



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0093834
(43) 공개일자 2015년08월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/32 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
A61K 39/42 (2006.01) C07K 16/08 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/32 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7018712
(22) 출원일자(국제) 2013년12월13일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2015년07월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2013/075137
(87) 국제공개번호 WO 2014/093894
국제공개일자 2014년06월19일
- (30) 우선권주장
61/737,094 2012년12월13일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (71) 출원인
더 트러스티스 오브 더 유니버시티 오브 펜실바니아
미국 19104 펜실바니아주 필라델피아 슈트 200 케스트너트 스트리트 3160
이노비오 파마슈티컬즈, 인크.
미국 19422 펜실베니아주 블루 벨 스위트 400 빌딩 18 센트리 파크웨이 웨스트 1787
- (72) 발명자
웨이너, 데이비드 비
미국 펜실바니아 19066, 메리온, 717 비콥 레인
무투마니, 카루피아
미국 뉴 저지 08002, 체리 힐, 52 아이비 레인
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인엠에이피에스

전체 청구항 수 : 총 52 항

(54) 발명의 명칭 DNA 항체 작제물 및 그 이용 방법

(57) 요약

생체 내 합성 항체의 발현을 위한 항체 및 이들의 기능적 단편을 인코딩하는 최적화된 핵산 서열을 포함하는 조성물, 및 대상체에서 합성 항체의 생성 방법이 본원에 개시된다. 본 개시는 또한 상기 조성물 및 방법을 이용하는 대상체에서의 질환 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다.

대표도 - 도1

IgG 중쇄를 인코딩하는 최적화된 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGAACCGACACTCTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGGGTGCCCGGCTCAACAGGCGACGGC
GCTCAGGTCCAGCTGGTCCAGTCTGGAGCTGTGATCAAGACCCCTGGCAGCTCCGTCAAAATTTCTTGCAAGCAAGTG
GCTACAACCTCCGGGACTATAGCATCCACTGGGTGCGGCTGATTCCTGATAAGGGATTTGAGTGGATCGGCTGGATCAA
GCCACTGTGGGGCGCTGTGTCTACGCAAGGCAGCTGCAGGGGCGCGTCTCCATGACACGACAGCTGTCTCAGGACCC
AGACGATCCCGATTGGGGGGTGGCCTACATGGAGTTCAGTGGACTGACTCCCGCAGACACCCGCGAATATTTTGGCTG
CGGAGAGGCTCCTGCGACTACTGTGGGATTTCCTATGGCAGTATTGGTGTGAGGGAAGTGGTGGTCTCTAGTG
CATCAACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCTGGCCCCATCAAGCAAAAGTACATCAGGAGGAAGTGCAGCTCTGGGAT
GTCTGGTGAAGGATTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGTCAGCTGGAAGTCCGGAGCACTGACCTCCGGAGTGCACACATT
TCCCGCTGTCTGCAGTCTCTGGGCTGTACTCTCTGAGTTAGTGGTCACAGTGCCTAGCTCCTCTCTGGGCACCCAGA
CATATATCTGCAACGTCAATCATAAGCCAAGTAATACTAAAGTGGAAGAAAGTGAACCCAAATCATGTTACCCCT
ATGACGTGCCTGATTATGCTTGATAACTCGAG (서열 식별 번호:6)

(52) CPC특허분류

A61K 39/42 (2013.01)
C07K 16/08 (2013.01)
C07K 16/1063 (2013.01)
C07K 16/1081 (2013.01)
C07K 2317/14 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)

(30) 우선권주장

61/881,376 2013년09월23일 미국(US)
61/896,646 2013년10월28일 미국(US)

(72) 발명자

사르데자이, 니란잔

미국 펜실바니아 19422, 블루 벨, 480 마랄드 서클

플린가이, 세리케

미국 미네소타 55411, 미네애플리스, 1623 펜 노스
애비뉴

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 합성 항체의 생성 방법으로서, 상기 방법은 항체 또는 그의 단편을 인코딩하는 재조합 핵산 서열을 포함하는 조성물을 상기 대상체에 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 재조합 핵산 서열은 상기 대상체에서 발현되어 상기 합성 항체를 생성하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체는 중쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편, 및 경쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편을 포함하는, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 중쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편은 제1 핵산 서열에 의해 인코딩되고, 상기 경쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편은 제2 핵산 서열에 의해 인코딩되는, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 상기 제1 핵산 서열 및 상기 제2 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 상기 대상체에서 단일 전사체로 상기 제1 핵산 서열 및 상기 제2 핵산 서열을 발현하기 위한 프로모터를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 프로모터는 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터인, 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 프로테아제 절단 부위를 인코딩하는 제3 핵산 서열을 추가로 포함하며, 여기서 상기 제3 핵산 서열은 상기 제1 핵산 서열 및 상기 제2 핵산 서열 사이에 배치되는, 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 대상체의 상기 프로테아제는 상기 프로테아제 절단 부위를 인식하고 절단하는, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 상기 대상체에서 발현되어 항체 폴리펩티드 서열을 생성하며, 여기서 상기 항체 폴리펩티드 서열은 상기 중쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편, 상기 프로테아제 절단 부위, 및 상기 경쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편을 포함하고, 상기 대상체에 의해 생산된 상기 프로테아제는 상기 항체 폴리펩티드 서열의 상기 프로테아제 절단 부위를 인식하고 절단하여 절단된 중쇄 폴리펩티드 및 절단된 경쇄 폴리펩티드를 생성하고, 상기 합성 항체는 상기 절단된 중쇄 폴리펩티드 및 상기 절단된 경쇄 폴리펩티드에 의해 생성되는, 방법.

청구항 10

제4항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 제1 전사체로서 상기 제1 핵산 서열을 발현하기 위한 제1 프로모터 및 제2 전사체로서 상기 제2 핵산 서열을 발현하기 위한 제2 프로모터를 포함하며, 여기서 상기 제1 전사체는 제1 폴리펩티드로 번역되고 상기 제2 전사체는 제2 폴리펩티드로 번역되며, 상기 합성 항체는 상기 제1 및 제2 폴리펩티드에 의해 생성되는, 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 제1 프로모터 및 상기 제2 프로모터는 동일한, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 프로모터는 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터인, 방법.

청구항 13

제2항에 있어서, 상기 중쇄 폴리펩티드는 가변 중쇄 영역 및 불변 중쇄 영역 1을 포함하는, 방법.

청구항 14

제2항에 있어서, 상기 중쇄 폴리펩티드는 가변 중쇄 영역, 불변 중쇄 영역 1, 힌지 영역, 불변 중쇄 영역 2 및 불변 중쇄 영역 3을 포함하는, 방법.

청구항 15

제2항에 있어서, 상기 경쇄 폴리펩티드는 가변 경쇄 영역 및 불변 경쇄 영역을 포함하는, 방법.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 코작(Kozak) 서열을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 면역글로불린(Ig) 신호 펩티드를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 Ig 신호 펩티드는 IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함하는, 방법.

청구항 19

제1항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 1, 2, 5, 41, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 및 61의 아미노산 서열 중 적어도 하나를 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 20

제1항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 3, 4, 6, 7, 40, 42, 44, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62 및 63 중 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 21

대상체에서 합성 항체의 생성 방법으로서, 상기 방법은 중쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편을 인코딩하는 제1 재조합 핵산 서열, 및 경쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편을 인코딩하는 제2 재조합 핵산 서열을 포함하는 조성물을 상기 대상체에 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 제1 재조합 핵산 서열은 상기 대상체에서 발현되어 제1 폴리펩티드를 생성하고 상기 제2 재조합 핵산은 상기 대상체에서 발현되어 제2 폴리펩티드를 생성하며, 상기 합성 항체는 상기 제1 및 제2 폴리펩티드에 의해 생성되는, 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 제1 재조합 핵산 서열은 상기 대상체에서 상기 제1 폴리펩티드를 발현하기 위한 제1 프로모터를 추가로 포함하고, 상기 제2 재조합 핵산 서열은 상기 대상체에서 상기 제2 폴리펩티드를 발현하기 위한 제2 프로모터를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 제1 프로모터 및 제2 프로모터는 동일한, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 프로모터는 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터인, 방법.

청구항 25

제21항에 있어서, 상기 중쇄 폴리펩티드는 가변 중쇄 영역 및 불변 중쇄 영역 1을 포함하는 방법.

청구항 26

제21항에 있어서, 상기 중쇄 폴리펩티드는 가변 중쇄 영역, 불변 중쇄 영역 1, 힌지 영역, 불변 중쇄 영역 2 및 불변 중쇄 영역 3을 포함하는, 방법.

청구항 27

제21항에 있어서, 상기 경쇄 폴리펩티드는 가변 경쇄 영역 및 불변 경쇄 영역을 포함하는, 방법.

청구항 28

제21항에 있어서, 상기 제1 재조합 핵산 서열 및 상기 제2 재조합 핵산 서열은 코작 서열을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 29

제21항에 있어서, 상기 제1 재조합 핵산 서열 및 상기 제2 재조합 핵산 서열은 면역글로불린(Ig) 신호 펩티드를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 Ig 신호 펩티드는 IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함하는, 방법.

청구항 31

대상체에서 질환의 예방 또는 치료 방법으로서, 상기 방법은 제1항 또는 제21항의 방법에 따라 대상체에서 합성 항체를 생성하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 합성 항체는 외래 항원에 대해 특이적인, 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 외래 항원은 바이러스로부터 유래되는, 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 바이러스는 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 치쿤군야(Chikungunya) 바이러스(CHIKV) 또는 뎅기 바이러스인, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 바이러스는 HIV인, 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 1, 2, 5, 46, 47, 48, 49, 51, 53, 55, 및 57 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 37

제35항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 3, 4, 6, 7, 50, 52, 55, 56, 62, 63 및 64 중 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 38

제34항에 있어서, 상기 바이러스는 CHIKV인, 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 59 및 61 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 40

제38항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 58 및 60 중 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 41

제34항에 있어서, 상기 바이러스는 텅기 바이러스인, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 45 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 43

제41항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 44 중 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 44

제31항에 있어서, 상기 합성 항체는 자가-항원에 특이적인, 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 자가-항원은 Her2인, 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 41 및 43 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 47

제45항에 있어서, 상기 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 40 및 42 중 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 48

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 방법에 의해 생산되는, 산물.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 산물은 기능적 항체를 발현할 수 있는 단일 DNA 플라스미드인, 산물.

청구항 50

제48항에 있어서, 상기 산물은 생체 내에서 조합하여 기능적 항체를 형성하는 기능적 항체의 성분을 발현할 수 있는 두 별개의 DNA 플라스미드로 이루어지는, 산물.

청구항 51

병원체에 의한 감염으로부터의 대상체의 치료 방법으로서, 상기 방법은:

상기 병원체에 특이적인 합성 항체를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 방법은:

상기 병원체의 항원을 투여하여 상기 대상체에서 면역 반응을 생성하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 교차 참조

[0002]

본 출원은 2012.12.13.에 출원된 미국 가출원 번호 61/737,094, 2013.09.23.에 출원된 미국 가출원 번호 61/881,376, 및 2013.10.28.에 출원된 미국 가출원 번호 61/896,646을 우선권으로 청구하며, 이는 모두 본원에 참조로 도입된다.

[0003]

정부 이해관계의 언급

[0004]

본 발명은 국립위생연구소(National Institutes of Health)에서 부여하는 계약 번호 HHSN272200800063C 및 5-P30-AI-045008-13 하의 정부 지원으로 수행되었다. 정부는 본 발명에 일정한 권리를 갖는다.

[0005]

기술 분야

[0006]

본 발명은 생체 내 합성 항체, 또는 그의 단편의 생성을 위한 재조합 핵산 서열을 포함하는 조성물, 및 상기 조성물의 투여에 의한 대상체에서의 질환의 예방 및/또는 치료 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0007]

면역글로불린 분자는 시스테인 잔기 간의 디설파이드 결합(S-S로 나타냄)에 의해 공유 연결된 각 유형의 두 경쇄(L) 및 중쇄(H)를 포함한다. 중쇄(VH) 및 경쇄(VL)의 가변 도메인은 항체 분자의 결합 부위에 기여한다. 중쇄 불변 영역은 최대 3개의 불변 도메인(CH1, CH2 및 CH3) 및 (가요성) 힌지 영역으로 이루어진다. 경쇄는 또한 불변 도메인(CL)을 갖는다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 4개의 틀 영역(FR; FR1, FR2, FR3 및 FR4) 및 3개의 상보성 결정 영역(CDR; CDR1, CDR2 및 CDR3)을 포함한다. 따라서 이들은 생체 내에서 조립하기 어려웠던 매우 복잡한 유전적 시스템이다.

[0008]

표적화된 모노클로날 항체(mAb)는 지난 25년 간 가장 중요한 의학적 치료 진보 중 하나를 나타낸다. 상기 유형의 면역 기반 치료법은 이제 수많은 자가면역 질환, 암뿐만 아니라 감염성 질환의 치료를 위해 일상적으로 이용된다. 암에 있어서, 현재 이용되는 여러 면역글로불린(Ig) 기반 치료법은 종양에 대한 세포독성 화학치료법 요법과 조합된다. 상기 조합 접근은 전체적 생존을 크게 개선시켰다. 비호지킨성 림프종의 치료를 위해 CD20을 표적화하는 키메라 mAb인 리툭시맵(Rituxan), 및 CTLA-4를 차단하고 흑색종 및 다른 암의 치료에 이용된 인간 mAb인 이필리무맵(Yervoy)을 포함하는 여러 mAb 제조물이 특정 암에 대한 이용을 위해 허가받았다. 추가적으로, 베바시주맵(Avastin)은 VEGF 및 종양 신혈관형성을 표적화하고 결직장암의 치료에 이용된 또 다른 유명한 인간화된 mAb이다. 암 치료를 위해 가장 높은 프로파일의 mAb는 환자 서브세트에서 유방암에 대해 상당한 유효성을 가진 것으로 나타난, Her2/neu를 표적화하는 인간화된 제조물인 트라스투주맵(Herceptin)일 것이다. 또한 수많은 mAb가 자가면역 및 특정 혈액 장애의 치료를 위해 이용되고 있다.

[0009]

암 치료에 부가하여, 폴리클로날 Ig의 수동 전달은 디프테리아, A형 및 B형 간염, 광견병, 파상풍, 수두 및 호흡기 세포융합 바이러스(RSV)를 포함하는 여러 감염성 질환에 대한 보호 효능을 매개한다. 실제로, 몇몇 폴리클로날 Ig 제조물은 능동 백신접종을 통해 생성될 보호적 Ig를 위한 충분한 시간이 없는 상황에서, 질환 유행 지역으로 여행하는 개인에서 특정 감염 체제에 대한 일시적 보호를 제공한다. 또한 면역 결핍증이 있는 어린이에서, RSV 감염을 표적으로 하는 mAb인 팔리비주맵(Synagis)이 RSV에 대해 임상적으로 보호하는 것으로 나타났다.

[0010]

mAb 치료법의 임상적 영향은 인상적이다. 그러나 상기 치료적 접근의 이용 및 전파를 제한하는 문제가 여전히 존재한다. 이들 중 일부에는 더 넓은 모집단에서, 특히 큰 영향을 가질 수 있는 개발도상국에서 이들의 이용을 제한할 수 있는 이들 복잡한 생물학적 체계의 높은 생산 비용이 포함된다. 또한 유효성을 확보하고 유지하기 위한 mAb의 반복 투여에 대한 빈번한 요구는 물류 및 환자 순응성의 관점에서 장애일 수 있다. 추가적으로, 이들 항체 제형물의 장기 안정성이 빈번하게 짧고 최적이지 않다. 따라서 안전하고 비용 효율적인 방식으로 대상체에

전달될 수 있는 합성 항체 분자에 대한 당분야의 필요성이 남아 있다. 또한, 합성 항체 확인 및 발현 방법이 논의되었다; 그러나, 단백질 생산은 여전히 어렵고 비용이 높다.

[0011] 면역치료법 및 면역조정은 병원체와 싸우거나 이환 세포를 사멸시키기 위해 대상체의 면역계와 협력하거나 이를 조정하거나 자극함으로써 질환의 치료를 허용하는 치료 방식을 제공한다. 백신은 질환의 예방, 그리고 일부 경우에는 치료법을 위해 세포성 및 체액성 면역 반응을 모두 자극할 수 있는 약물의 한 클래스를 제공한다. 예를 들어, 인플루엔자에 대한 백신은 대상체가 독감 바이러스에 대해 기억 반응을 생성하는 것을 돕고 이후 감염을 예방하는 것을 도울 수 있다. 그러나 예를 들어 치쿤군야 또는 뎡기, 또는 에볼라와 같은 열대 바이러스와 같이 빠른 중화 항체 반응이 유익할 경우, 신속한 발병을 유발하는 병원체에 대한 우려가 존재한다. 이러한 상황에서, 대상체가 확립되고 효과적인 기억 반응을 갖지 않는 경우, 숙주 체액성 반응의 지연은 치명적인 것으로 입증될 수 있다. 더욱이, 바이러스가 숙주를 완전 감염시키고 안정화되기 전에 HIV와 같이 문제가 되는 바이러스의 감염 저지를 돕는 중화 항체의 즉각적 생산이 유익할 것이다. 즉각적 기억 반응, 또는 보다 바람직하게는 중화 항체 반응을 제공할 수 있는 백신; 이어서 필요한 경우, 조합 치료법을 위해 숙주 면역 반응을 자극하는 백신과 조합될 수 있는 백신이 필요하다.

[0012] **요약**

[0013] 본 발명은 대상체에서 합성 항체의 생성 방법에 대한 것이다. 이 방법은 대상체에 항체 또는 그의 단편을 인코딩하는 재조합 핵산 서열을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 재조합 핵산 서열은 합성 항체를 생성하기 위해 대상체에서 발현될 수 있다.

[0014] 항체는 중쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편, 및 경쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편을 포함할 수 있다. 중쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편은 제1 핵산 서열에 의해 인코딩될 수 있고, 경쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편은 제2 핵산 서열에 의해 인코딩될 수 있다. 재조합 핵산 서열은 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열을 포함할 수 있다. 재조합 핵산 서열은 대상체에서 단일 전사체로 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열을 발현하기 위한 프로모터를 추가로 포함할 수 있다. 프로모터는 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터일 수 있다.

[0015] 재조합 핵산 서열은 프로테아제 절단 부위를 인코딩하는 제3 핵산 서열을 추가로 포함할 수 있다. 제3 핵산 서열은 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열 간에 배치될 수 있다. 대상체의 프로테아제는 프로테아제 절단 부위를 인식하고 절단할 수 있다.

[0016] 재조합 핵산 서열은 항체 폴리펩티드 서열을 생성하기 위해 대상체에서 발현될 수 있다. 항체 폴리펩티드 서열은 중쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편, 프로테아제 절단 부위, 및 경쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편을 포함할 수 있다. 대상체에 의해 생산된 프로테아제는 항체 폴리펩티드 서열의 프로테아제 절단 부위를 인식하고 절단하여 절단된 중쇄 폴리펩티드 및 절단된 경쇄 폴리펩티드를 생성할 수 있다. 합성 항체는 절단된 중쇄 폴리펩티드 및 절단된 경쇄 폴리펩티드에 의해 생성될 수 있다.

[0017] 재조합 핵산 서열은 제1 전사체로 제1 핵산 서열을 발현하기 위한 제1 프로모터 및 제2 전사체로 제2 핵산 서열을 발현하기 위한 제2 프로모터를 포함할 수 있다. 제1 전사체는 제1 폴리펩티드로 번역될 수 있고, 제2 전사체는 제2 폴리펩티드로 번역될 수 있다. 합성 항체는 제1 및 제2 폴리펩티드에 의해 생성될 수 있다. 제1 프로모터 및 제2 프로모터는 동일할 수 있다. 프로모터는 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터일 수 있다.

[0018] 중쇄 폴리펩티드는 가변 중쇄 영역 및 불변 중쇄 영역 1을 포함할 수 있다. 중쇄 폴리펩티드는 가변 중쇄 영역, 불변 중쇄 영역 1, 힌지 영역, 불변 중쇄 영역 2 및 불변 중쇄 영역 3을 포함할 수 있다. 경쇄 폴리펩티드는 가변 경쇄 영역 및 불변 경쇄 영역을 포함할 수 있다.

[0019] 재조합 핵산 서열은 코작(Kozak) 서열을 추가로 포함할 수 있다. 재조합 핵산 서열은 면역글로불린(Ig) 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. Ig 신호 펩티드는 IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함할 수 있다.

[0020] 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 1, 2, 5, 41, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 및 61 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 3, 4, 6, 7, 40, 42, 44, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 및 63 중 적어도 하나의 핵산 서열을 포함할 수 있다.

[0021] 본 발명은 또한 대상체에서 합성 항체의 생성 방법에 대한 것이다. 이 방법은 중쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편을 인코딩하는 제1 재조합 핵산 서열, 및 경쇄 폴리펩티드, 또는 그의 단편을 인코딩하는 제2 재조합 핵산 서열을 포함하는 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 제1 재조합 핵산 서열은 제1 폴리펩티드를 생성하기 위해 대상체에서 발현될 수 있고, 제2 재조합 핵산 서열은 제2 폴리펩티드를 생성하기 위해 대상체에서

발현될 수 있다. 합성 항체는 제1 및 제2 폴리펩티드에 의해 생성될 수 있다.

[0022] 제1 재조합 핵산 서열은 대상체에서 제1 폴리펩티드를 발현하기 위한 제1 프로모터를 추가로 포함할 수 있다. 제2 재조합 핵산 서열은 대상체에서 제2 폴리펩티드를 발현하기 위한 제2 프로모터를 추가로 포함할 수 있다. 제1 프로모터 및 제2 프로모터는 동일할 수 있다. 프로모터는 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터일 수 있다.

[0023] 중쇄 폴리펩티드는 가변 중쇄 영역 및 불변 중쇄 영역 1을 포함할 수 있다. 중쇄 폴리펩티드는 가변 중쇄 영역, 불변 중쇄 영역 1, 힌지 영역, 불변 중쇄 영역 2 및 불변 중쇄 영역 3을 포함할 수 있다. 경쇄 폴리펩티드는 가변 경쇄 영역 및 불변 경쇄 영역을 포함할 수 있다.

[0024] 제1 재조합 핵산 서열 및 제2 재조합 핵산 서열은 코작 서열을 추가로 포함할 수 있다. 제1 재조합 핵산 서열 및 제2 재조합 핵산 서열은 면역글로불린(Ig) 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. Ig 신호 펩티드는 IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함할 수 있다.

[0025] 본 발명은 또한 대상체에서 질환의 예방 또는 치료 방법에 대한 것이다. 이 방법은 상기 방법 중 하나에 따른 대상체에서의 합성 항체의 생성 단계를 포함할 수 있다. 합성 항체는 외래 항원에 대해 특이적일 수 있다. 외래 항원은 바이러스에서 유래될 수 있다. 바이러스는 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 치쿤군야 바이러스(CHIKV) 또는 뎅기 바이러스일 수 있다.

[0026] 바이러스는 HIV일 수 있다. 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 1, 2, 5, 46, 47, 48, 49, 51, 53, 55, 및 57 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 3, 4, 6, 7, 50, 52, 55, 56, 62, 및 63 중 적어도 하나의 핵산 서열을 포함할 수 있다.

[0027] 바이러스는 CHIKV일 수 있다. 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 59 및 61 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 58 및 60 중 적어도 하나의 핵산 서열을 포함할 수 있다.

[0028] 바이러스는 뎅기 바이러스일 수 있다. 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 45 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 44 중 적어도 하나의 핵산 서열을 포함한다.

[0029] 합성 항체는 자가-항원에 대해 특이적일 수 있다. 자가-항원은 Her2일 수 있다. 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 41 및 43 중 적어도 하나의 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 재조합 핵산 서열은 서열 식별 번호 40 및 42 중 적어도 하나의 핵산 서열을 포함할 수 있다.

[0030] 본원에 기재된 본 발명의 한 측면에는 본원에 기재된 뉴클레오티드 산물이 포함되며, 일부 예에서는 하나의 뉴클레오티드 작제물로 이루어지며, 일부 예에서는 다른 두 뉴클레오티드 작제물로 이루어진다.

[0031] 본 발명의 하나의 측면은 병원체에 특이적인 합성 항체를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 투여하는 단계를, 그리고 일부 예에서는 또한 대상체에 면역 반응을 생성하기 위해 병원체의 항원을 투여하는 단계를 포함하는, 병원체에 의한 감염의 치료 방법에 관한 것이다.

[0032] 도면의 간략한 설명

[0033] 도 1은 실시예 1에 기재된 바와 같은 IgG 중쇄를 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.

[0034] 도 2는 실시예 1에 기재된 바와 같은 IgG 경쇄를 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.

[0035] 도 3은 시간(hr) 대 OD 450nm(조직 배양 상청액의 1:100 희석액)를 도시한 그래프를 나타낸다.

[0036] 도 4는 웨스턴 블롯 이미지를 나타낸다.

[0037] 도 5는 pHIV-1Env-Fab의 생성 및 발현 확인을 나타낸다. (A & B) pHIV-1 Env Fab 항-gp120 Fab를 발현하는 작제물의 원형 플라스미드 맵이 VRC01 중쇄(H) 및 경쇄(L) 가변 Ig 유전자를 이용해서 설계되었다. 발현 수준을 증가시키기 위해 Fab 플라스미드의 구축 시 몇몇 개질이 포함되었다. 나타난 바와 같은 Fab VL 및 VH 단편 유전자는 pVax1 벡터의 BamH1 및 Xho1 제한효소 부위 사이에 별도로 클로닝되었다. (C) pHIV-1 Env Fab의 시험관 내 발현. 이 그래프는 293T 세포의 전달감염 후 pHIV-1 Env Fab 발현의 경시적 역학을 나타내었다. 발현을 시사하는 나타난 값은 3개 웰의 평균 OD450nm±SD이다. 대조군으로 293T 세포도 pVax1 골격으로 전달감염되었다.

[0038] 도 6은 pHIV-1 Env Fab에 의한 항-HIV Env 특이적 Fab의 경시적 생성 측정을 나타낸다. (A) 항-HIV1 Fab의 생성 시간 경과. pHIV-1 Env Fab의 투여 후, 특이적 Fab의 생산을 ELISA로 1:100의 최종 희석도에서 혈청 중에

10일에 걸쳐 측정하고 OD450nm로 나타내었다. pVax1이 투여된 마우스로부터의 혈청을 음성 대조군으로 이용하였다. (B) 재조합 gp120(rgp120)으로의 면역접종 후 항-gp120 항체 반응의 비교 측정. 실시예 2에 나타난 바와 같이, rgp120의 단회 주사로 마우스를 면역접종한 뒤 항-gp120 항체 생산을 최대 10일에 걸쳐 측정하고 OD450nm 값으로 나타내었다. 이 연구에 대해서는 음성 대조군 주사로 PBS를 이용하였다. (C) 면역블롯 분석에 의한 HIV1Env-Fab 결합의 확인. 실시예에 나타난 바와 같이, 5 또는 10 μ g의 gp120을 SDS-PAGE 및 니트로셀룰로오스 블롯팅을 거친 후 블롯을 pHIV-1 Env Fab 투여 마우스로부터의 혈청과 인큐베이션하였다. 면역블롯은 실험 혈청이 결합된 rgp120을 인식함을 나타내어, 생성된 Fab의 특이성을 확인시켰다. (D) pHIV-1Env-Fab 투여 후 마우스 혈청에서 IgG1로 측정된 인간 IgG1Fab의 경시적 정량. IgG1을 나타낸 시점에 표준 ELISA 키트로 측정하고 Fab (μ g/mL) \pm SD로 표시하였다. pVax1-투여 마우스로부터의 혈청을 음성 대조군으로 이용하였다. 혈청 표본을 x축에 나타낸 시점에 분석하였다. (A), (B) 및 (D)에 디스플레이한 그래프에 나타난 화살표는 DNA 플라스미드 투여 시점을 나타낸다.

- [0039] 도 7은 A군 HIV Env 당단백질에 대한 HIV1 Env Fab의 FACS 결합 분석을 나타낸다. (A) HIV-1 A군 Env 당단백질에 대한 항-HIV1Env-Fab의 결합을 나타내는 FACS 스캔. 공통(pCon-Env-A) 또는 "최적화된"(pOpt-Env-A) HIV-1 A군 외피를 발현하는 DNA를 293T 세포 내로 전달감염시켰다. 전달감염 2일 후, 세포를 정제된 천연 VRC01 Ig, pHIV-1 Env Fab로부터 생성된 혈청(단회 플라스미드 투여 48시간 후 수집됨) 또는 pIgG-E1M2 투여로 생성된 대조군 Ig로 염색하였다. 혈청 및 VRC01 항체를 PBS 50 μ l 중에 각각 1:4 또는 1:100으로 희석하고 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 적절한 이차 피코에리트린(PE) 콘주게이트된 Ig로 염색한 뒤 단일선 및 살아있는 세포로 FACS 분석에 대해 관문화하였다. 양성 세포의 결합 백분율을 각 스캔에서 나타내었다. (B) FACS 결합 데이터의 그래프 표시. 각각의 Ig/혈청 시험군에서 염색된 세포의 수(즉 발현 수준을 시사함)를 배경 염색값으로 나누고 평가된 상이한 HIV A군 Env 제조물의 함수로서 y축 상에서 특이적 결합 백분율로 나타내었다.
- [0040] 도 8은 pHIV-1Env-Fab 투여 마우스로부터의 혈청에 의한 HIV-1의 중화 시간 경과를 나타낸다. 중화 활성 혈청의 분석에 이용된 혈청을 그래프에 나타난 시점에 수집하였다. 중화 분석을 HIV-1 가유행 바이러스 패널을 이용해서 TZM-BL 세포에서 수행하였다: Ba126(패널 A; B군, 티어 1), Q23Env17(패널 B; A군, 티어 1), SF162S(패널 C; B군, 티어 1), 및 ZM53M(패널 D; C군, 티어 2). 세포를 실시예 2에 묘사된 0.01의 MOI로 감염시키고, pHIV-1 Env Fab 투여로 생성된 Fab를 함유하는 혈청(최종 희석도 1:50)의 존재 하에 인큐베이션하였다. 중화값 백분율을 나타내고, 그 계산을 실시예 2에 기재하였다. 또한 실험 혈청이 50% 바이러스 중화를 매개한 근사 시점을 시사하는 수평선이 각 그래프에 제공된다.
- [0041] 도 9는 실시예 2-7에 기재된 HIV-1 Env Fab의 중쇄(VH-CH1)를 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.
- [0042] 도 10은 실시예 2-7에 기재된 HIV-1 Env Fab의 경쇄(VL-CL)를 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.
- [0043] 도 11은 HIV Env를 인코딩하는 플라스미드로 전달감염된 세포의 면역형광도를 나타낸다. 세포를 pVAX1(왼쪽 패널) 또는 pHIV-Env-Fab(오른쪽 패널)로부터의 제조물로 염색하였다.
- [0044] 도 12는 항원 유형 대 혈청 농도(ng/mL)를 도시하는 그래프를 나타낸다.
- [0045] 도 13은 합성 인간 IgG1 항체를 인코딩하는 작제물의 모식도를 나타낸다.
- [0046] 도 14는 도 13의 작제물에 의해 인코딩되는 조립된 항체(발현 시)의 모식도를 나타낸다.
- [0047] 도 15는 VRC01 IgG의 아미노산 서열을 나타낸다.
- [0048] 도 16은 (A) HIV-1 Env-PG9 Ig를 인코딩하는 작제물의 모식도; (B) (A)의 작제물을 함유하는 벡터의 모식도; 및 (C) 염색된 겔의 이미지를 나타낸다.
- [0049] 도 17은 (A) HIV-1 Env-4E10 Ig를 인코딩하는 작제물의 모식도; (B) (A)의 작제물을 함유하는 벡터의 모식도; 및 (C) 염색된 겔의 이미지를 나타낸다.
- [0050] 도 18은 퓨린에 의한 절단 전의 HIV-1 Env-PG9 Ig의 아미노산 서열을 나타낸다.
- [0051] 도 19는 퓨린에 의한 절단 전의 HIV-1 Env-4E10 Ig의 아미노산 서열을 나타낸다.
- [0052] 도 20은 (A) CHIKV-Env-Fab의 중쇄(VH-CH1)를 인코딩하는 작제물의 모식도; (B) CHIKV-Env-Fab의 중쇄(VL-CL)를 인코딩하는 작제물의 모식도를 나타낸다.

- [0053] 도 21은 CHIKV-Env-Fab의 중쇄(VH-CH1) 또는 경쇄(VL-CL)를 인코딩하는 작제물을 함유하는 발현 벡터의 모식도를 나타낸다.
- [0054] 도 22는 시간(hr) 대 OD450nm를 도시하는 그래프를 나타낸다.
- [0055] 도 23은 면역블롯(immunoblot) 이미지를 나타낸다.
- [0056] 도 24는 DNA 투여 및 채혈 전 및 채혈 수득 시점의 모식도를 나타낸다.
- [0057] 도 25는 시간(일) 대 OD450nm를 도시하는 그래프를 나타낸다.
- [0058] 도 26은 유발접종 후 일수 대 생존 백분율을 도시하는 그래프를 나타낸다.
- [0059] 도 27은 마우스군 대 TNF- α (pg/mL)를 도시하는 그래프를 나타낸다.
- [0060] 도 28은 마우스군 대 IL-6(pg/mL)을 도시하는 그래프를 나타낸다.
- [0061] 도 29는 VH-CH1을 인코딩하고 프로모터의 제어 하인 작제물을 예시하는 모식도를 나타낸다.
- [0062] 도 30은 VL-CL을 인코딩하고 프로모터의 제어 하인 작제물을 예시하는 모식도를 나타낸다.
- [0063] 도 31은 발현 벡터 내로 클로닝된 항-Her-2 Fab의 VH-CH1 또는 VL-CL을 인코딩하는 작제물을 예시하는 모식도를 나타낸다.
- [0064] 도 32는 항-Her-2 Fab의 VH-CH1을 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.
- [0065] 도 33은 도 32의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 아미노산 서열(즉, 항-Her-2 Fab의 VH-CH1의 아미노산 서열)을 나타낸다.
- [0066] 도 34는 항-Her-2 Fab의 VL-CL을 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.
- [0067] 도 35는 도 34의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 아미노산 서열(즉, 항-Her-2 Fab의 VL-CL의 아미노산 서열)을 나타낸다.
- [0068] 도 36은 전달감염된 세포 유형 대 IgG 농도(μ g/mL)를 도시하는 그래프를 나타낸다.
- [0069] 도 37은 면역글로불린 G(IgG) 중쇄의 가변 중쇄 영역(VH), 가변 중쇄 불변 영역 1(CH1), 힌지 영역, 가변 중쇄 불변 영역 2(CH2), 가변 중쇄 불변 3(CH3)을 인코딩하고, IgG 경쇄의 가변 경쇄 영역(VL) 및 가변 경쇄 불변 영역(CL)을 인코딩하는 작제물을 예시하는 모식도를 나타낸다. IgG의 중쇄 및 경쇄는 프로테아제 절단 부위에 의해 분리되며, 각각에는 신호 펩티드(리더 서열에 의해 인코딩됨)가 선행된다.
- [0070] 도 38은 항-덴기 바이러스(DENV) 인간 IgG를 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.
- [0071] 도 39는 도 39의 핵산 서열에 의해 인코딩된 아미노산 서열(즉, 항-DENV 인간 IgG의 아미노산 서열)을 나타낸다. 상기 아미노산 서열에서, 중쇄 및 경쇄를 두 개별 폴리펩티드로 분리하기 위한 프로테아제 절단은 아직 일어나지 않았다.
- [0072] 도 40은 마우스군 대 OD 450nm를 도시하는 그래프를 나타낸다.
- [0073] 도 41은 주사 후 일수 대 인간 IgG 농도(ng/mL)를 도시하는 그래프를 나타낸다.
- [0074] 도 42는 도 1의 핵산 서열(즉, 서열 식별 번호 6)에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 아미노산 서열은 아래 실시예 1에 기재된 IgG 중쇄의 아미노산 서열이다.
- [0075] 도 43은 도 2의 핵산 서열(즉, 서열 식별 번호 7)에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 아미노산 서열은 아래 실시예 1에 기재된 IgG 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0076] 도 44는 도 9의 핵산 서열(즉, 서열 식별 번호 3)에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 아미노산 서열은 실시예 2-7에 기재된 HIV-1 Env-Fab 중쇄(VH-CH1)의 아미노산 서열이다.
- [0077] 도 45는 도 10의 핵산 서열(즉, 서열 식별 번호 4)에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 아미노산 서열은 실시예 2-7에 기재된 HIV-1 Env-Fab 경쇄(VL-CL)의 아미노산 서열이다.
- [0078] 도 46은 아래 실시예 11에 기재된 HIV-1 PG9 단일쇄 Fab(scFab)를 인코딩하는 핵산 서열이다.
- [0079] 도 47은 도 46의 핵산 서열(즉, 서열 식별 번호 50)에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 아미노산

서열은 아래 실시예 11에 기재된 HIV-1 PG9 scFab의 아미노산 서열이다.

- [0080] 도 48은 아래 실시예 13에 기재된 HIV-1 4E10 단일쇄 Fab(scFab)를 인코딩하는 핵산 서열이다.
- [0081] 도 49는 도 48의 핵산 서열(즉, 서열 식별 번호 52)에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 아미노산 서열은 아래 실시예 13에 기재된 HIV-1 4E10 scFab의 아미노산 서열이다.
- [0082] 도 50은 면역글로불린 G(IgG) 중쇄의 가변 중쇄 영역(VH), 가변 중쇄 불변 영역 1(CH1), 힌지 영역, 가변 중쇄 불변 영역 2(CH2), 가변 중쇄 불변 3(CH3)을 인코딩하는 작제물을 예시하는 모식도를 나타낸다. IgG 중쇄를 인코딩하는 핵산 서열에는 리더 서열이 선행된다.
- [0083] 도 51은 IgG 경쇄의 가변 경쇄 영역(VL) 및 가변 경쇄 불변 영역(CL)을 인코딩하는 작제물을 예시하는 모식도를 나타낸다. IgG 경쇄를 인코딩하는 핵산 서열에는 리더 서열이 선행된다.
- [0084] 도 52는 아래 실시예 9에 기재된 HIV-1 VRC01 IgG1 중쇄를 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.
- [0085] 도 53은 도 52의 핵산 서열(즉, 서열 식별 번호 54)에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 아미노산 서열은 아래 실시예 9에 기재된 HIV-1 VRC01 IgG1 중쇄의 아미노산 서열이다.
- [0086] 도 54는 아래 실시예 9에 기재된 HIV-1 VRC01 IgG1 경쇄를 인코딩하는 핵산 서열이다.
- [0087] 도 55는 도 54의 핵산 서열(즉, 서열 식별 번호 56)에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 아미노산 서열은 실시예 9에서 아래 기재된 HIV-1 VRC01 IgG1 경쇄의 아미노산 서열이다.
- [0088] 도 56은 실시예 14에서 아래 기재된 CHIKV-Env-Fab의 중쇄(VH-CH1)를 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.
- [0089] 도 57은 도 56의 핵산 서열(즉, 서열 식별 번호 58)에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 아미노산 서열은 아래 실시예 14에 기재된 CHIKV-Env-Fab의 중쇄(VH-CH1)의 아미노산 서열이다.
- [0090] 도 58은 아래 실시예 14에서 기재된 CHIKV-Env-Fab의 경쇄(VL-CL)를 인코딩하는 핵산 서열이다.
- [0091] 도 59는 도 58의 핵산 서열(즉, 서열 식별 번호 60)에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 아미노산 서열은 아래 실시예 14에 기재된 CHIKV-Env-Fab의 경쇄(VL-CL)의 아미노산 서열이다.
- [0092] 도 60은 아래 실시예 12에 기재된 HIV-1 Env-4E10 Ig를 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.
- [0093] 도 61은 아래 실시예 10에 기재된 HIV-1 Env-PG9 Ig를 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다.
- [0094] 도 62는 VRC01 IgG를 인코딩하는 핵산 서열(서열 식별 번호 64)을 나타낸다.

상세한 설명

- [0096] 본 발명은 항체, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합을 인코딩하는 재조합 핵산 서열을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 조성물은 합성 항체의 생체 내 발현 및 형성을 촉진하기 위해 이를 필요로 하는 대상체에 투여될 수 있다.
- [0097] 특히, 재조합 핵산 서열로부터 발현된 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드는 합성 항체로 조립될 수 있다. 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드는 조립으로 항원과 결합할 수 있고, 본원에 기재된 조립되지 않은 항체에 비해 면역원성이 더 크며, 항원에 대해 면역 반응을 야기하거나 유도할 수 있는 합성 항체를 생성하도록 서로 상호작용할 수 있다.
- [0098] 추가적으로, 이들 합성 항체는 항체 유도된 면역 반응에 반응하여 생산되는 항체에 비해 대상체에서 보다 신속히 생성된다. 합성 항체는 광범위한 항원에 효과적으로 결합하고 이를 중화시킬 수 있다. 합성 항체는 또한 질환에 대해 효과적으로 보호하고/하거나 생존을 촉진할 수 있다.

1. 정의

- [0100] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 이용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다. 상충 시, 정의를 포함하여 본 문서가 우선이 될 것이다. 바람직한 방법 및 재료가 아래 기재되지만, 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 평가에서 이용될 수 있다. 본원에서 언급된 모든 공보, 특허 출원, 특허 및 다른 참고문헌은 이들의 전문이 참조로 도입된다. 본원에 개시된 재료, 방법, 및 실시에는 단지 예시적인 것이며 제한하려는 것이 아니다.
- [0101] 본원에서 이용되는 용어 "포함한다", "포함된다", "갖는", "갖는다", "수 있다", "함유한다" 및 이들의 변형은

추가적인 행위 또는 구조의 가능성을 배제하지 않는 개방형 전이 어구, 용어 또는 단어로 의도된다. 문맥 상 뚜렷이 달리 나타내지 않는 한, 단수 형태에는 복수 참조물이 포함된다. 본 개시는 또한 명시적으로 나타내진 나타내지 않건, 본원에 제시된 구현예 또는 요소를 "포함하는", "이로 구성된" 및 "본질적으로 이로 구성된" 다른 구현예를 고려한다.

