양한 회색제 및 완충제, 특이적으로 결합된 항원 또는 항체의 검출을 위한 표지된 접합체 또는 다른 제제 및 기타 신호 생성 시약, 예를 들면, 효소 기질, 조인자 및 발색체를 포함할 수 있다. 키트의 다른 성분들은 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 상기 성분들은 코팅 시약, 본 발명의 펩타이드에 특이적인 폴리클로날 또는 모노클로날 포획 항체, 또는 2개 이상의 항체의 콕테일, 표준물로서 이들 항원의 정제되거나 반정제된 추출물, 모노클로날 항체 검출기 항체, 항-마우스, 항-개, 항-닭 또는 항-사람 항체를 여기에 접합된 지시제 분자, 색도측정 비교용 지시제 차트, 1회용 글로브, 탈오염 지침서, 작동기 스틱 또는 컨테이너,

샘플 제조용 컵 등과 함께 포함할 수 있다. 하나의 실시형태에서, 키트는 펩타이드-항체 복합체의 형성을 허용하는 반응 매질을 구성하기에 적당한 완충제 또는 다른 시약을 포함한다.

[0135] 상기 키트는 임상 연구자가 비. 부르그도르페리와 같은 병원성 보렐리아에 의한 감염을 진단하기 위해 간편하고 효율적인 방법을 제공한다. 따라서, 소정 실시형태에서, 상기 키트는 지침서를 추가로 포함한다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 상기 키트는 보렐리아 항원에 대한 항체를 검출하거나 라임 질환을 진단하기 위해 본 발명의 펩타이드를 사용하는 방법을 지시하는 지침서를 포함한다. 소정 실시형태에서, 상기 키트는 보렐리아 항원에 대한 항체를 검출하거나 라임 질환을 진단하기 위해 한 집단의 비드, 플레이트 또는 장치(예를 들면, 본 발명의 펩타이드 또는 상이한 펩타이드들의 혼합물을 포함하는)를 사용하는 방법을 지시하는 지침서를 포함한다.

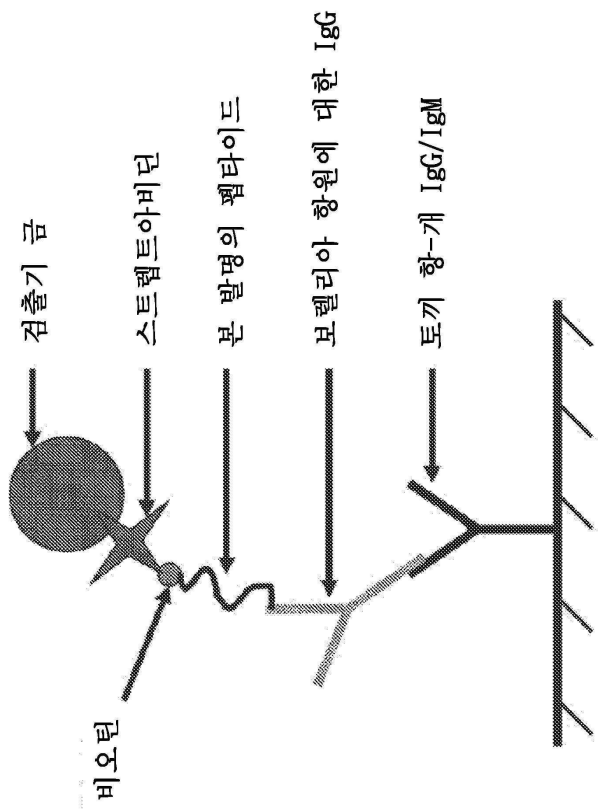
[0136] 본 발명의 상기 펩타이드, 상기 펩타이드를 포함하는 조성물 및 장치, 키트 및 방법은 다수의 이점을 제공한다. 예를 들면, 이들은 라임 질환에 대해 단순하고 저렴하며 신속하고 민감하고 정확한 검출을 가능하게 하고 매독, 만성 관절염 및 다발성 경화증과 같은 병태를 포함하는, "라임 유사" 증상, 예를 들면, 근육통, 관절통, 불안증 또는 열을 갖는 다른 병태와의 혈청학적 교차-반응성을 회피한다. 이것은 정확한 진단을 가능하게 한다. 추가로, 본 발명의 진단학적 시험(예를 들면, ELISA 검정, 측면 유동 면역검정 또는 응집 검정)이 보렐리아의 외부 표면 단백질에 기초한 백신에 응답하여 제조된 항-OspA 항체 또는 기타 항체를 함유하는 혈청 샘플에서 유용하다. 본 발명의 VlsE IR6 펩타이드는 상기 항체와 교차 반응하지 않으므로써 천연적으로 비. 부르그도르페리로 감염된 개체와 백신접종된 개체를 구분 가능하게 한다.

