



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0011335
(43) 공개일자 2023년01월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/005 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01) A61P 31/20 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/005 (2013.01)
A61K 39/12 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7043183
(22) 출원일자(국제) 2021년05월14일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년12월08일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/032545
(87) 국제공개번호 WO 2021/231925
국제공개일자 2021년11월18일
(30) 우선권주장
63/024,912 2020년05월14일 미국(US)

(71) 출원인
이노비오 파마수티컬즈, 인크.
미국 19462 펜실베이니아주 폴리머스 미팅 스위트
110 저먼타운 파이크 660
(72) 발명자
라모스, 스테파니
미국 캘리포니아주 92071, 산티 비아 리타 9859
리드, 찰스
미국 펜실베이니아주 18964, 소더튼 스킵팩 크리
크 로드 134
(74) 대리인
특허법인엠에이피에스
(73) 출원인
이노비오 파마수티컬즈, 인크.
미국 19462 펜실베이니아주 폴리머스 미팅 스위트
110 저먼타운 파이크 660

전체 청구항 수 : 총 71 항

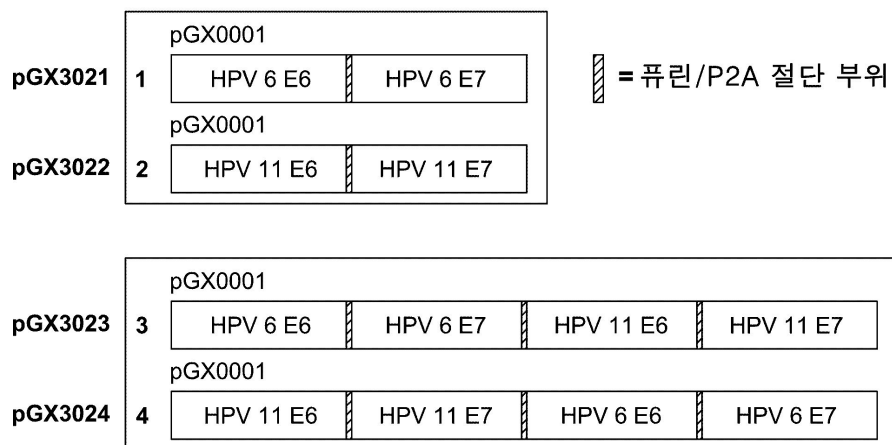
(54) 발명의 명칭 재발성 호흡기 유두종증에 대한 백신 및 이의 사용 방법

(57) 요약

HPV 항원을 암호화하는 핵산 분자가 본원에서 제공된다. 또한, 핵산을 포함하는 인간 유두종바이러스 (HPV)에 대한 백신, 면역 반응을 유도하는 방법, 및 재발성 호흡기 유두종증 (RRP)에 대해 예방적으로 및/또는 치료적으로 개체를 면역시키는 방법이 제공된다. 약제학적 조성물, DNA 플라스미드 및 약독화 생백신을 포함하는 재조합 백신 및 RRP를 치료하거나 예방하기 위한 면역 반응을 유도하는 방법이 개시되어 있다.

대표도

HPV6 및 HPV11 E6 및 E7 항원을 암호화하는 플라스미드



(52) CPC특허분류

A61P 31/20 (2018.01)

A61K 2039/53 (2013.01)

A61K 2039/55538 (2013.01)

A61K 2039/572 (2013.01)

C12N 2710/20022 (2013.01)

C12N 2710/20034 (2013.01)

C12N 2710/20071 (2013.01)