- [0102] "항체"는 Fab, F(ab')₂, Fd, 및 단일쇄 항체, 및 이들의 유도체를 포함하는 클래스 IgG, IgM, IgA, IgD 또는 IgE의 항체, 또는 단편, 그의 단편 또는 유도체를 의미할 수 있다. 항체는 원하는 에피토프 또는 이로부터 유래된 서열에 충분한 결합 특이성을 나타내는 포유류 혈청 표본에서 단리된 항체, 폴리클로날 항체, 친화도 정제된 항체, 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0103] 본원에서 상호 교환적으로 이용되는 "항체 단편" 또는 "항체의 단편"은 항원-결합 부위 또는 가변 영역을 포함하는 온전한 항체의 일부를 나타낸다. 이 일부에는 온전한 항체의 Fc 영역의 불변 중쇄 도메인(즉, 항체 이소형에 따라 CH₂, CH₃, 또는 CH₄)이 포함되지 않는다. 항체 단편의 예에는 비제한적으로 Fab 단편, Fab' 단편, Fab'-SH 단편, F(ab')₂ 단편, Fd 단편, Fv 단편, 디아바디, 단일쇄 Fv(scFv) 분자, 하나의 경쇄 가변 도메인만 함유하는 단일쇄 폴리펩티드, 경쇄 가변 도메인의 세 CDR을 함유하는 단일쇄 폴리펩티드, 하나의 중쇄 가변 영역만 함유하는 단일쇄 폴리펩티드, 및 중쇄 가변 영역의 세 CDR을 함유하는 단일쇄 폴리펩티드가 포함된다.
- [0104] "항원"은 숙주에서 면역 반응을 생성하는 능력을 갖는 단백질을 나타낸다. 항원은 항체에 의해 인식되고 이에 결합될 수 있다. 항원은 체내에서 또는 외부 환경에서 유래될 수 있다.
- [0105] 본원에서 이용되는 "코딩 서열" 또는 "인코딩 핵산"은 본원에 나타난 바와 같은 항체를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산(RNA 또는 DNA 분자)을 의미할 수 있다. 코딩 서열에는 핵산이 투여되는 개인 또는 포유류의 세포에서 발현을 지시할 수 있는 프로모터 및 폴리아데닐화 신호를 포함하는 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 개시 및 종결 신호가 추가로 포함될 수 있다. 코딩 서열에는 신호 펩티드를 인코딩하는 서열이 추가로 포함될 수 있다.
- [0106] 본원에서 이용되는 "상보체" 또는 "상보적인"은 핵산이 핵산 분자의 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체 간 왓슨-크릭(예로, A-T/U 및 C-G) 또는 후그스틴(Hoogsteen) 염기쌍 형성을 의미할 수 있음을 의미할 수 있다.
- [0107] 본원에서 이용되는 "정전류"는 조직 또는 상기 조직을 정의하는 세포가 동일한 조직에 전달되는 전기 자극 기간에 걸쳐 수신하거나 경험하는 전류를 정의하기 위한 것이다. 전기 자극은 본원에 기재된 전기천공 장치로부터 전달된다. 상기 전류는 본원에 제공된 전기천공 장치가 피드백 요소, 바람직하게는 즉각적인 피드백을 가지므로, 전기 자극의 수명에 걸쳐 상기 조직에서 정전류량으로 유지된다. 피드백 요소는 자극 기간에 걸쳐 조직(또는 세포)의 저항을 측정하고, 전기천공장치가 그 전기 에너지 출력을 변경하도록(예로 전압을 증가하도록) 유도하여 동일한 조직에서의 전류가 전기 자극 동안(마이크로초 수준) 그리고 자극 별로 변하지 않고 유지될 수 있다. 일부 구현예에서, 피드백 요소는 컨트롤러를 포함한다.
- [0108] 본원에서 이용되는 "전류 피드백" 또는 "피드백"은 상호 교환적으로 이용될 수 있고 제공된 전기천공 장치의 능동 반응을 의미할 수 있으며, 이는 전극 간에 조직에서 전류를 측정하는 단계 및 전류를 불변 수준으로 유지하기 위해 이에 따라 EP 장치에 의해 전달되는 에너지 출력을 변경하는 단계를 포함한다. 상기 불변 수준은 자극 순서 또는 전기 처리의 개시 전에 사용자에게 의해 사전 설정된다. 내부 전기 회로가 전극 간에 조직 내 전류를 연속적으로 모니터링하고 이 모니터링된 전류(또는 조직 내 전류)를 사전 설정된 전류와 비교하여 모니터링된 전류를 사전 설정된 수준으로 유지하기 위해 연속적으로 에너지-출력 조정을 수행할 수 있으므로, 피드백은 전기천공 장치의 전기천공 성분, 예로 컨트롤러에 의해 수행될 수 있다. 피드백 루프는 이것이 아날로그 폐쇄 루프 피드백이므로, 즉각적일 수 있다.
- [0109] 본원에서 이용되는 "분산된 전류"는 본원에 기재된 전기천공 장치의 다양한 바늘 전극 어레이로부터 전달되는 전기적 전류 패턴을 의미할 수 있고, 여기서 이 패턴은 조직이 전기천공되는 임의 영역 상에서 전기천공 관련된 열 스트레스의 발생을 최소화하거나 바람직하게는 제거한다.
- [0110] 본원에서 상호 교환적으로 이용되는 "전기천공", "전기-투과화", 또는 "전기-역학 증강"("EP")은 생체막에서 미시적 경로(구멍)를 유도하기 위한 막통과 전기장 자극의 이용을 나타낼 수 있다; 이들의 존재는 생체분자, 예컨대 플라스미드, 올리고뉴클레오타이드, siRNA, 약물, 이온, 및 물이 세포막의 한 쪽에서 다른 쪽으로 이동할 수 있게 한다.
- [0111] 본원에서 이용되는 "내인성 항체"는 체액성 면역 반응의 유도를 위해 유효 용량의 항원이 투여되는 대상체에서

생성되는 항체를 나타낼 수 있다.

- [0112] 본원에서 이용되는 "피드백 기전"은 소프트웨어 또는 하드웨어(또는 펌웨어)에 의해 수행되는 절차를 나타낼 수 있고, 이 절차는 본 발명의 값, 바람직하게는 전류로 원하는 조직의 임피던스를 (에너지 자극 전달 이전, 동안, 및/또는 이후) 수신하고 비교하며, 사전 설정된 값을 달성하기 위해 전달된 에너지 자극을 조정한다. 피드백 기전은 아날로그 폐쇄 루프 회로에 의해 수행될 수 있다.
- [0113] "단편"은 기능하고, 즉 원하는 표적에 결합할 수 있고, 전장 항체와 동일한 목적 효과를 갖는 항체의 폴리펩티드 단편을 의미할 수 있다. 항체의 단편은 N 및/또는 C 말단에서 적어도 하나의 아미노산이 없는 것을 제외하고는 전장과 100% 동일할 수 있고, 각각의 경우 위치 1에 신호 펩티드 및/또는 메티오닌을 갖거나 갖지 않는다. 단편은 부가된 임의의 이종성 신호 펩티드를 제외하고, 특정한 전장 항체 길이의 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 백분율을 포함할 수 있다. 단편은 항체와 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상 동일한 폴리펩티드의 단편을 포함하며, 추가적으로 동일성 백분율 계산 시 포함되지 않는 N 말단 메티오닌 또는 이종성 신호 펩티드를 포함할 수 있다. 단편은 추가로 N 말단 메티오닌 및/또는 신호 펩티드, 예컨대 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들어 IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함할 수 있다. N 말단 메티오닌 및/또는 신호 펩티드는 항체의 단편에 연결될 수 있다.
- [0114] 항체를 인코딩하는 핵산 서열의 단편은 5' 및/또는 3' 말단에서 적어도 하나의 뉴클레오타이드가 없는 것을 제외하고는 전장과 100% 동일할 수 있고, 각각의 경우 위치 1에 신호 펩티드 및/또는 메티오닌을 인코딩하는 서열을 갖거나 갖지 않는다. 단편은 부가된 임의의 이종성 신호 펩티드를 제외하고, 특정한 전장 코딩 서열 길이의 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 백분율을 포함할 수 있다. 단편은 항체와 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상 동일한 폴리펩티드를 인코딩하는 단편을 포함하고 선택적으로는 동일성 백분율 계산 시 포함되지 않는 N 말단 메티오닌 또는 이종성 신호 펩티드를 인코딩하는 서열을 추가로 포함할 수 있다. 단편은 추가로 N 말단 메티오닌 및/또는 신호 펩티드, 예컨대 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들어 IgE 또는 IgG 신호 펩티드에 대한 코딩 서열을 포함할 수 있다. N 말단 메티오닌 및/또는 신호 펩티드를 인코딩하는 코딩 서열이 항체 서열의 단편에 연결될 수 있다.
- [0115] 본원에서 이용되는 "유전적 작제물"은 단백질, 예컨대 항체를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 DNA 또는 RNA 분자를 나타낸다. 코딩 서열에는 핵산 분자가 투여되는 개인의 세포에서 발현을 지시할 수 있는 프로모터 및 폴리아데닐화 신호를 포함하는 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 개시 및 종결 신호가 포함된다. 본원에서 이용되는 용어 "발현 가능한 형태"는 개인의 세포에 존재하는 경우, 코딩 서열이 발현되도록 단백질을 인코딩하는 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 필요한 조절 요소를 함유하는 유전자 작제물을 나타낸다.
- [0116] 둘 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 맥락에서 본원에서 이용되는 "동일한" 또는 "동일성"은 서열이 명시된 영역에 걸쳐 동일한 명시된 잔기 백분율을 가짐을 의미할 수 있다. 백분율은 두 서열을 최적 정렬하고, 명시된 영역에 걸쳐 두 서열을 비교하고, 두 서열에서 동일한 잔기가 나오는 위치의 수를 결정하여 매치된 위치의 수를 산출하고, 매치된 위치의 수를 명시된 영역에서 위치의 총 수로 나누고, 그 결과에 100을 곱해서 서열 동일성 백분율을 산출함으로써 계산될 수 있다. 두 서열이 상이한 길이이거나 정렬로 하나 이상의 엇갈린 말단이 생성되고 명시된 비교 영역에 하나의 서열만 포함되는 경우, 단일 서열의 잔기는 계산의 분모에는 포함되지만 분자에는 포함되지 않는다. DNA 및 RNA를 비교하는 경우, 티민(T) 및 우라실(U)은 동등한 것으로 간주될 수 있다. 동일성은 수동으로 또는 BLAST 또는 BLAST 2.0과 같은 컴퓨터 서열 알고리즘을 이용하여 수행될 수 있다.
- [0117] 본원에서 이용되는 "임피던스"는 피드백 기전을 논의할 때 이용될 수 있고, 옴의 법칙에 따라 전류값으로 전환되어 사전 설정된 전류와의 비교를 가능케 할 수 있다.
- [0118] 본원에서 이용되는 "면역 반응"은 하나 이상의 핵산 및/또는 펩티드의 도입에 반응하는 숙주의 면역계, 예로 포유류의 면역계 활성화를 의미할 수 있다. 면역 반응은 세포성 또는 체액성 반응의 형태 또는 둘 다일 수 있다.
- [0119] 본원에서 이용되는 "핵산" 또는 "올리고뉴클레오타이드" 또는 "폴리뉴클레오타이드"는 서로 공유 연결된 적어도 2개의 뉴클레오타이드를 의미할 수 있다. 단일체의 도시는 또한 상보체의 서열을 정의한다. 따라서 핵산은 또한 도시된 단일체의 상보체를 포괄한다. 핵산의 여러 변이체가 주어진 핵산과 동일한 목적을 위해 이용될 수 있다. 따

라서 핵산은 또한 실질적으로 동일한 핵산 및 이들의 상보체를 포괄한다. 단일쇄는 엄격한 혼성화 조건 하에 표적 서열에 혼성화할 수 있는 탐침을 제공한다. 따라서 핵산은 또한 엄격한 혼성화 조건 하에 혼성화하는 탐침을 포괄한다.

- [0120] 핵산은 단일쇄 또는 이중쇄일 수도 있고, 또는 이중쇄 및 단일쇄 서열을 모두 일부 함유할 수도 있다. 핵산은 DNA, 게놈 및 cDNA 둘 다, RNA, 또는 하이브리드일 수 있고, 여기서 핵산은 데옥시리보- 및 리보-뉴클레오타이드의 조합 및 우라실, 아데닌, 티민, 시토신, 구아닌, 이노신, 잔틴 하이포잔틴, 이소시토신 및 이소구아닌을 포함하는 염기의 조합을 함유할 수 있다. 핵산은 화학적 합성 방법에 의해 또는 재조합 방법에 의해 수득될 수 있다.
- [0121] 본원에서 이용되는 "작동 가능하게 연결된"은 유전자의 발현이 이것이 공간적으로 연결된 프로모터의 제어 하에 있음을 의미할 수 있다. 프로모터는 그 제어 하 유전자의 5'(상류) 또는 3'(하류)에 배치될 수 있다. 프로모터 및 유전자 간 거리는 프로모터가 유래된 유전자에서 이것이 제어하는 유전자 및 프로모터 간 거리와 대략 동일할 수 있다. 당분야에 공지된 바와 같이, 상기 거리의 변동은 프로모터 기능의 손실 없이 수용될 수 있다.
- [0122] 본원에서 이용되는 "펩티드", "단백질", 또는 "폴리펩티드"는 아미노산의 연결된 서열을 의미할 수 있고, 천연, 합성, 또는 천연 및 합성의 개질 또는 조합일 수 있다.
- [0123] 본원에서 이용되는 "프로모터"는 세포 내 핵산의 발현을 부여하거나, 활성화하거나, 증강시킬 수 있는 합성 또는 천연 유래 분자를 의미할 수 있다. 프로모터는 발현을 추가 증강시키고/시키거나 그 공간적 발현 및/또는 시간적 발현을 변경시키기 위해 하나 이상의 특정 전사 조절 서열을 포함할 수 있다. 프로모터는 또한 원위 인핸서 또는 억제유전자 요소를 포함할 수 있고, 이는 전사 개시 부위에서 수천 개 염기쌍만큼 떨어져 배치될 수 있다. 프로모터는 바이러스, 박테리아, 진균, 식물, 곤충, 및 동물을 포함하는 원천에서 유래될 수 있다. 프로모터는 발현이 일어나는 세포, 조직 또는 기관에 대해, 발현이 일어나는 발생 단계에 대해, 또는 외부 자극, 예컨대 생리적 스트레스, 병원체, 금속 이온 또는 유도제에 반응하여 항상적으로 또는 차별적으로 유전자 성분의 발현을 조절할 수 있다. 프로모터의 대표예에는 박테리오파지 T7 프로모터, 박테리오파지 T3 프로모터, SP6 프로모터, lac 작동유전자-프로모터, tac 프로모터, SV40 후기 프로모터, SV40 초기 프로모터, RSV-LTR 프로모터, CMV IE 프로모터, SV40 초기 프로모터 또는 SV 40 후기 프로모터 및 CMV IE 프로모터가 포함된다.
- [0124] "신호 펩티드" 및 "리더 서열"은 본원에서 상호 교환적으로 이용되며, 본원에 나타난 단백질의 아미노 말단에 연결될 수 있는 아미노산 서열을 나타낸다. 신호 펩티드/리더 서열은 전형적으로 단백질의 위치선정을 지시한다. 본원에서 이용된 신호 펩티드/리더 서열은 바람직하게는 이것이 생산되는 세포로부터 단백질의 분비를 촉진한다. 신호 펩티드/리더 서열은 종종 세포로부터의 분비 시, 종종 성숙 단백질로 불리는 단백질의 나머지로부터 절단된다. 신호 펩티드/리더 서열은 단백질의 N 말단에 연결된다.
- [0125] 본원에서 이용되는 "엄격한 혼성화 조건"은 제1 핵산 서열(예로, 탐침)이 제2 핵산 서열(예로, 표적)에, 예컨대 핵산의 복합 혼합물로 혼성화할 조건을 의미할 수 있다. 엄격한 조건은 서열 의존적이며, 상이한 상황에서 상이할 것이다. 엄격한 조건은 정의된 이온 강도 pH에서 특정 서열에 대한 열 용융점(T_m)보다 약 5-10°C 더 낮게 선택될 수 있다. T_m 은 표적에 상보적인 탐침의 50%가 평형 시(표적 서열이 과량으로 존재하므로, T_m 에서 탐침의 50%가 평형 시 점유됨) 표적 서열에 혼성화하는 온도(정의된 이온 강도, pH 및 핵산 농도 하에)일 수 있다. 엄격한 조건은 염 농도가 약 1.0M 나트륨 이온 미만, 예컨대 pH 7.0 내지 8.3에서 약 0.01-1.0M 나트륨 이온 농도(또는 다른 염)이고 온도가 짧은 탐침(예로 약 10-50개 뉴클레오타이드)에 대해 적어도 약 30°C이고 긴 탐침(예로 약 50개 초과 뉴클레오타이드)에 대해 적어도 약 60°C인 것들일 수 있다. 엄격한 조건은 또한 탈안정화 제제, 예컨대 포름아미드의 첨가로 달성될 수 있다. 선택적 또는 특이적 혼성화를 위해, 양성 신호는 배경 혼성화의 적어도 2 내지 10배일 수 있다. 예시적인 엄격한 혼성화 조건에는 하기가 포함된다: 50% 포름아미드, 5xSSC, 및 1% SDS, 42°C에서 인큐베이션하거나, 또는 5xSSC, 1% SDS, 65°C에서 인큐베이션하고, 65°C에서 0.2xSSC, 및 0.1% SDS 중에 세척.
- [0126] 본원에서 상호 교환적으로 이용되는 "대상체" 및 "환자"는 비제한적으로 포유류(예로, 소, 돼지, 낙타, 라마, 말, 염소, 토끼, 양, 햄스터, 기니아피크, 고양이, 개, 래트 및 마우스, 비인간 영장류(예를 들어, 원숭이, 예컨대 게잡이 또는 붉은털 원숭이, 침팬지 등) 및 인간)를 포함하는 임의의 척추동물을 나타낸다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간 또는 비-인간일 수 있다. 대상체 또는 환자는 다른 형태의 치료를 거치고 있을 수 있다.
- [0127] 본원에서 이용되는 "실질적으로 상보적인"은 제1 서열이 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20,

21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100개 또는 그 초과 뉴클레오타이드 또는 아미노산 영역에 걸쳐 제2 서열의 상보체에 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일함을, 또는 두 서열이 엄격한 혼성화 조건 하에 혼성화함을 의미할 수 있다.

[0128] 본원에서 이용되는 "실질적으로 동일한"은 제1 서열이 제2 서열의 상보체에 실질적으로 상보적인 경우, 제1 및 제2 서열이 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100개 또는 그 초과 뉴클레오타이드 또는 아미노산 영역에 걸쳐 또는 핵산에 대해 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%임을 의미할 수 있다.

[0129] 본원에서 이용되는 "합성 항체"는 본원에서 기재된 재조합 핵산 서열에 의해 인코딩되고 대상체에서 생성되는 항체를 나타낸다.

[0130] 본원에서 이용되는 "치료" 또는 "치료하는"은 질환의 예방, 억제, 진압 또는 완전 제거 수단을 통한 대상체의 질환으로부터의 보호를 의미할 수 있다. 질환의 예방에는 질환의 개시 전에 대상체에 대한 본 발명의 백신 투여가 관여된다. 질환의 억제에는 질환의 유도 후 그러나 그 임상적 출현 전에 대상체에 대한 본 발명의 백신 투여가 관여된다. 질환의 진압에는 질환의 임상적 출현 후 대상체에 대한 본 발명의 백신 투여가 관여된다.

[0131] 핵산에 대해 본원에서 이용되는 "변이체"는 (i) 참조된 뉴클레오타이드 서열의 일부 또는 단편; (ii) 참조된 뉴클레오타이드 서열 또는 이들의 일부의 상보체; (iii) 참조된 핵산 또는 이들의 상보체와 실질적으로 동일한 핵산; 또는 (iv) 참조된 핵산, 이들의 상보체, 또는 이들과 실질적으로 동일한 서열에 엄격한 조건 하에 혼성화하는 핵산을 의미할 수 있다.

[0132] 펩티드 또는 폴리펩티드에 대한 "변이체"는 아미노산의 삽입, 결실, 또는 보존적 치환에 의해 아미노산 서열이 상이하지만 적어도 하나의 생물학적 활성을 보유한다. 변이체는 또한 적어도 하나의 생물학적 활성을 보유하는 아미노산 서열을 갖는 참조된 단백질과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 단백질을 의미할 수 있다. 아미노산의 보존적 치환, 즉 유사한 특성(예로, 친수성, 하전된 영역의 정도 및 분포)의 상이한 아미노산을 이용한 아미노산 대체는 당분야에서 전형적으로 작은 변화가 관여되는 것으로 인식된다. 이러한 작은 변화는, 부분적으로 당분야에 이해되는 바와 같이 아미노산의 수치 지수를 고려하여 확인될 수 있다[Kyte et al., J. Mol. Biol. 157:105-132(1982)]. 아미노산의 수치 지수는 그 소수성 및 전하의 고려에 기반한다. 유사한 수치 지수의 아미노산이 치환되고 여전히 단백질 기능을 보유할 수 있음이 당분야에 공지되어 있다. 하나의 측면에서, ± 2 의 수치 지수를 갖는 아미노산이 치환된다. 아미노산의 친수성은 또한 생물학적 기능을 보유하는 단백질을 생성할 치환을 드러내기 위해 이용될 수 있다. 펩티드의 맥락에서 아미노산의 친수성 고려는 항원성 및 면역원성과 잘 연관되는 것으로 보고된 유용한 척도인 해당 펩티드의 가장 큰 국소 평균 친수성 계산을 허용한다(본원에 전체가 참조로 도입된 미국 특허 No. 4,554,101). 당분야에서 이해되는 바와 같은, 유사한 친수성값을 갖는 아미노산의 치환은 생물학적 활성, 예를 들어 면역원성을 보유하는 펩티드를 생성할 수 있다. 치환은 서로 ± 2 내의 친수성값을 갖는 아미노산으로 수행될 수 있다. 아미노산의 소수성 지수 및 친수성값은 모두 아미노산의 특정 측쇄에 의해 영향을 받는다. 그 관찰과 일치하게, 생물학적 기능과 상용성인 아미노산 치환은 아미노산의 상대적 유사성, 특히 소수성, 친수성, 전하, 크기 및 다른 특성으로 드러나는 바와 같은 이들 아미노산의 측쇄에 근거하는 것으로 이해된다.

[0133] 변이체는 전체 유전자 서열의 전장 또는 그의 단편에 걸쳐 실질적으로 동일한 핵산 서열일 수 있다. 핵산 서열은 유전자 서열의 전장 또는 그의 단편에 걸쳐 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일할 수 있다. 변이체는 아미노산 서열의 전장 또는 그의 단편에 걸쳐 실질적으로 동일한 아미노산 서열일 수 있다. 아미노산 서열은 아미노산 서열의 전장 또는 그의 단편에 걸쳐 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일할 수 있다.

[0134] 본원에서 이용되는 "백터"는 복제 기원을 함유하는 핵산 서열을 의미할 수 있다. 백터는 플라스미드, 박테리오파지, 박테리아 인공 염색체 또는 효모 인공 염색체일 수 있다. 백터는 DNA 또는 RNA 백터일 수 있다. 백터는 자가-복제 염색체의 백터 또는 숙주 게놈 내로 통합되는 백터일 수 있다.

[0135] 본원에서 수치 범위의 언급에 있어서, 동일한 정도의 정밀도를 갖는 그 사이의 각각의 개입 숫자가 명시적으로

고려된다. 예를 들어, 6-9의 범위에 있어서, 숫자 7 및 8은 6 및 9에 부가하여 고려되며, 범위 6.0-7.0에 있어서, 숫자 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 및 7.0이 명시적으로 고려된다.

2. 조성물

본 발명은 항체, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합을 인코딩하는 재조합 핵산 서열을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 이를 필요로 하는 대상체에 투여되는 경우, 조성물은 대상체에서 합성 항체의 생성을 일으킬 수 있다. 합성 항체는 대상체에 존재하는 표적 분자(즉, 항원)에 결합할 수 있다. 이러한 결합은 항원을 중화시키거나, 다른 분자, 예를 들어 단백질 또는 핵산에 의한 항원의 인식을 차단하거나, 항원에 대한 면역 반응을 야기 또는 유도할 수 있다.

합성 항체는 조성물이 투여된 대상체에서 질환에 대해 치료, 예방 및/또는 보호할 수 있다. 항원에 결합함으로써, 합성 항체는 조성물이 투여된 대상체에서 질환에 대해 치료, 예방 및/또는 보호할 수 있다. 합성 항체는 조성물이 투여된 대상체에서 질환 생존을 촉진할 수 있다. 합성 항체는 조성물이 투여된 대상체에서 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%의 질환 생존을 제공할 수 있다. 다른 구현예에서, 합성 항체는 조성물이 투여된 대상체에서 적어도 약 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 또는 80%의 질환 생존을 제공할 수 있다.

조성물은 대상체에 대한 조성물 투여의 적어도 약 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 9시간, 10시간, 11시간, 12시간, 13시간, 14시간, 15시간, 20시간, 25시간, 30시간, 35시간, 40시간, 45시간, 50시간, 또는 60시간 내에 대상체에서 합성 항체의 생성을 일으킬 수 있다. 조성물은 대상체에 대한 조성물 투여의 적어도 약 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 또는 10일 내에 대상체에서 합성 항체의 생성을 일으킬 수 있다. 조성물은 대상체에 대한 조성물 투여의 약 1시간 내지 약 6일, 약 1시간 내지 약 5일, 약 1시간 내지 약 4일, 약 1시간 내지 약 3일, 약 1시간 내지 약 2일, 약 1시간 내지 약 1일, 약 1시간 내지 약 72시간, 약 1시간 내지 약 60시간, 약 1시간 내지 약 48시간, 약 1시간 내지 약 36시간, 약 1시간 내지 약 24시간, 약 1시간 내지 약 12시간, 또는 약 1시간 내지 약 6시간 내에 대상체에서 합성 항체의 생성을 일으킬 수 있다.

이를 필요로 하는 대상체에 투여되는 경우, 조성물은 체액성 면역 반응을 유도하기 위해 항원이 투여된 대상체에서 내인성 항체의 생성보다 더 신속하게 대상체에서 합성 항체의 생성을 일으킬 수 있다. 조성물은 체액성 면역 반응을 유도하기 위해 항원이 투여된 대상체에서 내인성 항체 생성의 적어도 약 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 또는 10일 전에 합성 항체의 생성을 일으킬 수 있다.

본 발명의 조성물은 조성물이 질병 또는 사망을 유도하지 않으므로 안전하고; 질병에 대해 보호하며; 투여 용이성, 적은 부작용, 생물학적 안정성 및 낮은 용량 별 비용을 제공하는 것과 같이 효과적인 조성물에 요구되는 특징을 가질 수 있다.

3. 재조합 핵산 서열

상술된 바와 같이, 조성물은 재조합 핵산 서열을 포함할 수 있다. 재조합 핵산 서열은 항체, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합을 인코딩할 수 있다. 항체는 아래에 보다 상세히 기재된다.

재조합 핵산 서열은 이중성 핵산 서열일 수 있다. 재조합 핵산 서열에는 적어도 하나의 이중성 핵산 서열 또는 하나 이상의 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있다.

재조합 핵산 서열은 최적화된 핵산 서열일 수 있다. 이러한 최적화는 항체의 면역원성을 증가시키거나 변경할 수 있다. 최적화는 또한 전사 및/또는 번역을 개선할 수 있다. 최적화에는 하기 중 하나 이상이 포함될 수 있다: 전사를 증가시키기 위한 낮은 GC 함량의 리더 서열; mRNA 안정성 및 코돈 최적화; 증가된 번역을 위한 코작 서열(예로, GCC ACC)의 부가; 신호 펩티드를 인코딩하는 면역글로불린(Ig) 리더 서열의 부가; 및 시스-작용 서열 모티프(즉 내부 TATA 박스)가 작용 가능한 범위까지의 제거.

a. 재조합 핵산 서열 작제물

재조합 핵산 서열에는 하나 이상의 재조합 핵산 서열 작제물이 포함될 수 있다. 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 성분이 포함될 수 있고, 이는 아래에 보다 상세히 기재된다.

재조합 핵산 서열 작제물에는 중쇄 폴리펩티드, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합을 인코딩하는 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있다. 재조합 핵산 서열 작제물에는 경쇄 폴리펩티드, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합을 인코딩하는 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있다. 재조합 핵산 서열 작제물에는 또한 프로테

아제 또는 펩티다아제 절단 부위를 인코딩하는 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있다. 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 리더 서열이 포함될 수 있고, 여기서 각각의 리더 서열은 신호 펩티드를 인코딩한다. 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 프로모터, 하나 이상의 인트론, 하나 이상의 전사 종결 영역, 하나 이상의 개시 코돈, 하나 이상의 종결 또는 정지 코돈, 및/또는 하나 이상의 폴리아데닐화 신호가 포함될 수 있다. 재조합 핵산 서열 작제물에는 또한 하나 이상의 링커 또는 태그 서열이 포함될 수 있다. 태그 서열은 헤마글루티닌(HA) 태그를 인코딩할 수 있다.

[0149]

(1) 중쇄 폴리펩티드

[0150]

재조합 핵산 서열 작제물에는 중쇄 폴리펩티드, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합을 인코딩하는 이중성 핵산이 포함될 수 있다. 중쇄 폴리펩티드에는 가변 중쇄(VH) 영역 및/또는 적어도 하나의 불변 중쇄(CH) 영역이 포함될 수 있다. 적어도 하나의 불변 중쇄 영역에는 불변 중쇄 영역 1(CH1), 불변 중쇄 영역 2(CH2), 및 불변 중쇄 영역 3(CH3), 및/또는 힌지 영역이 포함될 수 있다.

[0151]

일부 구현예에서, 중쇄 폴리펩티드에는 VH 영역 및 CH1 영역이 포함될 수 있다. 다른 구현예에서, 중쇄 폴리펩티드에는 VH 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역, 및 CH3 영역이 포함될 수 있다.

[0152]

중쇄 폴리펩티드에는 상보성 결정 영역("CDR") 세트가 포함될 수 있다. CDR 세트는 VH 영역의 세 고가변 영역을 함유할 수 있다. 중쇄 폴리펩티드의 N-말단에서 시작하여, 이들 CDR은 각각 "CDR1", "CDR2", 및 "CDR3"으로 표시된다. 중쇄 폴리펩티드의 CDR1, CDR2, 및 CDR3은 항원의 결합 또는 인식에 기여할 수 있다.

[0153]

(2) 경쇄 폴리펩티드

[0154]

재조합 핵산 서열 작제물에는 경쇄 폴리펩티드, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합을 인코딩하는 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있다. 경쇄 폴리펩티드에는 가변 경쇄(VL) 영역 및/또는 불변 경쇄(CL) 영역이 포함될 수 있다.

[0155]

경쇄 폴리펩티드에는 상보성 결정 영역("CDR") 세트가 포함될 수 있다. CDR 세트는 VL 영역의 세 고가변 영역을 함유할 수 있다. 경쇄 폴리펩티드의 N-말단에서 시작하여, 이들 CDR은 각각 "CDR1", "CDR2", 및 "CDR3"으로 표시된다. 경쇄 폴리펩티드의 CDR1, CDR2, 및 CDR3은 항원의 결합 또는 인식에 기여할 수 있다.

[0156]

(3) 프로테아제 절단 부위

[0157]

재조합 핵산 서열 작제물에는 프로테아제 절단 부위를 인코딩하는 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있다. 프로테아제 절단 부위는 프로테아제 또는 펩티다아제에 의해 인식될 수 있다. 프로테아제는 엔도펩티다아제 또는 엔도 프로테아제, 예를 들어 비제한적으로 푸린, 엘라스타아제, HtrA, 칼파인, 트립신, 키모트립신, 트립신, 및 췌신일 수 있다. 프로테아제는 푸린일 수 있다. 다른 구현예에서, 프로테아제는 세린 프로테아제, 트레오닌 프로테아제, 시스테인 프로테아제, 아스파르테이트 프로테아제, 메탈로프로테아제, 글루탐산 프로테아제, 또는 내부 펩티드 결합을 절단하는(즉, N-말단 또는 C-말단 펩티드 결합을 절단하지 않는) 임의의 프로테아제일 수 있다.

[0158]

프로테아제 절단 부위에는 절단 효율을 촉진하거나 증가시키는 하나 이상의 아미노산 서열이 포함될 수 있다. 하나 이상의 아미노산 서열은 별도의 폴리펩티드를 형성 또는 생성하는 효율을 촉진하거나 증가시킬 수 있다. 하나 이상의 아미노산 서열에는 2A 펩티드 서열이 포함될 수 있다.

[0159]

(4) 링커 서열

[0160]

재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 링커 서열이 포함될 수 있다. 링커 서열은 본원에 기재된 하나 이상의 성분을 공간적으로 분리하거나 연결할 수 있다. 다른 구현예에서, 링커 서열은 두 개 이상의 폴리펩티드를 공간적으로 분리하거나 연결하는 아미노산 서열을 인코딩할 수 있다.

[0161]

(5) 프로모터

[0162]

재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 프로모터가 포함될 수 있다. 하나 이상의 프로모터는 유전자 발현을 유도하고 유전자 발현을 조절할 수 있는 임의의 프로모터일 수 있다. 이러한 프로모터는 DNA 의존적 RNA 폴리머라아제를 통해 전사에 필요한 시스-작용 서열 요소이다. 유전자 발현을 지시하기 위해 이용된 프로모터의 선택은 구체적 용도에 의존한다. 프로모터는 이것이 그 천연 설정에서 전사 개시 부위로부터 유래되므로, 재조합 핵산 서열 작제물에서 전사 개시로부터 대략 동일한 거리에 배치될 수 있다. 그러나 상기 거리의 변동이 프로모터의 기능의 손실 없이 수용될 수 있다.

- [0163] 프로모터는 중쇄 폴리펩티드 및/또는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 프로모터는 진핵 세포에서 발현에 효과적으로 나타난 프로모터일 수 있다. 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 프로모터는 CMV 프로모터, 원숭이 바이러스 40(SV40)에서 유래된 프로모터, 예컨대 SV40 초기 프로모터 및 SV40 후기 프로모터, 마우스 유방암 바이러스(MMTV) 프로모터, 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 프로모터, 예컨대 소 면역결핍 바이러스(BIV) 긴 말단 반복서열(LTR) 프로모터, 폴로니 바이러스 프로모터, 조류 백혈증 바이러스(ALV) 프로모터, 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터, 예컨대 CMV 최조기 프로모터, 엡스타인 바 바이러스(EBV) 프로모터, 또는 라우스 육종 바이러스(RSV) 프로모터일 수 있다. 프로모터는 또한 인간 유전자, 예컨대 인간 액틴, 인간 미오신, 인간 헤모글로빈, 인간 근육 크레아틴, 인간 폴리헤드린, 또는 인간 메탈로티오나인에서 유래된 프로모터일 수 있다.
- [0164] 프로모터는 항상적 프로모터 또는 숙주 세포가 일부 특정 외부 자극에 노출되는 경우에만 전사를 개시하는 유도 가능한 프로모터일 수 있다. 다세포 개체의 경우, 프로모터는 또한 특정 조직 또는 기관 또는 발달 단계에 특이적일 수 있다. 프로모터는 또한 천연 또는 합성의 조직 특이적 프로모터, 예컨대 근육 또는 피부 특이적 프로모터일 수 있다. 이러한 프로모터의 예는 미국 특허 출원 공개 번호 US20040175727에 기재되며, 그 내용은 전문이 본원에 도입된다.
- [0165] 프로모터는 인핸서와 연관될 수 있다. 인핸서는 코딩 서열의 상류에 배치될 수 있다. 인핸서는 인간 액틴, 인간 미오신, 인간 헤모글로빈, 인간 근육 크레아틴 또는 바이러스 인핸서, 예컨대 CMV, FMDV, RSV 또는 EBV 유래의 인핸서일 수 있다. 폴리뉴클레오티드 기능 증강은 미국 특허 번호 5,593,972, 5,962,428, 및 W094/016737에 기재되며, 각각의 내용은 전체가 참조로 도입된다.
- [0166] **(6)인트론**
- [0167] 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 인트론이 포함될 수 있다. 각각의 인트론에는 기능적 스플라이스 공여체 및 수신체 부위가 포함될 수 있다. 인트론에는 스플라이싱 인핸서가 포함될 수 있다. 인트론에는 효율적인 스플라이싱을 위해 필요한 하나 이상의 신호가 포함될 수 있다.
- [0168] **(7) 전사 종결 영역**
- [0169] 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 전사 종결 영역이 포함될 수 있다. 전사 종결 영역은 효율적인 종결을 제공하기 위해 코딩 서열의 하류일 수 있다. 전사 종결 영역은 상술된 프로모터와 동일한 유전자에서 수득될 수도 있고, 또는 하나 이상의 상이한 유전자에서 수득될 수도 있다.
- [0170] **(8) 개시 코돈**
- [0171] 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 개시 코돈이 포함될 수 있다. 개시 코돈은 코딩 서열의 상류에 배치될 수 있다. 개시 코돈은 코딩 서열과 같은 틀에 있을 수 있다. 개시 코돈은 효율적인 번역 개시를 위해 필요한 하나 이상의 신호, 예를 들어 비제한적으로 리보솜 결합 부위에 연합될 수 있다.
- [0172] **(9) 종결 코돈**
- [0173] 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 종결 또는 정지 코돈이 포함될 수 있다. 종결 코돈은 코딩 서열의 하류일 수 있다. 종결 코돈은 코딩 서열과 같은 틀에 있을 수 있다. 종결 코돈은 효율적인 번역 종결을 위해 필요한 하나 이상의 신호에 연합될 수 있다.
- [0174] **(10) 폴리아데닐화 신호**
- [0175] 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 폴리아데닐화 신호가 포함될 수 있다. 폴리아데닐화 신호에는 전사체의 효율적인 폴리아데닐화를 위해 필요한 하나 이상의 신호가 포함될 수 있다. 폴리아데닐화 신호는 코딩 서열의 하류에 배치될 수 있다. 폴리아데닐화 신호는 SV40 폴리아데닐화 신호, LTR 폴리아데닐화 신호, 소 성장 호르몬(bGH) 폴리아데닐화 신호, 인간 성장 호르몬(hGH) 폴리아데닐화 신호, 또는 인간 β -글로빈 폴리아데닐화 신호일 수 있다. SV40 폴리아데닐화 신호는 pCEP4 플라스미드(Invitrogen, San Diego, CA)로부터의 폴리아데닐화 신호일 수 있다.
- [0176] **(11) 리더 서열**
- [0177] 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 리더 서열이 포함될 수 있다. 리더 서열은 신호 펩티드를 인코딩할 수 있다. 신호 펩티드는 면역글로불린(Ig) 신호 펩티드, 예를 들어 비제한적으로 IgG 신호 펩티드 및 IgE 신호 펩티드일 수 있다. 일부 예에서, 리더 서열은 서열 식별 번호 65의 IgE 리더 IgE 리더 서열: atggactgga

cttgattct gttctgtgc gccgccgcaa ctgcgtgca tagc이며, 이는 서열 식별 번호 66의 단백질: Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val His Ser을 인코딩한다.

b. 재조합 핵산 서열 작제물의 배열

상술된 바와 같이, 재조합 핵산 서열에는 하나 이상의 재조합 핵산 서열 작제물이 포함될 수 있으며, 여기서 각각의 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 성분이 포함될 수 있다. 하나 이상의 성분이 상기에 상세히 기재된다. 재조합 핵산 서열 작제물에 포함되는 경우, 하나 이상의 성분은 서로에 대해 임의의 순서로 배열될 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 성분은 아래 기재된 바와 같이 재조합 핵산 서열 작제물에 배열될 수 있다.

(1) 배열 1

하나의 배열에서, 제1 재조합 핵산 서열 작제물에는 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있고, 제2 재조합 핵산 서열 작제물에는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있다.

제1 재조합 핵산 서열 작제물은 벡터에 배치될 수 있다. 제2 재조합 핵산 서열 작제물은 제2 또는 별도의 벡터에 배치될 수 있다. 재조합 핵산 서열 작제물의 벡터 내로의 배치는 아래에 보다 상세히 기재된다.

제1 재조합 핵산 서열 작제물에는 또한 프로모터, 인트론, 전사 종결 영역, 개시 코돈, 종결 코돈, 및/또는 폴리아데닐화 신호가 포함될 수 있다. 제1 재조합 핵산 서열 작제물에는 추가로 리더 서열이 포함될 수 있고, 여기서 리더 서열은 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열의 상류(또는 5')에 배치된다. 따라서 리더 서열에 의해 인코딩된 신호 펩티드는 중쇄 폴리펩티드에 펩티드 결합에 의해 연결될 수 있다.

제2 재조합 핵산 서열 작제물에는 또한 프로모터, 개시 코돈, 종결 코돈, 및 폴리아데닐화 신호가 포함될 수 있다. 제2 재조합 핵산 서열 작제물에는 추가로 리더 서열이 포함될 수 있고, 여기서 리더 서열은 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열의 상류(또는 5')에 배치된다. 따라서 리더 서열에 의해 인코딩된 신호 펩티드는 경쇄 폴리펩티드에 펩티드 결합에 의해 연결될 수 있다.

따라서 배열 1의 하나의 예에는 VH 및 CH1이 포함되는 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 제1 벡터(및 이에 따른 제1 재조합 핵산 서열 작제물), 및 VL 및 CL이 포함되는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 제2 벡터(및 이에 따른 제2 재조합 핵산 서열 작제물)가 포함될 수 있다. 배열 1의 제2 예에는 VH, CH1, 힌지 영역, CH2, 및 CH3이 포함되는 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 제1 벡터(및 이에 따른 제1 재조합 핵산 서열 작제물), 및 VL 및 CL이 포함되는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 제2 벡터(및 이에 따른 제2 재조합 핵산 서열 작제물)가 포함될 수 있다.

(2) 배열 2

제2 배열에서, 재조합 핵산 서열 작제물에는 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 및 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있다. 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열은 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열의 상류(또는 5')에 배치될 수 있다. 대안적으로, 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열은 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열의 상류(또는 5')에 배치될 수 있다.

재조합 핵산 서열 작제물은 아래에 보다 상세히 기재된 바와 같이 벡터에 배치될 수 있다.

재조합 핵산 서열 작제물에는 프로테아제 절단 부위 및/또는 링커 서열을 인코딩하는 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있다. 재조합 핵산 서열 작제물에 포함되는 경우, 프로테아제 절단 부위를 인코딩하는 이중성 핵산 서열은 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 및 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 간에 배치될 수 있다. 따라서 프로테아제 절단 부위는 발현 시 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드의 다른 폴리펩티드로의 분리를 허용한다. 다른 구현예에서, 링커 서열이 재조합 핵산 서열 작제물에 포함되는 경우, 링커 서열은 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 및 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 간에 배치될 수 있다.

재조합 핵산 서열 작제물에는 또한 프로모터, 인트론, 전사 종결 영역, 개시 코돈, 종결 코돈, 및/또는 폴리아데닐화 신호가 포함될 수 있다. 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 프로모터가 포함될 수 있다. 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나의 프로모터가 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열에 연관될 수 있고 제2 프로모터가 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열에 연관될 수 있도록 두 프로모터가 포함될 수 있다. 다른 구현예에서, 재조합 핵산 서열 작제물에는 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 및 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열에 연관된 하나의 프로모터가 포함될 수 있다.

- [0191] 재조합 핵산 서열 작제물에는 2개의 리더 서열이 추가로 포함될 수 있고, 여기서 제1 리더 서열은 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열의 상류(또는 5')에 배치되고 제2 리더 서열은 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열의 상류(또는 5')에 배치된다. 따라서 제1 리더 서열에 의해 인코딩된 제1 신호 펩티드가 중쇄 폴리펩티드에 펩티드 결합에 의해 연결될 수 있고, 제2 리더 서열에 의해 인코딩된 제2 신호 펩티드가 경쇄 폴리펩티드에 펩티드 결합에 의해 연결될 수 있다.
- [0192] 따라서 배열 2의 하나의 예에는 VH 및 CH1이 포함되는 중쇄 폴리펩티드 및 VL 및 CL이 포함되는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 벡터(및 이에 따른 재조합 핵산 서열 작제물)가 포함될 수 있고, 여기서 링커 서열은 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 및 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 간에 배치된다.
- [0193] 배열 2의 제2 예에는 VH 및 CH1이 포함되는 중쇄 폴리펩티드 및 VL 및 CL이 포함되는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 벡터(및 이에 따른 재조합 핵산 서열 작제물)가 포함될 수 있고, 여기서 프로테아제 절단 부위를 인코딩하는 이중성 핵산 서열은 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 및 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 간에 배치된다.
- [0194] 배열 2의 제3 예에는 VH, CH1, 힌지 영역, CH2, 및 CH3이 포함되는 중쇄 폴리펩티드 및 VL 및 CL이 포함되는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 벡터(및 이에 따른 재조합 핵산 서열 작제물)가 포함될 수 있고, 여기서 링커 서열은 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 및 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 간에 배치된다.
- [0195] 배열 2의 제4 예에는 VH, CH1, 힌지 영역, CH2, 및 CH3이 포함되는 중쇄 폴리펩티드 및 VL 및 CL이 포함되는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 벡터(및 이에 따른 재조합 핵산 서열 작제물)가 포함될 수 있고, 여기서 프로테아제 절단 부위를 인코딩하는 이중성 핵산 서열은 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 및 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 간에 배치된다.
- [0196] **c. 재조합 핵산 서열 작제물로부터의 발현**
- [0197] 상술된 바와 같이, 재조합 핵산 서열 작제물에는 하나 이상의 성분 가운데, 중쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열 및/또는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 이중성 핵산 서열이 포함될 수 있다. 따라서 재조합 핵산 서열 작제물은 중쇄 폴리펩티드 및/또는 경쇄 폴리펩티드의 발현을 촉진할 수 있다.
- [0198] 상술된 바와 같은 배열 1이 이용되는 경우, 제1 재조합 핵산 서열 작제물은 중쇄 폴리펩티드의 발현을 촉진할 수 있고, 제2 재조합 핵산 서열 작제물은 경쇄 폴리펩티드의 발현을 촉진할 수 있다. 상술된 바와 같은 배열 2가 이용되는 경우, 재조합 핵산 서열 작제물은 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드의 발현을 촉진할 수 있다.
- [0199] 예를 들어 비제한적으로 세포, 개체 또는 포유류에서의 발현 시, 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드는 합성 항체로 조립될 수 있다. 특히, 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드는 조립으로 항원에 결합할 수 있는 합성 항체가 생성되도록 서로 상호작용할 수 있다. 다른 구현예에서, 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드는 조립으로 본원에 기재된 바와 같이 조립되지 않은 항체에 비해 더 면역원성이 높은 합성 항체를 생성하도록 서로 상호작용할 수 있다. 다른 구현예에서, 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드는 조립으로 항원에 대해 면역 반응을 야기하거나 유도할 수 있는 합성 항체를 생성하도록 서로 상호작용할 수 있다.
- [0200] **d. 벡터**
- [0201] 상술된 재조합 핵산 서열 작제물은 하나 이상의 벡터에 배치될 수 있다. 하나 이상의 벡터는 복제 기원을 함유할 수 있다. 하나 이상의 벡터는 플라스미드, 박테리오파지, 박테리아 인공 염색체 또는 효모 인공 염색체일 수 있다. 하나 이상의 벡터는 자가 복제 염색체의 벡터, 또는 숙주 계능 내로 통합되는 벡터일 수 있다.
- [0202] 하나 이상의 벡터는 이중성 발현 작제물일 수 있고, 이는 일반적으로 표적 세포 내로 특정 유전자를 도입하기 위해 이용되는 플라스미드이다. 일단 발현 벡터가 세포 내로 들어가면, 재조합 핵산 서열 작제물에 의해 인코딩되는 중쇄 폴리펩티드 및/또는 경쇄 폴리펩티드가 세포-전사 및 번역 기전 리보솜 복합체에 의해 생성된다. 하나 이상의 벡터는 다량의 안정한 메신저 RNA, 그리고 이에 따라 단백질을 발현할 수 있다.
- [0203] **(1) 발현 벡터**
- [0204] 하나 이상의 벡터는 원형 플라스미드 또는 선형 핵산일 수 있다. 원형 플라스미드 및 선형 핵산은 적절한 대상체 세포에서 특정 뉴클레오타이드 서열의 발현을 지시할 수 있다. 재조합 핵산 서열 작제물을 포함하는 하나 이상의 벡터는 키메라일 수 있다, 즉 그 성분의 적어도 하나가 그 다른 성분의 적어도 하나에 대해 이중성이다.