[0137] 본원에 인용에 의해 포함된 문헌에서의 임의의 정의가 본원에 제공된 정의와 일치하지 않는 정도로, 본원에 제공된 정의는 조정된다. 본 발명이 현재 바람직한 실시형태를 참조로 기재되었지만, 당업자에게 자명한 다양한 변화 및 변형이 본 발명의 취지로서 벗어나지 않으면서 이루어질 수 있는 것으로 이해되어야만 한다. 따라서, 본 발명은 단지 하기의 특허청구범위에 의해서만 제한된다.

[0138] 각각의 특허, 특허 출원 및 본원에 인용된 공보의 청구항, 도해 및/또는 도면을 포함하는 기재는 이의 전반적인 내용이 본원에 인용에 의해 포함된다.

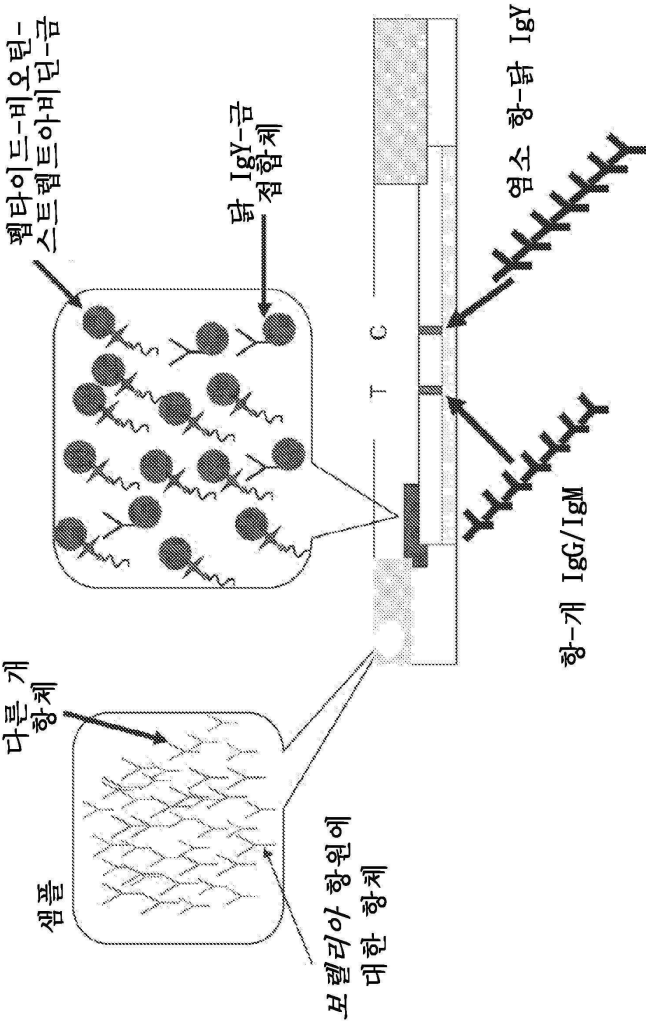
도면

도면1

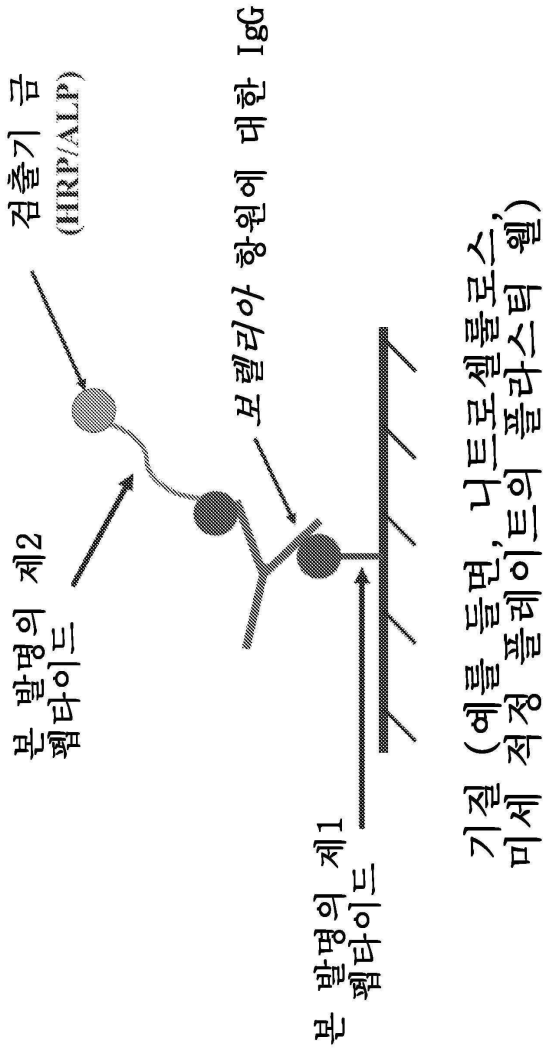


기질 (예를들면, 니트로셀룰로스)