(72) 발명자

월터스, 즈웰

미국 캘리포니아주 92064, 포웨이 아베니다 플로렌
시아 16303

얀, 지안

미국 펜실베이니아주 19086, 월링포드 셰필드 드라
이브 503

슬래거, 안나

미국 펜실베이니아주 19446, 랜스테일 웨인코드 코
트 205

브로데릭, 케이트

미국 캘리포니아주 92120, 샌디에이고 릿지무어 드
라이브 5806

명세서

청구범위

청구항 1

인간 유두종바이러스 (HPV) 항원을 암호화하는 핵산 분자로서, HPV 항원은 HPV6 항원성 도메인 및 HPV11 항원성 도메인을 포함하는, 핵산 분자.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 HPV6 항원성 도메인은 HPV6 E6-E7 융합 항원인, 핵산 분자.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 HPV11 항원성 도메인은 HPV11 E6-E7 융합 항원인 핵산 분자.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HPV 항원은
서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열; 또는
서열번호 1 또는 서열번호 11과 적어도 95% 상동성인 아미노산 서열
을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,
서열번호 2 또는 서열번호 12와 적어도 95% 상동성인 뉴클레오티드 서열;
서열번호 2의 뉴클레오티드 서열; 또는
서열번호 12의 뉴클레오티드 서열
을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HPV11 항원성 도메인을 암호화하는 핵산 서열은 HPV6 항원성 도메인을 암호화하는 핵산 서열의 5'에 위치하는 것인, 핵산 분자.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HPV6 항원성 도메인 및 HPV11 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인, 핵산 분자.

청구항 8

제2항에 있어서, 상기 HPV6 E6 항원성 도메인 및 HPV6 E7 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인, 핵산 분자.

청구항 9

제3항에 있어서, 상기 HPV11 E6 항원성 도메인 및 HPV11 E7 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인, 핵산 분자.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터.

청구항 11

제10항에 있어서, DNA 플라스미드를 포함하는, 발현 벡터.

청구항 12

제10항에 있어서, 서열번호 3의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 발현 벡터.

청구항 13

인간 유두종바이러스 (HPV) 6 항원성 도메인 및 HPV11 항원성 도메인을 포함하는 면역원성 단백질.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 HPV6 항원성 도메인은 HPV6 E6 항원성 도메인 및 HPV6 E7 항원성 도메인을 포함하는 것인, 면역원성 단백질.

청구항 15

제13항 또는 제14항에 있어서, 상기 HPV11 항원성 도메인은 HPV11 E6 항원성 도메인 및 HPV11 E7 항원성 도메인을 포함하는 것인, 면역원성 단백질.

청구항 16

제13항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열; 또는

서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열과 적어도 95% 상동성인 아미노산 서열

을 포함하는 것인, 면역원성 단백질.

청구항 17

제13항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HPV11 항원성 도메인은 HPV6 항원의 N-말단에 위치하는 것인, 면역원성 단백질.

청구항 18

제13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HPV6 항원성 도메인 및 HPV11 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인, 면역원성 단백질.

청구항 19

제14항에 있어서, 상기 HPV6 E6 항원성 도메인 및 HPV6 E7 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인, 면역원성 단백질.

청구항 20

제15항에 있어서, 상기 HPV11 E6 항원성 도메인 및 HPV11 E7 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인, 면역원성 단백질.

청구항 21

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 발현 벡터 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 백신.

청구항 22

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 발현 벡터 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 보조제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 보조제는 인터루킨-12 (IL12)를 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 IL12는 핵산 분자에 의해 암호화되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 핵산 분자는 발현 벡터인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 27

제13항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 면역원성 단백질 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 백신.

청구항 28

제13항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 면역원성 단백질 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 29

제28항에 있어서, 보조제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 보조제는 인터루킨-12 (IL12)를 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 31

제23항 또는 제29항에 있어서, 상기 보조제는 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 IL12의 p35 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은

서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 또는

서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 33

제31항 또는 제32항에 있어서, 상기 IL12의 p40 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은

서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 또는

서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 34

제31항, 제32항 또는 제33항에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은

서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열; 또는

서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 35

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자는 발현 벡터인, 약제학적 조성물.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터는 HPV 항원을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터와 동일한 발현 벡터 또는 상이한 발현 벡터인, 약제학적 조성물.

청구항 37

제22항 내지 제26항 또는 제28항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약제학적으로 허용가능한 부형제는 완충제, 선택적으로 식염수-시트르산나트륨 완충제, 선택적으로 150 mM 염화나트륨 및 15 mM 시트르산나트륨을 포함하는 pH 7의 완충제를 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 조성물은 완충제 밀리리터당 HPV 항원을 암호화하는 벡터 6 mg 및 완충제 밀리리터당 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛 또는 둘 모두를 암호화하는 벡터 0.25 mg을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 조성물은 완충제 밀리리터당 pGX3024 6 mg 및 완충제 밀리리터당 pGX6010 0.25 mg을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 40

제22항 내지 제26항 또는 제28항 내지 제39항 중 어느 한 항에 따른 유효량의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하여 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하는 대상체에서 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 41

제22항 내지 제26항 또는 제28항 내지 제39항 중 어느 한 항에 따른 유효량의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하여 HPV6, HPV11, 또는 둘 모두에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 포함하는 HPV6 및/또는 HPV11에 대해 대상체를 예방적 또는 치료적으로 면역화하는 방법.