[0205]

(2) 플라스미드

[0206]

하나 이상의 벡터는 플라스미드일 수 있다. 플라스미드는 재조합 핵산 서열 작제물로 세포를 전달감염하기 위해 유용할 수 있다. 플라스미드는 대상체 내로 재조합 핵산 서열 작제물을 도입하기 위해 유용할 수 있다. 플라스미드는 또한 조절 서열을 포함할 수 있고, 이는 플라스미드가 투여되는 세포에서 유전자 발현에 매우 적합할 수 있다.

[0207]

플라스미드는 또한 염색체외로 플라스미드를 유지하고 세포에서 복수의 플라스미드 사본을 생산하기 위해 포유류 복제 기원을 포함할 수 있다. 플라스미드는 Invitrogen(San Diego, CA)의 pVAX1, pCEP4 또는 pREP4일 수 있고, 이는 엠스타인 바 바이러스 복제 기원 및 핵 항원 EBNA-1 코딩 영역을 포함할 수 있고, 이는 통합 없이 고사본 에피솜 복제를 생산할 수 있다. 플라스미드 골격은 pAV0242일 수 있다. 플라스미드는 복제 결합 아데노바이러스 유형 5(Ad5) 플라스미드일 수 있다.

[0208]

플라스미드는 pSE420(Invitrogen, San Diego, Calif.)일 수 있고, 이는 대장균(E.coli)에서 단백질을 생산을 위해 이용될 수 있다. 플라스미드는 또한 pYES2(Invitrogen, San Diego, Calif.)일 수 있으며, 이는 효모의 사카로마이세스 세레비시에 균주에서 단백질을 생산을 위해 이용될 수 있다. 플라스미드는 또한 MAXBAC™ 완전 배콜로 바이러스 발현 시스템(Invitrogen, San Diego, Calif.)일 수 있고, 이는 곤충 세포에서 단백질을 생산을 위해 이용될 수 있다. 플라스미드는 또한 pcDNA1 또는 pcDNA3(Invitrogen, San Diego, Calif.)일 수 있고, 이는 포유류 세포, 예컨대 중국 햄스터 난소(CHO) 세포에서 단백질을 생산을 위해 이용될 수 있다.

[0209]

(3) 원형 및 선형 벡터

[0210]

하나 이상의 벡터는 원형 플라스미드일 수 있고, 이는 세포 게놈 내로의 통합에 의해 표적 세포를 형질전환시키거나 염색체외(예로 복제 기원이 있는 자가 복제 플라스미드)로 존재할 수 있다. 벡터는 pVAX, pcDNA3.0, 또는 provax, 또는 재조합 핵산 서열 작제물에 의해 인코딩된 중쇄 폴리펩티드 및/또는 경쇄 폴리펩티드를 발현할 수 있는 임의의 다른 발현 벡터일 수 있다.

[0211]

또한 선형 핵산, 또는 선형 발현 카세트("LEC")가 본원에 제공되며, 이는 전기천공을 통해 대상체에 효율적으로 전달되고 핵산 서열 작제물에 의해 인코딩된 중쇄 폴리펩티드 및/또는 경쇄 폴리펩티드를 발현할 수 있다. LEC는 임의의 인산염 골격이 없는 임의의 선형 DNA일 수 있다. LEC는 임의의 항생제 내성 유전자 및/또는 인산염 골격을 함유하지 않을 수 있다. LEC는 원하는 유전자 발현에 관련되지 않은 다른 핵산 서열을 함유하지 않을 수 있다.

[0212]

LEC는 선형화될 수 있는 임의의 플라스미드에서 유래될 수 있다. 플라스미드는 재조합 핵산 서열 작제물에 의해 인코딩된 중쇄 폴리펩티드 및/또는 경쇄 폴리펩티드를 발현할 수 있다. 플라스미드는 pNP(Puerto Rico/34) 또는 pM2(New Caledonia/99)일 수 있다. 플라스미드는 WLV009, pVAX, pcDNA3.0, 또는 provax, 또는 재조합 핵산 서열 작제물에 의해 인코딩된 중쇄 폴리펩티드 및/또는 경쇄 폴리펩티드를 발현할 수 있는 임의의 다른 발현 벡터일 수 있다.

[0213]

LEC는 pcrM2일 수 있다. LEC는 pcrNP일 수 있다. pcrNP 및 pcrMR은 각각 pNP(Puerto Rico/34) 및 pM2(New Caledonia/99)에서 유래될 수 있다.

[0214]

(4) 벡터의 제조 방법

[0215]

재조합 핵산 서열 작제물이 배치된 하나 이상의 벡터의 제조 방법이 본원에 제공된다. 최종 서브클로닝 단계 후, 벡터는 당분야에 공지된 방법을 이용하여 대규모 발효 탱크에서 세포 배양에 접종하기 위해 이용될 수 있다.

[0216]

다른 구현예에서, 최종 서브클로닝 단계 후, 벡터는 하나 이상의 전기천공(EP) 장치와 함께 이용될 수 있다. EP 장치는 아래에 보다 상세히 기재된다.

[0217]

하나 이상의 벡터는 공지된 장치 및 기법의 조합을 이용하여 제형화되거나 제조될 수 있지만, 바람직하게는 2007. 5. 23.에 출원된, 라이선스 받고 공동 계류중인 미국 가출원 미국 일련 번호 60/939,792에 기재된 플라스미드 제조 기법을 이용하여 제조된다. 일부 예에서, 본원에 기재된 DNA 플라스미드는 10mg/mL 이상의 농도로 제형화될 수 있다. 제조 기법에는 또한 미국 일련 번호 60/939,792에 기재된 것에 더하여, 2007. 7. 3.에 허여된 라이선스 받은 특허, 미국 특허 번호 7,238,522에 기재된 것들을 포함하는 당업자에게 일반적으로 공지된 다양한 장치 및 프로토콜이 포함되거나 도입된다. 상기-참조된 출원 및 특허, 미국 일련 번호 60/939,792 및 미국

특허 번호 7,238,522는 각각 이들의 전문이 본원에 도입된다.

4. 항체

상술된 바와 같이, 재조합 핵산 서열은 항체, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합을 인코딩할 수 있다. 항체는 항원에 결합하거나 이와 반응할 수 있고, 이는 아래에 보다 상세히 기재된다.

항체는 CDR에 대한 지지를 제공하고 서로에 대해 CDR의 공간적 관계를 정의하는 중쇄 및 경쇄 틀("FR") 세트 사이에 각각 배치된 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 영역("CDR") 세트를 포함할 수 있다. CDR 세트는 중쇄 또는 경쇄 V 영역의 세 고가변 영역을 함유할 수 있다. 중쇄 또는 경쇄의 N-말단에서 시작하여, 이들 영역은 각각 "CDR1", "CDR2" 및 "CDR3"으로 표시된다. 따라서 항원-결합 부위에는 중쇄 또는 경쇄 V 영역 각각으로부터의 CDR 세트를 포함하는 6개의 CDR이 포함될 수 있다.

단백분해 효소 파파인은 우선적으로 IgG 분자를 절단하여 몇몇 단편을 생성하며, 그 중 둘(F(ab) 단편)은 각각 온전한 항원-결합 부위가 포함되는 공유 이중이량체를 포함한다. 효소 펩신은 IgG 분자를 절단하여 F(ab')₂ 단편을 포함하는 몇몇 단편을 제공할 수 있고, 이는 두 항원-결합 부위를 모두 포함한다. 따라서 항체는 Fab 또는 F(ab')₂일 수 있다. Fab에는 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드가 포함될 수 있다. Fab의 중쇄 폴리펩티드에는 VH 영역 및 CH1 영역이 포함될 수 있다. Fab의 경쇄에는 VL 영역 및 CL 영역이 포함될 수 있다.

항체는 면역글로불린(Ig)일 수 있다. Ig는, 예를 들어 IgA, IgM, IgD, IgE, 및 IgG일 수 있다. 면역글로불린에는 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드가 포함될 수 있다. 면역글로불린의 중쇄 폴리펩티드에는 VH 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역, 및 CH3 영역이 포함될 수 있다. 면역글로불린의 경쇄 폴리펩티드에는 VL 영역 및 CL 영역이 포함될 수 있다.

항체는 폴리클로날 또는 모노클로날 항체일 수 있다. 항체는 키메라 항체, 단일쇄 항체, 친화도 성숙된 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 또는 완전 인간 항체일 수 있다. 인간화된 항체는 비인간 종으로부터의 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR) 및 인간 면역글로불린 분자로부터의 틀 영역을 갖고 원하는 항원에 결합하는 비인간 종으로부터의 항체일 수 있다.

5. 항원

합성 항체는 항원 또는 그의 단편 또는 변이체에 대한 것이다. 항원은 핵산 서열, 아미노산 서열, 또는 이들의 조합일 수 있다. 핵산 서열은 DNA, RNA, cDNA, 이들의 변이체, 그의 단편, 또는 이들의 조합일 수 있다. 아미노산 서열은 단백질, 펩티드, 이들의 변이체, 그의 단편, 또는 이들의 조합일 수 있다.

항원은 임의의 수의 개체, 예를 들어 바이러스, 기생충, 박테리아, 진균, 또는 포유류에서 유래될 수 있다. 항원은 자가면역 질환, 알러지, 또는 천식에 연관될 수 있다. 다른 구현예에서, 항원은 암, 헤르페스, 독감, B형 간염, C형 간염, 인간 유두종 바이러스(HPV), 또는 인간 면역결핍 바이러스(HIV)에 연관될 수 있다.

일부 구현예에서, 항원은 외래의 것이다. 일부 구현예에서, 항원은 자가-항원이다.

a. 외래 항원

일부 구현예에서, 항원은 외래의 것이다. 외래 항원은, 체내로 도입되는 경우 면역 반응을 자극할 수 있는 임의의 비-자가 물질(즉, 대상체 외부에서 유래됨)이다.

(1) 바이러스 항원

외래 항원은 바이러스 항원, 또는 그의 단편, 또는 이들의 변이체일 수 있다. 바이러스 항원은 하기 패밀리 중 하나로부터의 바이러스에서 유래될 수 있다: 아데노바이러스과(Adenoviridae), 아레나바이러스과(Arenaviridae), 부나바이러스과(Bunyaviridae), 칼리시바이러스과(Caliciviridae), 코로나바이러스과(Coronaviridae), 필로바이러스과(Filoviridae), 헤파드나바이러스과(Hepadnaviridae), 헤르페스바이러스과(Herpesviridae), 오르소믹소바이러스과(Orthomyxoviridae), 파포바이러스과(Papovaviridae), 파라믹소바이러스과(Paramyxoviridae), 파르보바이러스과(Parvoviridae), 피코나바이러스과(Picornaviridae), 포스바이러스과(Poxviridae), 레오바이러스과(Reoviridae), 레트로바이러스과(Retroviridae), 랭도바이러스과(Rhabdoviridae), 또는 토가바이러스과(Togaviridae). 바이러스 항원은 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 치쿤군야 바이러스(CHIKV), 뎅기열 바이러스, 유두종 바이러스, 예를 들어 인간 유두종 바이러스(HPV), 폴리오 바이러스, 간염 바이러스, 예를 들어 A형 간염 바이러스(HAV), B형 간염 바이러스(HBV), C형 간염 바이러스(HCV), D형 간

염 바이러스(HDV), 및 E형 간염 바이러스(HEV), 천연두 바이러스(바리올라 메이지 및 마이너), 백시니아 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 리노바이러스, 말 뇌염 바이러스, 루벨라 바이러스, 황열 바이러스, 노워크 바이러스, A형 간염 바이러스, 인간 T-세포 백혈병 바이러스(HTLV-I), 털세포 백혈병 바이러스(HTLV-II), 캘리포니아 뇌염 바이러스, 한타 바이러스(출혈열), 광견병 바이러스, 에볼라열 바이러스, 마르부르크 바이러스, 홍역 바이러스, 볼거리 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스(RSV), 단순 헤르페스 1(구강 헤르페스), 단순 헤르페스 2(생식기 헤르페스), 헤르페스 조스터(바리셀라-조스터, 수두로도 알려짐), 사이토메갈로바이러스(CMV), 예를 들어 인간 CMV, 엡스타인-바 바이러스(EBV), 플라비바이러스, 구제역 질환 바이러스, 라사 바이러스, 아레나 바이러스, 또는 암 유발 바이러스에서 유래될 수 있다.

[0232] (a) 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 항원

[0233] 바이러스 항원은 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 바이러스에서 유래될 수 있다. 일부 구현예에서, HIV 항원은 서브타입 A 외피 단백질, 서브타입 B 외피 단백질, 서브타입 C 외피 단백질, 서브타입 D 외피 단백질, 서브타입 B Nef-Rev 단백질, Gag 서브타입 A, B, C, 또는 D 단백질, MPol 단백질, Env A, Env B, Env C, Env D, B Nef-Rev, Gag의 핵산 또는 아미노산 서열, 또는 임의의 이들의 조합일 수 있다.

[0234] HIV에 특이적인 합성 항체에는 서열 식별 번호 3의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 48의 아미노산 서열 및 서열 식별 번호 4의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 Fab 단편이 포함될 수 있다. 합성 항체는 서열 식별 번호 6의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 46의 아미노산 서열 및 서열 식별 번호 7의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 47의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. Fab 단편은 서열 식별 번호 50의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 51의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. Fab는 서열 식별 번호 52의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 53의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0235] HIV에 특이적인 합성 항체에는 서열 식별 번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 Ig가 포함될 수 있다. Ig는 서열 식별 번호 62의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 1의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. Ig는 서열 식별 번호 63의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. Ig는 서열 식별 번호 54의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 55의 아미노산 서열, 및 서열 식별 번호 56의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 57의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0236] (b) 치쿤군야 바이러스

[0237] 바이러스 항원은 치쿤군야 바이러스에서 유래될 수 있다. 치쿤군야 바이러스는 토가바이러스과의 알파바이러스 속에 속한다. 치쿤군야 바이러스는 *아에테스(Aedes)*속과 같은 감염된 모기가 물어서 인간으로 전파된다.

[0238] CHIKV에 특이적인 합성 항체에는 서열 식별 번호 58의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 59의 아미노산 서열, 및 서열 식별 번호 60의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 Fab 단편이 포함될 수 있다.

[0239] (c) 뎅기 바이러스

[0240] 바이러스 항원은 뎅기 바이러스 유래일 수 있다. 뎅기 바이러스 항원은 바이러스 입자를 형성하는 3가지 단백질 또는 폴리펩티드(C, prM, 및 E) 중 하나일 수 있다. 뎅기 바이러스 항원은 바이러스 복제에 관여되는 7가지 다른 단백질 또는 폴리펩티드(NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, NS5) 중 하나일 수 있다. 뎅기 바이러스는 DENV-1, DENV-2, DENV-3 및 DENV-4를 포함하는 바이러스의 5가지 계통 또는 혈청형 중 하나일 수 있다. 항원은 복수의 뎅기 바이러스 항원의 임의 조합일 수 있다.

[0241] 뎅기 바이러스에 특이적인 합성 항체에는 서열 식별 번호 44의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 Ig가 포함될 수 있다.

[0242] (d) 간염 항원

[0243] 바이러스 항원에는 간염 바이러스 항원(즉, 간염 항원), 또는 그의 단편, 또는 이들의 변이체가 포함될 수 있다. 간염 항원은 A형 간염 바이러스(HAV), B형 간염 바이러스(HBV), C형 간염 바이러스(HCV), D형 간염 바이러스(HDV), 및/또는 E형 간염 바이러스(HEV) 중 하나 이상으로부터의 항원 또는 면역원일 수 있다.

[0244] 간염 항원은 HAV로부터의 항원일 수 있다. 간염 항원은 HAV 캡시드 단백질, HAV 비구조 단백질, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합일 수 있다.

- [0245] 간염 항원은 HCV로부터의 항원일 수 있다. 간염 항원은 HCV 핵캡시드 단백질(즉, 핵심 단백질), HCV 외피 단백질(예로, E1 및 E2), HCV 비구조 단백질(예로, NS1, NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a, 및 NS5b), 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [0246] 간염 항원은 HDV로부터의 항원일 수 있다. 간염 항원은 HDV 델타 항원, 그의 단편, 또는 이들의 변이체일 수 있다.
- [0247] 간염 항원은 HEV로부터의 항원일 수 있다. 간염 항원은 HEV 캡시드 단백질, 그의 단편, 또는 이들의 변이체일 수 있다.
- [0248] 간염 항원은 HBV로부터의 항원일 수 있다. 간염 항원은 HBV 핵심 단백질, HBV 표면 단백질, HBV DNA 폴리머라아제, 유전자 X에 의해 인코딩된 HBV 단백질, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합일 수 있다. 간염 항원은 HBV 유전형 A 핵심 단백질, HBV 유전형 B 핵심 단백질, HBV 유전형 C 핵심 단백질, HBV 유전형 D 핵심 단백질, HBV 유전형 E 핵심 단백질, HBV 유전형 F 핵심 단백질, HBV 유전형 G 핵심 단백질, HBV 유전형 H 핵심 단백질, HBV 유전형 A 표면 단백질, HBV 유전형 B 표면 단백질, HBV 유전형 C 표면 단백질, HBV 유전형 D 표면 단백질, HBV 유전형 E 표면 단백질, HBV 유전형 F 표면 단백질, HBV 유전형 G 표면 단백질, HBV 유전형 H 표면 단백질, 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [0249] 일부 구현예에서, 간염 항원은 HBV 유전형 A, HBV 유전형 B, HBV 유전형 C, HBV 유전형 D, HBV 유전형 E, HBV 유전형 F, HBV 유전형 G, 또는 HBV 유전형 H로부터의 항원일 수 있다.
- [0250] **(e) 인간 유두종 바이러스(HPV) 항원**
- [0251] 바이러스 항원은 HPV로부터의 항원을 포함할 수 있다. HPV 항원은 자궁경부암, 직장암, 및/또는 다른 암을 유도하는 HPV 유형 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 및 58에서 유래될 수 있다. HPV 항원은 생식기 사마귀를 유도하며 두부암 및 경부암의 원인으로 알려져 있는 HPV 유형 6 및 11에서 유래될 수 있다.
- [0252] HPV 항원은 각각의 HPV 유형으로부터의 HPV E6 또는 E7 도메인일 수 있다. 예를 들어 HPV 유형 16(HPV16)에 있어서, HPV16 항원에는 HPV16 E6 항원, HPV16 E7 항원, 단편, 변이체, 또는 이들의 조합이 포함될 수 있다. 유사하게는, HPV 항원은 HPV 6 E6 및/또는 E7, HPV 11 E6 및/또는 E7, HPV 18 E6 및/또는 E7, HPV 31 E6 및/또는 E7, HPV 33 E6 및/또는 E7, HPV 52 E6 및/또는 E7, 또는 HPV 58 E6 및/또는 E7, 그의 단편, 변이체, 또는 조합일 수 있다.
- [0253] **(f) RSV 항원**
- [0254] 바이러스 항원은 RSV 항원을 포함할 수 있다. RSV 항원은 인간 RSV 융합 단백질(본원에서 "RSV F", "RSV F 단백질" 및 "F 단백질"로도 불림), 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 인간 RSV 융합 단백질은 RSV 서브타입 A 및 B 간에 보존될 수 있다. RSV 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23994.1)의 RSV F 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 RSV A2 계통(GenBank AAB59858.1)의 RSV F 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 RSV F 단백질의 단량체, 이량체, 또는 삼량체, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다.
- [0255] RSV F 단백질은 융합-전 형태 또는 융합-후 형태일 수 있다. RSV F의 융합-후 형태는 면역화된 동물에서 높은 역가의 중화 항체를 생성하고 동물을 RSV 유발접종으로부터 보호한다.
- [0256] RSV 항원은 또한 인간 RSV 부착 당단백질(본원에서 "RSV G", "RSV G 단백질" 및 "G 단백질"로도 불림), 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 인간 RSV G 단백질은 RSV 서브타입 A 및 B 간에 상이하다. 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23993)으로부터의 RSV G 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 RSV 서브타입 B 단리체 H5601, RSV 서브타입 B 단리체 H1068, RSV 서브타입 B 단리체 H5598, RSV 서브타입 B 단리체 H1123으로부터의 RSV G 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다.
- [0257] 다른 구현예에서, RSV 항원은 인간 RSV 비구조 단백질 1("NS1 단백질"), 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 예를 들어, RSV 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23987.1)으로부터의 RSV NS1 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 인간 RSV 항원은 또한 RSV 비구조 단백질 2("NS2 단백질"), 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 예를 들어, RSV 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23988.1)으로부터의 RSV NS2 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 추가로 인간 RSV 핵캡시드("N") 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 예를 들어, RSV 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23989.1)으로부터의 RSV N 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 인간 RSV 인단백질("P") 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다.

다. 예를 들어, RSV 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23990.1)으로부터의 RSV P 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 또한 인간 RSV 기질 단백질("M") 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 예를 들어, RSV 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23991.1)으로부터의 RSV M 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다.

[0258] 또 다른 구현예에서, RSV 항원은 인간 RSV 작은 소수성("SH") 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 예를 들어, RSV 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23992.1)으로부터의 RSV SH 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 또한 인간 RSV 기질 단백질2-1("M2-1") 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 예를 들어, RSV 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23995.1)으로부터의 RSV M2-1 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 추가로 인간 RSV 기질 단백질 2-2("M2-2") 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 예를 들어, RSV 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23997.1)으로부터의 RSV M2-2 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 인간 RSV 항원은 RSV 폴리머라아제 L("L") 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 예를 들어, RSV 항원은 RSV Long 계통(GenBank AAX23996.1)으로부터의 RSV L 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다.

[0259] 추가 구현예에서, RSV 항원은 NS1, NS2, N, P, M, SH, M2-1, M2-2, 또는 L 단백질의 최적화된 아미노산 서열을 가질 수 있다. RSV 항원은 인간 RSV 단백질 또는 재조합 항원, 예컨대 인간 RSV 계놈에 의해 인코딩된 단백질 중 임의의 하나일 수 있다.

[0260] 다른 구현예에서, RSV 항원은 비제한적으로 RSV Long 계통으로부터의 RSV F 단백질, RSV Long 계통으로부터의 RSV G 단백질, 최적화된 아미노산 RSV G 아미노산 서열, RSV Long 계통의 인간 RSV 계놈, 최적화된 아미노산 RSV F 아미노산 서열, RSV Long 계통으로부터의 RSV NS1 단백질, RSV Long 계통으로부터의 RSV NS2 단백질, RSV Long 계통으로부터의 RSV N 단백질, RSV Long 계통으로부터의 RSV P 단백질, RSV Long 계통으로부터의 RSV M 단백질, RSV Long 계통으로부터의 RSV SH 단백질, RSV Long 계통으로부터의 RSV M2-1 단백질, RSV Long 계통으로부터의 RSV M2-2 단백질, RSV Long 계통으로부터의 RSV L 단백질, RSV 서브타입 B 단리체 H5601로부터의 RSV G 단백질, RSV 서브타입 B 단리체 H1068로부터의 RSV G 단백질, RSV 서브타입 B 단리체 H5598로부터의 RSV G 단백질, RSV 서브타입 B 단리체 H1123으로부터의 RSV G 단백질, 또는 그의 단편, 또는 이들의 변이체일 수 있다.

[0261] (g) 인플루엔자 항원

[0262] 바이러스 항원은 인플루엔자 바이러스로부터의 항원을 포함할 수 있다. 인플루엔자 항원은 하나 이상의 인플루엔자 혈청형에 대해 포유류에서 면역 반응을 일으킬 수 있는 것들이다. 항원은 전장 번역 산물 HA0, 서브유닛 HA1, 서브유닛 HA2, 이들의 변이체, 그의 단편 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 인플루엔자 헤마글루티닌 항원은 여러 계통의 인플루엔자 A 혈청형 H1, 혈청형 H2, 여러 계통의 인플루엔자 A 혈청형 H1의 상이한 세트로부터 유래되거나 여러 계통의 인플루엔자 B로부터 유래된 하이브리드 서열로부터 유래될 수 있다. 인플루엔자 헤마글루티닌 항원은 인플루엔자 B로부터 유래될 수 있다.

[0263] 인플루엔자 항원은 또한 면역 반응이 유도될 수 있는 특정 인플루엔자 면역원에 대해 효과적일 수 있는 적어도 하나의 항원성 에피토프를 함유할 수 있다. 항원은 온전한 인플루엔자 바이러스에 존재하는 면역원성 부위 및 에피토프의 전체 레퍼토리를 제공할 수 있다. 항원은 한 혈청형의 복수의 인플루엔자 A 바이러스 계통, 예컨대 혈청형 H1 또는 혈청형 H2의 복수의 인플루엔자 A 바이러스 계통으로부터의 헤마글루티닌 항원 서열에서 유래될 수 있다. 항원은 두 상이한 헤마글루티닌 항원 서열 또는 이들의 일부의 조합으로부터 유래되는 하이브리드 헤마글루티닌 항원 서열일 수 있다. 각각의 두 상이한 헤마글루티닌 항원 서열은 한 혈청형의 복수의 인플루엔자 A 바이러스 계통, 예컨대 혈청형 H1의 복수의 인플루엔자 A 바이러스 계통의 상이한 세트로부터 유래될 수 있다. 항원은 복수의 인플루엔자 B 바이러스 계통으로부터의 헤마글루티닌 항원 서열에서 유래된 헤마글루티닌 항원 서열일 수 있다.

[0264] 일부 구현예에서, 인플루엔자 항원은 H1 HA, H2 HA, H3 HA, H5 HA, 또는 BHA 항원일 수 있다.

[0265] (h) 에볼라 바이러스

[0266] 바이러스 항원은 에볼라 바이러스에서 유래될 수 있다. 에볼라 바이러스 질환(EVD) 또는 에볼라 출혈열(EHF)에는 분디부고 바이러스(BDBV), 에볼라 바이러스(EBOV), 수단 바이러스(SUDV), 및 타이 숲 바이러스(TAFV, 또한 코트디부아르 에볼라 바이러스(아이보리 해안 에볼라바이러스, CIEBOV)로도 불림)를 포함하는 5가지 공지된 에볼라 바이러스 중 임의의 4가지가 포함된다.

[0267]

(2) 박테리아 항원

[0268]

외래 항원은 박테리아 항원 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 박테리아는 하기 문 중 임의 하나에서 유래될 수 있다: 아시도박테리아, 액티노박테리아, 아쿠이피케, 박테로이데티스, 칼디세리카, 클라미디아, 클로로비, 클로로플렉시, 크리시오제네티스, 시아노박테리아, 데페리박테리스, 다이노코커스-썬무스, 덕티오글로미, 엘루시마이크로비아, 파이브로박테리스, 피미큐티스, 푸소박테리아, 켈마티모나데티스, 렌티스페레, 니트로스피라, 플랑크토마이세티스, 프로테오박테리아, 스피로케테스, 시너지스테티스, 테네리큐티스, 썬모데셀포박테리아, 썬모토개 및 베루코마이크로비아.

[0269]

박테리아는 그람 양성 박테리아 또는 그람 음성 박테리아일 수 있다. 박테리아는 호기성 박테리아 또는 혐기성 박테리아일 수 있다. 박테리아는 자력영양 박테리아 또는 종속영양 박테리아일 수 있다. 박테리아는 중온균, 중성친화균, 극한서식균, 호산균, 호염기균, 호열균, 한냉균, 호염균, 또는 호삼투균일 수 있다.

[0270]

박테리아는 탄저병 박테리아, 항생제 내성 박테리아, 질환 유도 박테리아, 식중독 박테리아, 감염성 박테리아, 살모넬라 박테리아, 스탕필로코커스 박테리아, 스트렙토코커스 박테리아, 또는 파상풍 박테리아일 수 있다. 박테리아는 미코박테리아, 클로스트리디움 테타니(*Clostridium tetani*), 예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*), 바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*), 메티실린 내성 스탕필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*(MRSA)), 또는 클로스트리디움 디피실(*Clostridium difficile*)일 수 있다. 박테리아는 미코박테리아 투베르쿨로시스(*Mycobacteria tuberculosis*)일 수 있다.

[0271]

(a) 미코박테리아 투베르쿨로시스 항원

[0272]

박테리아 항원은 미코박테리아 투베르쿨로시스(*Mycobacteria tuberculosis*) 항원(즉, TB 항원 또는 TB 면역원), 또는 그의 단편, 또는 이들의 변이체일 수 있다. TB 항원은 TB 항원의 Ag85 패밀리, 예를 들어 Ag85A 및 Ag85B에서 유래될 수 있다. TB 항원은 TB 항원의 Esx 패밀리, 예를 들어 EsxA, EsxB, EsxC, EsxD, EsxE, EsxF, EsxH, EsxO, EsxQ, EsxR, EsxS, EsxT, EsxU, EsxV, 및 EsxW에서 유래될 수 있다.

[0273]

(3) 기생충 항원

[0274]

외래 항원은 기생충 항원 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 기생충은 원충, 연충, 또는 외부기생충일 수 있다. 연충(즉, 벌레)은 편형충(예로, 흡충 및 촌충), 구두충, 또는 회충(예로, 요충)일 수 있다. 외부기생충은 이, 벼룩, 진드기 및 응애류 진드기(mite)일 수 있다.

[0275]

기생충은 하기 질환 중 임의 하나를 유도하는 임의의 기생충일 수 있다: 가시아메바 각막염, 아메바증, 회충증, 바베스열원충증, 대장섬모충증, 아메리카너구리회충증, 샤가스 질환, 간흡충증, 코클리옴이아 호미니보락스, 와포자충증, 긴촌충증, 용선충증, 포충증, 꼬끼리피부병, 요충증, 간질증, 비대흡충증, 사상충증, 편모충증, 턱구충증, 왜소조충증, 포자충증, 카타야마열, 리슈만편모충증, 라임 질환, 말라리아, 요코가와흡충증, 구더기증, 회선사상충증, 이감염증, 옴, 주혈흡충증, 수면병, 분선충증, 조충증, 개회충증, 톡소포자충증, 손모충증, 및 편충증.

[0276]

기생충은 아칸스아메바, 고래회충, 아스카리스 룬브리코이데스(*Ascaris lumbricoides*), 쇠파리, 발란티디움 콜라이(*Balantidium coli*), 빈대, 세스토다(촌충), 양충, 코클리옴이아 호미니보락스(*Cochliomyia hominivorax*), 엔트아메바 히스톨리티카, 파시올라 헤파티카(*Fasciola hepatica*), 기아디아 람블리아(*Giardia lamblia*), 구충, 리슈만편모충증, 링구아툴라 세라타(*Linguatula serrata*), 간흡충, 로아 사상충, 폐흡충속-폐흡충, 요충, 플라스모디움 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*), 주혈흡충속, 스트롱길로이데스 스테르코칼리스(*Strongyloides stercoralis*), 응애류 진드기, 촌충, 톡소플라즈마 곤디(*Toxoplasma gondii*), 파동편모충, 편충, 또는 부체레리아 반크로프티(*Wuchereria bancrofti*)일 수 있다.

[0277]

(a) 말라리아 항원

[0278]

외래 항원은 말라리아 항원(즉, PF 항원 또는 PF 면역원), 또는 그의 단편, 또는 이들의 변이체일 수 있다. 항원은 말라리아를 유도하는 기생충에서 유래될 수 있다. 말라리아 유도 기생충은 플라스모디움 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*)일 수 있다. 플라스모디움 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*) 항원에는 포자소체(CS)항원이 포함될 수 있다.

[0279]

일부 구현예에서, 말라리아 항원은 P. 팔시파룸 면역원 CS; LSA1; TRAP; CelTOS; 및 Ama1 중 하나일 수 있다. 면역원은 전장 또는 전장 단백질의 면역원성 단편일 수 있다.

[0280] 다른 구현예에서, 말라리아 항원은 SSP2로도 불리는 TRAP일 수 있다. 다른 구현예에서, 말라리아 항원은 Ag2로도 불리며 고도로 보존된 플라스모디움 항원인 CelTOS일 수 있다. 추가 구현예에서, 말라리아 항원은 고도로 보존된 플라스모디움 항원인 Ama1일 수 있다. 일부 구현예에서, 말라리아 항원은 CS 항원일 수 있다.

[0281] 다른 구현예에서, 말라리아 항원은 본원에 나타난 PF 단백질의 둘 이상의 조합을 포함하는 융합 단백질일 수 있다. 예를 들어, 융합 단백질은 서로 직접 인접하여 연결되거나 그 사이에 스페이서 또는 하나 이상의 아미노산으로 연결된 CS 면역원, ConLSA1 면역원, ConTRAP 면역원, ConCelTOS 면역원, 및 ConAma1 면역원 중 둘 이상을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 2개의 PF 면역원을 포함한다; 일부 구현예에서 융합 단백질은 3개의 PF 면역원을 포함하며, 일부 구현예에서 융합 단백질은 4개의 PF 면역원을 포함하고, 일부 구현예에서 융합 단백질은 5개의 PF 면역원을 포함한다. 2개의 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 하기를 포함할 수 있다: CS 및 LSA1; CS 및 TRAP; CS 및 CelTOS; CS 및 Ama1; LSA1 및 TRAP; LSA1 및 CelTOS; LSA1 및 Ama1; TRAP 및 CelTOS; TRAP 및 Ama1; 또는 CelTOS 및 Ama1. 3개의 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 하기를 포함할 수 있다: CS, LSA1 및 TRAP; CS, LSA1 및 CelTOS; CS, LSA1 및 Ama1; LSA1, TRAP 및 CelTOS; LSA1, TRAP 및 Ama1; 또는 TRAP, CelTOS 및 Ama1. 4개의 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 하기를 포함할 수 있다: CS, LSA1, TRAP 및 CelTOS; CS, LSA1, TRAP 및 Ama1; CS, LSA1, CelTOS 및 Ama1; CS, TRAP, CelTOS 및 Ama1; 또는 LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1. 5개의 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1을 포함할 수 있다.

[0282] (4) 진균 항원

[0283] 외래 항원은 진균 항원 또는 그의 단편 또는 변이체일 수 있다. 진균은 아스페르길러스 종, 블라스토마이세스 더마티티디스(*Blastomyces dermatitidis*), 칸디다(*Candida*) 효모(예로, 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*)), 코키디오이데스(*Coccidioides*), 크립토코커스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*), 크립토코커스 가티이(*Cryptococcus gattii*), 피부사상균, 푸사리움(*Fusarium*)종, 히스토플라스마 캡슐라툼(*Histoplasma capsulatum*), 뮤코로마이코티나(*Mucoromycotina*), 뉴모시스티스 지로베시이(*Pneumocystis jirovecii*), 스포로트릭스 슈켄케이(*Sporothrix schenckii*), 엑세로hilum(*Exserohilum*), 또는 클라스포리움(*Cladosporium*) 일 수 있다.

[0284] b. 자가 항원

[0285] 일부 구현예에서, 항원은 자가 항원이다. 자가 항원은 면역 반응을 자극할 수 있는 대상체 자신의 몸의 구성성분일 수 있다. 일부 구현예에서, 자가 항원은 대상체가 질환 상태, 예로 자가면역 질환에 있지 않는 한, 면역 반응을 유발하지 않는다.

[0286] 자가 항원에는 비제한적으로 시토키인, 바이러스, 예컨대 HIV 및 뎅기를 포함하여 상술된 것들에 대한 항체, 암 진행 또는 발생에 영향을 미치는 항원, 및 세포 표면 수용체 또는 막통과 단백질이 포함될 수 있다.

[0287] (1) WT-1

[0288] 자가-항원 항원은 윌름 종양 억제인자 유전자 1(WT1), 그의 단편, 이들의 변이체, 또는 이들의 조합일 수 있다. WT1은 N-말단에 프롤린/글루타민-풍부 DNA-결합 도메인을, 그리고 C-말단에 4개의 아연 핑거 모티프를 함유하는 전사 인자이다. WT1은 비노생식계의 정상 발달에서 역할을 수행하며, 여러 인자, 예를 들어 공지된 종양 억제인자인 p53 및 세포독성 약물의 처리 후 여러 부위에서 WT1을 절단하는 세린 프로테아제 HtrA2와 상호작용한다. WT1의 돌연변이는 종양 또는 암 형성, 예를 들어 윌름 종양 또는 WT1을 발현하는 종양을 야기할 수 있다.

[0289] (2) EGFR

[0290] 자가-항원에는 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 또는 그의 단편 또는 변이체가 포함될 수 있다. EGFR(ErbB-1 및 HER1로도 불림)은 세포의 단백질 리간드의 표피 성장 인자 패밀리의 구성원에 대한 세포-표면 수용체이다. EGFR은 ErbB 수용체 패밀리의 구성원이며, 여기에는 4가지 밀접하게 관련된 수용체 티로신 키나아제가 포함된다: EGFR(ErbB-1), HER2/c-neu(ErbB-2), Her 3(ErbB-3), 및 Her 4(ErbB-4). EGFR 발현 또는 활성화에 영향을 미치는 돌연변이는 암을 일으킬 수 있다.

[0291] 항원에는 ErbB-2 항원이 포함될 수 있다. ErbB-2(인간 표피 성장 인자 수용체 2)는 Neu, HER2, CD340(분화 클러스터 340), 또는 p185로도 알려져 있고, ERBB2 유전자에 의해 인코딩된다. 상기 유전자의 증폭 또는 과발현은 특정한 공격적 유형의 유방암의 발생 및 진행에 역할을 담당하는 것으로 나타났다. 유방암 여성의 대략 25-30%에서, ERBB2 유전자에 유전적 변형이 일어나서 종양 세포 표면 상에 증가된 양의 HER2 생성을 유도한다. 이

러한 HER2의 과발현은 신속한 세포 분열을 촉진하고, 이에 따라 HER2는 종양 세포를 표시한다.

[0292] HER2에 특이적인 합성 항체에는 서열 식별 번호 40의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 41의 아미노산 서열, 및 서열 식별 번호 42의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 43의 아미노산 서열을 포함하는 Fab 단편이 포함될 수 있다.

[0293] **(3) 코카인**

[0294] 자가-항원은 코카인 수용체 항원일 수 있다. 코카인 수용체에는 도파민 수용체가 포함된다.

[0295] **(4) PD-1**

[0296] 자가-항원에는 프로그래밍된 사멸 1(PD-1)이 포함될 수 있다. 프로그래밍된 사멸 1(PD-1) 및 그 리간드, PD-L1 및 PD-L2는 T 세포 활성화, 내성 및 면역병리 간 균형을 조절하는 저해 신호를 전달한다. PD-1은 세포의 IgV 도메인에 이어 막통과 영역 및 세포내 꼬리를 포함하는 288개 아미노산의 세포 표면 단백질 분자이다.

[0297] **(5) 4-1BB**

[0298] 자가-항원에는 4-1BB 리간드가 포함될 수 있다. 4-1BB 리간드는 TNF 슈퍼패밀리에 속하는 유형 2 막통과 당단백질이다. 4-1BB 리간드는 활성화된 T 림프구 상에서 발현될 수 있다. 4-1BB는 활성화-유도된 T-세포 공-자극 분자이다. 4-1BB를 통한 신호전달은 생존 유전자를 상향조절하고, 세포 분열을 증강시키고, 시토카인 생산을 유도하고, T 세포에서 활성화-유도된 세포사를 예방한다.

[0299] **(6) CTLA4**

[0300] 자가-항원에는 CD152(분화 클러스터 152)로도 알려져 있는 CTLA-4(세포독성 T-림프구 항원 4)가 포함될 수 있다. CTLA-4는 T 세포 표면 상에서 발견되는 단백질 수용체로, 항원 상에서 세포성 면역 공격을 일으킨다. 항원은 CTLA-4의 단편, 예컨대 세포의 V 도메인, 막통과 도메인, 및 세포질 꼬리, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0301] **(7) IL-6**

[0302] 자가-항원에는 인터류킨 6(IL-6)이 포함될 수 있다. IL-6은 비제한적으로 당뇨병, 죽상경화, 우울증, 알츠하이머 질환, 전신성 홍반성 루푸스, 다중 골수종, 암, 베체트 질환 및 류마티스성 관절염을 포함하는 여러 질환에서 염증 및 자가-면역 절차를 자극한다.

[0303] **(8) MCP-1**

[0304] 자가-항원에는 단핵구 화학주성 단백질-1(MCP-1)이 포함될 수 있다. MCP-1은 케모카인(C-C 모티프) 리간드 2(CCL2) 또는 작은 유도 가능한 시토카인 A2로도 불린다. MCP-1은 CC 케모카인 패밀리에 속하는 시토카인이다. MCP-1은 조직 부상 또는 감염에 의해 생산되는 염증 부위로 단핵구, 메모리 T 세포 및 수지상 세포를 모집한다.

[0305] **(9) 아밀로이드 베타**

[0306] 자가-항원에는 아밀로이드 베타(Aβ) 또는 그의 단편 또는 변이체가 포함될 수 있다. Aβ 항원은 Aβ(X-Y) 펩티드를 포함할 수 있고, 여기서 인간 서열 Aβ 단백질의 아미노산 위치 X부터 아미노산 Y까지의 아미노산 서열은 X 및 Y 둘 다, 특히 아미노산 서열

DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIATVIVI

(아미노산 위치 1 내지 47에 대응;

인간 조희 서열)의 아미노산 위치 X부터 아미노산 Y까지의 아미노산 서열 또는 이들의 변이체를 포함한다. Aβ 항원은 Aβ(X-Y) 폴리펩티드의 Aβ 폴리펩티드를 포함할 수 있고, 여기서 X는 1, 2, 3, 4, 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, 또는 32일 수 있고, Y는 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 또는 15일 수 있다. Aβ 폴리펩티드는 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 21, 적어도 22, 적어도 23, 적어도 24, 적어도 25, 적어도 30, 적어도 35, 적어도 36, 적어도 37, 적어도 38, 적어도 39, 적어도 40, 적어도 41, 적어도 42, 적어도 43, 적어도 44, 적어도 45, 또는 적어도 46 아미노산인 단편을 포함할 수 있다.

[0307] **(10) IP-10**

[0308] 자가-항원에는 인터페론(IFN)-감마-유도된 단백질 10(IP-10)이 포함될 수 있다. IP-10은 작은-유도 가능한 시토카인 B10 또는 C-X-C 모티프 케모카인 10(CXCL10)으로도 알려져 있다. CXCL10은 IFN-γ에 반응하여 몇몇 세포

유형, 예컨대 단핵구, 내피 세포 및 섬유아세포에 의해 분비된다.

(11) PSMA

자가-항원에는 전립선-특이적 막 항원(PSMA)이 포함될 수 있다. PSMA는 글루타메이트 카르복시펩티다아제 II(GCPII), N-아세틸-L-아스파르트-L-글루타메이트 펩티다아제 I(NALADase I), NAAG 펩티다아제, 또는 폴레이트 가수분해효소(FOLH)로도 알려져 있다. PSMA는 전립선암 세포에 의해 고도 발현되는 통합 막 단백질이다.

c. 다른 항원

일부 구현예에서, 항원은 외래 항원 및/또는 자가-항원 이외의 항원이다.