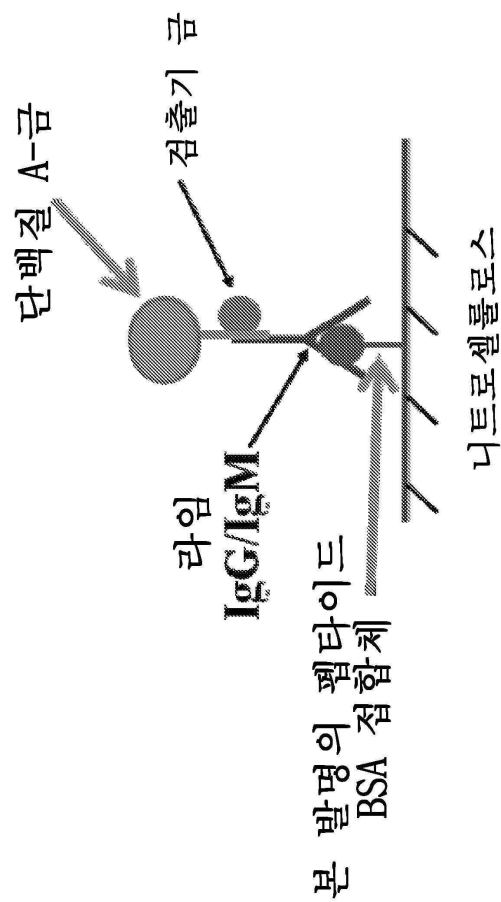
도면2



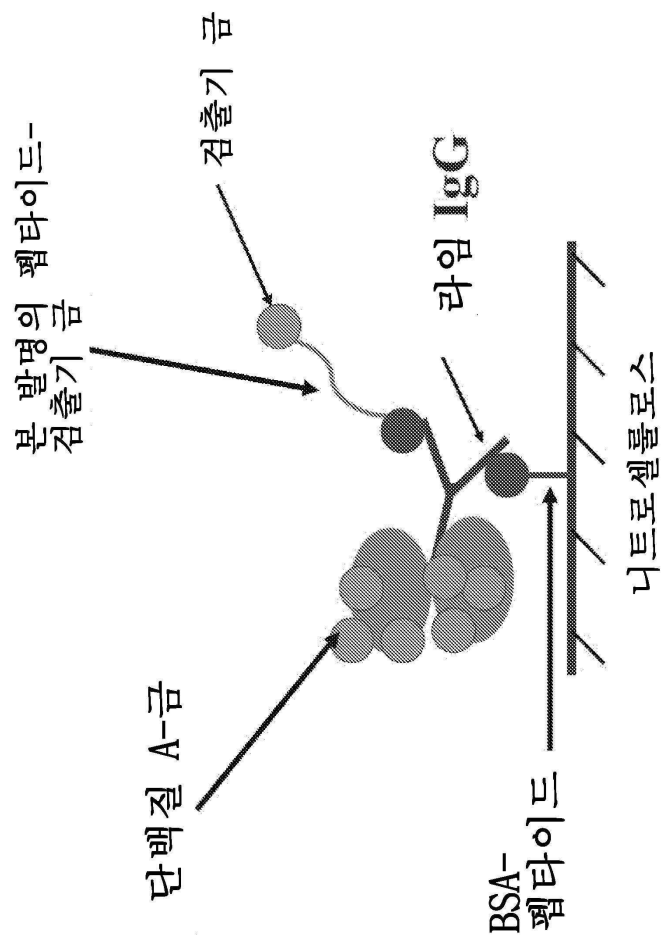
도면3



도면4



도면5



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> ABAXIS, INC.

<120> PEPTIDES AND METHODS FOR THE DETECTION OF LYME DISEASE ANTIBODIES

<130> ABAX-039/01WO 010265-2227

<150> US 61/556,061

<151> 2011-11-04

<160> 152

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa may be Val or Leu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> Xaa may be Leu or Ile

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> Xaa may be Ala or Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (21)..(21)

<223> Xaa may be Arg, Asp or Asn

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa may be Ile, Trp or Tyr

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (25)..(25)

<223> Xaa may be Lys or Arg

<400> 1

Leu Lys Lys Asp Asp Asn Ile Ala Ala Ala Xaa Val Leu Arg Gly Xaa

1 5 10 15

Xaa Lys Asp Gly Xaa Phe Ala Xaa Xaa

20 25

<210> 2

<211> 48

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be Ala or Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa may be Glu or Asp

<220><221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa may be Lys or Arg
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa may be Lys or Arg
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa may be Val or Leu
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (23)..(23)
 <223> Xaa may be Leu or Ile
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (24)..(24)
 <223> Xaa may be Ala or Val

 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (28)..(28)
 <223> Xaa may be Arg, Asp or Asn
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (31)..(31)
 <223> Xaa may be Ile, Trp or Tyr
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (32)..(32)
 <223> Xaa may be Lys or Arg
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (35)..(35)
 <223> Xaa may be Gln or Arg
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (38)..(38)
 <223> Xaa may be Val or Ala
 <400> 2