청구항 42

제22항 내지 제26항 또는 제28항 내지 제39항 중 어느 한 항에 따른 유효량의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하여 재발성 호흡기 유두종증 (RRP)을 치료 또는 예방하는 단계를 포함하는 대상체에서 RRP를 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 RRP는 청소년-발병 RRP 또는 성인-발병 RRP인 것인, 방법.

청구항 44

제40항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 분자는 서열번호 2, 서열번호 3, 또는 서열번호 12의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인, 방법.

청구항 45

제40항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 보조제를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 보조제는 인터루킨-12 (IL12)인, 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 IL12는 핵산 분자에 의해 암호화되는 것인, 방법.

청구항 48

제45항에 있어서, 상기 보조제는 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 것인, 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 IL-12의 p35 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은

서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오티드 서열; 또는

서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오티드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오티드 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 방법.

청구항 50

제48항 또는 제49항에 있어서, 상기 IL-12의 p40 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은

서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오티드 서열; 또는

서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오티드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오티드 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 방법.

청구항 51

제47항에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 핵산 분자는

서열번호 4의 뉴클레오티드 서열; 또는

서열번호 4의 뉴클레오티드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오티드 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 방법.

청구항 52

제47항에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 핵산 분자는 발현 벡터, 선택적으로 플라스미드인 것인, 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 플라스미드는 pGX6010인, 방법.

청구항 54

제40항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 인간인 것인, 방법.

청구항 55

제40항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여하는 단계는 피내 또는 근육내 주사를 포함하는 것인, 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 투여하는 단계는 전기천공법을 추가로 포함하는 것인, 방법.

청구항 57

예방약 또는 약제의 제조에서 유효량의 제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 발현 벡터 또는 제13항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 면역원성 단백질의 용도.

청구항 58

인간 유두종바이러스 (HPV) 6 또는 HPV11 감염을 예방 또는 치료하기 위한 예방약 또는 약제의 제조에서 유효량의 제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 발현 벡터 또는 제13항 내지 제20항 중 어느 한 항에 따른 면역원성 단백질의 용도.

청구항 59

인간 유두종바이러스 (HPV) 6 또는 HPV11 감염을 예방 또는 치료하기 위한 유효량의 제22항 내지 제26항 또는 제28항 내지 제39항 중 어느 한 항에 따른 약제학적 조성물의 용도.

청구항 60

재발성 호흡기 유두종증 (RRP)을 예방 또는 치료하기 위한 유효량의 제22항 내지 제26항 또는 제28항 내지 제39항 중 어느 한 항에 따른 약제학적 조성물의 용도.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 RRP는 청소년-발병 RRP 또는 성인-발병 RRP인 것인, 용도.

청구항 62

제57항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 분자는 서열번호 2, 서열번호 3, 또는 서열번호 12의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인, 용도.

청구항 63

제57항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 보조제와 조합된 것인, 용도.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 보조제는 인터루킨-12 (IL12)인 것인, 용도.

청구항 65

제64항에 있어서, 상기 IL12는 핵산 분자에 의해 암호화되는 것인, 용도.

청구항 66

제65항에 있어서, 상기 보조제는 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 것인, 용도.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 IL-12의 p35 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은
서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 또는
서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열
로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인, 용도.

청구항 68

제66항 또는 제67항에 있어서, 상기 IL-12의 p40 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은
서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 또는
서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인, 용도.

청구항 69

제65항에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 핵산 분자는

서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열; 또는

서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인, 용도.

청구항 70

제65항에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 핵산 분자는 발현 벡터, 선택적으로 플라스미드인 것인, 용도.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 플라스미드는 pGX6010인 것인, 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2020년 5월 14일에 출원된 미국 가출원 번호 63/024,912의 이익을 주장하며, 그 내용은 전체적으로 여기에 포함된다.