(a) HIV-1 VRC01

다른 항원은 HIV-1 VRC01일 수 있다. HIV-1 VRC01은 HIV에 대한 중화 CD4-결합 부위-항체이다. HIV-1 VRC01은 HIV-1의 gp120 루프 D, CD4 결합 루프, 및 V5 영역 내를 포함하는 HIV-1의 부분들과 접촉한다.

(b) HIV-1 PG9

다른 항원은 HIV-1 PG9일 수 있다. HIV-1 PG9는 HIV(HIV-1) 외피(Env) 당단백질(gp) 삼량체에 우선적으로 결합하고 바이러스를 광범위하게 중화시키는 글리칸-의존적 인간 항체의 확장된 패밀리의 시조 구성원이다.

(c) HIV-1 4E10

다른 항원은 HIV-1 4E10일 수 있다. HIV-1 4E10은 중화 항-HIV 항체이다. HIV-1 4E10은 gp41 외-도메인의 C 말단에 위치하는 HIV-1의 막-근처 외부 영역(MPER)에 맵핑된 선형 에피토프에 대한 것이다.

(d) DV-SF1

다른 항원은 DV-SF1일 수 있다. DV-SF1은 4가지 뎡기 바이러스 혈청형의 외피 단백질에 결합하는 중화 항체이다.

(e) DV-SF2

다른 항원은 DV-SF2일 수 있다. DV-SF2는 뎡기 바이러스의 에피토프에 결합하는 중화 항체이다. DV-SF2는 DENV4 혈청형에 특이적일 수 있다.

(f) DV-SF3

다른 항원은 DV-SF3일 수 있다. DV-SF3은 뎡기 바이러스 외피 단백질의 EDIII A 가닥에 결합하는 중화 항체이다.

6. 조성물의 부형제 및 다른 성분

조성물은 약학적으로 허용 가능한 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 부형제는 기능적 분자, 예컨대 운반체, 담체, 또는 희석제일 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 부형제는 전달감염 촉진 제제일 수 있고, 여기에는 표면 활성 제제, 예컨대 면역 자극 복합체(ISCMS), 프로인트 불완전 보강제, LPS 유사체, 예컨대 모노포스포릴 지질 A, 무라밀 펩티드, 퀴논 유사체, 소포체, 예컨대 스쿠알렌 및 스쿠알렌, 히알루론산, 지질, 리포솜, 칼슘 이온, 바이러스 단백질, 다중 음이온, 다중 양이온, 또는 나노입자, 또는 다른 공지된 전달 감염 촉진 제제가 포함될 수 있다.

전달감염 촉진 제제는 다중 음이온, 다중 양이온, 예컨대 폴리-L-글루타메이트(LGS), 또는 지질이다. 전달감염 촉진 제제는 폴리-L-글루타메이트이고, 폴리-L-글루타메이트는 6mg/ml 미만의 농도로 조성물에 존재할 수 있다. 전달감염 촉진 제제에는 또한 표면 활성 제제, 예컨대 면역-자극 복합체(ISCMS), 프로인트 불완전 보강제, LPS 유사체, 예컨대 모노포스포릴 지질 A, 무라밀 펩티드, 퀴논 유사체 및 소포체, 예컨대 스쿠알렌 및 스쿠알렌이 포함될 수 있고, 히알루론산이 또한 조성물과 함께 투여되어 이용될 수 있다. 조성물에는 또한 전달감염 촉진 제제, 예컨대 지질, 리포솜, 예컨대 레시틴 리포솜 또는 당분야에 공지된 다른 리포솜, 예컨대 DNA-리포솜 혼합물(예를 들어 WO9324640 참고), 칼슘 이온, 바이러스 단백질, 다중 음이온, 다중 양이온, 또는 나노입자, 또는 다른 공지된 전달감염 촉진 제제가 포함될 수 있다. 전달감염 촉진 제제는 다중 음이온, 다중 양이온, 예컨대 폴리-L-글루타메이트(LGS), 또는 지질이다. 백신 중 전달감염 제제의 농도는 4mg/ml 미만, 2mg/ml 미만, 1mg/ml 미만, 0.750mg/ml 미만, 0.500mg/ml 미만, 0.250mg/ml 미만, 0.100mg/ml 미만, 0.050mg/ml 미만, 또는 0.010mg/ml 미만이다.

- [0328] 조성물은 전문이 참조로 도입되는 1994. 4. 1.에 출원된 미국 일련 번호 021,579에 기재된 바와 같은 유전적 촉진 제제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0329] 조성물은 약 1나노그램 내지 100밀리그램; 약 1마이크로그램 내지 약 10밀리그램; 또는 바람직하게는 약 0.1마이크로그램 내지 약 10밀리그램; 또는 보다 바람직하게는 약 1밀리그램 내지 약 2밀리그램인 양으로 DNA를 포함할 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 약 5나노그램 내지 약 1000마이크로그램의 DNA를 포함한다. 일부 바람직한 구현예에서, 조성물은 약 10나노그램 내지 약 800마이크로그램의 DNA를 함유할 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 조성물은 약 0.1 내지 약 500마이크로그램의 DNA를 함유할 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 조성물은 약 1 내지 약 350마이크로그램의 DNA를 함유할 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 조성물은 약 25 내지 약 250마이크로그램, 약 100 내지 약 200마이크로그램, 약 1나노그램 내지 100밀리그램; 약 1마이크로그램 내지 약 10밀리그램; 약 0.1마이크로그램 내지 약 10밀리그램; 약 1밀리그램 내지 약 2밀리그램, 약 5나노그램 내지 약 1000마이크로그램, 약 10나노그램 내지 약 800마이크로그램, 약 0.1 내지 약 500마이크로그램, 약 1 내지 약 350마이크로그램, 약 25 내지 약 250마이크로그램, 약 100 내지 약 200마이크로그램의 DNA를 함유할 수 있다.
- [0330] 조성물은 사용될 투여 경로에 따라 제형화될 수 있다. 주사 가능한 약학 조성물은 멸균이며, 발열원이 없고 입자가 없을 수 있다. 등장성 제형물 또는 용액이 이용될 수 있다. 등장성을 위한 첨가제에는 나트륨 클로라이드, 텍스트로스, 만니톨, 소르비톨, 및 락토오스가 포함될 수 있다. 조성물은 혈관수축 제제를 포함할 수 있다. 등장성 용액에는 인산염 완충 식염수가 포함될 수 있다. 조성물은 젤라틴 및 알부민을 포함하는 안정화제를 추가로 포함할 수 있다. LGS 또는 다중 양이온 또는 다중 음이온을 포함하는 안정화제는 제형이 연장된 시기 동안 실온 또는 상온에서 안정하도록 할 수 있다.
- [0331] **7. 합성 항체의 생성 방법**
- [0332] 본 발명은 또한 합성 항체의 생성 방법에 대한 것이다. 방법에는 아래에 보다 상세히 기재된 전달 방법을 이용함으로써 이를 필요로 하는 대상체에 조성물을 투여하는 단계가 포함될 수 있다. 따라서 합성 항체는 대상체에 대한 조성물의 투여 시 생체 내 또는 대상체에서 생성된다.
- [0333] 방법에는 또한 하나 이상의 세포 내로 조성물을 투여하는 단계가 포함될 수 있고, 이에 따라 합성 항체는 하나 이상의 세포에서 생성되거나 생산될 수 있다. 방법에는 하나 이상의 조직, 예를 들어 비제한적으로 피부 및 근육 내로 조성물을 도입하는 단계를 추가로 포함할 수 있고, 이에 따라 합성 항체는 하나 이상의 조직에서 생성되거나 생산될 수 있다.
- [0334] **8. 항체에 대한 확인 또는 스크리닝 방법**
- [0335] 본 발명은 추가로 상술된 항원에 반응성이거나 이에 결합하는 상술된 항체의 확인 또는 스크리닝 방법에 관한 것이다. 항체의 확인 또는 스크리닝 방법은 항체를 확인하거나 스크리닝하기 위해 당분야 숙련가에게 공지된 방법론으로 항원을 이용할 수 있다. 이러한 방법론에는 비제한적으로 라이브러리(예로 파지 디스플레이)로부터의 항체 선택 및 동물의 면역화 이후 항체의 단리 및/또는 정제가 포함될 수 있다. 이용 가능한 방법은, 예를 들어 본원에 그 전문이 도입된 [Rajan, S., and Sidhu, S., Methods in Enzymology, vol 502, Chapter One "Simplified Synthetic Antibody Libraries(2012)"]에서 참고하라.
- [0336] **9. 조성물의 전달 방법**
- [0337] 본 발명은 또한 이를 필요로 하는 대상체에 조성물을 전달하는 방법에 관한 것이다. 전달 방법에는 대상체에 조성물을 투여하는 단계가 포함될 수 있다. 투여에는 비제한적으로 생체 내 전기천공을 포함하는 및 포함하지 않는 DNA 주입, 리포좀 매개된 전달 및 나노입자 촉진된 전달이 포함될 수 있다.
- [0338] 조성물 전달을 수신하는 포유류는 인간, 영장류, 비인간 영장류, 젖소, 육우, 양, 염소, 영양, 유립들소, 물소, 유립들소, 소과, 사슴, 고슴도치, 코끼리, 라마, 알파카, 마우스, 랫트 및 닭일 수 있다.
- [0339] 조성물은 경구, 비경구, 설하, 경피, 직장, 경점막, 국소, 흡입을 통해, 협측 투여를 통해, 흉막내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 피하, 근육내, 비강내 경막내, 및 관절내 또는 이들의 조합을 포함하는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다. 수의학적 용도를 위해, 조성물은 정상적인 수의학적 관례에 따라 적합하게 허용 가능한 제형으로 투여될 수 있다. 수의사는 특정 동물에 가장 적절한 투여 방식 및 투여 경로를 쉽게 결정할 수 있다. 조성물은 전통적인 주사기, 무바늘 주입 장치, "마이크로돌출형 폭탄 곤 건", 또는 다른 물리적 방법, 예컨대 전기천공("EP"), "수력학적 방법", 또는 초음파에 의해 투여될 수 있다.

[0340]

a. 전기천공

[0341]

전기천공을 통한 조성물의 투여는 가역적 구멍을 세포막에 형성하기 위해 효과적인 에너지 자극을 원하는 포유류 조직으로 전달하도록 배치될 수 있는 전기천공 장치를 이용해서 달성될 수 있고, 바람직한 에너지 자극은 사용자에게 의해 사전 설정된 전류 입력과 유사한 정전류이다. 전기천공 장치는 전기천공 성분 및 전극 어셈블리 또는 핸들 어셈블리를 포함한다. 전기천공 성분에는 하기를 포함하는 전기천공 장치의 다양한 요소의 하나 이상이 포함되고 도입될 수 있다: 컨트롤러, 전류 파형 생성기, 임피던스 평가기, 파형 로거, 입력 요소, 상태 보고 요소, 커뮤니케이션 포트, 메모리 성분, 전원 및 전력 스위치. 전기천공은 플라스미드에 의한 세포의 전달감염을 촉진하기 위해, 생체 내 전기천공 장치, 예를 들어 CELLECTRA EP 시스템(VGX Pharmaceuticals, Blue Bell, PA) 또는 Elgen 전기천공기(Genetronics, San Diego, CA)를 이용해서 달성될 수 있다.

[0342]

전기천공 성분은 전기천공 장치의 하나의 요소로 기능할 수 있고, 다른 요소가 전기천공 성분과 커뮤니케이션하는 별도의 요소(또는 성분)이다. 전기천공 성분은 전기천공 장치의 둘 이상의 요소로 기능할 수 있고, 이는 전기천공 성분과 별도의 전기천공 장치의 다른 요소와 여전히 커뮤니케이션할 수 있다. 하나의 전기기계적 또는 기계적 장치의 일부로 존재하는 전기천공 장치의 요소는 요소가 하나의 장치로 또는 서로 커뮤니케이션하는 별도의 요소로서 기능할 수 있는 것으로 제한되지 않을 수 있다. 전기천공 성분은 원하는 조직에서 정전류를 생성하는 에너지 자극을 전달할 수 있고, 피드백 기전이 포함된다. 전극 어셈블리에는 복수 전극을 공간적 배열로 갖는 전극 어레이가 포함될 수 있고, 여기서 전극 어셈블리는 전기천공 성분으로부터 에너지 자극을 수신하고, 이를 전극을 통해 원하는 조직으로 전달한다. 적어도 하나의 복수 전극은 에너지 자극의 전달 동안 중성이고, 원하는 조직에서 임피던스를 측정하고 전기천공 성분으로 임피던스를 커뮤니케이션한다. 피드백 기전은 측정된 임피던스를 수신할 수 있고, 정전류를 유지하기 위해 전기천공 성분에 의해 전달된 에너지 자극을 조정할 수 있다.

[0343]

복수의 전극은 분산된 패턴으로 에너지 자극을 전달할 수 있다. 복수의 전극은 프로그래밍된 순서로 전극 제어를 통해 분산된 패턴으로 에너지 자극을 전달할 수 있고, 프로그래밍된 순서는 전기천공 성분으로 사용자에게 의해 입력된다. 프로그래밍된 순서는 순서대로 전달된 복수의 자극을 포함할 수 있고, 여기서 복수 자극의 각각의 자극은 임피던스를 측정하는 하나의 중성 전극을 갖는 적어도 2개의 활성 전극에 의해 전달되며, 복수 자극의 후속 자극은 임피던스를 측정하는 하나의 중성 전극을 갖는 적어도 2개의 활성 전극 중 다른 것에 의해 전달된다.

[0344]

피드백 기전은 하드웨어 또는 소프트웨어에 의해 수행될 수 있다. 피드백 기전은 아날로그 펄스-루프 회로에 의해 수행될 수 있다. 피드백은 $50\mu s$, $20\mu s$, $10\mu s$ 또는 $1\mu s$ 마다 일어나지만, 바람직하게는 실시간 피드백이거나 순간적이다(즉, 반응 시간을 결정하기 위해 이용 가능한 기법에 의해 결정되는 바에 따라 실질적으로 순간적임). 중성 전극은 원하는 조직에서 임피던스를 측정하고 피드백 기전으로 임피던스를 커뮤니케이션할 수 있고, 피드백 기전은 임피던스에 반응하여 정전류를 사전 설정된 전류와 유사한 값으로 유지하기 위해 에너지 자극을 조정한다. 피드백 기전은 에너지 자극의 전달 동안 연속적으로 및 순간적으로 정전류를 유지할 수 있다.

[0345]

본 발명의 조성물 전달을 촉진할 수 있는 전기천공 장치 및 전기천공 방법의 예에는 그 내용의 전문이 본원에 참조로 도입된 미국 특허 번호 7,245,963(Draghia-Akli et al.), 미국 특허 공보 2005/0052630(Smith et al.)에 기재된 것들이 포함된다. 조성물의 전달을 촉진하기 위해 이용될 수 있는 다른 전기천공 장치 및 전기천공 방법에는 2006. 10. 17.에 출원된 미국 가출원 일련 번호 60/852,149 및 2007. 10. 10.에 출원된 60/978,982에 대해 35 USC 119(e) 하에 이익을 청구하는, 2007. 10. 17.에 출원된 공동 계류중이고 공동 소유된 미국 특허 출원 일련 번호 11/874072에 제공된 것들이 포함되며, 모두 본원에 이들의 전문이 도입된다.

[0346]

미국 특허 번호 7,245,963(Draghia-Akli et al.)은 체내 또는 식물에서 선택된 조직 세포 내 생체분자의 도입을 촉진하기 위한 모듈형 전극 시스템 및 이들의 용도를 기재한다. 모듈형 전극 시스템은 복수의 바늘 전극; 피하 바늘; 프로그래밍 가능한 정전류 자극 컨트롤러로부터 복수의 바늘 전극으로 전도성 링크를 제공하는 전기 커넥터; 및 전원을 포함할 수 있다. 운영은 지지 구조 상에 실장된 복수의 바늘 전극을 쥐고 이들을 체내 또는 식물에서 선택된 조직 내로 단단히 삽입할 수 있다. 이어서 생체분자는 피하 바늘을 통해 선택된 조직 내로 전달된다. 프로그래밍 가능한 정전류 자극 컨트롤러가 활성화되며 정전류 전기 자극이 복수의 바늘 전극에 적용된다. 적용된 정전류 전기 자극은 복수의 전극 간에서 세포 내로 생체분자의 도입을 촉진한다. 미국 특허 번호 7,245,963의 전체 내용이 본원에 참조로 도입된다.

[0347]

미국 특허 공보 2005/0052630(Smith, et al.)은 체내 또는 식물에서 선택된 조직 세포 내로 생체분자의 도입을 효과적으로 촉진하기 위해 이용될 수 있는 전기천공 장치를 기재한다. 전기천공 장치는 그 작동이 소프트웨어

또는 펌웨어에 의해 특정되는 전기-역학 장치("EKD 장치")를 포함한다. EKD 장치는 자극 파라미터의 입력 및 사용자 제어에 기반하여 어레이 내 전극 간에 일련의 프로그래밍 가능한 정전류 자극 패턴을 생성하며, 전류 파형 데이터의 저장 및 획득을 허용한다. 전기천공 장치는 또한 바늘 전극 어레이, 주입 바늘을 위한 중심 주입 채널, 및 제거 가능한 가이드 디스크를 갖는 대체 가능한 전극 디스크를 포함한다. 미국 특허 공보 2005/0052630의 전체 내용이 본원에 참조로 도입된다.

[0348] 미국 특허 번호 7,245,963 및 미국 특허 공보 2005/0052630에 기재된 전극 어레이 및 방법은 근육과 같은 조직 뿐만 아니라 다른 조직 또는 기관 내로의 심부 침투를 위해 채택될 수 있다. 전극 어레이의 구조로 인해, 주입 바늘(선택한 생체분자의 전달을 위한)도 표적 기관 내로 완전 삽입되고, 주입은 전극에 의해 사전-서술된 영역에서 해당 표적에 수직으로 투여된다. 미국 특허 번호 7,245,963 및 미국 특허 공보 2005/0052630에 기재된 전극은 바람직하게는 20mm 길이 및 21개이지이다.

[0349] 추가적으로, 전기천공 장치 및 이들의 용도를 도입하는 일부 구현예에, 하기 특허에 기재된 것들인 전기천공 장치가 고려된다: 1993. 12. 28.에 허여된 미국 특허 5,273,525, 2000. 8. 29.에 허여된 미국 특허 6,110,161, 2001. 7. 17.에 허여된 6,261,281, 및 2005. 10. 25.에 허여된 6,958,060, 및 2005. 9. 6.에 허여된 미국 특허 6,939,862. 또한, 임의의 다양한 장치를 이용한 DNA 전달에 관한 2004. 2. 24.에 허여된 미국 특허 6,697,669, 및 DNA의 주입 방법에 대한 2008. 2. 5.에 허여된 미국 특허 7,328,064에서 제공된 요지를 포괄하는 특허가 본원에서 고려된다. 상기-특허는 이들의 전문이 참조로 도입된다.

[0350] 10. 치료 방법

[0351] 또한 대상체에서 합성 항체를 생성함으로써 이를 필요로 하는 대상체에서 질환의 치료, 보호 및/또는 예방 방법이 본원에 제공된다. 방법에는 대상체에 대한 조성물의 투여 단계가 포함될 수 있다. 대상체에 대한 조성물의 투여는 상술된 전달 방법을 이용하여 수행될 수 있다.

[0352] 대상체에서 합성 항체의 생성 시, 합성 항체는 항원에 결합하거나 이와 반응할 수 있다. 이러한 결합은 항원을 중화시키거나, 다른 분자, 예를 들어 단백질 또는 핵산에 의한 항원의 인식을 차단하거나, 항원에 대한 면역 반응을 야기 또는 유도하여 대상체에서 항원에 연관된 질환을 치료, 보호 및/또는 예방할 수 있다.

[0353] 조성물 용량은 $1\mu\text{g}$ 내지 10mg의 활성 성분/체중kg/시간일 수 있고, $20\mu\text{g}$ 내지 10mg 성분/체중kg/시간일 수 있다. 조성물은 1, 2, 3, 4, 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, 또는 31일마다 투여될 수 있다. 효과적인 치료를 위한 조성물 투여 횟수는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10일 수 있다.

[0354] 하나의 치료 방법에서, 합성 항체, 또는 이들의 기능적 단편은 바이러스 또는 박테리아, 또는 암성 세포인지와 무관하게, 감염에 대해 치료를 필요로 하는 대상체에 투여될 수 있다. 본원에 기재된 합성 항체의 투여는 생체 내 발현 시 신체의 이환 영역에서 스스로를 신속히 제시하고 표적(결합하고, 바람직하게는 중화하도록 설계된 것)에 대해 중화 반응을 일으킬 수 있는 기능적 항체를 제공할 수 있다. 상기 신속한 제시는 다소 신속하고/하거나 기존 메모리 면역성을 갖지 않는 개인에서 질환 병리를 위해 중요할 수 있다. 감염된 대상체에 대해 신속한 중화가 중요한 일부 구체 사례는 열대 질환, 예컨대 뎅기, 치쿤군야 및 에볼라에서이다. 이러한 감염은 바이러스로의 감염 순간부터 신속한 중화를 필요로 한다. 실시예 5 및 도 6a 및 6b는 기재된 방법으로 생성된 발현 작제물을 이용한 항체의 신속한 생성을 나타낸다. 도 6a는 플라스미드 DNA 작제물 투여 1일 내에 항체가 발현됨을 나타낸다; 반면 도 6b에서는 단백질/항원의 투여가 약 8일에 항체 발현을 일으킨다.

[0355] 상기 치료 방법은 단독일 수도 있고, 또는 표적에 대해 숙주 면역 반응을 생성하기 위해 대상체를 유도할 항원을 이용한 일반 백신접종과 조합될 수도 있다. 조합 백신은 의도된 표적에 대해 2상 면역반응의 이익을 제공할 것이다: 1) 합성 항체, 및 이들의 기능적 단편을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열에 의해 제공되는 첫 번째 신속 반응, 및 2) 숙주가 표적에 대해 그 자신의 면역 반응을 일으킬 수 있을 때까지의 지체 기간을 가질 전통적 백신(DNA 백신 또는 합성 면역원이 포함될 수 있음)에 의해 유발되는 두 번째 숙주 면역 반응.

[0356] 본 발명은 하기 비제한적 실시예에 의해 예시되는 여러 측면을 갖는다.

[0357] 11. 실시예

[0358] 본 발명이 하기 실시예에서 추가로 예시된다. 이들 실시예는 본 발명의 바람직한 구현예를 나타내는 반면, 단지 예로서 주어짐이 이해되어야 한다. 상기 논의 및 이들 실시예로부터, 당분야 숙련가는 본 발명의 본질적 특징을 확인할 수 있고, 이들의 요지 및 범위에서 벗어나지 않고 다양한 이용 및 조건에 이를 채택하기 위해 본 발명의

다양한 변화 및 개질을 수행할 수 있다. 따라서 본원에 나타내고 기재된 것들에 부가하여 본 발명의 다양한 개질이 상기 기재로부터 당분야 숙련가에게 자명할 것이다. 이러한 개질은 또한 첨부된 특허청구범위의 범위 내에 속하는 것이다.

[0359] 실시예 1

생체 내 면역글로불린(Ig) 생성을 위한 고발현 시스템을 구축하였다. 특히 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄 폴리펩티드가 포함된 완전 조립된 Ig 분자의 **생체 내** 발현을 개선하기 위해 Ig 중쇄 및 경쇄 서열을 개질하였다. gp120Ig-중쇄 및 경쇄 분자의 작제물을 생성하고, 별도로 pVAX1 벡터(Life Technologies, Carlsbad, CA)에 삽입하였다. 상기 항체는 아래에 기재된 바와 같은 특징분석 연구에 이용할 수 있도록 정의된 특성을 갖는다. **생체 내** Ig 발현을 최적화하기 위한 작제물 생성 시 몇몇 개질을 포함시켰다. 최적화에는 코돈 최적화 및 코작 서열(GCC ACC)의 도입이 포함되었다. Ig의 중쇄 및 경쇄에 대한 최적화된 작제물의 핵산 서열을 각각 서열 식별 번호 6 및 서열 식별 번호 7에 나타낸다(각각 도 1 및 2). 도 1 및 2에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 작제물을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 6은 서열 식별 번호 46에 나타난 아미노산 서열, 즉 IgG 중쇄의 아미노산 서열(도 42)을 인코딩한다. 서열 식별 번호 7은 서열 식별 번호 47에 나타난 아미노산 서열, 즉 IgG 경쇄의 아미노산 서열(도 43)을 인코딩한다.

세포를 천연 Ig 작제물(즉, 최적화되지 않은 것) 또는 서열 식별 번호 6 및 7을 함유하는 작제물(즉, 최적화된 것)로 전달감염시켰다. 전달감염 후, IgG 분비를 전달감염된 세포로부터 측정하고, IgG 합성 역학을 도 3에 나타낸다. 도 3에 나타난 바와 같이, 최적화되지 않은 및 최적화된 작제물 모두 Ig의 중쇄 및 경쇄를 발현하여 IgG를 형성하였으나, 최적화된 작제물이 더 빠른 IgG 항체 축적을 일으켰다. 서열 식별 번호 6 및 7(즉, 최적화된 Ig 서열)을 함유하는 플라스미드로 전달감염된 세포는 최적화되지 않은 Ig 서열을 함유하는 플라스미드로 전달감염된 세포보다 완전 조립된 Ig 분자의 더 많은 생산을 나타내었다. 따라서 작제물의 최적화 또는 개질은 실질적으로 Ig 발현을 증가시켰다. 다시 말하면, 서열 식별 번호 6 및 7을 함유하는 작제물은 서열 식별 번호 6 및 7을 생성하기 위해 이용된 최적화 또는 개질로 인해 천연 작제물에 비해 실질적으로 더 큰 Ig 발현을 제공하였다. 이들 데이터는 또한 Ig의 중쇄 및 경쇄가 플라스미드 시스템으로부터 생체 내에서 효율적으로 조립될 수 있음을 나타내었다.

서열 식별 번호 6 및 7을 함유하는 작제물을 추가 조사하기 위해, 마우스에 서열 식별 번호 6 및 7에 나타난 서열을 함유하는 플라스미드를 투여하였다. 특히 플라스미드를 전기천공을 이용하여 투여하였다. 투여 후, 면역접종된 마우스에서 면역 반응(즉, IgG 수준)의 유도를 웨스턴 블롯으로 평가하였다(즉, 마우스의 혈청을 이용하여 gp120 항원을 검출하였다). 도 4에 나타난 바와 같이, 서열 식별 번호 6 및 7을 함유하는 플라스미드가 투여된 마우스는 웨스턴 블롯 분석에서 항체 결합이 관찰되었으므로, 강한 항체 생산을 일으켰다. 상기 항체 생산을 관찰하기 위해서는 1회 투여만 필요하였다.

요약하면, 이들 데이터는 Ig 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 핵산 서열이 발현 벡터, 예컨대 pVAX1에 포함되는 경우, 전달감염된 세포 및 발현 벡터가 투여된 마우스에서 조립된 IgG의 발현을 일으킴(즉 중쇄 및 경쇄가 함께 모여 그 항원에 결합하는 항체를 형성함)을 나타내었다. 이들 데이터는 또한 Ig 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 핵산 서열의 최적화 또는 개질이 Ig 생산을 유의미하게 증가시킴을 나타내었다.

[0364] 실시예 2

[0365] 실시예 3-7에 대한 재료 및 방법

세포 및 시약. 293T 및 TZM-B1 세포를 10% 소 태아 혈청(FBS) 및 항생제가 보강된 Dulbecco 개질 Eagle 배지(DMEM; Gibco-Invitrogen, CA) 중에 유지하고 융합 시 계대하였다. 재조합 HIV-1 p24 및 gp120 Env(rgp120) 단백질을 Protein Science Inc.에서 입수하고 페록시다아제-쿤주게이트된 스트렙타비딘을 Jackson Laboratory에서 입수하였다. 기재된 세포주 및 다른 시약은 AIDS Research and Reference Reagent Program(Division of AIDS, NIAID, NIH)에서 입수하였다.

동물 및 단백질 및 플라스미드 투여 및 전달. 암컷 BALB/c 마우스(8주령)를 Taconic Farms(Germantown, NY)에서 구입하였다. 이들 투여를 위해, 50 μ l 부피(pVax1 또는 pHIV-1Env-Fab) 중 25 μ g의 플라스미드 DNA를 근육내(IM) 주사한 뒤 MID-EP 시스템(CELLECTRA®; Inovio Pharmaceuticals, Blue Bell, PA)에 의해 EP 매개된 증강 전달을 이용하였다. 전달을 위한 펄스화 파라미터는 다음과 같았다: 0.5Amp 정전류 3회 자극, 1초 간격 및 52ms 길이. 각 동물은 실험 또는 대조군 플라스미드 제형물의 단회 투여를 받았다. 단백질 면역화 분석을 위해, JRFL

제통의 HIV-1 제조합 gp120(rgp120)(Immune Technology Corp, NY에서 구매)을 이용하였다. 단백질 면역화 연구에서, 단위 25 μ g 용량의 rgp120을 TiterMax 보강제와 혼합하고 피하 주사하였다. pHIV-1 Env Fab 또는 rgp120-투여된 마우스로부터의 혈청을 구체적 분석에 따라 상이한 시점에 수집하였다.

[0368]

HIV-1Env-Fab 플라스미드 DNA의 구축. 항-Env VRC01 인간 mAb로부터의 HIV-1 Env-Fab 서열(VH 및 VL)을 몇몇 개질을 포함하는 합성 올리고뉴클레오타이드의 이용에 의해 생성하였다. 중쇄(VH-CH1)는 서열 식별 번호 3에 나타난 핵산 서열에 의해 인코딩되며, 경쇄(VL-CL)는 서열 식별 번호 4에 나타난 핵산에 의해 인코딩된다(각각 도 9 및 10). 도 9 및 10에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 인코딩 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 HindIII(AAG CTT) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA 또는 TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 3은 서열 식별 번호 48에 나타난 아미노산 서열, 즉 HIV-1 Env-Fab의 VH-CH1의 아미노산 서열(도 44)을 인코딩한다. 서열 식별 번호 4는 서열 식별 번호 49에 나타난 아미노산 서열, 즉 HIV-1 Env-Fab의 VL-CL의 아미노산 서열(도 45)을 인코딩한다.

[0369]

효율적인 IgE 리더 서열(서열 식별 번호 66 단백질을 인코딩하는 서열 식별 번호 65 뉴클레오타이드)을 발현을 개선하기 위해 Env 항원 유전자 서열 내로 도입하였다. 생성된 개질되고 증강된 HIV-1Env-Fab DNA 면역원은 코돈-및 RNA-최적화되었으며, 이어서 GenScript(Piscataway, NJ)에 의해 pVax1 발현 벡터 내로 클로닝되고 이들 작제물의 대규모 생산이 이어졌다. VH 및 VL 유전자(각각 서열 식별 번호 3 및 4)를 BamHI 및 XhoI 제한 효소 부위 간에 삽입하였다. 이어서 정제된 플라스미드 DNA를 마우스로의 후속 투여를 위해 수증 제형화하였다. 음성 대조군 플라스미드로서, "미관련"/대조군 Ig를 생성하는 pIgG-E1M2를 이용하였다.

[0370]

HIV-1Env-Fab 발현 및 면역블롯 분석. 293T 세포주를 제조업체에서 권장된 바와 같은 방법에 의해 비-리포좀 FuGENE6 전달감염 시약(Promega, WI)을 이용하여 발현 분석을 위해 이용하였다. 간략하게, 세포를 5 μ g의 pVax1 대조군 또는 pHIV-1Env-Fab를 이용한 후속 전달감염 24시간 전에 50-70% 융합성으로 접종하였다(35mm 배양 디쉬의 웰 당 1-3x10⁵ 세포/2mL). 상청액을 70시간까지 다양한 시점에 수집하고, 표준 ELISA 방법에 의해 특정 Fab 분자 수준에 대해 평가하였다. pVax1 전달감염된 세포로부터의 상청액을 음성 대조군으로 이용하였다. 또한, 293T 세포를 HIV gp160 Env 단백질에 대한 유전자로 전달감염시켰다.

[0371]

생성된 Fab에 의한 천연 HIV-1 Env 단백질 인식의 추가 확인을 면역블롯 분석으로 수행하였다. 상기 연구를 위해, 상술된 rgp120을 12% SDS-PAGE 상에서 전기영동하였다. 겔을 니트로셀룰로오스 막 상에 블롯팅하고(Millipore, Bedford, MA) PBS-T(0.05%) 중 5% w/v 탈지 분유로 차단하였다. 이어서 니트로셀룰로오스를 분석을 위해 개별 스트립으로 후속 절단하였다. pHIV-1 Env Fab 투여된 마우스로부터의 혈청을 투여 48시간 후 수집하고, PBS 중 1:100으로 희석하고, 1시간 동안 개별 니트로셀룰로오스 스트립과 반응시켰다. 이어서 스트립을 Tris-완충 식염수-0.2% Tween으로 4회 세척하고, 마우스 IgG에 대한 페록시다아제-커플링된 항혈청(Jackson Laboratories, ME)과 반응시키고, 디아미노벤지딘 기질(Sigma, St. Louis, MO)과 인큐베이션하여 생성된 HIV-1 Env Fab의 gp120에 대한 적절한 결합을 가시화하였다.

[0372]

Ig 결합 분석 - ELISA. ELISA에 의해 DNA 플라스미드 생성된 Fab 또는 항-rgp120 항체의 rgp120에 대한 결합 확인을 평가하였다. Ig 결합 분석을 pHIV-1 Env Fab, pVax1 또는 rgp120 단백질이 투여된 개별 동물로부터의 혈청으로 수행하였다. 다시, 상기 기본 Ig 면역분석을 위해, 혈청 표본을 단위 DNA 플라스미드 투여 48시간 후 수집하였다. 간략하게, 96-웰 고결합 폴리스티렌 플레이트(Corning, NY)를 하룻밤 동안 4°C에서 PBS 중에 희석된 B군 HIV MN rgp120(2 μ g/mL)으로 코팅하였다. 다음 날, 플레이트를 PBS-T(PBS, 0.05% Tween 20)로 세척하고, 1시간 동안 PBS-T 중의 3% BSA로 차단하고, 1시간 동안 37°C에서 면역화된 및 면역화되지 않은 마우스로부터의 혈청의 1:100 희석액과 함께 인큐베이션하였다. 결합된 Ig를 1:5,000의 희석도로 염소 항-마우스 IgG-HRP(Research Diagnostics, NJ)를 이용해서 검출하였다. 결합된 효소를 발색원 기질 용액 TMB(R&D Systems)의 첨가에 의해 검출하고, Biotek EL312e Bio-Kinetics 판독기 상에서 450nm에서 판독하였다. 모든 혈청 표본을 2회씩 평가하였다. 시판 IgG1 정량 ELISA 키트를 이용해서 pHIV-1 Env Fab 투여된 마우스로부터의 혈청 중 Fab 농도를 정량하는 추가 면역 분석을 수행하였다. 상기 분석은 제조업체의 명세에 따라 수행하였다.

[0373]

유세포 측정 분석(FACS). 유세포 측정 분석(FACS)을 위해, 293T 세포를 공통 A군 Env 플라스미드(pCon-Env-A) 또는 일차 바이러스 단리체(Q23Env17)로부터 Env를 발현하는 최적화된 A군 플라스미드(pOpt-Env-A)로 전달감염시켰다. 전달감염을 표준 방법에 의해 수행하였다. 전달감염 확인 후, 세포를 빙냉 완충액 A(PBS/0.1% BSA/0.01% NaN₃)로 세척하고 20분 동안 4°C에서 일차 Ig의 1:100 희석액(플라스미드 투여 48시간 후 수집된, pHIV-1 Env Fab 또는 대조군 pIgG-E1M2 플라스미드가 주사된 마우스로부터의 혈청 또는 정제된 VRC01)과 인큐베이션하였다. 이어서 세척하고, 다시 20분 동안 피코에리트린(PE)에 콘주게이트된 1:100 희석된 형광-표지된

이차 Ig 50 μ l과 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 세척하고, 즉시 유세포 측정기(Becton Dickinson FACS) 상에서 분석하였다. 모든 인큐베이션 및 세척은 4℃에서 냉냉 완충액 A로 수행하였다. 세포를 단선 상에서 살아있는 세포에 대해 관문화하였다. GFP 발현을 평가하기 위해, GFP-양성 세포를 CellQuest 소프트웨어(BD Bioscience)를 이용하여 FACS-LSR 기구로 수행하였다. 데이터를 Flow Jo 소프트웨어로 분석하였다.

[0374]

단화-사이클 HIV-1 중화 분석. 실험 또는 대조군 혈청의 존재 또는 부재 하 Env-가유행 바이러스를 이용한 단화 감염 후 중화 종결점으로 루시퍼라아제 유전자 발현 감소가 이용되는 TZM-B1(HeLa 세포 유래)기반 분석으로 Fab 매개된 HIV-1 중화 분석을 측정하였다. TZM-B1 세포를 조작하여 CD4 및 CCR5를 발현시키고, 초파리 루시퍼라아제에 대한 리포터 유전자를 포함시켰다. 상기 분석에서, pVax1만 또는 pHIV-1Env Fab가 투여된 마우스로부터의 혈청을 웰 당 1:50으로 희석한 뒤 다중 감염도 0.01로 가유행 HIV-1 Ba126, Q23Env17, SF162S 또는 ZM53M 무세포 바이러스를 첨가하였다. Ba126 및 SF162S는 모두 B군 티어 1 바이러스이고, 상기 티어 상태는 바이러스가 중화에 대해 높거나 평균을 초과하는 감수성을 가졌음을 나타낸다. Q23Env17 및 ZM53M은 각각 A군, 티어 1 및 C군, 티어 2 바이러스이다. 티어 2 상태는 바이러스가 중화에 대해 평균 또는 중등 감수성을 가짐을 나타내었다. 상기 분석에 이어, 10⁴ TZM-BL 세포를 각 웰에 첨가하고, 48시간 동안 인큐베이션하고, 용해시킨 뒤 100 μ l의 Bright-Glo 기질(루시퍼라아제 분석 시스템, Promega, WI)을 첨가하고, 이어서 발광측정계를 이용하여 루시퍼라아제를 정량하였다. 상기 분석의 관독치는 RLU(상대 광 단위)였다. RLU 감소 백분율을 다음과 같이 계산하였다: (1-(실험 표본의 평균 RLU-대조군)/대조군으로부터의 평균 RLU-무첨가 대조군 웰)) x 100. 이어서 HIV-1 중화를 RLU 감소 백분율로 표시하였고, 이는 감염 저해 백분율을 나타낸다.

[0375]

실시예 3

[0376]

항-HIV-1 Env-Fab 발현 작제물의 생성

[0377]

인간 mAb VRC01을 광범위하게 중화하는 항-HIV-1 외피에 대한 VH 및 VL-Ig(면역글로불린) 사슬 코딩 서열 둘 다에 대한 cDNA를 NIH AIDS Research and Reference Reagent Program을 통해 VRC(Vaccine Research Center, NIH)에서 수득한 뒤 pVax1 벡터 내로 클로닝하였다. 상기 실시예 2에 나타난 바와 같이, 몇몇 개질을 생물학적 활성 Ig 분자의 생산을 최대화 및 최적화하기 위해 발현 벡터 내에 도입하였다. 특히, 이들 개질에는 코돈 및 RNA 최적화 및 안정화가 포함되었고, 리더 서열 이용, 고농도에서의 플라스미드 생산이 증강되었으며, EP를 통해 생체 내 플라스미드 전달을 촉진하였다. 생성된 작제물을 포유류 세포 및 조직에서의 적절한 효율적인 발현을 위해 중요한 인간 사이토메갈로바이러스(CMV)로부터의 최조기 프로모터의 제어 하에 배치하였다. 이 연구에 이용된 작제물의 모식적 지도를 도 5a 및 5b에 나타낸다.

[0378]

추가적으로, 항-HIV-1 Env Fab를 pHIV-Env-Fab로부터 제조하고, HIV Env를 인코딩하는 플라스미드로 전달감염된 세포를 염색하기 위해 이용하였다. pVAX1을 대조군으로 이용하였다. 도 11에 나타난 바와 같이, 면역형광 염색은 항-HIV-1 Env Fab가 HIV Env를 인코딩하는 플라스미드로 전달감염된 세포를 염색시켰으므로, 벡터 pHIV-Env-Fab가 항-HIV-1 Env Fab의 제조를 허용함을 나타내었다. 따라서 항-HIV-1 Env Fab는 HIV Env 당단백질에 대한 결합에 특이적이었다.

[0379]

실시예 4

[0380]

전달감염된 세포에 의한 Ig 생산

[0381]

pHIV-1Env-Fab의 발현을 평가하기 위해, 작제물을 293T 세포 내에 전달감염시켰다. 공통 HIV-1 B군 gp120 단백질을 이용하는 ELISA 면역분석은 전달감염 후 24시간만큼 빨리, 전달감염된 293 T 세포로부터의 상청액 중 항-HIV-1 Env-Fab의 존재를 확인시켰다(도 5c). 높은 OD450nm값(즉 약 0.5 내지 0.8 범위)이 전달감염 후 24 내지 72시간에 세포 추출물에서 검출되었고, 이어서 48시간에 피크 및 정체기에 도달하였다. 이들 결과는 HIV Env 당단백질에 대한 항-HIV-1 Env Fab의 특이성을 확인시켰다. 도 5c에 나타난 데이터의 통계적 분석은 다음과 같았다: pHIV-1 Env-Fab 주사된 마우스로부터의 혈청에 대한 OD450nm값은 22 내지 72 시간 시점의 측정에서 pVax1 대조군에 비해 유의미하였다($p < 0.05$, 스튜던트 t 시험).

[0382]

실시예 5

[0383]

HIV-1 Env Fab의 생체 내 특징분석

[0384]

DNA 플라스미드로부터 생체 내 Fab 생산을 나타내기 위해, 마우스에 근육내 경로에 의해 pHIV-1 Env Fab를 투여한 뒤 EP를 통해 전달을 증강시켰다. DNA 플라스미드의 단화 주사를 전달하고, 혈청을 투여 후 12시간 및 1, 2, 3, 4 7 및 10일에 수집하였다. 이어서 혈청(1:100 희석도로)을 도 6a에 나타난 바와 같이 ELISA 분석에 의해

Ig/Fab 수준에 대해 후속 평가하였다. 도 6a의 데이터를 OD450nm으로 나타내며, Ig/Fab 수준과 비례하였다 (pVax1 및 HIV-1 Env-Fab군 모두에서 개별 마우스로부터). 이들 데이터는 pHIV-1Env-Fab의 단회 투여 후 Fab의 상대 수준이 1일에 검출 가능해지고, 이어서 경시적으로 증가하였음을 나타내었다. 비교 목적으로, 실시예 2에 상술된 바와 같이 rgp120의 단회 투여/면역화를 Balb/C 마우스 내로 수행하고, 이어서 특이적 항-gp120 항체 수준의 범위 및 수명을 결정하기 위해 후속 혈청 수집 및 ELISA에 의한 경시적인 분석(1:100 희석도로)을 수행하였다. 도 6b는 결과를 나타낸다.

[0385] 상기 단백질 전달 연구에서, 배경 대비 항원 특이적인 Ig 수준은 면역화 후 10일에서야 검출 가능하였다. 이는 OD450nm값이 투여 후 1일째에 적어도 0.1의 OD450nm 단위로 확보되고 10일째에 0.28 내지 0.35OD 단위 사이 수준에서 정제된 pHIV-1 Env Fab 투여에 의해 야기된 Fab 수준과 대조적이었다(도 6a). 따라서 pHIV-1 Env Fab의 전달은 통상적인 단백질 면역화에 비해 특이적 Fab의 보다 신속한 생성을 일으켰다. 상기 발견은 생물학적 활성 Ig의 생성을 위한 상기 DNA 플라스미드 전달 방법의 잠재적인 임상적 유용성을 강조하였다.

[0386] DNA 전달 기술에 의해 생산된 재조합 Fab의 양뿐만 아니라 품질을 확인하기 위해 추가 분석을 수행하였다. 구체적으로, 전기영동되고 블롯팅된 재조합 HIV-1 gp120 단백질을 이용해서 면역블롯 분석을 수행하고, 투여 48시간 후에 pHIV-1Env-Fab 마우스로부터의 혈청을 탐침으로 이용하였다(도 6c). 블롯은 gp120 단백질의 분자량에 적절한 밴드를 나타내어, 이것이 기능적이며 gp120에 결합할 수 있음을 확인시켰다. 마찬가지로, ELISA에 의한 인간 Fab 정량을 수행하고, 플라스미드 투여 후 시간(즉 일수)의 함수로 나타내었다(도 6d). 결과는 생성된 Fab의 수준이 2-3 μ g/ml를 피코로 하였음을 나타낸다. 이들 결과는 HIV-1 Env 단백질을 특이적으로 인식하고 결합하는 능력뿐만 아니라 생성된 VRC01 기반 Fab의 VH 및 VL의 사슬의 정확한 폴리펩티드 조립을 나타내었다.