Xaa Xaa Ser Pro Xaa Xaa Pro Leu Lys Lys Asp Asp Asn Ile Ala Ala

1 5 10 15

Ala Xaa Val Leu Arg Gly Xaa Xaa Lys Asp Gly Xaa Phe Ala Xaa Xaa

20 25 30

Ala Val Xaa Glu Gly Xaa Gln Gln Glu Gly Ala Gln Gln Pro Ser Cys

35 40 45

<210> 3

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 3

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 4

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 4

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 5

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 5

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 6

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 6

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 7

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 7

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 8

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 8

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 9

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 9

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 10

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 10

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 11

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 11

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 12

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 12

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 13

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 13

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 14

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 14

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 15

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 15

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 16

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 16

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 17

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 17

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 18

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 18

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 19

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 19

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 20

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 20

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 21

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 21

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 22

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 22

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 23

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 23

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 24

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 24

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 25

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 25

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 26

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 26

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Lys

20 25

<210> 27

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 27

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 28

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 28

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 29

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 29

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 30

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 30

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 31

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 31

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 32

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 32

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 33

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 33

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 34

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 34

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 35

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 35

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 36

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 36

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 37

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 37

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 38

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 38

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 39

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 39

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 40

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 40

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 41

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 41

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 42

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 42

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 43

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 43

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 44

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 44

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 45

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 45

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 46

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 46

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Lys

 20 25

<210> 47

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 47

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Lys

 20 25

<210> 48

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 48

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Lys

 20 25

<210> 49

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 49

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Lys

 20 25

<210> 50

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 50

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Lys

20 25

<210> 51

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 51

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 52

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 52

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 53

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 53

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 54

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 54

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 55

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 55

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 56

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 56

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 57

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 57

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 58

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 58

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 59

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 59

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 60

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 60

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 61

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 61

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 62

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 62

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 63

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 63

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 64

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 64

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 65

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 65

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 66

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 66

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 67

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 67

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 68

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 68

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Lys

 20 25

<210> 69

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 69

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Lys

 20 25

<210> 70

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 70

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Lys

 20 25

<210> 71

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 71

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Lys

 20 25

<210> 72

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 72

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 73

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 73

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 74

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 74

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Lys

20 25

<210> 75

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 75

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 76

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 76

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 77

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 77

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 78

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 78

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 79

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 79

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 80

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 80

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 81