[0003] 서열목록

[0004] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며 이로써 그 전체가 참고로 포함된다. 2021년 5월 14일에 생성된 해당 ASCII 사본의 이름은 104409_000612_PCT_SL.txt 이고 크기는 37,913바이트이다.

[0005] 기술분야

[0006] 본 발명은 인간 유두종 바이러스 (HPV) 백신, 면역 반응을 유도하는 방법, HPV6 및/또는 HPV11에 대해 개체를 예방적 및/또는 치료적으로 면역화하는 방법, 및 재발성 호흡기 유두종증 (RRP)을 예방 또는 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 인간 유두종 바이러스 관련 (HPV+) 악성종양은 전 세계적인 유행병으로 떠오르고 있다 (Gradishar 등, *JNCCN* 2014;12(4):542-90). HPV 관련 호흡소화기 전암성 병변 및 악성 종양은 구인두, 후두 및 상부 기도에서 발생할 수 있다. 대부분의 호흡소화기 악성 종양의 병인에서 HPV6 및 HPV11의 역할은 불분명하지만 후두 상피의 가장 흔한 양성 종양인 재발성 호흡기 유두종증 (RRP)에 인과적으로 관련되어 있는 것으로 널리 받아들여지고 있다 (Mounts 등, *PNAS USA* 1982;79(17):5425-9; Gissmann 등, *PNAS USA* 1983;80(2):560-3; Bonagura 등, *APMIS*. 2010;118(6-7):455-70). RRP는 드물며 발생률은 미국 성인 100,000명당 1.8명으로 추정된다 (Winton 등, *NEJM* 2005;352(25):2589-97). 대부분의 병변은 양성이지만 일부는 악성 변형을 겪으며 RRP 환자는 후두 종양 및 암종이 발생할 위험이 더 높다 (OmLand 등, *PLoS One*. 2014;9(6):e99114).

[0008] 재발성 호흡기 유두종증은 여전히 어린이 및 성인을 괴롭히는 도전적인 질병으로, 미국 의료 관련 비용이 연간 약 \$120,000,000에 이르고 환자당 연간 비용은 \$60,000에 달한다. RRP의 유병률은 감소했지만 RRP는 소아에서 가장 흔한 양성 후두 종양으로 남아 있다. RRP는 다발성 재발률이 높고 환자의 삶의 질에 대한 부담이 크며 관련 의료 비용이 높다는 점에서 독특하다. 따라서, RRP의 치료 또는 예방을 위한 개선된 조성물 및 방법이 필요하다. 본 발명은 이러한 미충족 요구를 만족시킨다.

발명의 내용

[0009] 요약

[0010] HPV6 항원 도메인 및 HPV11 항원 도메인을 포함하는 HPV 항원을 암호화하는 핵산 분자가 본원에서 제공된다. 일

부 구체예에서, HPV6 항원성 도메인은 HPV6 E6 항원성 도메인 및 HPV6 E7 항원성 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, HPV11 항원 도메인은 HPV11 E6 항원 도메인 및 HPV11 E7 항원 도메인을 포함한다. 본원에서 제공되는 핵산 분자는 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열; 서열번호 1 또는 서열번호 11과 적어도 95% 상동성인 아미노산 서열; 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열의 단편; 또는 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열의 단편과 적어도 95% 상동성인 아미노산 서열을 포함하는 HPV 항원을 암호화할 수 있다. 일부 측면에 따르면, 핵산 분자는 서열번호 2 또는 서열번호 12에 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 2의 뉴클레오타이드 서열; 또는 서열번호 12의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0011] 일부 구체예에서, HPV11 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열은 HPV6 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열의 5'에 위치한다. 대안적 구체예에서, HPV6 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열은 HPV11 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열에 대해 5'에 위치한다.

[0012] 핵산 분자는 하나 이상의 번역 후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위 또는 둘 모두를 암호화하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 이러한 서열은 HPV6 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열과 HPV11 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열 사이, HPV6 E6 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열과 HPV6 E7 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열 사이, HPV11 E6 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열과 HPV11 E7 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열 사이, 또는 이들의 임의의 조합에 포함될 수 있다.