[0387] 도 6에 나타난 데이터의 통계 분석은 다음과 같다. 도 6a에 요약된 데이터에 있어서, pHIV-1 Env-Fab 주사된 마우스로부터의 혈청에 대한 OD450nm값은 1 내지 10일의 측정 시점에 pVax1 주사된 마우스로부터의 혈청에 비해 통계적으로 상승하였다($p < 0.05$, 스튜던트 t 시험). 도 6b에 요약된 데이터에 있어서, rgp120군으로부터의 OD450nm값은 10 내지 14일 시점의 측정에서 PBS 대조군에 비해 유의미하게 상승하였다($p < 0.05$, 스튜던트 t 시험). 도 6d에 요약된 데이터에 있어서, pHIV-1 Env-Fab 주사된 마우스로부터의 OD450nm값은 2 내지 10일 시점의 측정에서 유의미하게 상승하였다($p < 0.05$, 스튜던트 t 시험).

[0388] **실시예 6**

[0389] **상이한 HIV-1 Env 단백질을 발현하는 세포에 대한 Fab/Ig의 결합: FACS 기반 분석**

[0390] pHIV-1Env-Fab가 투여된 마우스로부터의 혈청을 또한 293T 세포에 의해 일시적으로 발현된 상이한 HIV-Env 단백질에 대한 생성된 Fab의 결합을 평가하기 위해 이용하였다. 천연형 VRC01-mAb를 양성 대조군으로 이용하여 세포 표면 상에서 Env 단백질의 적절한 발현 및 검출을 확인하였다. 앞서 나타난 바와 같이, "미관련/연관되지 않은" Ig(Ig-E1M2)를 음성 대조군으로 이용하였다. 도 7a 및 7b에 나타난 바와 같이, pVax1(즉 Env 삽입물이 없는) 전달감염된 세포에 대해 상이한 Ig/Fab에 의해 본질적으로 배경 염색만 존재하였다. 그러나 정제된 VRC01 mAb 및 pHIV-1Env-Fab 투여된 마우스로부터의 혈청에 있어서 모두, 일차 HIV-1 단리체 pQ23Env17로부터의 Env를 발현하는 최적화된 C군 플라스미드(pOpt-Env-A)뿐만 아니라 공통 A군 Env 플라스미드(pCon-Env-A)를 발현하는 전달감염된 세포의 유의미한 양성 염색이 존재하였다. 더욱이, pIg-E1M2 투여된 마우스로부터의 혈청은 배경 수준을 초과하는 임의의 HIV1 Env 전달감염된 세포의 염색을 나타내지 못했다. 이들 결과를 나타내는 FACS 분석이 도 7a에 제공된다. 상기 실험에 대해 FACS 분석으로부터의 데이터(즉 도 7a)를 나타내는 대표 그래프를 도 7b에 제공한다.

[0391] 도 7b에 나타난 데이터의 통계 분석은 다음과 같다. pCon-Env-A에 의해 생성된 외피 당단백질에 대해 천연 VRC01 항체 및 pHIV-1 Env-Fab 주사된 마우스로부터의 혈청 간에는 특이적 결합의 유의차가 존재하지 않았다($p < 0.05$, 스튜던트 t 시험). 그러나 pOpt-Env-A에 의해 생성된 외피 당단백질에 대한 VRC01 항체의 결합이 pHIV-1 Env-Fab 주사된 마우스로부터의 혈청에 의한 결합보다 유의미하게 더 높았다($p < 0.05$, 스튜던트 t 시험).

[0392] **실시예 7**

[0393] **pHIV-1 Env Fab에 의해 생산된 Ig의 HIV 중화 활성**

[0394] pHIV-1Env-Fab가 투여된 마우스로부터의 혈청을 일시적으로 전달감염된 293T 세포에서 발현되는 HIV-1 Env 단백질에 대한 HIV-Env Fab의 결합을 평가하기 위해 이용하였다. 혈청은 pHIV-1Env-Fab의 투여 6일 후에 마우스로부터 수득하였다. 구체적으로, 세포를 A군, B군 또는 C군 계통으로부터의 HIV-1 Env가 발현되는 플라스미드로 전달감염시켰다. A군, B군, 및 C군 계통은 92RW020, SF162, 및 ZM197이었다. 도 12에 나타난 바와 같이, pHIV-

1Env-Fab가 투여된 마우스로부터의 혈청은 A군, B군, 및 C군 HIV-1 계통으로부터의 HIV-1 Env에 결합하였고, 이에 따라 혈청이 여러 서브타입의 HIV-1로부터의 HIV-1 Env과 교차반응하는 항체(즉, HIV-Env Fab)를 함유함을 나타내었다.

[0395] 이 연구에서 생산된 HIV-Env Fab의 잠재적인 HIV-1 중화 활성을 평가하기 위해, TZM-B1 표적 세포의 이용에 기반한 발광 기반 중화 분석을 수행하였다. TZM-B1 표적 세포를 상기 실시예 2에 기재된 바와 같이 실험 혈청 및 대조군의 부재 또는 존재 하에 4가지 상이한 가유행 HIV 바이러스 단리체로 감염시켰다.

[0396] 도 8은 HIV 가유행 바이러스에 대해 pHIV-1 Env Fab 주사된 마우스로부터의 혈청에 대한 중화 곡선을 도시한다. HIV-1 티어 1 바이러스 Q23Env(A군)뿐만 아니라 Ba126 및 SF162S(둘 다 B군)가 구체적으로 평가되었다. 또한, 혈청을 HIV-1 C군 티어 2 바이러스 ZM53M에 대해서도 평가하였다. 데이터는 HIV 감염의 중화/저해 백분율로 나타낸다. 그래프에서 평행선으로 그린 수평선은 분석에서의 50% 중화/저해 수준을 나타내었다. 양성 중화 대조군 mAb(데이터는 나타나지 않음)를 이 연구에서 이용하여 상기 분석 방법의 유용성 및 타당성을 확인하였다. 간략하게, 양성 대조군 중화 mAb는 모든 4가지 바이러스 가유행의 감염을 적어도 50% 저해할 수 있었다.

[0397] pHIV-1 Env Fab 투여된 마우스로부터의 혈청은 플라스미드 투여 후 경시적으로 HIV 중화 활성의 증가를 나타내었고, 중화 백분율은 Ba125, Q23Env17 및 SF162S에 있어서 2일째에 50%에 도달하였다. 또한 이들 3가지 바이러스에 대한 정제기 중화 백분율은 각각 약 62, 60 및 70%였다. ZM53M에 있어서, 50% 중화 역치는 3일까지 도달되지 않았고, 정제기 중화는 50%를 초과하지 않았다. 평가된 다른 3가지에 비해 이러한 덜 강력한 중화 프로파일은 이것이 덜 중화 가능한 티어 2 바이러스임을 반영하기 때문일 수 있다. 종합하면, 상기 연구에서 생성된 Fab는 다양한 HIV 단리체를 효과적으로 중화시킬 수 있었다. 도 8에 나타난 데이터의 통계적 분석은 다음과 같다. 크루스칼-왈리스(Kruskal-Wallis) 비-파라미터 분석에 기반하여, pHIV-1 Env-Fab 주사된 마우스로부터의 혈청에 의해 유도된 ZM53M C군 바이러스에 대한 HIV 중화 수준(도 8d)만이 평가된 다른 바이러스와 유의미하게 상이하였다(도 8a, 8b 및 8c). 상기 차이는 최대로 달성 가능한 중화 수준뿐만 아니라 50% 중화를 달성하는데 필요한 시간(일수)에 있었다.

[0398] 실시예 3-7을 요약하면, pHIV-1 Env Fab 투여된 마우스에서 VRC01 Fab의 혈청 농도는 주사 후 12일째에 2-3 μ g/mL로 피크였다. 상기 범위는 현재 FDA에 의해 허가받은 여러 모노클로날 항체에 필적하여, 본 발명자들의 항체 접근이 상기 소동물 모델에서 유의미하고 생물학적으로 관련된 수준의 항체를 생산함을 시사하였다. 특히, 우스 테키누맵(상표명: Stelara) 및 골리무맵(Simponi)에 있어서, 판 건선 및 관절염과 같은 자가면역 질환에 대한 이용에 대해 제시되는 두 항체는 각각 0.31 \pm 0.33 μ g/mL 및 1.8 \pm 1.1 μ g/mL의 평균 \pm SD 혈청 농도를 갖는다. 또한, TNF 저해제 아달리무맵(Humira)은 약 6 μ g/mL의 평균 조(rough) 혈청 농도를 갖는다. 이에 관해, 실시예 4-8에 기재된 데이터는 개체에 대해 항체를 인코딩하는 DNA의 전달이 유의미하고 생물학적으로 관련된 수준의 항체가 개체에 존재하도록 생체 내 조립을 일으켰음을 나타내었다.

[0399] 이들 데이터는 또한 통상적 단백질 투여에 의해 생산된 Ig에 비해 pHIV-1Env Fab의 단회 EP 증강된 투여 후 생체 내에서 Fab를 보다 신속히 생산하는 능력을 나타내었다(도 6a 및 6b). 또한, 어려운 백신 표적에 대해 기능적인 보호 Ig 유사 분자를 생성하는 능력이 나타났다. 현재까지 능동 백신접종 후 HIV-1 중화 항체의 유도는 매우 어려웠으며, 일차 감염 동안 전과 후 수년 까지도 중화 항체가 발생하지 않는다. 상기 DNA 플라스미드 접근으로, 중화 역가는 전달 후 1-2일 내에 관찰되었고, 피크 중화 Fab 혈청 농도(3.31 \pm 0.13 μ g/mL)는 투여 후 1주에 일어났다(도 6d). 상기 수준의 Ig는 현재 연구에서 감염으로부터 완전 보호를 제공하는 것으로 나타난 8.3 μ g/mL 농도와 비교적 유사하였다. 이들 데이터는 생물학적 활성 Ig 단편의 신속한 유도를 나타내었다.

[0400] 이들 데이터는 또한 HIV-1Env-Fab DNA 투여에 의해 야기된 HIV-1 일차 단리체에 대한 중화 항체 역가 및 반응을 나타내었다. 혈청을 A군, B군 및 C군으로부터의 예를 나타낸 상이한 바이러스 티어 1, 및 2 바이러스 단리체 패널에 대해 평가하였다. 결과는 이들 바이러스에 대한 강력한 중화 활성의 생성을 나타내었다(도 8).

[0401] 따라서 상기 DNA 플라스미드 기반 방법은 생체 내에서 특이적이고 생물학적으로 활성이 있는 Fab 또는 Ig 분자를 생성하였고, 항체 생성을 위한 통상적 항원-기반 백신접종의 이용 필요성을 배제하였고, 시험관 내 제조된 Ig를 생성하고 정제할 필요성을 제거하였다.

[0402] **실시예 8**

[0403] **인간 Ig 항체를 인코딩하는 플라스미드의 구축**

[0404] 상술된 바와 같이, 인코딩 핵산의 대상체로의 투여 시 생체 내 생성된 VRC01 항체, 즉 HIV-Env Fab로부터 Fab를 생성하였다. 이들 연구를 추가 확장하기 위해, VRC01 항체에서 유래된 IgG1 항체를 인코딩하는 핵산 서열을 생

성하였다. 도 13의 모식도에 나타난 바와 같이, 상기 핵산 서열은 퓨린 절단 부위 및 P2A 캡티드 서열을 인코딩하는 핵산 서열에 의해 분리된 IgG 중쇄 및 경쇄를 인코딩하였다. P2A 캡티드 서열은 프로테아제에 의한 절단의 효율을 증가시키며, 이에 따라 절단 후 별도의 폴리캡티드를 생성한다.

[0405] IgG 중쇄에는 가변 중쇄(VH), 불변 중쇄 1(CH1), 힌지, 불변 중쇄 2(CH2), 및 불변 중쇄 3(CH3) 영역이 포함되었다. IgG 경쇄에는 가변 경쇄(VL) 및 불변 경쇄(CL) 영역이 포함되었다. 상기 작제물을 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터의 제어 하에, 예를 들어 발현 벡터 pVAX1에 배치하였다. 상기 작제물은 반응성 gp120(즉, VRC01 항체에 의해 인식되는 항원)인 완전 조립된 IgG 항체의 생산을 일으켰다(도 14에 나타난 바와 같음). 이러한 완전 조립된 IgG를 본원에서 VRC01 IgG로 나타낸다. VRC01 IgG의 아미노산 서열(퓨린에 의한 절단 전)을 도 15에 나타내고 서열 식별 번호 64를 인코딩하는 핵산 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 5에 나타낸다(도 62 참고).

[0406] 특히, VRC01 IgG의 아미노산 서열(퓨린에 의한 절단 전; 서열 식별 번호 64의 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩되는 서열 식별 번호 5 및 도 15)은 하기 구조를 갖는다: 면역글로불린 E1(IgE1) 신호 캡티드, 가변 중쇄 영역(VH), 불변 중쇄 영역 1(CH1), 힌지 영역, 불변 중쇄 영역 2(CH2), 불변 중쇄 영역 3(CH3), 퓨린 절단 부위, GSG 링커, P2A 캡티드, IgE1 신호 캡티드, 가변 경쇄 영역(VL), 및 불변 경쇄 영역(CL, 특히 카파). 구조의 각 부분의 서열(모두 상술되고 도 13에 나타난 순서로 서열 식별 번호 15 내에 포함됨)을 아래에 제공한다.

[0407] MDWTWILFLVAAATRVHS (서열 식별 번호:8).
VRC-1 IgG의 IgE1 신호 캡티드 -

[0408] VRC01 IgG의 가변 중쇄 영역 -

QVQLVQSGGQMCKPGESMRISCRASGYEFIDCTLNWIRLAPGKRPEWMGWLKPRG
GAVNYARPLQGRVTMTDRDVSDFAFLELRSLTVDDTAVYFCTRGKNCDDYNWDFEH
WGRGTPVIVSSPSTKG (서열 식별 번호:9).

[0409] WGRGTPVIVSSPSTKG (서열 식별 번호:9).

[0410] VRC01 IgG의 불변 중쇄 영역 1(CH1) -

PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSC (서열 식별 번호:10).

[0411] SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSC (서열 식별 번호:10).

[0412] EPKSCDKTHTCPPCP (서열 식별 번호:11).
VRC01 IgG의 힌지 영역 -

[0413] VRC01 IgG의 불변 중쇄 영역 2(CH2) -

APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
(서열 식별 번호:12).

[0414] (서열 식별 번호:12).

[0415] VRC01 IgG의 불변 중쇄 영역 3(CH3) -

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(서열 식별 번호:13).

[0416] (서열 식별 번호:13).

[0417] RGRKRRS (서열 식별 번호:14).
VRC01 IgG의 퓨린 절단 부위 -

[0418] VRC01 IgG의 GSG 링커 및 P2A 캡티드- GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 식별 번호:15).

[0419] MDWTWILFLVAAATRVHS (서열 식별 번호:8).
VRC01 IgG의 IgE1 신호 캡티드 -

[0420] VRC01 IgG의 가변 경쇄 영역(VL) -

EIVLTQSPGTLSLSPGETAIIISCRTSQYGLAWYQQRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDR
FSGSRWGPDPYNTISNLESGDFGVYYCQQYEFQGTQVQVDIKR
(서열 식별 번호:16).

[0421] (서열 식별 번호:16).

- [0422] VRC01 IgG의 불변 경쇄 영역(CL, 카파) -
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLRSPVTKSFNRGEC
(서열 식별 번호:17).
- [0423]
- [0424] **실시예 9**
- [0425] **두 플라스미드에 의해 인코딩된 HIV-1 VRC01 IgG**
- [0426] 실시예 2-8에 상술된 바와 같이, Fab(각각의 사슬이 별도의 플라스미드에서 발현됨)를 VRC01 항체, 즉 HIV-Env Fab로부터 생성하였고, IgG(단일 플라스미드에서 발현됨)를 VRC01 항체, 즉 VRC01 IgG로부터 생성하였다. 이들 연구를 추가 확장시키기 위해, IgG를 VRC01 항체로부터 생성하였고, 여기서 중쇄(즉, 가변 중쇄 영역(VH), 불변 중쇄 영역 1(CH1), 힌지 영역, 불변 중쇄 영역 2(CH2), 및 불변 중쇄 영역 3(CH3)) 및 경쇄(즉, 가변 경쇄 영역(VL) 및 불변 경쇄 영역(CL))는 별도의 작제물에 의해 인코딩되었다(도 50 및 51). 상기 IgG를 본원에서 HIV-1 VRC01 IgG로 나타낸다.
- [0427] 또한 각각의 작제물에는 일단 생체 내 생성된 항체의 분비를 최적화하기 위한 리더 서열이 포함되었다. 각각의 작제물을 pVAX1 벡터의 BamHI 및 XhoI 부위 내에 클로닝하고, 이에 따라 작제물을 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터의 제어 하에 배치하였다(도 50 및 51). 따라서 생체 내에서 VRC01 IgG를 형성하거나 생성하기 위해, 플라스미드 혼합물, 즉 중쇄를 인코딩하는 작제물을 함유하는 플라스미드 및 경쇄를 인코딩하는 작제물을 함유하는 플라스미드를 대상체에 투여해야 한다.
- [0428] 추가적으로, 각각의 작제물을 추가로 최적화하였다. 최적화에는 코작 서열(GCC ACC)의 부가 및 코돈 최적화가 포함되었다. HIV-1 VRC01 IgG의 IgG1 중쇄를 인코딩하는 핵산 서열을 서열 식별 번호 54 및 도 52에 나타낸다. 도 52에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 54는 서열 식별 번호 55 및 도 53에 나타난 아미노산 서열, 즉 HIV-1 VRC01 IgG의 IgG1 중쇄의 아미노산 서열을 인코딩한다.
- [0429] HIV-1 VRC01 IgG의 IgG 경쇄를 인코딩하는 핵산 서열을 서열 식별 번호 56 및 도 54에 나타낸다. 도 54에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA 또는 TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 56은 서열 식별 번호 57 및 도 55에 나타난 아미노산 서열, 즉 HIV-1 VRC01 IgG의 IgG 경쇄의 아미노산 서열을 나타낸다.
- [0430] **실시예 10**
- [0431] **HIV-1 Env-PG9 Ig**
- [0432] VRC01 IgG에 부가하여, HIV-1 Env에 반응성인 IgG를 인코딩하는 다른 작제물을 생성하였다. 상기 작제물은 HIV-1 Env-PG9로, 최적화되고 발현 벡터 내로 클로닝되었다(도 16a 및 16b). 최적화에는 코작 서열(예로, GCC ACC), 리더 서열, 및 코돈 최적화가 포함되었다. HIV-1 Env-PG9 Ig를 인코딩하는 핵산 서열을 함유하는 발현 벡터의 생성을 도 16c에 나타난 바와 같이 제한 효소 소화에 의해 확인하였다. 도 16c에서, 레인 1은 소화되지 않은 발현 벡터이고, 레인 2는 BamHI 및 XhoI로 소화된 발현 벡터이고, 레인 M은 마커였다.
- [0433] HIV-1 Env-PG9 Ig를 인코딩하는 핵산 서열을 서열 식별 번호 63 및 도 61에 나타낸다. 도 61에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA 또는 TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 63은 서열 식별 번호 2 및 도 18에 나타난 아미노산 서열, 즉 HIV-1 Env-PG9 Ig의 아미노산 서열(푸린에 의한 절단 전)을 나타낸다.
- [0434] 상기 아미노산 서열에서, 신호 펩티드는 생체 내 생성된 항체의 분비를 개선하기 위해 각각의 중쇄 및 경쇄에 펩티드 결합에 의해 연결된다. 추가적으로, 번역된 폴리펩티드의 중쇄 또는 경쇄를 함유하는 별도의 폴리펩티드로의 보다 효율적인 절단을 허용하기 위해, P2A 펩티드를 인코딩하는 핵산 서열이 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 핵산 서열 간에 배치된다.
- [0435] 특히, HIV-1 Env-PG9 Ig의 아미노산 서열(푸린에 의한 절단 전; 서열 식별 번호 2 및 도 18)은 하기 구조를 갖

는다: 인간 IgG 중쇄 신호 펩티드, 가변 중쇄 영역(VH), 불변 중쇄 영역 1(CH1), 힌지 영역, 불변 중쇄 영역 2(CH2), 불변 중쇄 영역 3(CH3), 퓨린 절단 부위, GSG 링커, P2A 펩티드, 인간 램다 경쇄 신호 펩티드, 가변 경쇄 영역(VL), 및 불변 경쇄 영역(CL, 특히 램다). 구조의 각 부분의 서열(모두 상술된 순서로 서열 식별 번호 2 내에 포함됨)을 아래에 제공한다.

HIV-1 Env-PG9 Ig의 인간 IgG 중쇄 신호 펩티드-

MDWTWRILFLVAAATGTHA (서열 식별 번호:18).

HIV-1 Env-PG9 Ig의 가변 중쇄 영역 -

EFGLSWVFLVAFLRGVQCQRLVESGGGVVQPGSSRLSCAASGFDFSRQGMHWVR
QAPQGQLEWVAFIKYDGEKYHADSVWGRLSISRDNKSKDTLYLQMNSLRVEDTATY
FCVREAGGPDYRNGYNYYDFYDGYNYHYMDVWVGKGTTVTVSS
(서열 식별 번호:19).

HIV-1 Env-PG9 Ig의 불변 중쇄 영역 1(CH1) -

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV (서열 식별 번호:20).

HIV-1 Env-PG9 Ig의 힌지 영역 - EPKSCDKTHTCPPCP (서열 식별 번호:21).

HIV-1 Env-PG9 Ig의 불변 중쇄 영역 2(CH2) -

APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
(서열 식별 번호:22).

HIV-1 Env-PG9 Ig의 불변 중쇄 영역 3(CH3) -

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV
LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(서열 식별 번호:23).

HIV-1 Env-PG9 Ig의 퓨린 절단 부위 - RGRKRRS (서열 식별 번호:24).

HIV-1 Env-PG9 Ig의 GSG 링커 및 P2A 펩티드 -

GS GATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 식별 번호:25).

HIV-1 Env-PG9 Ig의 인간 램다 경쇄 신호 펩티드 -

MAWTPFLFLLTCCPGGSNS (서열 식별 번호:26).

HIV-1 Env-PG9 Ig의 가변 경쇄 영역(VL) -

QSALTQPASVSGSPGQSITISCNGTSNDVGGYESVSWYQHPGKAPKVVIYDVSKRP

SGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEGDYYCKSLTSTRRRVFGTGKLTVL
(서열 식별 번호:27).

HIV-1 Env-PG9 Ig의 불변 경쇄 영역(CL, 램다) -

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT
PSKQSNKNKYAASSYLSTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
(서열 식별 번호:28).

실시예 11

HIV-1 PG9 단일쇄 Fab(scFab)

상술된 HIV-1 Env-PG9 Ig에 부가하여, 단일쇄 Fab(즉, 단일 전사체로 전사되고 단일 폴리펩티드로 번역되는 핵산 서열에 의해 인코딩된 VH/CH1 및 VL/CL)를 PG9 항체(본원에서 HIV-1 PG9 scFab로 나타냄)에 기반하여 생성하

었다. HIV-1 PG9 scFab를 인코딩하는 핵산 서열을 서열 식별 번호 50 및 도 46에 나타낸다. 도 46에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 상기 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG)을 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA 또는 TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 50에 나타낸 핵산 서열은 최적화된 핵산 서열이다, 즉 코작 서열(GCC ACC), 코돈 최적화, 및 리더 서열을 포함하였다. 리더 서열은 작제물의 5' 말단, 즉 단일쇄 Fab 앞에 배치하였고, 이에 따라 링커 서열에 의해 인코딩된 신호 펩티드가 단일쇄 Fab의 아미노 말단에 펩티드 결합에 의해 연결되었다. 서열 식별 번호 50에 나타낸 핵산 서열에는 또한 VH/CH1을 인코딩하는 핵산 서열 및 VL/CL을 인코딩하는 핵산 서열 간에 배치된 링커 서열이 포함되었다. 따라서 서열 식별 번호 50에 의해 인코딩된 폴리펩티드에서, 링커 서열에 의해 인코딩된 아미노산 서열은 VH/CH1 및 VL/CL을 함께 유지하였다. 서열 식별 번호 50은 서열 식별 번호 51 및 도 47에 나타낸 아미노산 서열, 즉 HIV-1 PG9 scFab의 아미노산 서열을 인코딩하였다.

[0460] 실시예 12

[0461] HIV-1 Env-4E10 Ig

[0462] VRC01 IgG 및 HIV-1 Env-PG9 Ig에 부가하여, HIV-1 Env에 반응성인 IgG를 인코딩하는 다른 작제물을 생성하였다. 상기 작제물은 최적화되고 발현 벡터 내로 클로닝된 HIV-1 Env-4E10이었다(도 17a 및 17b). 최적화에는 코작 서열(예로, GCC ACC), 리더 서열의 도입, 및 코돈 최적화가 포함되었다. HIV-1 Env-4E10 Ig를 인코딩하는 핵산 서열을 함유하는 발현 벡터의 생성을 도 17c에 나타낸 바와 같이 제한 효소 소화에 의해 확인하였다. 도 17c에서, 레인 1은 소화되지 않은 발현 벡터이고, 레인 2는 BamHI 및 XhoI로 소화된 발현 벡터이고, 레인 M은 마커였다.

[0463] HIV-1 Env-4E10 Ig를 인코딩하는 핵산 서열을 서열 식별 번호 62 및 도 60에 나타낸다. 도 60에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 62는 서열 식별 번호 1 및 도 19에 나타낸 아미노산 서열, 즉 HIV-1 Env-4E10 Ig의 아미노산 서열(푸린에 의한 절단 전)을 인코딩한다.

[0464] 상기 아미노산 서열에서, 신호 펩티드는 생체 내 생성된 항체의 분비를 개선하기 위해 각각의 중쇄 및 경쇄에 펩티드 결합에 의해 연결된다. 추가적으로, 번역된 폴리펩티드의 중쇄 또는 경쇄를 함유하는 별도의 폴리펩티드로의 보다 효율적인 절단을 허용하기 위해, P2A 펩티드를 인코딩하는 핵산 서열이 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 핵산 서열 간에 배치된다.

[0465] 특히, HIV-1 Env-4E10 Ig의 아미노산 서열(푸린에 의한 절단 전; 서열 식별 번호 1 및 도 19)은 하기 구조를 갖는다: 인간 IgG 중쇄 신호 펩티드, 가변 중쇄 영역(VH), 불변 중쇄 영역 1(CH1), 힌지 영역, 불변 중쇄 영역 2(CH2), 불변 중쇄 영역 3(CH3), 푸린 절단 부위, GSG 링커, P2A 펩티드, 인간 카파 경쇄 신호 펩티드, 가변 경쇄 영역(VL), 및 불변 경쇄 영역(CL, 특히 카파). 구조의 각 부분의 서열(모두 상술된 순서로 서열 식별 번호 1 내에 함유됨)을 아래에 제공한다.

[0466] HIV-1 Env-4E10 Ig의 인간 IgG 중쇄 신호 펩티드-

[0467] MDWTWRILFLVAAATGTHA (서열 식별 번호:29).

[0468] HIV-1 Env-4E10 Ig의 가변 중쇄 영역 -

[0469] QVQLVQSGAEVKRPGSSVTVSCKASGGSFSTYALSWVRQAPGRGLEWMGGVPLLT
ITNYAPRFQGRITITADRSTSTAYLELNSLRPEDTAVYYCAREGTTGWGWLGPAGAF
AHWGQGTLVTVSS (서열 식별 번호:30).

[0470] HIV-1 Env-4E10 Ig의 불변 중쇄 영역 1(CH1) -

[0471] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV (서열 식별 번호:31).

[0472] HIV-1 Env-4E10 Ig의 힌지 영역 - EPKSCDKTHTCPPCP (서열 식별 번호:32).

[0473] HIV-1 Env-4E10 Ig의 불변 중쇄 영역 2(CH2) -

APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
(서열 식별 번호:33).

[0474]

[0475] HIV-1 Env-4E10 Ig의 불변 중쇄 영역 3(CH3) -

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGK
(서열 식별 번호:34).

[0476]

[0477] HIV-1 Env-4E10 Ig의 퓨린 절단 부위 - RGRKRRS (서열 식별 번호:35).

[0478] HIV-1 Env-4E10 Ig의 GSG 링커 및 P2A 펩티드 -

GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 식별 번호:36).

[0479]

[0480] HIV-1 Env-4E10 Ig의 인간 카파 경쇄 신호 펩티드 -

MVLQTQVFISLLWISGAYG (서열 식별 번호:37).

[0481]

[0482] HIV-1 Env-4E10 Ig의 가변 경쇄 영역(VL) -

EIVLTQSPGTQSLSPGERATLSCRASQSVGNKLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRPSG
VADRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGQSLSTFGGQTKVE
(서열 식별 번호:38).

[0483]

[0484] HIV-1 Env-4E10 Ig의 불변 경쇄 영역(CL, 카파) -

KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSITYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGE
(서열 식별 번호:39).

[0485]

[0486] 실시예 13

[0487] HIV-1 4E10 ScFab

[0488] 상술된 HIV-1 Env-PG9 Ig에 부가하여, 단일쇄 Fab(즉, 단일 전사체로 전사되고 단일 폴리펩티드로 번역되는 핵산 서열에 의해 인코딩된 VH/CH1 및 VL/CL)를 4E10 항체(본원에서 HIV-1 4E10 scFab로 나타냄)에 기반하여 생성하였다. HIV-1 4E10 scFab를 인코딩하는 핵산 서열을 서열 식별 번호 52 및 도 48에 나타낸다. 도 48에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 상기 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG)을 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA 또는 TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 52에 나타난 핵산 서열은 최적화된 핵산 서열이다, 즉 코작 서열(GCC ACC), 코돈 최적화, 및 리더 서열을 포함하였다. 리더 서열은 작제물의 5' 말단, 즉 단일쇄 Fab 앞에 배치하였고, 이에 따라 링커 서열에 의해 인코딩된 신호 펩티드는 단일쇄 Fab의 아미노 말단에 펩티드 결합에 의해 연결되었다. 서열 식별 번호 52에 나타난 핵산 서열에는 또한 VH/CH1을 인코딩하는 핵산 서열 및 VL/CL을 인코딩하는 핵산 서열 간에 배치된 링커 서열이 포함되었다. 따라서 서열 식별 번호 52에 의해 인코딩된 폴리펩티드에서, 링커 서열에 의해 인코딩된 아미노산 서열은 VH/CH1 및 VL/CL을 함께 유지하였다. 서열 식별 번호 52은 서열 식별 번호 53 및 도 49에 나타난 아미노산 서열, 즉 HIV-1 4E10 scFab의 아미노산 서열을 인코딩하였다.

[0489] 실시예 14

[0490] CHIKV-Env-Fab

[0491] 상술된 바와 같이, HIV-1 Env에 반응성인 Fab는 세포 또는 마우스로 HIV-1Env Fab의 중쇄(VH-CH1) 및 경쇄(VL-CL)를 인코딩하는 핵산 서열의 전달 시 생체 내 조립되거나 생성되었다. 다른 항원에 반응성인 Fab가 세포 또는 대상체에 대한 인코딩 핵산 서열의 전달 시 생체 내 생성될 수 있는지를 결정하기 위해, 치쿤균야 바이러스(CHIKV)의 외피 단백질(Env)에 반응성인 항체의 중쇄(VH-CH1) 및 경쇄(VL-CL, 람다 유형)를 인코딩하는 작제물을 생성하였다. 각각의 작제물에는 도 20a, 20b 및 21에 나타난 바와 같은 리더 서열 및 코작 서열이 포함되었다. VH-CH1 및 VL-CL을 인코딩하는 작제물을 발현 벡터 내로 클로닝하고, 이에 따라 사이토메갈로바이러스(CMV)

프로모터의 제어 하에 배치하였다(도 21). VH-CH1 및 VL-CL을 인코딩하는 작제물을 함유하는 발현 벡터는 각각 CHIKV-H 및 CHIV-L로 알려진다. 더불어, CHIKV-H 및 CHIKV-L 벡터의 혼합물은 pCHIKV-Env-Fab로 알려지며, 이는 생체 내 CHIKV-Env-Fab를 생성하였다(즉, 세포 또는 대상체 내로의 도입 시). 다시 말하면, 두 벡터가 모두 아래에 보다 상세히 기재된 바와 같이 생체 내에서 CHIKV-Env-Fab를 생성하기 위해 필요하였다.

[0492] 작제물은 또한 발현을 위해 최적화되었다. 특히, 생체 내에서 CHIKV-Env-Fab의 생성 시 CHIKV-Env-Fab의 분비 효율을 증가시키기 위해 각 작제물에 리더 서열을 포함시켰다. 각각의 작제물을 또한 코돈 최적화하고 코작 서열(GCC ACC)을 포함시켰다. CHIKV-Env-Fab의 중쇄(VH-CH1)를 인코딩하는 핵산 서열을 서열 식별 번호 58 및 도 56에 나타낸다. 도 56에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 58은 서열 식별 번호 59 및 도 57에 나타낸 아미노산 서열, 즉 CHIKV-Env-Fab의 중쇄(VH-CH1)의 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0493] CHIKV-Env-Fab의 경쇄(VL-CL)를 인코딩하는 핵산 서열을 서열 식별 번호 60 및 도 58에 나타낸다. 도 58에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 60은 서열 식별 번호 61 및 도 59에 나타낸 아미노산 서열, 즉 CHIKV-Env-Fab의 경쇄(VL-CL)의 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0494] 생체 내 CHIKV-Env-Fab 생성의 경시적 역학을 측정하기 위해, 세포를 pVAX1, CHIKV-H, CHIKV-L, 또는 pCHIKV-Env-Fab로 전달감염시켰다. 전달감염 후, ELISA를 이용하여 경시적인 CHIKV-Env-Fab 생성 수준을 측정하였다. 도 22에 나타낸 바와 같이, pVAX1, CHIKV-H, 또는 CHIKV-L로 전달감염된 세포는 CHIKV Env 항원에 반응성인 항체를 생산하지 않았다. 대조적으로, pCHIKV-Env-Fab로 전달감염된 세포는 CHIKV Env 항원에 반응성인 항체(즉, CHIKV-Env-Fab, CHIKV-Fab로도 알려져 있음)를 생산하였다. 따라서 이들 데이터는 CHIKV-Env-Fab의 중쇄(VH-CH1) 및 경쇄(VL-CL)를 인코딩하는 핵산 서열의 전달이 CHIKV-Env 항원에 결합하거나 반응성인 Fab의 생성을 일으킴을 나타내었다.

[0495] 추가적으로, CHIKV-Env-Fab를 CHIKV-Env 항원을 인코딩하는 플라스미드인 pCHIKV-Env로 전달감염된 세포에서 수득된 용해액의 웨스턴 블롯에 이용하였다. 도 23에 나타낸 바와 같이, CHIKV-Env 항원이 CHIKV-Env-Fab를 통해 검출되어 상기 Fab가 항원에 결합함을 시사하였다.

[0496] 생체 내 CHIKV-Env-Fab의 생성 또는 조립을 추가 조사하기 위해, 마우스에 pCHIKV-Env-Fab(즉, 12.5 μ g CHIKV-H 및 12.5 μ g CHIKV-L)를 투여하였다. 추가적으로, 제2, 제3, 및 제4군의 마우스에 각각 25 μ g의 pVAX1, CHIKV-H, 및 CHIKV-L을 투여하여, 대조군으로 이용하였다. 특히 플라스미드를 채혈-전 표본의 수득 후 0일에 각 군의 마우스에 투여하였다. 1일, 2일, 3일, 5일, 7일 및 10일에 채혈하였다(도 24). 이들 혈액 상에서 ELISA 측정을 수행하여 CHIKV-Env 항원에 반응성인 항체 수준을 결정하였다. 도 25에 나타낸 바와 같이, pCHIKV-Env-Fab가 투여된 마우스는 CHIKV-Env 항원에 반응성인 항체(즉, CHIKV-Env-Fab) 생성을 일으켰다. pVAX1, CHIKV-H 또는 CHIKV-L이 투여된 마우스는 CHIKV-Env 항원과 유의미하게 반응성을 갖는 항체를 생성하지 않았다. 따라서 이들 데이터는 CHIKV-Env-Fab의 중쇄(VH-CH1) 및 경쇄(VL-CL)를 인코딩하는 핵산 서열의 전달 시, 상기 Fab가 생체 내(즉 마우스에서) 생성되었으며, 그 항원(즉, CHIKV-Env)에 반응성임을 추가로 나타내었으며, 이에 따라 Fab가 생체 내에서 정확히 조립됨을 나타내었다.

[0497] CHIKV-Env-Fab가 CHIKV 감염에 대해 보호할 수 있는지를 결정하기 위해, C57BL/6 마우스(2-3주령; 약 20-25g 체중)에 0일에 pCHIKV-Env-Fab(50 μ g) 또는 pVAX1을 투여하였다. pCHIKV-Env-Fab의 투여 6시간 후, 각 마우스에 비강내 경로로 총 부피 25 μ l 중 7 log 10 PFU를 접종하였다. 다음 날마다 각 마우스에 대해 체중을 측정하고, 체중 손실이 30% 초과인 경우 마우스를 희생시켰다.

[0498] 도 26에 나타낸 바와 같이, pCHIKV-Env-Fab가 투여된 마우스의 약 75%가 연구 14일째에 CHIKV 감염에 생존한 반면, pVAX1이 투여된 마우스는 14일째에 모두 사망하였다. 추가적으로, pCHIKV-Env-Fab가 투여된 마우스는 pVAX1이 투여된 마우스에 비해 더 낮은 수준의 시토카인 TNF- α 및 IL-6에 연관되었다(도 27 및 28). TNF- α 및 IL-6 수준을 마우스에서 수득한 혈청에서 측정하였다. 이들 생존 마우스는 병리 징후, 체중 손실을 나타내지 않았고, 더 낮은 수준의 시토카인 TNF- α 및 IL-6을 가졌다. 따라서 이들 데이터는 pCHIKV-Env-Fab 투여가 마우스를 CHIKV 감염으로부터 보호하고 CHIKV 감염 시 생존을 촉진함을 나타내었다. 다시 말하면, 마우스에서 CHIKV-Env-Fab의 생체 내 생성은 CHIKV 감염에 대해 보호하고 생존을 촉진하였다.

[0499] 실시예 15

[0500] 항-Her-2 Fab

[0501] 상술된 바와 같이, HIV-1 Env 또는 CHIKV Env에 반응성인 Fab(즉, VH/CH1 및 VL/CL)가 세포 또는 마우스로 HIV-1Env Fab 또는 CHIKV Env-Fab의 중쇄(VH-CH1) 및 경쇄(VL-CL)를 인코딩하는 핵산 서열의 전달 시 생체 내 조립되거나 생성되었다. 자가 항원(즉, Fab를 인코딩하는 핵산 서열이 투여된 대상체에 내인성인 항원)에 반응성인 Fab가 세포 또는 마우스로의 인코딩 핵산의 전달 시 생체 내 생성될 수 있는지를 결정하기 위해, 인간 표피 성장 인자 수용체 2(Her-2; Erb2로도 알려져 있음)에 반응성인 항체의 중쇄(VH-CH1) 및 경쇄(VL-CL)를 인코딩하는 작제물을 생성하였다. 각각의 작제물에는 도 28, 30 및 31에 나타난 바와 같이 항-Her-2 Fab의 VH-CH1 또는 VL-CL을 인코딩하는 핵산 서열에 선행하여 리더 서열 및 코작 서열(GCC ACC)이 포함되었다. 따라서 이들 작제물은 리더 서열 및 코작 서열의 도입으로 인해 최적화되었고, 코돈 이용에 대해 추가로 최적화되었다.

[0502] VH-CH1 및 VL-CL을 인코딩하는 작제물을 pVAX1 발현 벡터 내로, 즉 BamHI 및 XhoI 제한 효소 부위 사이에 클로닝하고, 이에 따라 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터의 제어 하에 배치하였다. 특히, VH-CH1 및 VL-CL을 인코딩하는 작제물을 두 별도의 pVAX1 벡터 내로 클로닝하였고, 이에 따라 생체 내에서 항-Her-2 Fab를 생성하기 위해서는 생성된 두 플라스미드가 필요하였다.

[0503] 항-Her-2 Fab의 VH-CH1을 인코딩하는 핵산 서열을 서열 식별 번호 40 및 도 32에 나타낸다. 도 32에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 각각 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 40은 서열 식별 번호 41에 나타난 아미노산 서열, 즉 항-Her-2 Fab의 VH-CH1의 아미노산 서열을 인코딩한다(도 32 및 33).

[0504] 항-Her-2 Fab의 VL-CL을 인코딩하는 핵산 서열을 서열 식별 번호 42 및 도 34에 나타낸다. 도 34에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 각각 핵산 서열을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA TAA) 코돈을 나타낸다. 서열 식별 번호 42는 서열 식별 번호 43에 나타난 아미노산 서열, 즉 항-Her-2 Fab의 VL-CL의 아미노산 서열을 인코딩한다(도 34 및 35).

[0505] 항-Her-2 Fab의 VH-CH1 및 VL-CL을 인코딩하는 플라스미드의 혼합물이 생체 내에서 항-Her-2 Fab를 생성하는지를 결정하기 위해, 293T 세포를 항-Her-2 Fab 또는 pVAX1의 중쇄(VH-CH1) 및 경쇄(VL 및 CL)를 인코딩하는 플라스미드 혼합물로 전달감염시켰다. 전달감염 후, 전체 IgG 농도를 도 36에 나타난 바와 같이 측정하였다. 도 36에서, 오차 막대는 표준 편차를 나타내었다. 이들 데이터는 각각 항-Her-2 Fab의 VH-CH1 또는 VL-CL을 인코딩하는 두 플라스미드의 도입 시 항-Her-2 Fab가 생체 내 생성됨을 나타내었다.

[0506] 실시예 16

[0507] 항-덴기 바이러스 인간 IgG

[0508] 생체 내에서 항-덴기 바이러스(DENV) 인간 IgG 항체를 생성하기 위해 단일 플라스미드 시스템을 생성하였다. 특히, 도 37의 모식도에 나타난 바와 같이 작제물을 생성하였다. 구체적으로, 리더 서열을 IgG 중쇄(즉, 가변 중쇄 영역(VH), 불변 중쇄 영역 1(CH1), 힌지 영역, 불변 중쇄 영역 2(CH2), 및 불변 중쇄 영역 3(CH3))를 인코딩하는 핵산 서열의 상류에 배치하였다. 다시 프로테아제 절단 부위를 인코딩하는 서열을 IgG 중쇄를 인코딩하는 핵산 서열의 하류에 배치하였다. IgG 경쇄(즉, 가변 경쇄 영역(VL) 및 불변 경쇄 영역(CL))를 인코딩하는 핵산 서열을 프로테아제 절단 부위(즉, 퓨린 절단 부위)를 인코딩하는 서열 뒤에 배치하였다. 상기 작제물에 의해 인코딩된 신호 펩티드는 인지체 신호 펩티드였으므로, 이에 따라 발현 시 항체의 적절한 분비를 제공하였다. 추가적으로, 발현 시 단일 전사체가 단일 폴리펩티드로 번역되고, 이어서 프로테아제에 의해 항-DENV 인간 IgG의 중쇄 및 경쇄에 해당하는 폴리펩티드로 가공된다. 이어서 이들 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드는 기능적 항-DENV 인간 IgG로, 즉 그 인지체 항원에 결합하는 항체로 조립된다.