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 81

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 82

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 82

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 83

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 83

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 84

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 84

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 85

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 85

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 86

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 86

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 87

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 87

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 88

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 88

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 89

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 89

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 90

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 90

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Ile Arg

 20 25

<210> 91

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 91

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Arg

 20 25

<210> 92

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 92

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Arg

 20 25

<210> 93

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 93

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Arg

 20 25

<210> 94

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 94

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 95

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 95

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 96

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 96

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 97

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 97

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 98

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 98

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Ile Arg

20 25

<210> 99

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 99

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 100

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 100

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 101

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 101

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 102

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 102

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 103

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 103

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 104

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 104

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 105

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 105

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 106

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 106

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 107

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 107

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 108

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 108

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 109

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 109

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 110

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 110

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 111

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 111

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 112

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 112

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 113

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 113

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 114

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 114

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 115

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 115

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 116

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 116

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 117

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 117

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 118

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 118

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 119

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 119

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 120

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 120

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 121

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 121

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 122

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 122

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Trp Arg

20 25

<210> 123

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 123

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 124

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 124

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 125

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 125

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 126

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 126

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 127

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 127

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 128

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 128

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 129

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 129

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 130

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 130

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Arg Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 131

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 131

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 132

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 132

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 133

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 133

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 134

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 134

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Arg

 20 25

<210> 135

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 135

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Arg

 20 25

<210> 136

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 136

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Arg

 20 25

<210> 137

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 137

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Arg

 20 25

<210> 138

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 138

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asp Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 139

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 139

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 140

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 140

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 141

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 141

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 142

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 142

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

1 5 10 15

Ala Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 143

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 143

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 144

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 144

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 145

<211> 25

<212> PRT

<213> *Borrelia* sp.

<400> 145

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 146

<211> 25

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 146

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

1 5 10 15

Val Lys Asp Gly Asn Phe Ala Tyr Arg

20 25

<210> 147

<211> 10

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 147

Pro Val Val Ala Glu Ser Pro Lys Lys Pro

1 5 10

<210> 148

<211> 14

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<400> 148

Ile Leu Met Thr Leu Phe Leu Phe Ile Ser Cys Asn Asn Ser

1 5 10

<210> 149

<211> 7

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa may be Ala or Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa may be Glu or Asp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa may be Lys or Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa may be Lys or Arg

<400> 149

Xaa Xaa Ser Pro Xaa Xaa Pro

1 5

<210> 150

<211> 15

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa may be Gln or Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa may be Val or Ala

<400> 150

Val Xaa Glu Gly Xaa Gln Gln Glu Gly Ala Gln Gln Pro Ser Cys

1 5 10 15

<210> 151

<211> 16

<212> PRT

<213> Borrelia sp.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa may be Gln or Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa may be Val or Ala

<400> 151

Ala Val Xaa Glu Gly Xaa Gln Gln Glu Gly Ala Gln Gln Pro Ser Cys

1 5 10 15

<210> 152

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 6X His tag

<400> 152

His His His His His His

1 5