[0509] 상기 작제물을 발현 벡터 pVAX1(즉 BamHI 및 XhoI 부위) 내에 클로닝하고, 이에 따라 프로모터의 제어 하에 배치하였다. 항-덴기 바이러스 인간 IgG를 인코딩하는 상기 작제물은 서열 식별 번호 44에 나타난 핵산 서열을 가지며(도 38), 발현을 위해 최적화되었다. 도 38에서, 밑줄 및 이중 밑줄은 작제물을 pVAX1 벡터 내로 클로닝하기 위해 이용된 BamHI(GGA TCC) 및 XhoI(CTC GAG) 제한 효소 부위를 나타내는 반면, 진한 글씨는 시작(ATG) 및 정지(TGA 또는 TAA) 코돈을 나타낸다. 최적화에는 코작 서열(GCC ACC)의 도입 및 코돈 최적화가 포함되었다. 서

열 식별 번호 44는 서열 식별 번호 45 및 도 39에 나타난 아미노산 서열, 즉 프로테아제에 의해 별도의 중쇄 및 경쇄의 두 별도의 폴리펩티드로의 절단 전 항-DENV 인간 IgG의 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0510]

항-덴기 바이러스 인간 IgG가 생체 내(즉 마우스에서) 생성되는지를 결정하기 위해, 항-덴기 바이러스 인간 IgG를 인코딩하는 핵산 서열을 함유하는 플라스미드를 마우스에 투여하였다. 플라스미드 투여 후, 마우스로부터 혈청을 수득하고 ELISA를 통해 분석하여 혈청이 4가지 덴기 바이러스 혈청형, 즉 DENV-1, DENV-2, DENV-3, 및 DENV-4로부터의 덴기 E 단백질에 반응성인 항체를 함유하는지를 결정하였다. 도 40에 나타난 바와 같이, 항-DENV 인간 IgG를 인코딩하는 핵산 서열을 함유하는 플라스미드가 투여된 마우스로부터의 혈청은 혈청형 DENV-1, -2, -3, 및 -4로부터의 DENV E 단백질에 반응성이었다. 이소형 항체를 양성 대조군으로 이용하였다. 따라서 이들 데이터는 마우스 내로의 플라스미드 도입 시, 항-DENV 인간 IgG를 인코딩하는 핵산 서열이 항-DENV 인간 IgG의 중쇄 및 경쇄를 함유하는 폴리펩티드를 산출하도록 가공되는 폴리펩티드로 전사되고 번역됨을 나타내었다. 이들 폴리펩티드는 항-DENV 인간 IgG로 조립되었고, 이에 따라 DENV E 단백질에 결합하거나 반응성인 기능적 항체를 제공하였다.

[0511]

단일 플라스미드의 투여에 의한 생체 내 항-DENV 인간 IgG의 생성을 추가 조사하기 위해, 마우스에 항-DENV 인간 IgG를 인코딩하는 핵산 서열을 함유하는 플라스미드를 주사를 통해 투여하였다. 구체적으로, 마우스에 50 μ g 또는 100 μ g의 플라스미드를 투여하였고, 각 군 당 마우스는 5마리씩이었다. 주사 후 3일 및 6일에, 마우스를 혈청전환에 대해 조사하였다. 도 41에 나타난 바와 같이, 두 군의 마우스가 모두 항-DENV IgG 항체에 대해 혈청양성이었다. 특히 50 μ g의 플라스미드가 투여된 마우스는 약 110ng/mL의 인간 IgG를 가졌고, 100 μ g의 플라스미드가 투여된 마우스는 약 170ng/mL의 인간 IgG를 가졌다. 따라서 이들 데이터는 항-DENV 인간 IgG를 인코딩하는 플라스미드의 투여 후 생체 내 항-DENV 인간 IgG의 생성을 추가로 나타내었다. 이들 데이터는 또한 항-DENV 인간 IgG 항체 생산이 1주 이내에 일어나며, 이에 따라 항-DENV 인간 IgG 항체의 신속한 생산을 허용함을 나타내었다.

[0512]

상기 상세한 설명 및 동반 실시예는 단지 예시적인 것이며, 오로지 첨부된 특허청구범위 및 이들의 균등부에 의해 정의되는 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 간주되어서는 안 됨이 이해된다.

[0513]

개시된 구현예에 대한 다양한 변화 및 개질은 당분야 숙련가에게 자명할 것이다. 비제한적으로 본 발명의 화학적 구조, 치환체, 유도체, 중간체, 합성, 조성물, 제형 또는 이용 방법에 관한 것들을 포함하는 이러한 변화 및 개질이 발명의 요지 및 범위에서 벗어나지 않고 수행될 수 있다.

도면

도면1

IgG 중쇄를 인코딩하는 최적화된 핵산 서열

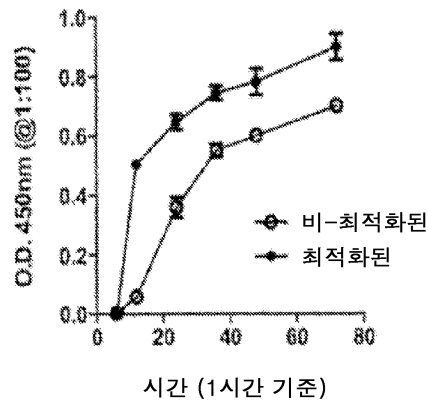
GGATCCGCCACCATGGAACCGACACTCTGCTGTGGTGCTGCTGTGGGTGCCCGGCTCAACAGGCGACGGC
GCTCAGGTCCAGCTGGTCCAGTCTGGAGCTGTGATCAAGACCCCTGGCAGTCCGTCAAAATTCTTGCAGAGCAAGTG
GCTACAACCTCCGGGACTATAGCATCCACTGGGTGCGGCTGATTCCTGATAAGGGATTGAGTGGATCGGCTGGATCAA
GCCACTGTGGGGCGCTGTGCTCTACGCAAGGCAGCTGCAGGGGCGCGTCTCCATGACACGACAGCTGTCTCAGGACCC
AGACGATCCCGATTGGGGGTGGCCTACATGGAGTTCAGTGGACTGACTCCCGCAGACACCGCCGAATATTTTGCCTG
CGGAGAGGCTCTCGCACTACTGTGGGGATTTCCTATGGCAGTATTGGTGTGACGGGAACGTGGTCTGTCTCTAGTG
CATCAACCAAGGGCCCGAGCGTGTTCCTCTGGCCCATCAAGCAAAAGTACATCAGGAGGAACGACGCTCTGGGAT
GTCTGGTGAAGATTACTTCCCGAGCCTGTGACCGTCAGCTGGAACCTCCGGAGCACTGACCTCCGGAGTGCACACATT
TCCCGCTGTCTGCAGTCTCTGGGCTGTACTCTCTGAGTTCAGTGGTCACAGTGCCTAGCTCTCTCTGGGCAACCCAGA
CATATATCTGCAACGTCAATCATAAGCCAAGTAATAAGTGGACAAGAAAGTGAACCCAAATCATGTTACCCCT
ATGACGTGCGCTGATTATGCTTGATAATCGAG (서열 식별 번호:6)

도면2

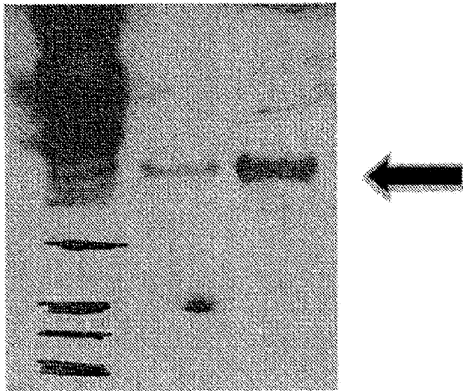
IgG 경체를 인코딩하는 최적화된 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGAGACTGATACACTGCTGTGGGTGCTGCTGTGGGTGCTGCTCAACCGGCACGGG
GCTCAGGTCCAGATTGTGTGACCCAGAGCCCTGGCATCTGTCACTGAGCCAGGAGAGACCGCAACACTGTTCTGCA
AGGCCTCCAGGGCGGGAACGCTATGACATGGTACCAGAAACGGAGAGGACAGGTGCCCGACTGCTGATCTATGACA
CTTCAAGGCGAGCAAGCGAGTGCTGATCGATTGTGCGCAGCGGCTCTGGGACAGACTTCTTCTGACTATTAAATAA
GCTGGACAGAGAGGATTTCGCTGTGTACTATTGCCAGCAGTTTGAATCTTTGGACTGGGCAGCGAGCTGGAAGTGCAC
AGGACCGTGGCGCTCCAAGTGTGTTTCAATTTTCCCCCTAGCGATGAGCAGCTGAAATCCGGGACAGCCTCTGTGGTCT
GTCTGCTGAACAATTTCTACCCCGCGAAGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGACAAACGCCCTGCAGAGTGGCAATTCAC
AGGAGAGCGTGAACCGAACAGGACTCCAAGGATTCTACATATAGTCTGAGCTCCACTCTGACCCCTGTCTAAAGCTGATTA
CGAGAAAGCAAAAGTGTATGCATGCGAAGTCACTCATCAGGGCCTGTCTAGTCTGTGACCAAGAGCTTTAACCGAGG
GGAGTGTTACCATATGACGTCCCGATTACGCTGATAACTCGAG (서열 식별 번호: 7)

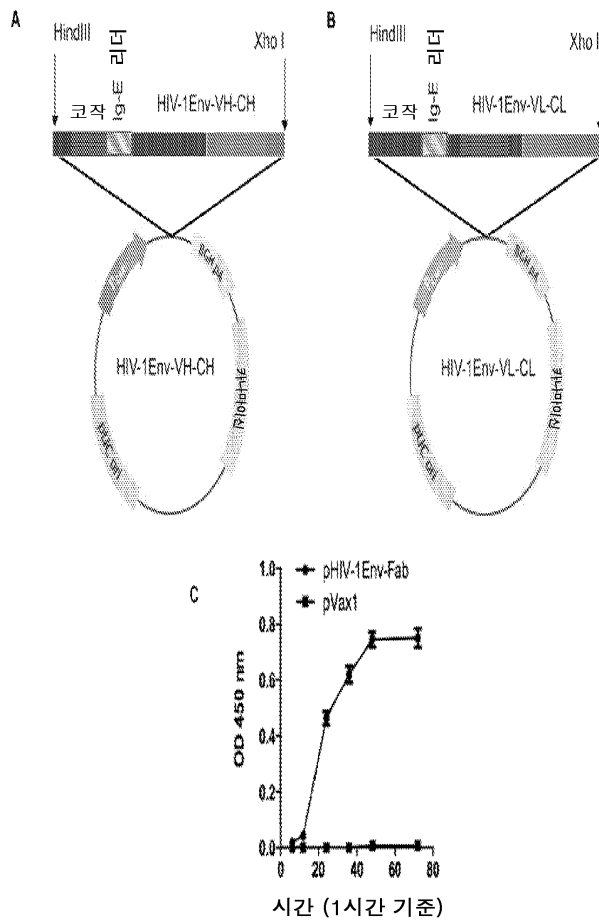
도면3



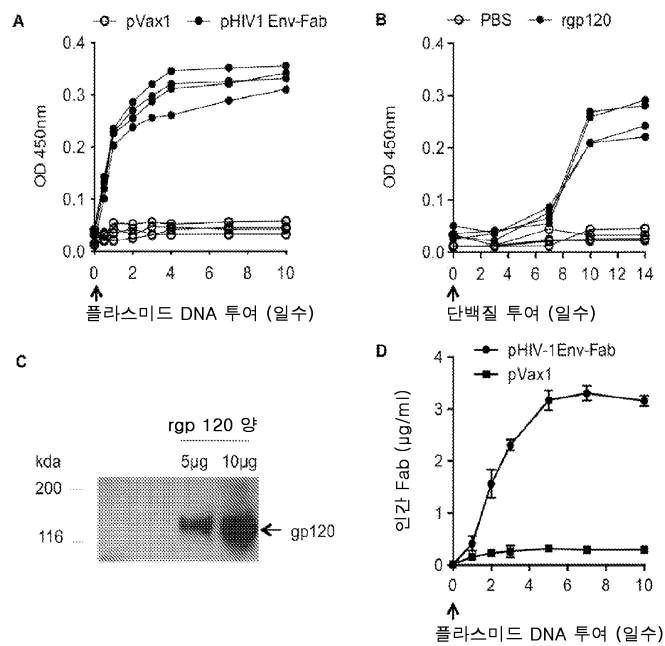
도면4



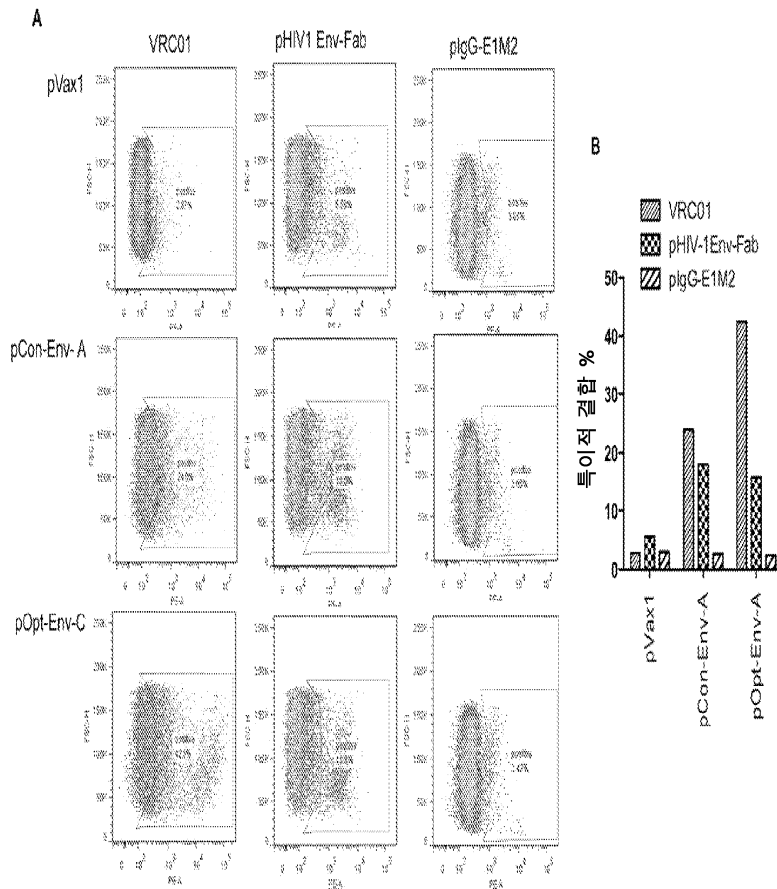
도면5



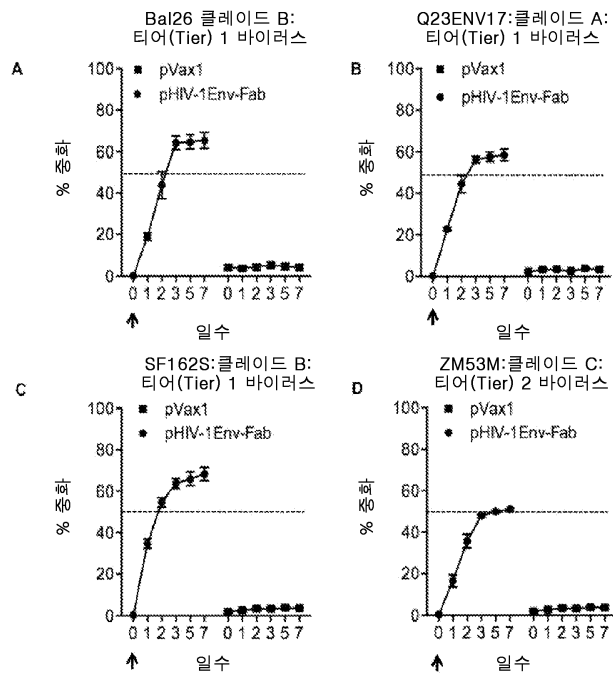
도면6



도면7



도면8



도면9

HIV-1 Env Fab의 중쇄 (VH-CH1)을 인코딩하는 핵산 서열

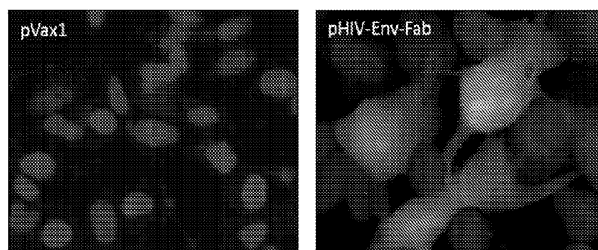
AAGCTTGCCGCCACCATGGAGACTGATACACTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGG
GTGCCAGGGTCAACCGGAGATGGGGCTCAGGTCCAGCTGGTCCAGAGCGGCGGACA
GATGAAGAAACCCGGCGAGAGCATGAGGATCTCCTGCAGAGCATCTGGATACGAGT
TCATCGACTGTACCCTGAAGTGGATTAGGCTGGCTCCTGGAAAGAGACCAGAGTGG
ATGGGGTGGCTGAAACCACGAGGGGGAGCAGTGAATTACGCCCGGCCCTGCAGGG
ACGAGTGACCATGACCGAGGACGTGTACAGCGATACCGCCTTCCTGGAGCTGCGGT
CCCTGACAGTGGACGATACTGCTGTCTACTTCTGCACACGCGGAAAGAACTGTGACT
ATAATTGGGATTTGAACACTGGGGCCGGGGAACACCCGTGATCGTCAGCTCCCCCA
GTACTAAGGGACCTTCAGTGTTCCTACTGGCCCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAG
GGACAGCCGCTCTGGGATGCTGGTGAAGATTATTTCCCGAACCTGTGACCGTCA
GTTGGAAGTCAAGGGGCTCTGACTTCTGGCGTGCACACCTTCCTGCAGTCTGCACT
CAAGCGGGTGTACAGTCTGTCTCTGTGGTCACTGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCA
CTCAGACCTATATTTGTAACGTGAATCATAAGCCATCCAATACAAAAGTGACAAA
AAAGCCGAACCCAAATCCTGTTACCCTTATGATGTGCCCGACTACGCCTGACTCGAG
(서열 식별 번호: 3)

도면10

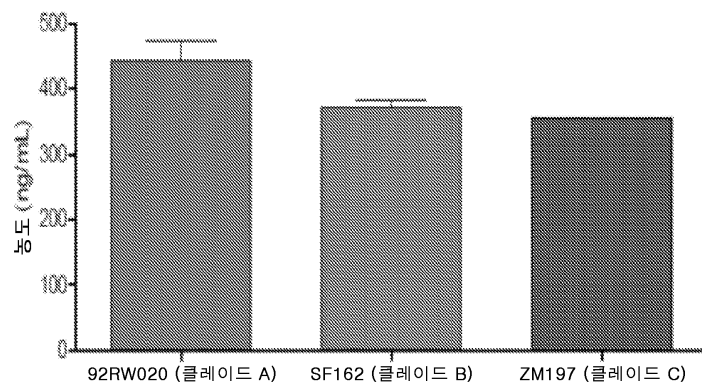
HIV-1 Env Fab의 경쇄 (VL-CL)

AAGCTTGCCGCCACCATGGAAACCGATACACTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGG
GTGCCAGGAAGTACCGGGGATGGGGCTCAGGTCCAGATTGTGTGACTCAGTCCCT
GGGACCCCTGTCTCTGAGTCCAGGCGAGACAGCTATCATTTCATGCCGAAGTACCCAG
TACGGCAGCCTGGCTTGGTATCAGCAGCGACAGGACAGGCACACGACTGGTCAT
CTACTCAGGCAGCACAAGGGCCGCTGGCATCCCCGACAGGTTCTCCGGCAGCAGGT
GGGGGCTGATTACAACCTGACTATCTCTAATCTGGAGAGTGGGGACTTTGGCGTGT
ACTATTGCCAGCAGTATGAGTTCTTCGGCCAGGGAAGTGAAGTGCAGGTGGACATC
AAAAGAACCCTGGCAGCCCCATCCGCTTTCATTTTCCCCCTCTGATGAGCAGCTG
AAGTCAGGCACCGCCAGCGTGTCTGTCTGTGAACAATTTCTACCCCGGGAAGCC
AAGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCTCTGCAGAGTGGAAATTCACAGGAGAGCGT
GACCGAACAGGACTCCAAGGATTCTACATATAGTCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGA
GTAAAGCAGATTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTCACACATCAGGGC
CTGAGGAGCCCCGTGACTAAAAGTTTCAACCGAGGAGAGTGTACCCTTATGATGTG
CCCGACTACGCCTAACTCGAG (서열 식별 번호: 4)

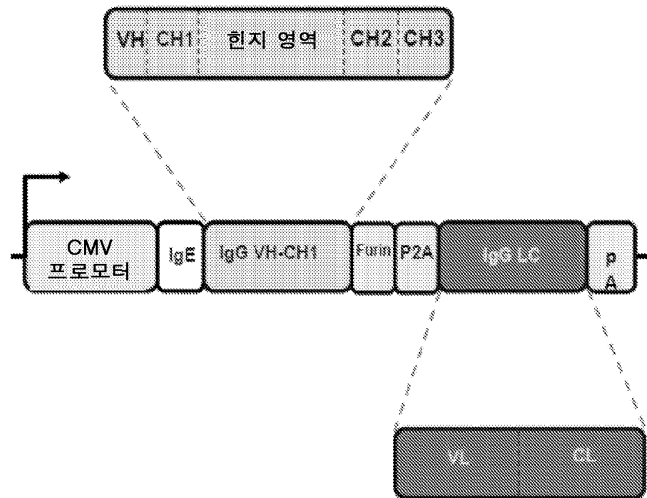
도면11



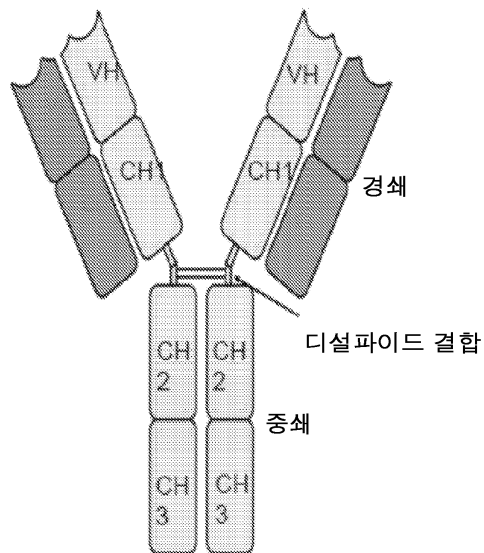
도면12



도면13



도면14

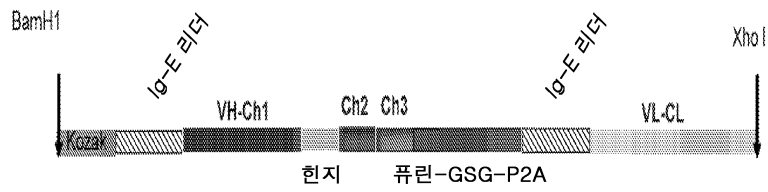


도면15

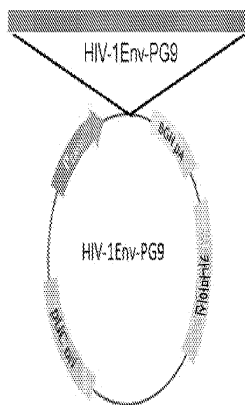
VRC01 IgG

MDWTWILFLVAAATRVHSQVQLVQSGGQMCKPGESMRISCRASGYEFIDCTLNWIRLA
 PGKRPEWMGWLKPGRGAVNYARPLQGRVTMTDVDYSDTAFLELRSLTVDDTAVYFCT
 RGKNCNDYNWDFEHWGRGTPVIVSSPSTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
 PVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVD
 KKAEPKSCEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
 SLSPGKRGRKRRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMDWITWILFLVAAATRVHSEIVLTQ
 SPGTLTSLSPGETAIIISCRSTQYGLAWYQQRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDRFSGSRWGP
 DYNLTISNLESGDFGVYYCQYEFFGQGTKVQVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
 VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH
 KVVYACEVTHQGLRSPVTKSFNRGEC (서열 식별 번호: 5)

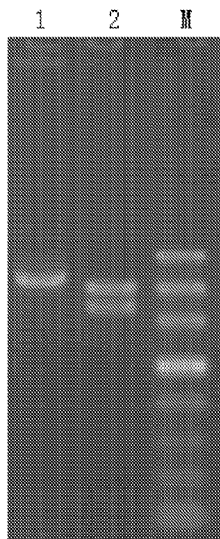
도면16a



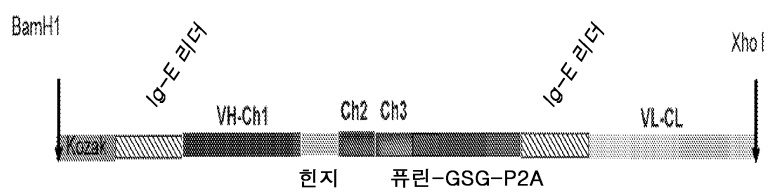
도면16b



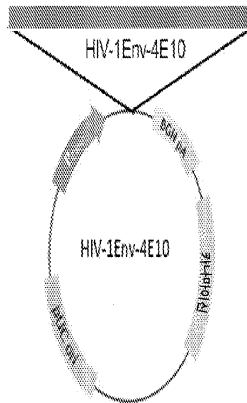
도면16c



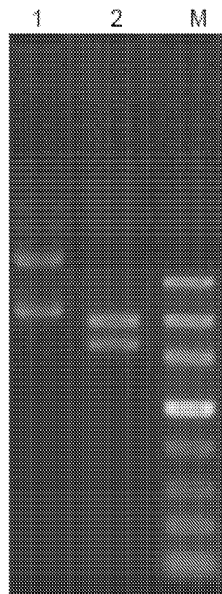
도면17a



도면17b



도면17c



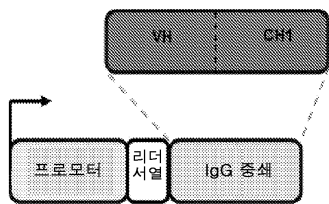
도면18

HIV-1 EnV-PG9 Ig의 아미노산 서열 (프로타아제 절단 전)
MDWTWRILFLVAAATGTHAEFGLSWVFLVAFLRGVQCQRLVESGGGVVQPGSSRLSC
AASGFDFSRQGMHWVRQAPQGGLWVAFIKYDGSEKYHADSVWGRLSISRDNKDTL
YLQMNSLRVEDTATYFCVREAGGPDYRNGYNYYDFYDGYNNYHYMDVWGKTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKRGRKRRSGSGATNFSLLKQAGD
VEENPGMAWTPFLFLLTCCPGGSNSQSALTQPASVSGSPGQSITISCNSTNDVGGYE
SVSWYQQHPGKAPKVVYDVSKRPSGVSNRFSGKSGNTASLTISGLQAEDEGDYYCKS
LTSTRRRVFGTGTCLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW
KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKNKYAASSYLSLTPEQWQKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTV
APTECS (서열 식별 번호: 2)

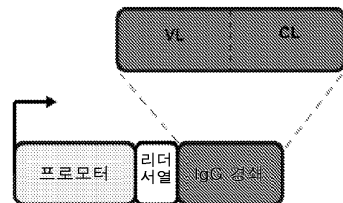
도면19

HIV-1 EnV-4E10 Ig의 아미노산 서열 (프로타아제 절단 전)
MDWTWRILFLVAAATGTHAQVQLVQSGAEVKRPGSSVTVSCKASGGSFSTYALSWVR
QAPGRGLEWMGGVIPLLTITNYAPRFQGRITITADRSTSTAYLELNSLRPEDTAVYYCAR
EGITGWGWLGGKPIGAFAHWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGKRGRKRRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMVLQTQVFISLLWISGAYGEIVL
TQSPGTQSLSPGERATLSCRASQSVGNKLAWYQRPQGAPRLLIYGASSRPSGVADRF
SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSLSTFGQGQTKVEKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLNPFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE (서열 식별 번호: 1)

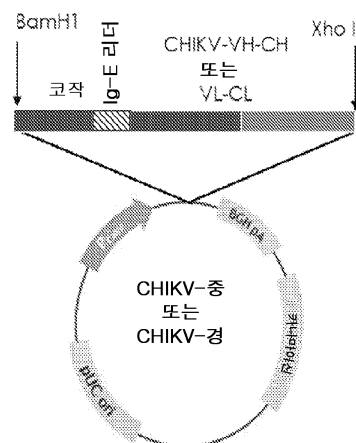
도면20a



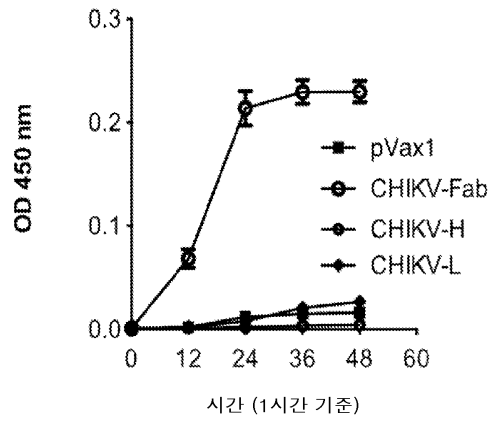
도면20b



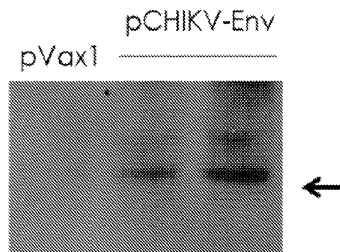
도면21



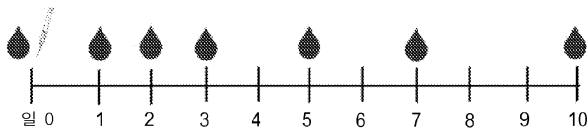
도면22



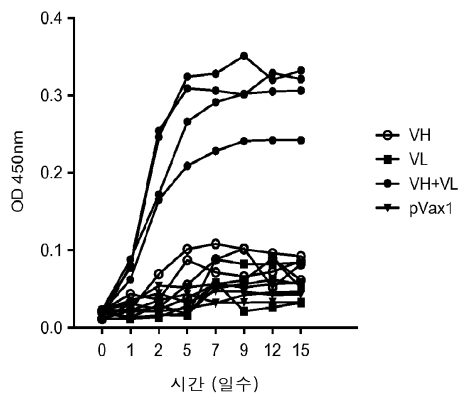
도면23



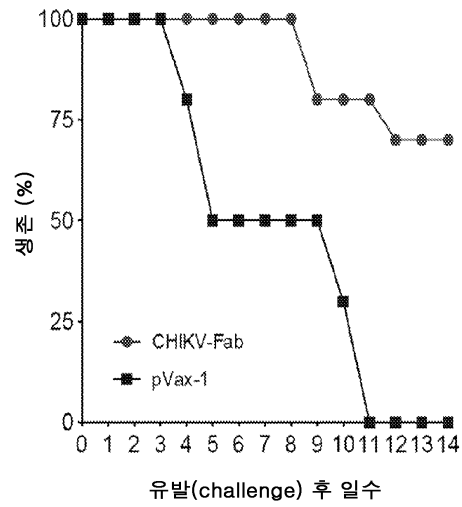
도면24



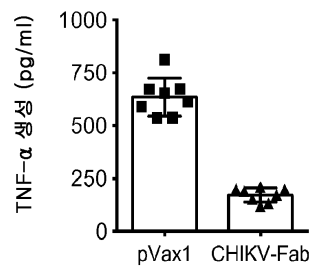
도면25



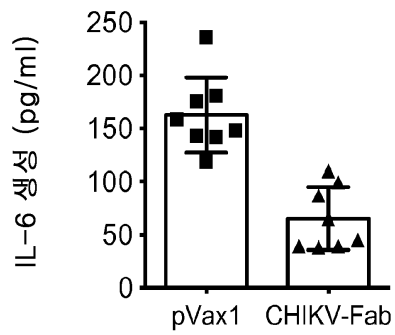
도면26



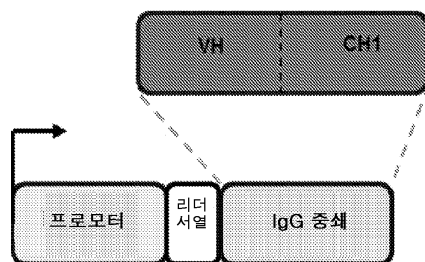
도면27



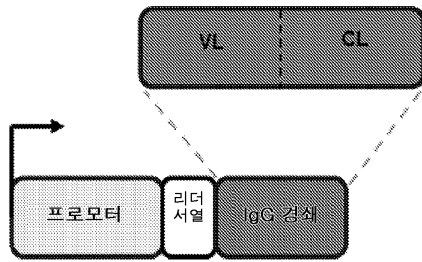
도면28



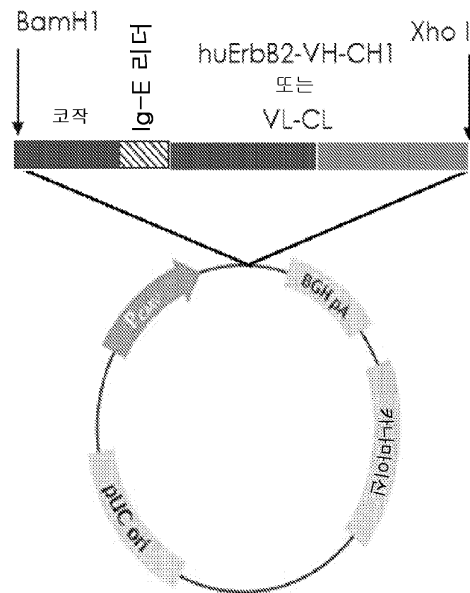
도면29



도면30



도면31



도면32

항-Her-2 Fab의 VH-CH1을 인코딩하는 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGACTGGACATGGATTCTGTTTCTGGTCGCCGCCGCTACAAGAGTGCATTCCGAAGTGCAGCTGG
TCGAGAGTGGAGGGGGACTGGTGCAGCCCGGGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGCTTCACCTTTACAGA
CTACACCATGGATTGGGTGAGACAGGCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGTGGCTGATGTCAACCCAAATAGTGGGG
CTCAATCTACAACAGAGGTTCAAGGGCAGGTTACCTTGAGCGTGGACAGGTCCAAAAACACTCTGTATCTGCAGAT
GAATTCTCTCGGGCTGAAGATACCGCAGTCTACTATTGCGCCGCAATCTGGGCCCAAGCTTCTACTTTGACTATTGG
GGGCAGGGCAGCTGGTACTGTCAGCTCCGCTTCTACAAGGGACCAAGCGTGTCCCACTGGCACCTCTAGTAAAT
CCACCTCTGGAGGGACAGCAGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGACTATTTCCCGAGCCTGTGACTGTCAGCTGGAATC
CGGAGCACTGACTAGCGAGTGCACACCTTTCCAGCCGTCCTGAGTCAAGCGGCTGTACTCCCTGTCTGTGGTC
ACAGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGAACCTAGACCTATATTTGTAATGTGAACCATAAACCAAGCAATACAAAGGTGGAC
AAGAAGGTGAACCAAAATCCTGCTGATACTCGAG (서열 식별 번호: 40)

도면33

항-Her-2 Fab의 VH-CH1의 아미노산 서열

MDWTWILFLVAAATRVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIN
QRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWQQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKKEPKSC
(서열 식별 번호: 41)

도면34

항-Her-2 Fab의 VL-CL을 인코딩하는 핵산 서열

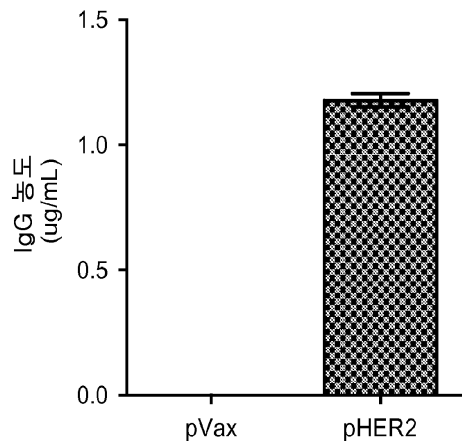
GGATCCGCCACCATGGATTGGACTTGGATTCTGTTCTGGTCGCCGCCGCTACCCGCGTGCAATCCGATATTCAGATGA
CTCAGAGCCCCCTCTACTGTCAGCCAGCGTGGCGACCGAGTCAACATCACATGCAAAGCTTCTCAGGATGTGAGTAT
TGGGGTCCGATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGCACCCAAAGCTGCTGATCTATTCGCTCTTACAGGTATACAGG
AGTGCCACGAGATTCACTGGCTCAGGAAGCGGGACTGACTTIACTCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCTGAGGATTTC
GCTACCTACTATTGCCAGCAGTACTATATCTACCCATATACCTTTGGCCAGGGAACAAAAGTGGAGATCAAGCGGACCG
TGGCCGCTCCCTCCGCTTTCATTTTCCCCCTTCTGACGAACAGCTGAAGAGCGGAACAGCAAGCGTGGTCTGTCTGCT
GAACAATTCTACCTCCGCGAGGCCAAAGTGCAAGGTGCGATAACGCTCTGCACTCCGGAATTCTCAGGAGAG
TGTGACTGAACAGGACTCAAAAGATAGCACCTATTCCTGTCTAGTACACTGACTCTGAGCAAGGCAGACTACGAAAA
GCACAAAGTGTATGCCCTGTGAGGTACCCACCAGGGGCTGTCAAGTCCCGTCACCAAGTCCTTCAATAGAGCGGAATG
CTGATAACTCGAG (서열 식별 번호: 42)

도면35

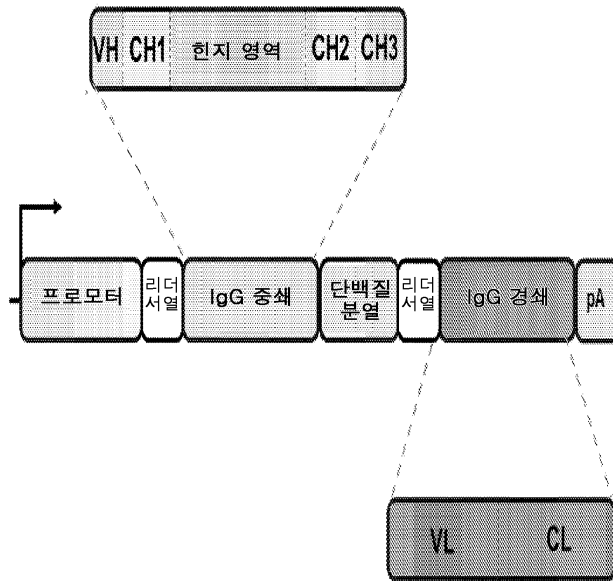
항-Her-2 Fab의 VL-CL의 아미노산 서열

MDWTWILFLVAAATRVHSDIQMTQSPSSLASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQKPKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSG
SGSGTDFLTLSLQPEDFATYYCQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 식별 번호: 43)

도면36



도면37



도면38

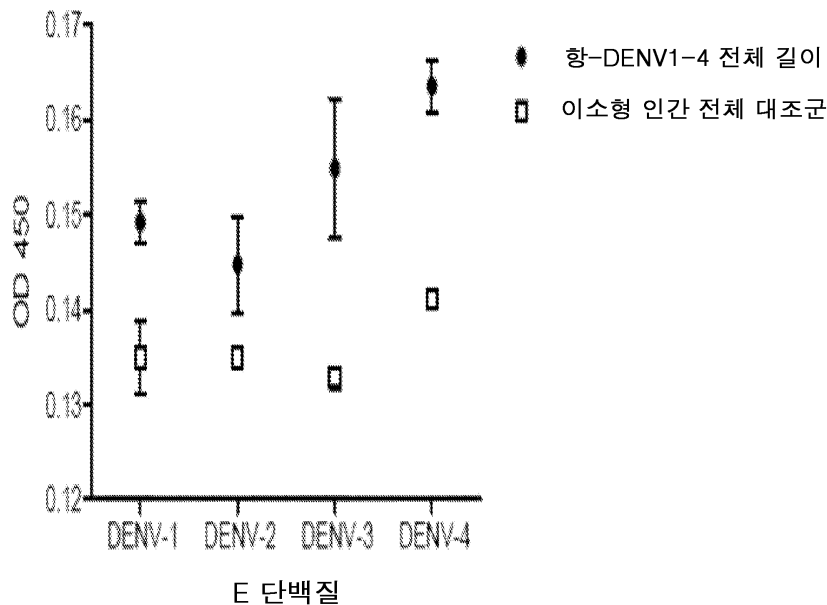
항-DENV 인간 IgG를 인코딩하는 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGACTGGACTTGGAGGATTCTGTTTGGTGCGCCCGCTACTGGGACTCAGCTCAGGCACATCGTGGTGAATCTGGAGGAGGAGTGGTCCAGCCTGGCCGATCCCTGCGACTGTCTTGCAGCTAGCGCCTTCAACTTCAGCACAAACCGAATGCACCTGGGTGCGACAGGCACCAGGCAAGGGACTGGAGTGGTGCCTGTGTGATCTCATACGACGGAA GCCATAAGTACTACTGCAGATTCTGTGAAAGGCCGGTTCACCAATTCCAGGGACAATTCTAAGAACACCCCTGTATCTGCA GATGAATAGCCTGCCGCGACGCCGATACCCGAGTGTACTATTGCCCAACTGTCCGCGTGTGACCTGGCCAGTGAACCGC GAATACTTTCACCAATTGGGGACAGGGCAGTGTGGTCTCAGTGAGCTCCGCAAGTACTAAGGGACCATCAGTGTTCCTCA CTGGCACCCCTCTAGTAAATCTACTAGTGGCGGGACCGCTGCACCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCTCCGAGCCTG TCACCGTGAGCTGGAATTCGGAGCCCTGCACAAGCGGCGTCCACACTTTCCTCCGTGTGCTGCAGTCAAGCGGAGCTGTA CTCCTGTCTCTGTGGTCACTGTGCTAGTTCAGCCTGGGCACTCAGACCTATATCTGCAATGTGAACACAAGCCCT CTAACACCAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAAACCTAAGAGCTGTGTATAAAACACATACTTGCCACCTTGTCCAGCACAG AGCTGTCTGGGAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTAGCCGGACACCTGAAG TCACCTTGGCTGGTCTGGACGTGTGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAAATGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCA TAACGCCAAGACAAACCCCGGGAGGAAACAGTACAATAGCACATATAGAGTCTGTCCGTCTGACTGTGCTGCATCA GGATTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTAAACAAGGCTCTGCCTGCACCAATTCGAGAAAACCATAG CAAGGCTAAAGGCCAGCCTAGGGAACACAGGTTGACACACTGCCTCAAAGTCGCGACGAGCTGACCAAGAATACAGG CTCCTTGACATGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCATCAGATATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAACGGGACGCCCGAAAA CAATTACAAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTTCTTCTGTATTCTAAGCTGACCGTGGACAAAAGT AGATGGCAGCAGGGGAATGTCTTTTCATGTAGCGTGTATGCACGAGGCCCTGCACAACATTACACACAGAAGTCCCTG TCTCTGAGTCCCGAAAGAGGGGGCCGCAACCGAGATCAGGGAGCGGAGCTACTAATTTCAGCCTGTGTAACAGGCA GGGGATGTGGAGGAAAAACCCGGACCTATGGCTTGGACCCCACTGTCTCTGTTTCTGTGTGACATGCTGTCCCGGGGCA GCAATTCTCAGAGTGTCTTGACACAGCCACCATCAGTGAGCGGAGCACCAGGACAGAGGGTGACCATCTCTTGACAG CAGCAGCAGCAACATTGGCGCCGGGTACGACAGCTATTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCCGCTCTAAGCTGTCTGA TCTGTGGCAACAATAACCGCCCACTCTGGGTGCCGATGATTCTCCGGCTCTAAAAGTGGGACTTCAGGCAGCCTGGC TATTACCGGCTCGACGGCGAGGAGCGAAGCTGATTACTATTGCCAGCTACGACTCAAGCTCAGCCAGTACCGGTGTTC GGAGGAGGAACCAAGCTGACAGTCTGGGACAGGCTAAAGCGCTTCCAAGCGTGACACTGTTTCTCTCATCTCTGTAG GAAGTGCAGGCAAAACAGGCCACCCCTGGTGTGCTGATTTCGCACTTCTACCCCGGGGACGTCACTGTGGCTTGAAG GCAGATAGTTCACTGTCAAAGCCGGAGTGGAGACTACCACACCATCAAAGCAGAGCAATAACAAATACGCAGCCAG CTCCTATCTGTCTCTGACCCCTGAGCAGTGGAAAGTCTCACAATCTTATTCTGCCAGGCTACTCAGGAAGGAAGCACT GTGGAGAAAACTGTGCAACCAACCGAATGTAGTGTGATAACTCGAG (서열 식별 번호: 44)

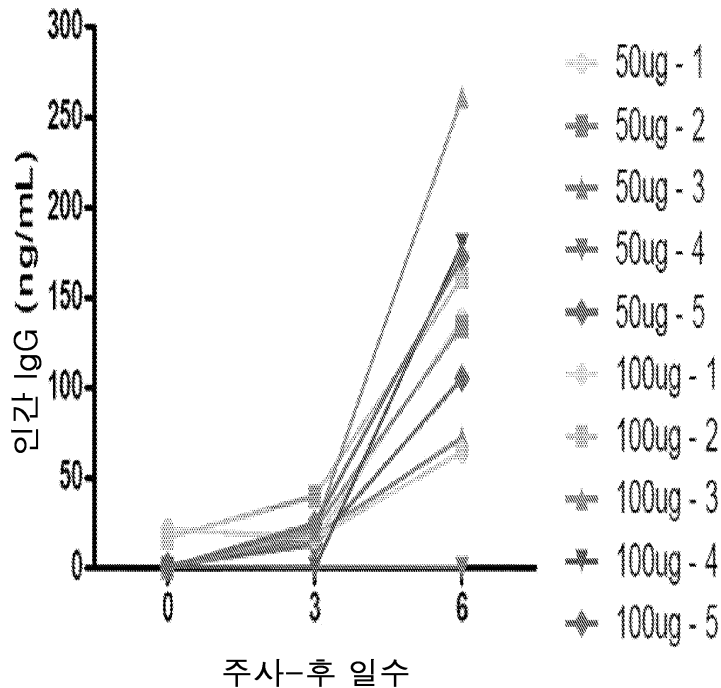
도면39

항-DENV 인간 IgG의 아미노산 서열 (중쇄 및 경쇄 폴리펩티드를 분리하는 프로타아제 절단 전)
MDWTWRILFLVAAATGTHAQHLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASAFNFSTNAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSCHKYY
ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAADTAVYYCATVGVLTWPVNAEYFHHWGQSLVSVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
TSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKRGKRKRRSGSGATNF
SLLKQAGDVEENPGPMAWTPFLFLLTCCPGGSNSQSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPK
LLICGNNNRPSGVPDFRFGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLTGTVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEEL
QANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTV
APTECS (서열 식별 번호: 45)

도면40



도면41



도면42

IgG 중쇄
METDTLLLVWLLLVWPGSTGDGAQVQLVQSGAVIKTPGSSVKISCRASGYNFRDYSIHVWRLIPDKGFIEWIGWIKPLWGAV
SYARQLQGRVSMTRQLSQDPPDPDWGVAYMEFSGLTPADTAIEYFCVRRGSCDYCGDFPWQYWCQGTVVVVSSASTKGPS
VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCYPYDVPDYA (서열 식별 번호: 46)

도면43

IgG 경쇄
METDTLLLVWLLLVWPGSTGDGAQVQIVLTQSPGILSLSPGETATLFCKASQGGNAMTWYQKRRGQVPRLLIYDTSRRASG
VPDRFVSGSGTDFFLINKLDREDAVYYCQQFEFFGLGSELEVHRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECYPYDVPDYA
(서열 식별 번호: 47)

도면44

HIV-1 Env Fab의 중쇄 (VH-CH1)의 아미노산 서열
METDTLLLVWLLLVWPGSTGDGAQVQLVQSGGQMKKPGESMRISCRASGYEFIDCTLNWIRLAPGKRPEWMGWLKPRGG
AVNYARPLQGRVTMTRDVSDFLELRSLTVDDTAVYFCTRGKNCYNWDFEHWGRGTPVIVSSPSTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKA
EPKSCYPYDVPDYA (서열 식별 번호: 48)

도면48

HIV-1 4E10 Fab를 인코딩하는 핵산 서열

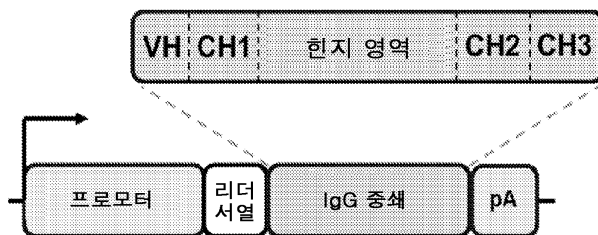
GGATCCGCCACCATGGCAAGACCTCTGTGCACTCTGCTGCTGATGGCTACTCTGGCCGGGGCTCTGGCTGAGATTG
TCCTGACCCAGTCCCTGGCACTCAGTCACTGTCCCCGGCGAGCGCGCAACTCTGTCTGCAGAGCAAGCCAGTCCGT
CGGGAACAACAAAGTGGCATGGTACCAGCAGCGCCAGGACAGGCACCCAGGCTGCTGATCTACGGAGCAAGCTCCC
GGCTAGCGGAGTCGCTGATAGATTCTCCGAAGCGGCTCCGGACCGATTCTACTTGACCATCTCCAGGCTGGAACC
TGAGGATTTTGCCGTATTACTGTGACAGTACGGGAGAGCCTGTCAACTTTCCGCCAGGGAATAAAGTCGAAAA
GAGAACCCTGGCCGACCAAGCGCTTTATTTTCCCCCTAGCGATGAACAGCTGAAATCCGGGACTGCTTCCGTGGTC
TGCTGTCTGAATAACTTCTATCCAAGAGAGGCAAGGTGCAAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGAACTCA
CAGGAATCTGTGACAGAGCAGGACTCCAAGGATAGCACATACAGTCTGTCTCAACTCTGACCTGTCCAAAGCTGAC
TATGAGAAGCATAAAGTCTACGCATGTGAGGTGACCCACAGGACTGAGGTCCCCGTCCTAAGTCTTCAATAGA
GGCGAGTGGGGGGGGGGGAGTGGCGGAGGGGGAAGTGGGGCGGAGGAGTGGCGGCGGGGAGTGGCGGCG
GGCGTCAAGGGGGGGGGGCTCCAGGTCCAGTGGTCCAGAGCGGAGCCGAGGTCAAGAGACCAGGCTTTCAGTCA
CCGTGAGCTGCAAAAGCCAGCGGAGGCTCTTTAGCACTTACGCCCTGTATGGGTGCGGCAGGCCCCAGGCGGAGGCC
TGGAGTGGATGGGCGGCTGATCCCCCTGCTGACCTACTAATATGCCCTAGATTGGAGGCCGGATCACCATCAC
AGCTGACAGATCCACATCCACAGCTTACCTGGAGCTGAACAGTCTGAGGCCGAGGACACTGCAGTCTACTACTGTGC
ACGAGAAGGCACCACTGGATGGGGTGGCTGGGGAAGCCATCGGGGCTTTGCACATTGGGCGGAGGACACTGGT
GACTGTGAGTCTGCGACACTAAAGGGCCAGTGTCTTCCCTCTGGCCCCAAGTCCAAGAGTACATCAGGGGGCACC
GCCGCACTGGGGTGTCTGGTGAAGGATTACTTCCAGAGCCGTGACAGTCAAGTGAACAGCGGCGCTCTGACCAGT
GGGGTGCACACTTCCAGCCGTGCTGACAGTTCAGGGCTGTACTCCCTGTCTCAGTGGTACTGTGCCCTCAAGCA
GTCTGGGAGCTACAGCTTACATTGTGTAATGTGAACCATAAACCTCAAATACTAAAGTGACAAAAAGTGGAACCAA
AGAGCTGATAACTCGAG (서열 식별 번호: 52)

도면49

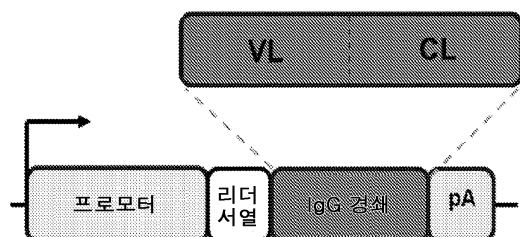
HIV-1 4E10 Fab의 아미노산 서열

MARPLCTLLLMATLAGALAEIVLTQSPGTQSLSPGERATLSCRASQSVGNKLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRPSGVADR
FSGSGSDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQSLTFGQGTKEKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLRSPVTKSFNRGECGGGSGGGSGG
GGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKKRPGSSVTVSCKASGGSFSTYALSWVRQAPGKLEWMGGVIPLLTITNYAP
RFGGRITITADRSTSTAYLELNSLRPEDTAVYYCAREGTTGWGWLKPIGAFAHWGGGTLVTYSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP
KS (서열 식별 번호: 53)

도면50



도면51



도면52

HIV-1 VRC01 IgG1 중쇄 (VH/CH1/한지/CH2/CH3)를 인코딩하는 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGATTGGACATGGATTCTGTTCTGGTCGCCGCCGCACTAGAGTGCAATTCACAGGTGCAGCTGG
TGCAGTCAGGCGGGCAGATGAAGAAACCCGGCGAGAGTATGCGAATCTCATGCCGGGCTAGCGGGTACGAATTCATCG
ACTGTACCTGAACTGGATTAGACTGGCACCTGGGAAGAGGCCAGAGTGGATGGGATGGCTGAAACCTAGAGGCGGG
GCAGTGAATTACGCCAGACCACTGCAGGGCAGGGTCACTATGACCCGCGACGTGATTCTGATACCGCATTCCTGGAG
CTGCGAAGTCTGACAGTCGACGATACTGCCGTGTACTTCTGCACACGGGGCAAGAACTGTGACTATAATTGGGATTTTG
AACACTGGGGCAGGGGACACCTGTCTATTGTGAGCTCCCCAAGTACTAAGGGACCCCTCAGTGTTTCCCTGGCCCTTC
TAGTAAAGTACCTCAGGAGGCACAGCCGCTCTGGGATGCCCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTCACCGTGAG
TTGGAACTCAGCGCCCTTGACAAGCGGGTCCATACATTTTCCAGCTGTGTCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCC
TCTGTGGTCACAGTGCCAGTTCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGTAAAGTCAATCACAAGCCTAGCAATACTA
AAGTGGACAAGAAAGCCGAGCCTAAGAGCTGCGAACCAGTCTGTGATAAAACCCATACATGCCCTCCCTGTCCAG
CTCTGAACCTGTGGGCGGCCATCCGTGTTCTGTTTCCACCAAGCCCAAGACACCCCTGATGATTAGCAGGACTCC
TGAGGTACCTGCTGGTGGTGGAGCTGTCACGAGGACCCCAAGTCAAGTTAACTGGTACGTGGATGGCGTCGA
AGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCGGGAGGAACAGTACAACCTCTACCTATAGAGTCGTGAGTCTCTGACAGTGTCT
GCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTAAAGTGCAAGTGTCTAATAAGGCCCTGCCAGCTCCATCGAGAAAAAC
AATTTCAAGGCAAAAGGCCAGCCAAGGGAACCCAGGTGTACACTCTGCCCTCCATCCCGCAGAGCTGACTAAGAA
CCAGGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCAAGCGATATGCCGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCC
GAGAACAAATACAAGACCACACCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCTCCTTCTTCTGTATTCAAAGCTGACCGTGGATA
AAAGCCGCTGGCAGCAGGGGAACGCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAAGCTCTGCACAATCATTACCCAGAAGT
CTCTGAGTCTGTACCTGGCAAGTGATAACTCGAG (서열 식별 번호: 54)

도면53

HIV-1 VRC01 IgG1 중쇄 (VH/CH1/CH2/CH3)의 아미노산 서열

MDWTWILFLVAAATRVHSQVQLVQSGGQMKPKGESMRISCRASGYEFIDCTLNWIRLAPGKRPEWMGWLKPRGGAVNYA
RPLQGRVTMTDRVYSDTAFLERLSLTVDATAVYFCTRGKNCYNWDFEHWGRGTPVIVSSPSTKGPSVFPLPSSKSTSGGT
AALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLSLTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSC
PKSCDKTHSTCPPAPELGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(서열 식별 번호: 55)

도면54

HIV-1 VRC01 IgG1 경쇄 (VL/CL)를 인코딩하는 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGATTGGACTTGGATTCTGTTCTGGTCGCCGCCGCTACAGAGTCCATCCGAAATGTGCTGA
CCCAGTCTCCCGGAACACTGTCTCTGAGTCTGGCGAGACAGCCATCATTCTCTAGGACTTCTCAGTACGGGAGTCT
GGCATGGTATCAGACGCGACAGGACAGGCTCTCGACTGGTCACTACTCAGGAAGCACTCGGGCAGCCGGCATTCC
CGACCGATTCTCCGGTCTCGGTGGGACCTGATTACAACCTGACCATCTCAAATCTGGAAGCGGAGACTTTGGCGTG
TACTATTGCCAGCAGTATGAGTCTTTGGGCAGGGAACCAAGGTCCAGGTGGACATCAACGCACAGTCGCTGCACCA
AGCGTGTTCACTTTCCACCCCTCAGATGAACAGCTGAAGTCCGGCACCCTCTGTGGTGTGCTGCAACAATTTCTA
CCCCCGGAGGCAAGGTCCAGTGGAAGTGGACAACGCCCTGCAGTCTGGCAATAGTCAGGAGTCACTGACTGAAC
AGGACAGCAAGGATTCACCTATTCTGTCTCTACTCTGACCTGAGCAAGCTGATTACGAGAAGCACAAGTGTA
TGCATGTGAGGTACCCACAGGACTGCGGTACCCGTCACCAAGAGCTTCAATCGCGGAGAGTGTGATAACTCGA
G (서열 식별 번호: 56)

도면55

HIV-1 VRC01 IgG1 경쇄 (VL/CL)의 아미노산 서열

MDWTWILFLVAAATRVHSEIVLTQSPGTLTSLSPGETAIISRTSQYGLAWYQRRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDRFSGSRW
GPDYNLTISNLESGDFGVYYCQQYEFFGQGTQVQVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLRSPVTKSFNRGEC (서열 식별 번호: 57)

도면56

CHIKV-Env-Fab의 중쇄 (VH-CH1)을 인코딩하는 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGATTGGACATGGAGGATTCTGTTCTGGTCGCCGCCGCTACTGGAACTCAGCTCAGGTGCAGC
TGGTGAGTCAGGGTCCGAAGTGAAGAAACAGGGGCATCTGTGAAGGTCAGTTGCAAAGCCTCAGGCTACACCTGA
CACGGTATGCCATGACTTGGGTGCCAGGCTCCTGGACAGGGAAGTGGATGGGCTGGATCAACACTTACACCG
GAAATCCAACCTTATGTGCAGGGGTTCACCGGCCGATTCTGTGTTTCTCTGGACACTTCCGTCTCTACCGCCTTCTGCAC
ATTACAAGTCTGAAGGCAGAGGACACTGCCGTGACTTCTGCGCTAGGGAAGCGGAGCAAGAGGCTTTGATTATTGG
GGCCAGGGAACCTGGTGACAGTCAGCTCCGCCAGCACAAAGGACCTCCGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAA
AGTACATCAGGGGGCACTGCCGCTCTGGGATGTCTGGTCAAAGATTACTTCCCGAACCTGTGACCGTCAGCTGGAAGT
CCGGAGCTCTGACCAGCGGGTGATACATTTCCCGAGTCTGCAGTCAAGCGGACTGTACTCCCTGCTCTGTGGT
CACAGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGGACACAGACTTATATCTGTAATGTGAACCATAGCCAAGCAACACCAAGTGA
CAAAAAGTGGAACCTAAGAGCTGCTGATAACTCGAG (서열 식별 번호: 58)

도면57

CHIKV-Env-Fab의 중쇄 (VH-CH1)의 아미노산 서열

MDWTWRILFLVAAATGTHAQVQLVQSGSELKPGASVKVSKASGYTLTRYAMTWVRQAPQGQLEWMGWINTYTGNPT
YVQGFTRGFVSLDTSVSTAFHLITSLKAEDTAVYFCAREGGARGFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
(서열 식별 번호: 59)

도면58

CHIKV-Env-Fab의 경쇄 (VL-CL)을 인코딩하는 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGCATGGACCCACTGTTCTGTTCTGCTGACTTGTGCTCTGGCGGGAGCAATTCACAGAGCG
TCTGACCCAGCCCCCTTCTGTGTCGGAGACACAGGACAGCGAGTCAATCTCTTGCACTGGAAGCTCCTCTAACAT
TGGGGCCAGCCACGAGCTGCATTGGTACCAGCAGCTGCCAGGGACCGCTCCACACTGCTGATCTATGTGAATCTAAT
AGGCCTAGTGGCGTCCCAGATAGATTTTCAGGGAGCAAGTCCGGCACCTCTGCTAGTCTGGCAATTACAGGACTGCAG
GCTGAGGACGAAGCAGATTACTATTGCCAGAGTTACGACTCAAACCTGTGAGGCAGCGCAGTGTTCGGAGGAGGAACT
AAGCTGACCGTCTCTGGGACAGCCAAAGCCGCTCCTTCTGTGACCTGTTTCCCCCTAGTTCAGAGGAACTGCAGGCCA
ACAAGGCTACTCTGGTGTCTGATCTCCGACTTCTACCTGGAGCAGTGACCGTCGCATGGAAGGCCGATAGTCCCC
AGTGAAAGCTGGGGTCGAGACCACAACTCCCAGCAAGCAGTCCAAACAAGTACGACGCCTCTAGTTATCTGTCACT
GACACCTGAACAGTGGGAAGGCCACAAATCCTATTCTTGCCAAGTGACTCATGAGGGCAGTACCGTGGAAAAGACAGT
CGCCCCAAGTGTCTCTGATAACTCGAG (서열 식별 번호: 60)

도면59

CHIKV-Env-Fab의 경쇄 (VL-CL)의 아미노산 서열

MAWTPFLFLLTCCPGGSNSQSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGASHDVHWYQQLPGTAPTLIIYVNSNRPSGVPDR
FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSNLSGSAVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY
PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSYSQCVTHEGSTVEKTVAPTECS
(서열 식별 번호: 61)

도면60

HIV-1 Env-4E10 Ig를 인코딩하는 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGATTGGACATGGAGGATTCTGTTTCTGGTCGCCGCCGCTACAGGAATCAGCCCCAGGTGCAG
CTGGTGCACTCAGGAGCCGAAGTGAAGCGACAGGCAGCTCCGTCACCTGTGCTCCTGCAAAGCATCTGGCGGATCATT
AGCACCTACGCCCTGAGCTGGGTGAGACAGGCTCCTGGACGAGGACTGGAATGGATGGGAGGCTCATCCCACTGCTG
ACAATTACTAATACGCCCCCGATTTCAGGGCAGGATCACCATTACAGCAGACCGCTCCACTTCTACCGCTATCTGG
AGCTGAATAGCCTGAGACCAGAAGATACCGCAGTGTACTATTGGCCCCGGAGGGAACACAGGATGGGGATGGCTG
GGAAAGCCCATCGGGCTTTCGCACACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACAGTGTCTAGTGCCAGCACAAAGGGCCCC
TCCGTGTTTCCCTGGCTCCTTCAAGCAAAAGTACTTCAGGAGGACCGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACT
TCCCTGAGCCAGTCACCGTGTCTGGAACTCTGGCGCTCTGACCTCCGGAGTGCATACATTTCGCCAGTCTGCAGTC
CTCTGGGCTGTACTCTCTGAGTTCAGTGGTCACTGTGCTAGTCTCTCTCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA
ATCACAAGCCCTCCAATACCAAGTCGACAAGAAAGTGGAACTAAGTCTTGTGATAAAACCCATACATGCCACCTT
GTCCAGCACCTGAGTGTCTGGGGGACCTTCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAAGCAAAAGACACACTGATGATTAGCCG
GACACCTGAAGTGACTTGTGTGGTCTGGACGTGACCCAGGAGACCCCAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGG
CGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAAACCCAGGAGGAAACAGTACAACCTACTTATAGGGTCTGTGAGTGTCTGAC
CGTGTGCAACAGGACTGGTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCCCTGCCAGCTCCCATCGA
GAAAACAATTTCTAAGGCTAAAGGCCAGCCACGCAACCCAGGTGTACACTCTGCCTCCAGCAGGGACGAGCTGAC
CAAGAACCAGGTGAGTCTGACATGTCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAATCCAATGG
ACAGCCCGAAAAAATTAAGACTACCCCCCTGTGCTGGACAGTGTGGATCATTTCTTGTATTCCAAGCTGACC
GTGGACAAATCTCGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTATGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACA
CAGAACTCTGAGTCTGTACCAAGGCAAGCGGGACGCAAAAGGAGAAGCGGCTCCGGCGCTACTAATTACGCTG
CTGAAACAGGCAGGGGATGTGGAGGAAAATCCTGGCCCAATGGTCTGACAGCCAGGTGTTATCTCACTGCTGCTGT
GGATTACGGGGCTTATGGCGAAATCGTGTGACTCAGAGCCCCGGAACCCAGTCTCTGAGTCTGGGGAGCGCGCTA
CACTGAGCTGTGAGCATCACAGAGCGTGGGAACAATAAGCTGGCATGGTACCAGCAGAGGCTGGCCAGGCTCCAA
GACTGCTGATCTATGGCGCAAGTTCACGGCTAGCGGAGTGGCAGACCGCTTCTCCGGATCTGGGAGTGGCACCGATT
TACTCTGACCATAGCAGGCTGGAGCCAGAAGACTTCGCTGTGTACTATTGCCAGCAGTACGGCCAGTCACTGAGCACA
TTTGGACAGGGGACTAAGGTGCAAAAAAGAACCGTGGCAGCCCCAAGTGTCTTCAATTTTCCACCTCAGACGAGCAG
CTGAAGAGTGAACAGCCTCAGTCTGTGTCTGTGAACAATTTCTACCCAGGGAGGCCAAGGTCCAGTGGAAAGTG
GATAACGCTCTGAGAGCGGCAATTCAGGAGTCTGTGACAGAACAGGACAGTAAAGGATTCAACTTATAGCCTGAGC
TCCACACTGACTCTGTCCAAAGCAGATTACGAGAAGCACAAGTGTATGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGACTGTCT
AGTCTGTGACAAAGTCTTTTAAACAGAGGGGAGTGATAACTCGAG (서열 식별 번호: 62)

도면61

HIV-1 Env-PG9 Ig를 인코딩하는 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGACTGGACTTGGAGGATTCTGTTTCTGGTCGCCGCCGCAACTGGAACTCAGCTGAATTTGGAC
TGTATGGGTCTTCTGGTGGCCTTCTGCGAGGGGTCCAGTGCCAGAGGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAGTGGTCCA
GCCAGGCAGCTCCCTGCGACTGAGTTGTGCCGCTTCAGGGTTCGACTTTTCTAGACAGGGCATGCACTGGGTGCCGAG
GCACAGGACAGGGACTGGAGTGGGTGGCTTTCATCAAGTACGACGGAAGTGAATAATCATGCCGATTCAAGTGTGG
GGCGGCTGTCAATTAGCCGCGACAACCTCAAGGATACCTGTACCTGCAGATGAATTTCTGAGGGTCGAGGACACA
GCTACTTATTTCTGCGTGAGGGAAGCAGGCGGACCTGATTACAGAAACGGGTATAATTACTATGACTTTTACGATGGCT
ACTATAACTACCACTATATGGACGTGTGGGCAAGGGAACACAGTCACAGTGTCTAGTGCATCAACTAAAGGCCAA
GCGTGTTCCTCCCTGGCCCTTCAAGCAAGTCCACTTCTGGAGGAACCGCAGCACTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTT
CCCTGAGCAGTACCGTGAGTTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACTAGCGGAGTCCATACCTTTCTGCTGTGCTGCAGTCC
TCTGGGCTGTACAGCCTGAGTTCAGTGTGACAGTGCCAAAGCTCCTCTCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGA
ATCACAAGCCTAGCAATACTAAGGTGACAAAAGAGTGGAACCAAGAGCTGTGATAAACTCATACTGCCACCTT
GTCCAGCACCTGAGCTGTGGGAGGGCTTCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAGCCAAAAGACACCTGATGATTAGCCG
GACACCAGAAGTCACTTGCCTGGTGGTGGAGCTGAGCCACGAGGACCCGGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGATGG
CGTCGAGGTGCATAATGCTAAGACAAAACACGGGAGGAACAGTACAACCTCCACATATCGCGTCTGTCTGTCTGAC
TGTGCTGCACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGTGTCCAATAAGGCAGTCCAGCCCCATCGA
GAAAACATTTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCACGAGAACCCAGGTGTACACTGCCTCCAAGTAGGGACGAGCTGAC
TAAGAACCAGGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCCTCTGATATCGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGA
CAGCCTGAAAACAATTACAAGACTACCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTATAGCAAGCTGACCG
TGGACAAATCCAGATGGCAGCAGGGGAACCTCTTAACTTGTCTAGTGTGACGACGAGGCACTGCACAATCATTACCCC
AGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCTGGCAAGAGGGGAAGAAAAGGAGAAGTGGGTCAAGGCAACAACTTCAGCCTG
CTGAAGCAGGCCGAGATGTGGAGGAAATCCTGGGCCAATGGCTTGGACCCCCCTGTCTCTGTTTCTGCTGACATGCT
GTCTTGGCGGAAGCAACTCCAGTCTGCACTGACACAGCCAGCAAGTGTGTGAGGAGCCAGGACAGAGCATCACCA
TTTCTGTAAACGCACAAGCAATGACGTGCGGGGCTACGAGTCCGTGCTTGGTATCAGCAGCATCCTGAAAAGGCCCC
AAAAGTCGTGATCTACGATGTGACAAACGCCCCCTCTGGGGTGAGTAACCGATTCACTGGATCAAAGAGCGGGAATAC
CGCTTCTGTACAATTAGTGGCTTGCAGGCAGAGGACGAAGGAGATTACTATTGCAATCACTGACAAGCACTCGGCG
CCGAGTCTTCGGAACCGGACAAAGCTGACTGTGTGGGCCAGCCCAAAGCTGCACCTAGCGTGACCTGTGTTCCACCC
AGTTCAAGGAACTGCAGGCTAATAAGGCAACACTGGTGTGTCTGATCTCCGACTTCTACCCCTGGCGGTGCACTGTGG
CCTGGAAGGCTGATAGTCTCCCACTCAAGCAGGAGTGGAAACAACTACCCCTCCAAGCACTAACAACAAGTACG
CCGCTTCTAGTTATCTGTCACTGACTCCGAGCAGTGGAAAGGCCAAATCTATTCTTGCCAGGTGACCCATGAGGG
CTCCACTGTGAAAAGACCGTGGCCCCCTACAGAGTGTCTTGATAACTCGAG (서열 식별 번호: 63)

도면62

VRC01 IgG를 인코딩하는 핵산 서열

GGATCCGCCACCATGGATTGGACATGGATTCTGTTCTGGTCGCCGCCGCAACTAGAGTGCATTACAGGTGCAGCTGG
TGCAGTCAGCGCGGCAGATGAAGAAACCCGGCGAGAGTATGCCAATCTCATGCCGGGCTAGCGGGTACGAATTCATCG
ACTGTACCTGAACTGGATTAGACTGGCACCTGGGAAGAGGCCAGAGTGGATGGCTGAAACCTAGAGGCGGG
GCAGTGAATTACGCCAGACCACTGCAGGGCAGGGTCACTATGACCCGCGACGTGATTCTGATACCGCATTCCTGGAG
CTGCGAAGTCTGACAGTCGACGATACTGCCGTGTAATCTGCACACGGGGCAAGAACTGTGACTATAATTGGGATTTTG
AACTACTGGGGCAGGGGACACCTGTCTATTGTGAGCTCCCCAAGTAAAGGACCTCAGTGTTTCCCTGGCCCCCTTC
TAGTAAAAGTACCTCAGGAGGCACAGCCGCTCTGGGATGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCAGTCACCGTGAG
TTGGAACTCAGGCGCCCTGACAAGCGGGTCCATCTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCC
TCTGTGTCACAGTGGCCAGTTCAAGCTGGGAACACAGACTTATCTGTAACTCAATCACAAGCCTAGCAATACTA
AAGTGGACAAGAAACCGAGCCTAAGAGCTGCGAACCAGTCTGTGATAAAACCATACATGCCCTCCCTGTCCAG
CTCTGAACTGTCTGGCGGCCATCTCTGTTCTGTTCCACCCAGCCCAAGACACCTGATGATTAGCAGGACTCC
TGAGGTACCTGTGGTGTGTCGTCGTCAGGAGCCCAAGTCAAGTTAACTGGTACGTGGATGGCGTCA
AGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCGGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCTGTGAGTGTCTGACAGTGTCT
GCACAGGACTGGTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAGTCTAATAAGGCCCTGCCAGCTCCCATCGAGAAAAC
AATTTCCAGGCAAAAGGCCAGCCAAAGGAACCCAGGTGTACACTCTGCCTCCATCCCGCAGCAGCTGACTAAGAA
CCAGGTCTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCAAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCC
GAGAACAATTACAAGCACACCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCTCTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACCGTGGATA
AAAGCCGCTGGCAGCAGGGGAACGTCTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAAGCTCTGCACATCATTACACCCAGAAGT
CTCTGAGTCTGTACCTGGCAAGAGGGGACGAAAACGGAGAAGCGGCAGCGAGCTACAACTTCAGCCTGCTGAAA
CAGGCAGGCGACGTGGAGGAAAATCTGGGCCAATGGATTGGACTTGGATTCTGTTCTGGTGGCAGCCGTACCAGA
GTCCATTCGAAATTTGTCTGACCCAGTCTCCCGGAACACTGTCTCTGAGTCTGGCGAGACAGCCATCATTTCCTGTA
GGACTTCTCAGTACGGGAGTCTGGCATGGTATCAGCAGCGACAGGACAGGCTCCTCGACTGGTATCTACTCAGGAA
GCACTCGGGCAGCCGATTCGCCAGCATTCTCCGGTCTCGGTGGGACCTGATTACAACCTGACCATCTCAAATCT
GGAAACGGGAGACTTTGGCGTGTACTATTGCCAGCAGTATGAGTCTTTGGGAGGGAACCAAGTCCAGGTGGACAT
CAAACGCACAGTCGTCACCAAGCGTGTCTATCTTCCACCTCAGATGAACAGCTGAAGTCCGGCACCCGCTCTGTG
GTGTGCTGTGTAACAATTTCTACCCCGGGAGGCAAGGTCCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGTCTGGCAAT
AGTCAGGAGTCACTGACTGAACAGGACAGCAAGGATTCCACCTATTCTGTCTCTACTCTGACCTGAGCAAAGCTG
ATTACGAGAAGCACAAGTGTATGCATGTGAGGTCAACCAAGGACTGCGGTCAACCGTCACCAAGAGCTTCAATC
GCGGAGAGTGTGATACTCGAG (서열 식별 번호: 64)

서열 목록

- <110> THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA
WEINER, DAVID
MUTHUMANI, Karupiah
WALTERS, Jewell
SARDESAI, Niranjana
- <120> DNA ANTIBODY CONSTRUCTS AND METHOD OF USING SAME
- <130> UPVG0053 WO
- <150> PCT/US 13/075137
- <151> 2013-12-13
- <150> US 61/737,094
- <151> 2012-12-13
- <150> US 61/881,376
- <151> 2012-09-23
- <150> US 61/896,646

<151> 2012-10-28

<160> 64

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 738

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 1

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

1 5 10 15

Thr His Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg

20 25 30

Pro Gly Ser Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ser Phe

35 40 45

Ser Thr Tyr Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Met Gly Gly Val Ile Pro Leu Leu Thr Ile Thr Asn Tyr Ala

65 70 75 80

Pro Arg Phe Gln Gly Arg Ile Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser

85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Thr Thr Gly Trp Gly Trp Leu Gly Lys

115 120 125

Pro Ile Gly Ala Phe Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys

165 170 175

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

180 185 190
 Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu

 195 200 205
 Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
 210 215 220
 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
 225 230 235 240
 Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 245 250 255
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 260 265 270

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

 340 345 350
 Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 355 360 365
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 370 375 380
 Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 385 390 395 400
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 405 410 415

 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 420 425 430

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 435 440 445
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 450 455 460
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Arg Gly Arg Lys
 465 470 475 480
 Arg Arg Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
 485 490 495
 Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Val Leu Gln Thr Gln Val
 500 505 510
 Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser Gly Ala Tyr Gly Glu Ile Val
 515 520 525
 Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Gln Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala
 530 535 540
 Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Asn Asn Lys Leu Ala
 545 550 555 560
 Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly
 565 570 575
 Ala Ser Ser Arg Pro Ser Gly Val Ala Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 580 585 590
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp
 595 600 605
 Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Gln Ser Leu Ser Thr Phe
 610 615 620
 Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
 625 630 635 640
 Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
 645 650 655
 Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
 660 665 670
 Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
 675 680 685

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
690 695 700

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
705 710 715 720
Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
725 730 735
Gly Glu

<210> 2

<211> 768

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of HIV-1 Env-PG9 Ig

<400> 2

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Thr His Ala Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Phe Leu
20 25 30

Arg Gly Val Gln Cys Gln Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
35 40 45

Gln Pro Gly Ser Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp
50 55 60

Phe Ser Arg Gln Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
65 70 75 80

Leu Glu Trp Val Ala Phe Ile Lys Tyr Asp Gly Ser Glu Lys Tyr His

85 90 95

Ala Asp Ser Val Trp Gly Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
100 105 110

Asp Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala
115 120 125

Thr Tyr Phe Cys Val Arg Glu Ala Gly Gly Pro Asp Tyr Arg Asn Gly
130 135 140

Tyr Asn Tyr Tyr Asp Phe Tyr Asp Gly Tyr Tyr Asn Tyr His Tyr Met
145 150 155 160

Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
165 170 175

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
180 185 190

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
195 200 205

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
210 215 220

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser

225 230 235 240

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
245 250 255

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
260 265 270

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
275 280 285

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
290 295 300

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
305 310 315 320

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
325 330 335

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
340 345 350

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
355 360 365

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

370 375 380

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

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

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

 515 520 525
 Asn Pro Gly Pro Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Leu Phe Leu Leu Thr
 530 535 540
 Cys Cys Pro Gly Gly Ser Asn Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala
 545 550 555 560
 Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Asn Gly
 565 570 575
 Thr Ser Asn Asp Val Gly Gly Tyr Glu Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln
 580 585 590

 His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Val Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg
 595 600 605
 Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr
 610 615 620
 Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Gly Asp Tyr
 625 630 635 640
 Tyr Cys Lys Ser Leu Thr Ser Thr Arg Arg Arg Val Phe Gly Thr Gly

645 650 655
Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr

660 665 670
Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu

675 680 685
Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp

690 695 700
Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro

705 710 715 720
Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu

725 730 735
Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Lys Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr

740 745 750
His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

755 760 765

<210> 3

<211> 792

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding the Heavy Chain (VH-CH1) of HIV-1

Env Fab

<400> 3

aagcttgccg ccaccatgga gactgataca ctgctgctgt ggggtgctgct gctgtgggtg 60

ccagggtcaa ccggagatgg ggctcaggtc cagctgggtcc agagcggcgg acagatgaag 120

aaacccggcg agagcatgag gatctcctgc agagcatctg gatacagatt catcgactgt 180

acctgaact ggattagct ggctcctgga aagagaccag agtggatggg gtggctgaaa 240

ccacgagggg gagcagttaa ttacgcccg ccctgcagg gacgagtac catgaccagg 300

gacgtgtaca gcgataccgc cttcctggag ctgcgggtccc tgacagtgga cgatactgct 360

gtctacttct gcacacgcgg aaagaactgt gactataatt gggattttga aactggggc 420

cggggaacac ccgtgatcgt cagctccccc agtactaagg gaccttcagt gttccactg 480

gcccccteta gtaaatccac ctctggaggg acagccgctc tgggatgcct ggtgaaagat 540

tatttccccg aacctgtgac cgtcagttgg aactcagggg ctctgacttc tggcgtgcac 600
 acctttctcg cagtctgca gtcaagcggg ctgtacagtc tgtcctctgt ggtcactgtg 660
 cctagttcaa gcctggggcac tcagacctat atttgtaacg tgaatcataa gccatccaat 720
 acaaaagtgg acaaaaaagc cgaacccaaa tcctgttacc cttatgatgt gcccgactac 780
 gcctgactcg ag 792

<210> 4

<211> 756

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain (VL-CL) of HIV-1 Env Fab

<400> 4

aagcttgccg ccaccatgga aaccgatata ctgctgctgt ggggtgctgt gctgtgggtg 60
 ccaggaagta cgggggatgg ggctcaggtc cagattgtgc tgactcagtc ccctgggacc 120
 ctgtctctga gtccaggcga gacagctatc atttcatgcc gaactagcca gtacggcagc 180
 ctggcttggg atcagcagcg accaggacag gcaccacgac tggtcattcta ctcaggcagc 240
 acaagggccg ctggcatccc cgacaggttc tccggcagca ggtgggggcc tgattacaac 300
 ctgactatct ctaatctgga gagtggggac tttggcgtgt actattgcca gcagtatgag 360
 ttcttcggcc aggggaactaa ggtgcaggtg gacatcaaaa gaaccgtggc agcccatcc 420

gtcttcattt tcccccttc tgatgagcag ctgaagtcag gcaccgccag cgtggctctgt 480
 ctgctgaaca atttctacce cggggaagcc aaggtgcagt ggaaagtgga caacgtctcg 540
 cagagtggaa attcacagga gagcgtgacc gaacaggact ccaaggattc tacatatagt 600
 ctgagcagca ccctgaccct gagtaaagca gattacgaga agcacaaaagt gtatgcctgt 660
 gaagtacac atcagggcct gaggagcccc gtgactaaaa gtttcaaccg aggagagtgc 720
 tacccttatg atgtgccga ctacgcctaa ctcgag 756

<210> 5

<211> 731

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VRC01 IgG

<400> 5

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

1 5 10 15

His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gln Met Lys Lys Pro
 20 25 30
 Gly Glu Ser Met Arg Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Ile
 35 40 45
 Asp Cys Thr Leu Asn Trp Ile Arg Leu Ala Pro Gly Lys Arg Pro Glu
 50 55 60

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

 130 135 140
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 145 150 155 160
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 165 170 175
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 180 185 190
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 195 200 205

 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 210 215 220
 Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys
 225 230 235 240
 Ser Cys Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 245 250 255
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 260 265 270

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

275	280	285
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
290	295	300
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
305	310	315
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
325	330	335
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
340	345	350

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
355
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
370
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
385
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
405
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

420	425	430
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
435	440	445
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
450	455	460
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Arg Gly Arg Lys Arg Arg		
465	470	475
Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp		
485	490	495

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu
500
Val Ala Ala Ala Thr Arg Val His Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser

515 520 525
 Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Thr Ala Ile Ile Ser Cys
 530 535 540
 Arg Thr Ser Gln Tyr Gly Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly
 545 550 555 560
 Gln Ala Pro Arg Leu Val Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Arg Ala Ala Gly

565 570 575
 Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Trp Gly Pro Asp Tyr Asn Leu
 580 585 590
 Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser Gly Asp Phe Gly Val Tyr Tyr Cys Gln
 595 600 605
 Gln Tyr Glu Phe Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Gln Val Asp Ile Lys
 610 615 620
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 625 630 635 640

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 645 650 655
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 660 665 670
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 675 680 685
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 690 695 700
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Arg Ser

705 710 715 720
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 725 730

<210> 6

<211> 819

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Optimized Nucleic Acid Sequence Encoding IgG Heavy Chain

<400> 6

ggatccgcc ccatggaaac cgacactctg ctgctgtggg tgctgtgct gtgggtgccc 60
ggctcaacag ggcacggcgc tcaggtccag ctgggtccagt ctggagctgt gatcaagacc 120
cctggcagct ccgtcaaaat ttcttgacga gcaagtggct acaacttccg ggactatagc 180

atccactggg tgcggctgat tcctgataag ggatttgagt ggatcggctg gatcaagcca 240
ctgtggggcg ctgtgtccta cgcaaggcag ctgcaggggc gcgtctccat gacacgacag 300
ctgtctcagg acccagacga tcccattgg ggggtggcct acatggagtt cagtggactg 360
actcccgag acaccgccga atatctttgc gtgcggagag gctcctgcga ctactgtggg 420
gatttcccat ggcagtattg gtgtcagga actgtggctg tggctcttag tgcatcaacc 480
aagggcccca gcgtgtttcc tctggcccca tcaagcaaaa gtacatcagg aggaactgca 540
gctctgggat gtctggtgaa ggattacttc cccgagcctg tgaccgtcag ctggaactcc 600

ggagcactga cctccggagt gcacacattt cccgctgtcc tgcagtctc tgggctgtac 660
tctctgagtt cagtggctac agtgccatgc tcctctctgg gcaccagac atatctctgc 720
aacgtcaatc ataagccaag taatactaaa gtggacaaga aagtcgaacc caaatcatgt 780
taccctatg acgtgcctga ttatgcttga taactcgag 819

<210> 7

<211> 753

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Optimized Nucleic Acid Sequence Encoding IgG Light Chain

<400> 7

ggatccgcc ccatggagac tgataactg ctgctgtggg tgctgtgct gtgggtgcct 60

ggctcaaccg ggcacggggc tcaggtccag attgtgctga cccagagccc tggcatcctg 120
tactgagcc caggagagac cgcaactg ttctgcaagg cctcccagg cggaacgct 180
atgacatggt accagaaacg gagaggacag gtgccccgac tgctgatcta tgacattca 240
aggcgagcaa gcggagtgcc tgatcgattt gtcggcagcg gctctgggac agacttcttt 300
ctgactatta ataagctgga cagagaggat ttctgtgtg actattgcca gcagtttgaa 360
ttctttggac tgggcagcga gctggaagtg cacaggaccg tcgcccgtcc aagtgtgttc 420
atctttcccc ctagcgatga gcagctgaaa tccgggacag cctctgtggt ctgtctgctg 480

aacaatttct acccccgcga agcaaagggt cagtggaaag tcgacaacgc cctgcagagt 540
ggcaattcac aggagagcgt gaccgaacag gactccaagg attctacata tagtctgagc 600

tccactctga ccctgtctaa agctgattac gagaagcaca aagtgtatgc atgcgaagtc 660
actcatcagg gcctgtctag tcctgtgacc aagagcttta accgagggga gtgttaccca 720
tatgacgtcc ccgattacgc ctgataactc gag 753

<210> 8

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgE1 Signal Peptide of VRC-1 IgG

<400> 8

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

1 5 10 15

His Ser

<210> 9

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Variable Heavy Region of VRC01 IgG

<400> 9

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

1 5 10 15

Ser Met Arg Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Ile Asp Cys

20 25 30

Thr Leu Asn Trp Ile Arg Leu Ala Pro Gly Lys Arg Pro Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Leu Lys Pro Arg Gly Gly Ala Val Asn Tyr Ala Arg Pro Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Val Tyr Ser Asp Thr Ala Phe

65 70 75 80

Leu Glu Leu Arg Ser Leu Thr Val Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Thr Arg Gly Lys Asn Cys Asp Tyr Asn Trp Asp Phe Glu His Trp Gly

100 105 110
 Arg Gly Thr Pro Val Ile Val Ser Ser Pro Ser Thr Lys Gly
 115 120 125
 <210> 10
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Constant Heavy region 1 (CH1) of VRC01 IgG
 <400> 10
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 20 25 30
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 35 40 45
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 50 55 60
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 65 70 75 80
 Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys
 85 90 95
 Ser Cys

<210> 11
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Hinge Region of VRC01 IgG
 <400> 11
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10 15
 <210> 12
 <211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Constant Heavy Region 2 (CH2) of VRC01 IgG

<400> 12

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 13

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Constant Heavy Region 3 (CH3) of VRC01 IgG

<400> 13

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

100 105

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Furin Cleavage Site of VRC01 IgG

<400> 14

Arg Gly Arg Lys Arg Arg Ser

1 5

<210> 15

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GSG Linker and P2A Peptide of VRC01 IgG

<400> 15

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val

1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 16

<211> 104

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Variable Light Region (VL) of VRC01 IgG

<400> 16

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Thr Ala Ile Ile Ser Cys Arg Thr Ser Gln Tyr Gly Ser Leu Ala

20 25 30
 Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Val Ile Tyr Ser
 35 40 45
 Gly Ser Thr Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg
 50 55 60
 Trp Gly Pro Asp Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser Gly Asp
 65 70 75 80
 Phe Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Phe Phe Gly Gln Gly Thr
 85 90 95
 Lys Val Gln Val Asp Ile Lys Arg

100

<210> 17

<

211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Constant Light Region (CL, kappa) of VRC01 IgG

<400> 17

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

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

100 105

<210> 18

<211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Human IgG Heavy Chain Signal Peptide of HIV-1 Env-PG9 Ig

<400> 18
 Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Thr His Ala

<210> 19
 <211> 154
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Variable Heavy Region of HIV-1 Env-PG9 Ig
 <400> 19
 Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Phe Leu Arg Gly Val
 1 5 10 15
 Gln Cys Gln Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly
 20 25 30

Ser Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg
 35 40 45
 Gln Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
 50 55 60
 Val Ala Phe Ile Lys Tyr Asp Gly Ser Glu Lys Tyr His Ala Asp Ser
 65 70 75 80
 Val Trp Gly Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asp Thr Leu
 85 90 95
 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
 100 105 110
 Cys Val Arg Glu Ala Gly Gly Pro Asp Tyr Arg Asn Gly Tyr Asn Tyr
 115 120 125
 Tyr Asp Phe Tyr Asp Gly Tyr Tyr Asn Tyr His Tyr Met Asp Val Trp

130 135 140
 Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 145 150
 <210> 20
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Constant Heavy region 1 (CH1) of HIV-1 Env-PG9 Ig

<400> 20
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val

<210> 21
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Hinge Region of HIV-1 Env-PG9 Ig
 <400> 21
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10 15
 <210> 22
 <211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Constant Heavy Region 2 (CH2) of HIV-1 Env-PG9 Ig

<400> 22

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Constant Heavy Region 3 (CH3) of HIV-1 Env-PG9 Ig

<400> 23

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

100 105

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Furin Cleavage Site of HIV-1 Env-PG9 Ig

<400> 24

Arg Gly Arg Lys Arg Arg Ser

1 5

<210> 25

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GSG Linker and P2A Peptide of HIV-1 Env-PG9 Ig

<400> 25

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val

1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 26

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human Lamba Light Chain Signal Peptide of HIV-1 Env-PG9 Ig

<400> 26

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Leu Phe Leu Leu Thr Cys Cys Pro Gly

1 5 10 15

Gly Ser Asn Ser

20

<210> 27

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Variable Light Region (VL) of HIV-1 Env-PG9 Ig

<400> 27

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Asn Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Glu Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val

35 40 45

Val Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Lys Ser Leu Thr Ser Thr

85 90 95

Arg Arg Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 28

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Constant Light Region (CL, lambda) of HIV-1 Env-PG9 Ig

<400> 28

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

1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp

20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro

35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn

50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys

65 70 75 80

Ser His Lys Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val

85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 29

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human IgG Heavy Chain Signal Peptide of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 29

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

1 5 10 15

Thr His Ala

<210> 30

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Variable Heavy Region of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 30

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ser Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Val Ile Pro Leu Leu Thr Ile Thr Asn Tyr Ala Pro Arg Phe

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

85 90 95
Ala Arg Glu Gly Thr Thr Gly Trp Gly Trp Leu Gly Lys Pro Ile Gly
100 105 110

Ala Phe Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 31

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Constant Heavy region 1 (CH1) of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 31

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

1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hinge Region of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 32

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

<210> 33

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Constant Heavy Region 2 (CH2) of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 33

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 34

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Constant Heavy Region 3 (CH3) of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 34

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 50 55 60
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 85 90 95
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

100 105

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Furin Cleavage Site of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 35

Arg Gly Arg Lys Arg Arg Ser

1 5

<210> 36

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GSG Linker and P2A Peptide of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 36

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val

1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 37

<211> 20

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Human Kappa Light Chain Signal Peptide of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 37
 Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
 1 5 10 15
 Gly Ala Tyr Gly
 20

<210> 38
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Variable Light Region (VL) of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 38
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Gln Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Asn Asn
 20 25 30
 Lys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

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

<210> 39
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Constant Light Region (CL, kappa) of HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 39

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu

100 105

<210> 40

<211> 744

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding the VH-CH1 of anti-Her-2 Fab

<400> 40

ggatccgcc ccatggactg gacatggatt ctgtttctgg tcgccgccgc tacaagagtg 60

cattccgaag tgcagctggt cgagagtgga gggggactgg tgcagcccgg cggatctctg 120

cgactgagtt gcgccgttc aggttcacc ttacagact acaccatgga ttgggtgaga 180

caggcacctg gcaaggact ggagtgggtg gctgatgtca acccaaatag tgggggtca 240

atctacaacc agaggttcaa gggcagggtc acctgagcg tggacaggtc caaaaact 300

ctgtatctgc agatgaattc tctcgggct gaagataccg cagtctacta ttgcgccgc 360

aatctgggcc caagcttcta ctttgactat tgggggcagg gcacactggt gactgtcagc 420

tccgttcta caaaggacc aagcgtgtc cactggcac cctctagtaa atccacctt 480

ggaggacag cagccctggg ctgtctgtg aaagactatt tccccagcc tgtactgtc 540

agctggaact ccggagcact gactagcgga gtgcacacct ttccagccgt cctgcagtca 600

agcggcctgt actccctgtc ctctgtggtc acagtgccta gttcaagcct gggaactcag 660
acctatatatt gtaatgtgaa ccataaacca agcaatacaa aggtggacaa gaaggtggaa 720
ccaaaatcct gctgataact cgag 744

<210> 41

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of the VH-CH1 of anti-Her-2 Fab

<400> 41

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

1 5 10 15

His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro

20 25 30

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr

35 40 45

Asp Tyr Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

50 55 60

Trp Val Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln

65 70 75 80

Arg Phe Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr

85 90 95

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

180 185 190
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

195 200 205
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

210 215 220
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

225 230 235 240

<210> 42

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding the VL-CL of anti-Her-2 Fab

<400> 42

ggatccgccca ccatggattg gacttggatt ctgttctctgg tcgccgccgc tacccgcgtg 60

cattccgata ttcagatgac tcagagcccc tctcactgt cagccagcgt gggcgaccga 120

gtcaccatca catgcaaagc ttctcaggat gtgagtattg gggtcgcatg gtaccagcag 180

aagccaggca aagcacccaa gctgctgac tattccgcct cttacaggta tacaggagtg 240

cccagcagat tcagtggctc aggaagcggg actgacttta ctctgacat cagtcctctg 300

cagcctgagg atttcgtac ctactattgc cagcagtact atatctaccc atataccttt 360

ggccaggga caaaagtga gatcaagcgg accgtggcgc ctcctccgt cttcattttt 420

cccccttctg acgaacagct gaagagcgga acagcaagcg tggctgtct gctgaacaat 480

ttctaccctc gcgaggccaa agtgagtggt aaggtcgata acgctctgca gtccgggaat 540

tctcaggaga gtgtgactga acaggactca aaagatagca cctattccct gtctagtaca 600

ctgactctga gcaaggcaga ctacgaaaag cacaagtgt atgcctgtga ggtcaccac 660

caggggctgt caagtcccgt caccaagtcc ttcaatagag gcgaatgtg ataactcgag 720

720

<210> 43

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of the VL-CL of anti-Her-2 Fab

<400> 43

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

1 5 10 15

His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser

20 25 30

Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser

35 40 45

Ile Gly Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

50 55 60

Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe

65 70 75 80

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

85 90 95

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr

100 105 110

Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val

115 120 125

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

130 135 140

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser

180 185 190

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys

195 200 205

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr

210 215 220

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230

<210> 44

<211> 2241

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding anti-DENV Human IgG

<400> 44

ggatccgccca ccatggactg gacttggagg attctgtttc tggtcgccgc cgctactggg	60
actcacgctc aggcacatct ggtcgaatct ggaggaggag tggccagcc tggccgatcc	120
ctgcgactgt cttgcgcagc tagcgcttc aacttcagca caaacgcaat gcactgggtg	180
cgacaggcac caggcaaggg actggagtgg gtcgctgtga tctcatacga cggaagccat	240
aagtactatg cagattctgt gaaaggccgg ttcaccattt ccagggacaa ttctaagaac	300
acctgtatc tgcagatgaa tagcctgcgc gcagccgata ccgcagtgtg ctattgcgca	360
actgtcggcg tgctgacctg gccagtgaac gccgaatact ttcaccattg gggacagggc	420
agtctggtct cagtgcgctc cgcaagtact aagggacat cagtgttccc actggcacc	480
tctagtaaat ctactagtgg cgggaccgct gcactgggat gtctggtgaa ggactatttc	540
cccagacctg tcaccgtgag ctggaattcc ggagccctga caagcggcgt ccacactttt	600
cccgtgtgc tgcagtcaag cggactgtac tccctgtcct ctgtggtcac tgtgcctagt	660
tcaagcctgg gcactcagac ctatatctgc aatgtgaacc acaagccctc taacaccaa	720
gtcgacaaga aagtgaacc taagagctgt gataaaacac atacttgccc accttgtcca	780
gcaccagagc tgctgggagg accaagcgtg ttcctgtttc caccgaagcc taaagacaca	840
ctgatgatta gccggacacc tgaagtcact tgcgtggtcg tggacgtgac ccacgaggac	900
cccgaagtca agtttaattg gtacgtggat ggctgcgagg tgcataacgc caagacaaa	960
ccccgggagg aacagtacaa tagcacatat agagtcgtgt ccgtcctgac tgtgctgcat	1020
caggattggc tgaatgggaa ggagtataag tgcaaagtgt ctaacaaggc tctgcctgca	1080
ccaatcgaga aaaccattag caaggctaaa ggccagccta gggaaccaca ggtgtacaca	1140
ctgcctccaa gtcgcgacga gctgaccaag aatcaggtct ccctgacatg tctggtgaaa	1200
ggcttctatc catcagatat cgccgtggag tgggaaaagca acgggcagcc cgaaaacaat	1260
tacaagacca cccccctgt gctggactct gatggcagtt tctttctgta ttctaagctg	1320
accgtggaca aaagtagatg gcagcagggg aatgtctttt catgtagcgt gatgcacgag	1380
gccctgcaca accattacac acagaagtcc ctgtctctga gtcccgaaa gaggggccgc	1440
aaacggagat caggagcgg agctactaat ttcagcctgc tgaacaggc aggggatgtg	1500
gaggaaaacc ccggacctat ggcttggacc ccactgttcc tgtttctgct gacatgctgt	1560

cccgggggca gcaatttctca gagtgtcctg acacagccac catcagttag cggagcacca 1620
 ggacagaggg tgaccatctc ctgcacaggc agcagcagca acattggcgc cgggtacgac 1680
 gtgcattggt atcagcagct gcccggcacc gctcctaagc tgctgatctg tggcaacaat 1740
 aaccgcccac ctgggggtgcc cgatcgattc tccggctcta aaagtgggac ttcagccagc 1800
 ctggctatta ccggcctgca ggccgaggac gaagctgatt actattgcca gagctacgac 1860
 tcaagcctga ccggagtcgt gttcggagga ggaaccaagc tgacagtcct gggacagcct 1920

aaagccgctc caagcgtgac actgtttcct ccatcctctg aggaactgca ggcaacaag 1980
 gccaccctgg tgtgcctgat ttccgacttc taccggggg cagtcactgt ggcttgaag 2040
 gcagatagtt cacctgtcaa agccggagtg gagactacca caccatcaaa gcagagcaat 2100
 aacaaatagc cagccagctc ctatctgtcc ctgacccctg agcagtggaa gtctcacaaa 2160
 tcctattctt gccaggtcac tcacgaagga agcactgtgg agaaaactgt cgcaccaacc 2220
 gaatgtagtt gataactcga g 2241

<210> 45

<211> 739

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of anti-DENV Human IgG

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Phe Asn Phe

35 40 45

Ser Thr Asn Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser His Lys Tyr Tyr Ala

65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn

85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Ala Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Thr Val Gly Val Leu Thr Trp Pro Val Asn Ala Glu
115 120 125

Tyr Phe His His Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Ser Val Ser Ser Ala
130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
180 185 190

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

195 200 205
Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

340 345 350
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln

355 360 365
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

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

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

 Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Cys Gly Asn Asn
 565 570 575
 Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
 580 585 590
 Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala
 595 600 605
 Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Thr Gly Val Val Phe

610 615 620
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro

625 630 635 640
Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys

645 650 655
Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr

660 665 670
Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr

675 680 685
Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr

690 695 700

Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Lys Ser Tyr Ser Cys

705 710 715 720

Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr

725 730 735

Glu Cys Ser

<210> 46

<211> 265

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG Heavy Chain

<400> 46

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Gly Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala

20 25 30

Val Ile Lys Thr Pro Gly Ser Ser Val Lys Ile Ser Cys Arg Ala Ser

35 40 45

Gly Tyr Asn Phe Arg Asp Tyr Ser Ile His Trp Val Arg Leu Ile Pro

50 55 60

Asp Lys Gly Phe Glu Trp Ile Gly Trp Ile Lys Pro Leu Trp Gly Ala

65 70 75 80
 Val Ser Tyr Ala Arg Gln Leu Gln Gly Arg Val Ser Met Thr Arg Gln

 85 90 95
 Leu Ser Gln Asp Pro Asp Asp Pro Asp Trp Gly Val Ala Tyr Met Glu
 100 105 110
 Phe Ser Gly Leu Thr Pro Ala Asp Thr Ala Glu Tyr Phe Cys Val Arg
 115 120 125
 Arg Gly Ser Cys Asp Tyr Cys Gly Asp Phe Pro Trp Gln Tyr Trp Cys
 130 135 140
 Gln Gly Thr Val Val Val Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 145 150 155 160

 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 165 170 175
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 180 185 190
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 195 200 205
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 210 215 220
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

 225 230 235 240
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 245 250 255
 Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
 260 265

 <210> 47
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> IgG Light Chain
 <400> 47
 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

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

<210> 48

<211> 256

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of the Heavy Chain (VH-CH1) of HIV-1 Env Fab

<400> 48

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Gly Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly

20 25 30

Gln Met Lys Lys Pro Gly Glu Ser Met Arg Ile Ser Cys Arg Ala Ser

35 40 45

Gly Tyr Glu Phe Ile Asp Cys Thr Leu Asn Trp Ile Arg Leu Ala Pro

50 55 60

Gly Lys Arg Pro Glu Trp Met Gly Trp Leu Lys Pro Arg Gly Gly Ala

65 70 75 80

Val Asn Tyr Ala Arg Pro Leu Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp

85 90 95

Val Tyr Ser Asp Thr Ala Phe Leu Glu Leu Arg Ser Leu Thr Val Asp

100 105 110

Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Thr Arg Gly Lys Asn Cys Asp Tyr Asn

115 120 125

Trp Asp Phe Glu His Trp Gly Arg Gly Thr Pro Val Ile Val Ser Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

165 170 175

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

180 185 190

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

195 200 205

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 210 215 220
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 225 230 235 240
 Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

245 250 255

<210> 49

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of the Light Chain (VL-CL) of HIV-1 Env Fab

<400> 49

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Asp Gly Ala Gln Val Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser
 20 25 30
 Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Thr Ala Ile Ile Ser Cys

35 40 45
 Arg Thr Ser Gln Tyr Gly Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly
 50 55 60
 Gln Ala Pro Arg Leu Val Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Arg Ala Ala Gly
 65 70 75 80
 Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Trp Gly Pro Asp Tyr Asn Leu
 85 90 95
 Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser Gly Asp Phe Gly Val Tyr Tyr Cys Gln
 100 105 110

Gln Tyr Glu Phe Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Gln Val Asp Ile Lys
 115 120 125
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 130 135 140
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 145 150 155 160

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
165 170 175

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

180 185 190
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
195 200 205

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Arg Ser
210 215 220

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Tyr Pro Tyr Asp Val
225 230 235 240

Pro Asp Tyr Ala

<210> 50

<211> 1536

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding HIV-1 PG9 Fab

<400> 50

ggatccgcc ccatggcaag acccctgtgc accctgctgc tgctgatggc aaccctggcc 60
ggagccctgg cacagagcgc cctgaccag cccgcaagcg tctccggctc accaggccag 120
agcatcacta ttagttgcaa cgggactagc aacgacgtgg gaggctatga gagtgtcagc 180
tggtaccagc agcatcccg aaaagcacca aaagtggcca tctacgatgt cagtaaaagg 240
ccaagtgggg tctcaaatag gttctcaggg agtaaactcg ggaatacagc atctctgacc 300
atctccggac tgggcgcaga agatgaaggc gactactatt gcaaaagcct gacctcaacc 360

agacggcgag tctttgggac aggcaccaag ctgacagtcc tgacagtgc tgccccctcc 420
gttttcatit ttcaccttc agatgagcag ctgaaatctg gcactgcatc tgtggtctgc 480
ctgtgaaca acttctatcc acgagaggcc aaggtgcagt ggaaagtgga taacgcactg 540
cagtccggca atagtcagga aagcgtgact gagcaggatt ccaaggacag tacctatagc 600
ctgtccagta cactgacct gtccaaggct gactacgaaa aacataaggt gtatgcatgt 660
gaagtgactc accagggact gaggtcacca gtcactaagt cttttaacag gggagagtgc 720
ggcgggggag gatctggagg cggcggctct ggagggggag gctcaggggg cggaggaagc 780

ggcggaggag ggtccggagg aggaggcagt cagagactgg tcgaaagcgg gggaggagtg 840
gtgcagcctg ggtcctcact gagactgtca tgcgctgccg gtggttttga tttttcacga 900
cagggaatgc attgggtcag gcaggcaccc ggacagggcc tggaatgggt cgccttcatt 960
aagtacgacg gaagcgagaa gtaccatgcc gactcagtgt ggggaaggct gagcatctca 1020
agggacaact caaaggacac cctgtacctg cagatgaata gcctgagagt ggaagatacc 1080
gctacttatt tctgcgtgcg agaggccgga gggccagatt accggaacgg gtacaattac 1140
tatgatttct acgacggcta ctacaattac cattatatgg atgtctgggg caaaggaact 1200

acagtcaccg tgagctccgc aagtactaag ggaccttcgc tgtttcctct ggctcccagt 1260
tccaaaagta catccggagg aacagccgct ctgggatgtc tggtaagga ctattttccc 1320
gagcccgta ctgtctctg gaacagcggg gctctgacaa gcggggtgca cacctttcct 1380
gccgtgctgc agtcacagtg gctgtacagt ctgtctagt tctgctactgt gccaaagtca 1440
agtctgggga cccagacata catttgaat gtgaaccata aacctcaaa caccaaagtg 1500
gacaagaaag tggaacctaa aagctgataa ctcgag 1536

<210> 51

<211> 504

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of HIV-1 PG9 Fab

<400> 51

Met Ala Arg Pro Leu Cys Thr Leu Leu Leu Leu Met Ala Thr Leu Ala

1 5 10 15

Gly Ala Leu Ala Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly

20 25 30

Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Asn Gly Thr Ser Asn Asp

35 40 45

Val Gly Gly Tyr Glu Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys

50 55 60

Ala Pro Lys Val Val Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val

65 70 75 80

Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr

85 90 95

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

100	105	110
Leu Thr Ser Thr Arg Arg Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr		
115	120	125
Val Leu Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp		
130	135	140
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn		
145	150	155
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu		
165	170	175
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp		
180	185	190
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr		
195	200	205
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Arg		
210	215	220
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly		
225	230	235
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
245	250	255
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Arg Leu Val Glu Ser		
260	265	270
Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Ser Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala		
275	280	285
Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Gln Gly Met His Trp Val Arg Gln		
290	295	300
Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val Ala Phe Ile Lys Tyr Asp Gly		
305	310	315
Ser Glu Lys Tyr His Ala Asp Ser Val Trp Gly Arg Leu Ser Ile Ser		
325	330	335
Arg Asp Asn Ser Lys Asp Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg		
340	345	350

Val Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Val Arg Glu Ala Gly Gly Pro
 355 360 365
 Asp Tyr Arg Asn Gly Tyr Asn Tyr Tyr Asp Phe Tyr Asp Gly Tyr Tyr
 370 375 380
 Asn Tyr His Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val
 385 390 395 400
 Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
 405 410 415

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

485 490 495
 Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 500

<210> 52

<211> 1503

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding HIV-1 4E10 Fab

<400> 52

ggatccgccca ccatggcaag acctctgtgc actctgtctgc tgctgatggc tactctggcc	60
ggggctcttgg ctgagattgt cctgaccag tcccctggca ctcagtcact gtcctccggc	120
gagcgcgcaa ctctgtcctg cagagcaagc cagtccgtcg ggaacaacaa gctggcatgg	180
taccagcagc gcccaggaca ggcacccagg ctgctgatct acggagcaag ctcccggcct	240
agcggagtgc ctgatagatt ctccggaagc ggctccggga ccgatttcac tctgaccatc	300
tccaggctgg aacctgagga ttttgccgtg tattactgtc agcagtacgg gcagagcctg	360

tcaactttcg gccaggggaac taaagtcgaa aagagaaccg tggccgcacc aagcgtcttt 420
 atttttcccc ctagecatga acagctgaaa tccgggactg cttccgtggt ctgcctgctg 480
 aataacttct atccaagaga ggcaaaggtg cagtggaaag tggacaacgc cctgcagagc 540
 ggaaactcac aggaatctgt gacagagcag gactccaagg atagcacata cagtctgtcc 600

tcaactctga cccgttccaa agctgactat gagaagcata aagtctacgc atgtgaggtg 660
 acccaccagg gactgaggtc ccccgactact aagtccttca atagaggcga gtgcgggggc 720
 gggggcagtg gcggaggggg aagtgggggc ggaggggagt gcgcgcggcg gagtggcggc 780
 ggcggtctcag ggggcggcgg ctcccaggtc cagctgggtc agagcggagc cgaggtcaag 840
 agaccaggct cttcagtcac cgtgagctgc aaagccagcg gaggtcctt tagcacttac 900
 gccctgtcat ggggtcggca ggccccaggc cgaggcctgg agtggatggg cggcgtgac 960
 cccctgtga ccattactaa ctatgccct agatttgag gccggatcac catcacagct 1020

gacagatcca catccacagc ttacctggag ctgaacagtc tgaggcccgga ggacactgca 1080
 gtctactact gtgcacgaga aggcaccact ggatgggggt ggctggggaa gccatcggg 1140
 gcttttgac attggggcgg agggacactg gtgactgtga gctctgccag cactaaagg 1200
 cccagtgtct tccctctggc cccaagtcc aagagtacat cagggggcac cgccgactg 1260
 ggggtgtctg tgaaggatta cttcccagag cccgtgacag tcagttgaa cagcggcgct 1320
 ctgaccagtg ggggtcacac tttcccagcc gtgctgcaga gttcagggt gtactccctg 1380
 tcctcagtgg tgactgtgcc ctcaagcagt ctggggactc agacttacat ttgtaatgtg 1440

aaccataaac cctcaaatc taaagtggac aaaaaagtgg aaccaagag ctgataactc 1500
 gag 1503

<210> 53

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of HIV-1 4E10 Fab

<400> 53

Met Ala Arg Pro Leu Cys Thr Leu Leu Leu Leu Met Ala Thr Leu Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser

35	40	45	
Val Gly Asn Asn Lys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala			
50	55	60	
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Pro Ser Gly Val Ala			
65	70	75	80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile			
85	90	95	
Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr			
100	105	110	
Gly Gln Ser Leu Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Lys Arg			
115	120	125	
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
130	135	140	
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
145	150	155	160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser			
165	170	175	
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr			
180	185	190	
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys			
195	200	205	
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Arg Ser Pro			
210	215	220	
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly			
225	230	235	240
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
245	250	255	
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly			
260	265	270	
Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ser Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala			
275	280	285	
Ser Gly Gly Ser Phe Ser Thr Tyr Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala			

290 295 300
Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Val Ile Pro Leu Leu Thr
305 310 315 320

Ile Thr Asn Tyr Ala Pro Arg Phe Gly Gly Arg Ile Thr Ile Thr Ala
325 330 335
Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Asn Ser Leu Arg Pro
340 345 350
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Thr Thr Gly Trp
355 360 365
Gly Trp Leu Gly Lys Pro Ile Gly Ala Phe Ala His Trp Gly Gly Gly
370 375 380
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

385 390 395 400
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
405 410 415
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
420 425 430
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
435 440 445
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
450 455 460

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
465 470 475 480
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
485 490

<210> 54

<211> 1446

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding the HIV-1 VRC01 IgG1 Heavy Chain
(VH/CH1/Hinge/CH2/CH3)

<400> 54

ggatccgccca ccatggattg gacatggatt ctgttcctgg tcgccgccgc aactagagtg	60
cattcacagg tgcagctggt gcagtcaggc gggcagatga agaaacccgg cgagagtatg	120
cgaatctcat gccgggctag cgggtacgaa ttcategact gtaccctgaa ctggattaga	180
ctggcacctg ggaagaggcc agagtggatg ggatggctga aacctagagg cggggcagtg	240
aattacgccca gaccactgca gggcagggtc actatgaccc gcgacgtgta ttctgatacc	300
gcattcctgg agctgcgaag tctgacagtc gacgatactg ccgtgtactt ctgcacacgg	360
ggcaagaact gtgactataa ttgggatttt gaacactggg gcagggggac acctgtcatt	420
gtgagctccc caagtactaa gggaccctca gtgtttcccc tggcccttc tagtaaaagt	480
acctcaggag gcacagccgc tctgggatgc ctggtgaagg attacttccc tgagccagtc	540
accgtgagtt ggaactcagg cgcctgaca agcgggggtcc atacttttcc agctgtgctg	600
cagtcaagcg ggctgtactc cctgtcctct gtggtcacag tgcccagttc aagcctggga	660
acacagactt atatctgtaa cgtcaatcac aagcctagca atactaaagt ggacaagaaa	720
gccgagccta agagctgcga accaaagtcc tgtgataaaa ccatacatg ccttccctgt	780
ccagctcttg aactgtctgg cgcccattcc gtgttctgt ttcacccaa gcccagaagac	840
acctgatga ttagcaggac tctgaggtc acctgcgtgg tcgtggacgt gtcccacgag	900
gacccgaag tcaagtttaa ctggtacgtg gatggcgtcg aagtgcataa tgccaagaca	960
aaaccccgagg aggaacagta caactctacc tatagagtcg tgagtgtcct gacagtgtg	1020
caccaggact ggctgaacgg gaaggagtat aagtgcgaag tgtctaataa ggccctgcc	1080
gctcccatcg agaaaacaat ttccaaggca aaaggccagc caagggaacc ccaggtgtac	1140
actctgcctc catcccgca cgagctgact aagaaccagg tctctctgac ctgtctggtg	1200
aaaggattct atccaagcga tatcgccgtg gagggggaat ccaatggcca gcccgagaac	1260
aattacaaga ccacaccccc tgtgtggac agcgatggct cttcttttct gtattcaaag	1320
ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag gggaacgtct ttagctgtc cgtgatgcac	1380
gaagctctgc acaatcatta caccagaag tctctgagtc tgtcacctgg caagtataa	1440
ctcgag	1446
<210> 55	
<211> 474	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Amino Acid Sequence of the HIV-1 VRC01 IgG1 Heavy Chain	
(VH/CH1/CH2/CH3)	

<400> 55

Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val
1 5 10 15

His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gln Met Lys Lys Pro
20 25 30

Gly Glu Ser Met Arg Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Ile
35 40 45

Asp Cys Thr Leu Asn Trp Ile Arg Leu Ala Pro Gly Lys Arg Pro Glu
50 55 60

Trp Met Gly Trp Leu Lys Pro Arg Gly Gly Ala Val Asn Tyr Ala Arg
65 70 75 80

Pro Leu Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Val Tyr Ser Asp Thr

85 90 95
Ala Phe Leu Glu Leu Arg Ser Leu Thr Val Asp Asp Thr Ala Val Tyr

100 105 110
Phe Cys Thr Arg Gly Lys Asn Cys Asp Tyr Asn Trp Asp Phe Glu His

115 120 125
Trp Gly Arg Gly Thr Pro Val Ile Val Ser Ser Pro Ser Thr Lys Gly

130 135 140
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly

145 150 155 160

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
165 170 175

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
180 185 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
195 200 205

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
210 215 220

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

225 230 235 240

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

 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 305 310 315 320
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 325 330 335
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 340 345 350
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 355 360 365
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

 370 375 380
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 385 390 395 400
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 405 410 415
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 420 425 430
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 435 440 445

 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 450 455 460
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470
 <210> 56
 <211> 708

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding the HIV-1 VRC01 IgG Light Chain
(VL/CL)

<400> 56

```

ggatccgccca ccatggattg gacttggatt ctgttcctgg tggcagccgc taccagagtc      60
cattccgaaa ttgtgctgac ccagtctccc ggaacactgt ctctgagtcc tggcgagaca      120

gccatcattt cctgtaggac ttctcagtac gggagtctgg catggtatca gcagcgacca      180
ggacaggtct ctcgactggt catctactca ggaagcactc gggcagccgg cattcccgac      240
cgattctccg ggtctcggtg gggacctgat tacaacctga ccattctcaa tctggaaagc      300
ggagactttg gcgtgtacta ttgccagcag tatgagttct ttgggcaggg aaccaaggtc      360
caggtggaca tcaaacgcac agtcgctgca ccaagcgtgt tcattcttcc accctcagat      420
gaacagctga agtcgggcac cgcctctgtg gtgtgcctgc tgaacaattt ctacccccgg      480
gaggcaaagg tccagtggaa agtggacaac gccctgcagt ctggcaatag tcaggagtca      540

gtgactgaac aggacagcaa ggattccacc tattctctgt cctctactct gaccctgagc      600
aaagctgatt acgagaagca caaagtgtat gcatgtgagg tcacccacca gggactgcgg      660
tcacccgtca ccaagagctt caatcgcgga gagtgttgat aactcgag      708

```

<210> 57

<211> 228

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of the HIV-1 VRC01 IgG Light Chain (VL/CL)

<400> 57

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Glu Thr Ala Ile Ile Ser Cys Arg Thr Ser Gln Tyr Gly Ser

35 40 45

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Val Ile

50 55 60

Tyr Ser Gly Ser Thr Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly

65 70 75 80
Ser Arg Trp Gly Pro Asp Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser

85 90 95
Gly Asp Phe Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Phe Phe Gly Gln

100 105 110
Gly Thr Lys Val Gln Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser

115 120 125
Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala

130 135 140
Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val

145 150 155 160

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
165 170 175

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
180 185 190

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys
195 200 205

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Arg Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
210 215 220

Arg Gly Glu Cys

225

<210> 58

<211> 744

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding the Heavy Chain (VH-CH1) of the
CHIKV-Env-Fab

<400> 58

ggatccgccca ccatggattg gacatggagg attctgtttc tggtcgccgc cgctactgga	60
actcacgctc aggtgcagct ggtgcagtca ggtccgaac tgaagaaacc aggggcatct	120
gtgaaggtea gttgcaaagc ctcaggctac accctgacac ggtatgcat gacttgggtg	180
cgccaggctc ctggacaggg actggagtgg atgggctgga tcaacactta caccggaat	240

ccaacttatg tgcaggggtt caccggccga ttcgtgtttt ctctggacac ttcgtctct 300

accgcctttc tgcacattac aagtctgaag gcagaggaca ctgccgtgta cttctgcgt 360

aggggaaggcg gagcaagagg ctttgattat tggggccagg gaaccctggt gacagtcagc 420

tccgccagca caaagggacc ctccgtgttc cactggctc cctctagtaa aagtacatca 480

gggggcactg ccgctctggg atgtctggtc aaagattact tccccgaacc tgtgaccgtc 540

agctggaact ccggagctct gaccagcggg gtgcatacat ttcccgagt cctgcagtca 600

agcggactgt actccctgtc ctctgtggtc acagtgccta gttcaagcct ggggacacag 660

acttatatct gtaatgtgaa ccataagcca agcaacacca aagtggacaa aaaagtggaa 720

cctaagagct gctgataact cgag 744

<210> 59

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of the Heavy Chain (VH-CH1) of the
CHIKV-Env-Fab

<400> 59

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

1 5 10 15

Thr His Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys

20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu

35 40 45

Thr Arg Tyr Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Ala Phe Leu His Ile Thr Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Glu Gly Gly Ala Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly

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

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

<210> 60

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding the Light Chain (VL-CL) of the
CHIKV-Env-Fab

<400> 60

ggatccgcc ccatggcatg gacccactg ttcctgttcc tgctgacttg ttgtcctggc 60
gggagcaatt cacagagcgt cctgaccag ccccttctg tgtccggagc accaggacag 120
cgagtcacaa tctcttgac tggaagctcc tctaacttg gggccagcca cgacgtgcat 180
tggtaccagc agctgccagg gaccgtccc acactgctga tctatgtgaa ctctaataagg 240
cctagtggcg tcccagatag atttcaggg agcaagtccg gcacctctgc tagtctggca 300

attacaggac tgcaggctga ggacgaagca gattactatt gccagagtta cgactcaaac 360
ctgtcaggca gcgcagtggt cggaggagga actaagctga ccgtcctggg acagcccaaa 420
gccgtcctt ctgtgacct gtttcccct agttcagagg aactgcaggc caacaaggct 480
actctggtgt gtctgatctc cgacttctac cctggagcag tgaccgtcgc atggaaggcc 540
gatagctccc cagtgaagc tggggtcgag accacaactc ccagcaagca gtccaacaac 600

aagtacgcag cctctagtta tctgtcactg acacctgaac agtggaagag ccacaaatcc 660
tattcttgcc aagtgactca tgagggcagt accgtggaaa agacagtcgc cccaactgag 720

tgttcctgat aactcgag 738

<210> 61

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of the Light Chain (VL-CL) of the
CHIKV-Env-Fab

<400> 61

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Leu Phe Leu Leu Thr Cys Cys Pro Gly

1 5 10 15

Gly Ser Asn Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly

20 25 30

Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn

35 40 45

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

50 55 60

Ala Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Val Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val

65 70 75 80

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys

145 150 155 160

Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala

[illegible]

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding HIV-1 Env-4E10 Ig

<400> 62

ggatccgccca ccatggatlg gacatggagg attctgtttc tggtcgccgc cgctacagga	60
actcacgccc aggtgcagct ggtgcagtca ggagccgaag tgaagcgacc aggcagctcc	120
gtcactgtgt cctgcaaagc atctggcgga tcattcagca cctacgcctt gagctgggtg	180
agacaggctc ctggacgagg actggaatgg atgggaggcg tcatcccact gctgacaatt	240
actaactacg cccccgatt tcagggcagg atcaccatta cagcagaccg ctccattct	300
accgcctatc tggagctgaa tagcctgaga ccagaagata ccgcagtgtg ctattgcgcc	360

cgggaggggaa ccacaggatg gggatggctg ggaaagccca tgggggcttt cgcacactgg	420
ggccaggggaa ccctggtcac agtgtctagt gccagcaca aggccccc cgtgtttccc	480
ctggctcctt caagcaaaag tacttcagga gggaccgccg ctctgggatg tctggtgaag	540
gactacttcc ctgagccagt caccgtgtcc tggaaactctg gcgctctgac ctccggagtg	600
catacatttc cgcagctcct gcagtcctct gggctgtact ctctgagttc agtggtcact	660
gtgcctagct cctctctggg cacacagact tatactgca acgtgaatca caagccctcc	720
aataccaaag tcgacaagaa agtggaaacct aagtcttgtg ataaaaccca tacatgccca	780

ccttgtccag cacctgagct gctgggcgga ccttcctgt tctgtttcc acccaagcca 840
aaagacacac tgatgattag ccggacacct gaagtgactt gtgtggtcgt ggacgtcagc 900
cacgaggacc ccgaagtga gttcaactgg tacgtggatg gcgtcgaggt gcataaatgcc 960

aagaccaaac ccaggaggga acagtacaac tctacttata gggctcgtgag tgtcctgacc	1020
gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag gagtataagt gcaaagtgtc caataaggcc	1080
ctgccagctc ccatcgagaa aacaatttct aaggctaaag gccagccacg cgaaccccag	1140
gtgtacactc tgcctcccag cagggacgag ctgaccaaga accaggtgag tctgacatgt	1200
ctggtcaaag gcttctatcc aagcgatata gccgtggagt gggaaatcaa tggacagccc	1260
gaaaacaatt acaagactac ccccccgtgtg ctggacagtg atggatcatt ctttctgtat	1320
tccaagtga ccgtggacaa atctcgtctg cagcagggga acgtctttag ctgctccgtg	1380
atgcacgagg ccctgcacaa tcattacaca cagaagtctc tgagtctgtc accaggcaag	1440
cggggacgca aaaggagaag cgggtccggc gctactaact tcagcctgct gaaacaggca	1500
ggggatgtgg aggaaaatcc tggcccaatg gtctgcaga cccaggtgtt tatctcactg	1560
ctgctgtgga ttagcggggc ttatggcgaa atcgtgctga ctgagagccc cggaacccag	1620
tctctgagtc ctggggagcg cgctacactg agctgtcgag catcacagag cgtggggaac	1680
aataagctgg catggtacca gcagaggcct ggccaggctc caagactgct gatctatggc	1740
gcaagttcac ggccatagcg agtggcagac cgcttctccg gatctgggag tggcacccgat	1800
tttactctga ccattagcag gctggagcca gaagacttcg ctgtgtacta ttgccagcag	1860
tacggccagt cactgagcac atttggacag gggactaagg tcgaaaaaag aaccgtggca	1920
gccccaaagt tcttcatttt tccaccctca gacgagcagc tgaagagtgg aacagcctca	1980
gtcgtgtgtc tgctgaacaa tttctacccc agggaggcca aggtccagtg gaaagtggat	2040
aacgctctgc agagcggcaa ttcccaggag tctgtgacag aacaggacag taaggattca	2100
acttatagcc tgagctccac actgactctg tccaaagcag attacgagaa gcacaaagtg	2160
tatgcctcgc aagtcaccca tcagggactg tctagtctg tgacaaagtc ttttaacaga	2220
ggggagtgat aactcgag	2238
<210> 63	
<211> 2328	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding HIV-1 Env-PG9 Ig	
<400> 63	
ggatccgcca ccatggactg gacttggagg attctgtttc tggtcgccgc cgcaactgga	60
actcacgtg aatttggact gtcattgggtc tttctggtgg cttttctgcg aggggtccag	120
tgccagaggc tgggtggagtc cggaggagga gtgttccagc caggcagctc cctgcgactg	180

agttgtgccg cttcagggtt cgacttttct agacagggca tgcactgggt gcgacaggca	240
ccaggacagg gactggagtg ggtggctttc atcaagtacg acggaagtga aaaatatcat	300
gccgattcag tgtggggcgc gctgtcaatt agccgcgaca actccaagga tacctgtac	360
ctgcagatga attctctgag ggtcgaggac acagctactt atttctgcgt gagggaagca	420
ggcggacctg attacagaaa cgggtataat tactatgact ttacgatgg ctactataac	480
taccactata tggacgtgtg gggcaaggga accacagtca cagtgtctag tgcattcaact	540
aaaggcccaa gcgtgtttcc cctggccctt tcaagcaagt ccacttctgg aggaaccgca	600
gcactgggat gtctgggtgaa ggattacttc cctgagccag tcaccgtgag ttggaactca	660
ggcgcctga ctagcggagt ccataccttt cctgctgtgc tgcagtcttc tgggctgtac	720
agcctgagtt cagtgggtcac agtgccaagc tcctctctgg gcaccagac atatatctgc	780
aacgtgaatc acaagcctag caatactaag gtcgacaaaa gagtgggaacc aaagagctgt	840
gataaaactc atacctgccc acctgtcca gcacctgagc tgctgggagg gccttcctg	900
ttcctgtttc cacccaagcc aaaagacacc ctgatgatta gccggacacc agaagtcact	960
tgcgtggctg tggacgtgag ccacgaggac cccgaagtca agtttaactg gtacgtggat	1020
ggcgtcgagg tgcataatgc taagacaaaa ccacgggagg aacagtacaa ctccacatat	1080
cgcgtcgtgt ctgtcctgac tgtgctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtataag	1140
tgcaaagtgt ccaataaggc actgccagcc cccatcgaga aaaccatttc taaggccaaa	1200
ggccagccac gagaacccca ggtgtacaca ctgcctcaa gtagggacga gctgactaag	1260
aaccaggctc ctctgacctg tctgggtgaa ggcttctatc cctctgatat cgctgtggag	1320
tgggaaagta atggacagcc tgaaaacaat tacaagacta cccccctgt gctggacagc	1380
gatggcagct tcttctgtga tagcaagctg accgtggaca aatccagatg gcagcagggg	1440
aacgtcttta gttgctcagt gatgcacgag gcactgcaca atcattacac ccagaaaagc	1500
ctgtccctgt ctcttgga caaggggaaga aaaaggagaa gtgggtcagg cgcaacaac	1560
ttcagcctgc tgaagcaggc cggagatgtg gaggaatac ctgggccaat ggcttgacc	1620
cccctgttcc tgtttctgct gacatgctgt cctggcgga gcaactccca gtctgactg	1680
acacagccag caagtgtgtc agggagccca ggacagagca tcaccatttc ctgtaacggc	1740
acaagcaatg acgtcggggg ctacgagtcc gtgtcttgg atcagcagca tcctggaaag	1800
gccccaaaag tcgtgatcta cgatgtcagc aaacgcccct ctggggtgag taaccgattc	1860
agtggatcaa agagcgggaa tacgccttct ctgacaatta gtggcctgca ggcagaggac	1920
gaaggagatt actattgcaa atcactgaca agcactcggc gccgagtctt cggaaccggg	1980
acaaagctga ctgtgctggg ccagcccaaa gctgcaccta gcgtgacctt gtttccacc	2040

agttcagagg aactgcaggc taataaggca acactggtgt gtctgatctc cgacttctac	2100
cctggcgctg tcaactgtggc ctggaaggct gatagctccc cagtcaaagc aggagtggaa	2160
acaactaccc cctccaagca gtctaacaac aagtacgccg cttctagtta tctgtcactg	2220
actcccagagc agtgggaagag ccacaaatcc tattcttgcc aggtgaccca tgagggctcc	2280
actgtcgaaa agaccgtggc ccctacagag tgttcttgat aactcgag	2328
<210> 64	
<211> 2217	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleic Acid Sequence Encoding VRC01 IgG	
<400> 64	
ggatccgcc ccatggattg gacatggatt ctgttcctgg tcgccgccgc aactagagtg	60
cattcacagg tgcagctggt gcagtcaggc gggcagatga agaaaccgg cgagagtatg	120
cgaatctcat gccgggctag cgggtacgaa ttcacgact gtaccctgaa ctggattaga	180
ctggcacctg ggaagaggcc agagtggatg ggatggctga aacctagagg cggggcagtg	240
aattacgcc aaccactgca gggcagggtc actatgaccc gcgacgtgta tttgatacc	300
gcattcctgg agctgcgaag tctgacagtc gacgatactg ccgtgtactt ctgcacacgg	360
ggcaagaact gtgactataa ttgggatttt gaacactggg gcagggggac acctgtcatt	420
gtgagctccc caagtactaa gggaccctca gtgtttcccc tggccccttc tagtaaaagt	480
acctcaggag gcacagccgc tctgggatgc ctggtgaagg attacttccc tgagccagtc	540
acctgtgatt ggaactcagg cgcctgaca agcgggggcc ataactttcc agctgtgctg	600
cagtcgaagc ggctgtactc cctgtcctct gtggtcacag tgcccagttc aagcctggga	660
acacagactt atatctgtaa cgtcaatcac aagcctagca atactaaagt ggacaagaaa	720
gccgagccta agagctgcga accaaagtcc tgtgataaaa ccatacatg ccttcctgt	780
ccagctctcg aactgctggg cggcccatcc gtgttcctgt ttccaccaa gcccaaagac	840
acctgatga ttagcaggac tctgaggtc acctgcgtgg tcgtggacgt gtcccacgag	900
gaccccgaa g tcaagtttaa ctggtacgtg gatggcgtcg aagtgcataa tgccaagaca	960
aaacccggg aggaacagta caactctacc tatagagtcg tgagtgtcct gacagtgtctg	1020
caccaggact ggctgaacgg gaaggagtat aagtgcgaag tgtctaataa ggccctgcc	1080
gtcccatcg agaaaacaat ttccaaggca aaaggccagc caagggaacc ccaggtgtac	1140
actctgcctc catcccgca cgagctgact aagaaccagg tctctctgac ctgtctggtg	1200

aaaggattct atccaagcga tatcgccgtg gagggggaat ccaatggcca gcccagagaac	1260
aattacaaga ccacaccccc tgtgctggac agcgatggct ccttctttct gtattcaaag	1320
ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag gggaacgtct ttagctgtct cgtgatgcac	1380
gaagctctgc acaatcatta caccagaag tctctgagtc tgtcacctgg caagagggga	1440
cgaaaacgga gaagcggcag cggagctaca aacttcagcc tgcigaaaca ggcaggcgac	1500
gtggaggaaa atcctgggcc aatggattgg acttggattc tgttcctggt ggcagccgct	1560
accagagtcc attccgaat tgtgctgacc cagtctcccg gaacactgtc tctgagtcct	1620
ggcgagacag ccatcatttc ctgtaggact tctcagtacg ggagtctggc atggtatcag	1680
cagcgaccag gacaggctcc tcgactggtc atctactcag gaagcactcg ggcagccggc	1740
attcccgacc gattctccgg gtctcgggtg ggacctgatt acaacctgac catctcaaat	1800
ctggaaagcg gagactttgg cgtgtactat tgccagcagt atgagttctt tgggcaggga	1860
accaaggtcc aggtggacat caaacgcaca gtcgctgcac caagcgtgtt catctttcca	1920
ccctcagatg aacagctgaa gtccggcacc gcctctgtgg tgtgcctgct gaacaatttc	1980
tacccccggg aggcaaaagt ccagtggaaa gtggacaacg ccctgcagtc tggcaatagt	2040
caggagtcat tgactgaaca ggacagcaag gattccacct attctctgtc ctctactctg	2100
accctgagca aagctgatta cgagaagcac aaagtgtatg catgtgaggt caccaccag	2160
ggactgcggt caccgtcac caagagcttc aatcgcgag agtggtgata actcgag	2217