[0013] 또한 개시된 핵산 분자 중 임의의 것을 포함하는 발현 벡터가 본원에 제공된다. 일부 구체예에서, 발현 벡터는 DNA 플라스미드이다. 예를 들어, 발현 벡터는 서열번호 3의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0014] HPV11 항원 도메인에 융합된 인간 유두종바이러스 (HPV) 6 항원 도메인을 포함하는 면역원성 단백질이 본원에 추가로 개시된다. 일부 구체예에서, HPV6 항원성 도메인은 HPV6 E6 및 HPV6 E7; HPV11 E6 및 HPV11 E7을 포함하는 HPV11 항원성 도메인; 또는 둘 모두를 포함한다. HPV11 항원 도메인은 HPV6 항원 도메인에 대해 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 면역원성 단백질은 하나 이상의 번역 후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위 또는 둘 모두를 함유할 수 있다. 이러한 부위는 HPV6과 HPV11 항원성 도메인 사이, HPV6 E6과 HPV6 E7 항원성 도메인 사이, HPV11 E6과 HPV11 E7 항원성 도메인 사이, 또는 이들의 임의의 조합에 위치할 수 있다.

[0015] 일부 구체예에 따르면, 면역원성 단백질은 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열; 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열과 적어도 95% 상동성인 아미노산 서열; 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열의 단편; 또는 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열의 단편과 적어도 95% 상동성인 아미노산 서열을 포함한다.

[0016] 또한 핵산 분자, 발현 벡터, 면역원성 단백질, 또는 이들의 임의의 조합, 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 일부 측면에서 핵산 분자, 발현 벡터, 면역원성 단백질 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 백신이 제공된다. 일부 구체예에서 핵산 분자, 발현 벡터, 면역원성 단백질, 또는 이들의 임의의 조합, 및 보조제를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 보조제는 예를 들어 인터루킨 12 (IL12)일 수 있다. 일부 구체예에 따르면, IL12는 발현 벡터와 같은 핵산 분자에 의해 암호화된다. 일부 구체예에서, 보조제는 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함한다. 예를 들어, IL12의 p35 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편; 및 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, IL12의 p40 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편; 및 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구체예에 따르면, IL12를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열의 단편; 및 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열의 단편과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0017] 추가로 임의의 개시된 핵산 분자, 발현 벡터, 면역원성 단백질, 약제학적 조성물, 또는 백신의 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서 면역 반응을 유도함으로써 면역 반응을 유도하는 방법이 본원에 기재된다.

- [0018] 또한 대상체에게 임의의 개시된 핵산 분자, 발현 벡터, 면역원성 단백질, 약제학적 조성물, 또는 백신의 유효량을 투여함으로써 HPV6, HPV11 또는 둘 모두에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 포함하는 HPV6 및/또는 HPV11에 대해 대상체를 예방적 또는 치료적으로 면역화하는 방법이 본원에서 제공된다.
- [0019] 대상체에게 임의의 개시된 핵산 분자, 발현 벡터, 면역원성 단백질, 약제학적 조성물, 또는 백신의 유효량을 투여함으로써 RRP를 치료 또는 예방하는 것을 포함하는, 대상체에서 재발성 호흡기 유두종증 (RRP)을 치료 또는 예방하는 방법이 추가로 본원에 제공된다. RRP는 청소년-발병 RRP 또는 성인-발병 RRP일 수 있다.
- [0020] 개시된 방법의 일부 구체예에 따르면, 서열번호 2, 서열번호 3, 또는 서열번호 12의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자가 대상체에게 투여된다.
- [0021] 개시된 방법의 일부 측면에서, 보조제가 대상체에게 추가로 투여된다. 보조제는 인터루킨-12 (IL12)일 수 있다. IL12는 예를 들어 발현 벡터 또는 플라스미드와 같은 핵산 분자에 의해 암호화될 수 있다. 일부 구체예에서, 보조제는 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함한다. p35를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편; 및 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. p40을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편; 및 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에 따르면, IL12를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열의 단편; 및 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열의 단편과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 구체예에 따르면, IL12를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자는 pGX6010이다.
- [0022] 일부 구체예에서, 대상체는 인간이다.
- [0023] 본원에 제공된 방법의 일부 구체예에 따르면, 상기 방법은 대상체에게 pGX3024 및 pGX6010을 투여하는 것을 포함한다. 방법의 일부 측면에서, pGX3024 및 pGX6010은 예를 들어 INO-3107과 같은 조성물로서 투여된다. 방법의 일부 구체예는 6 밀리그램 pGX3024 및 0.25 밀리그램 pGX6010을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 개시된 방법의 일부 측면에서, 투여는 피내 또는 근육내 주사를 포함한다. 투여는 전기천공법을 추가로 포함할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0024] 다음의 상세한 설명뿐만 아니라 요약은 첨부된 도면과 함께 읽을 때 더 잘 이해된다. 개시된 방법을 예시할 목적으로, 그의 예시적인 구체예가 도면에 도시되어 있으나, 방법은 개시된 특정 구체예에 제한되지 않는다. 도면에서:

도 1a는 상이한 HPV6 및/또는 HPV11 플라스미드에 암호화된 항원의 개략도를 보여준다. 개별 항원은 번역 건너뛰기를 위한 P2A 절단 부위와 P2A 서열의 번역 후 절단을 위한 푸린 절단 부위에 의해 분리된다. DNA 플라스미드 pGX3024는 HPV6 및 HPV11의 공통 SynCon® E6 및 E7 항원을 암호화한다. **도 1b**는 pGX3024의 플라스미드 지도를 제공한다.

도 2는 시험관내에서 pGX3024 E6 및 E7 단백질 항원 발현을 예시한다. HEK-293T 세포를 리포펙타민 3000 형질감염 시약을 사용하여 pGX3024 플라스미드, 양성 대조군 pGX3021 또는 pGX3022 플라스미드, 또는 음성 대조군 빈 pGX0001 플라스미드로 형질감염시켰다. 형질감염 48시간 후 세포를 수확하고 세포 용해물을 웨스턴 블롯에 의해 항-HPV11 E7 (왼쪽 패널) 또는 항-2A (중간 패널) 항체로 탐침하였다. 동일한 단백질 로딩을 확인하기 위해 블롯을 제거하고 항-β-액틴 항체 (오른쪽 패널)로 재탐침하였다. E6 및 E7 단백질은 pGX3024 및 대조군 pGX3021 및 pGX3022 플라스미드로 형질감염된 세포에서 검출되었지만, 음성 대조군 pGX0001 플라스미드에서는 검출되지 않았다.

도 3은 C57BL/6 마우스의 pGX3024 면역화 후 HPV6- 및 HPV11-특이적 세포 반응을 예시한다. C57BL/6 마우스 비장 세포는 pGX3024, HPV6 (pGX3021) 또는 HPV11 (pGX3022) 항원을 암호화하는 대조군 플라스미드 또는 음성 대조군 플라스미드 (pGX0001)로 면역화 후 1주일에 수집되었다. HPV6 및 HPV11 E6 및 E7 펩티드에 대한 특정 세포

반응을 IFN γ ELISpot 분석으로 측정하였다. 별표는 Dunnett의 사후 테스트인 일원 ANOVA에 의한 pGX0001 대조군과 비교하여 총 세포 반응의 유의한 차이를 나타낸다.

도 4는 C57BL/6 마우스의 pGX3024 면역화 후 HPV6 및 HPV11 체액 반응을 나타낸다. C57BL/6 마우스 혈청 샘플을 pGX3024 또는 음성 대조군 플라스미드 (pGX0001)로 면역화 전 (0주) 및 1차 (2주) 및 2차 (3주) 면역화 후에 수집하였다. HPV6 E7 (왼쪽 패널) 또는 HPV11 E7 (오른쪽 패널) 항원에 대한 특정 IgG 결합 항체를 ELISA로 측정하였다.

도 5는 BALB/c 마우스의 pGX3024 면역화 후 HPV6- 및 HPV11-특이적 세포 반응을 예시한다. BALB/c 마우스 비장 세포는 표시된 용량의 pGX3024 단독 또는 표시된 용량의 플라스미드 류린 IL-12 (pGX6012) 또는 음성 대조군 플라스미드 (pGX0001)와 조합하여 면역화 1주 후에 수집되었다. HPV6 및 HPV11 E6 및 E7 펩티드에 대한 특정 세포 반응을 IFN γ ELISpot 분석으로 측정하였다. 별표는 단방향 ANOVA Dunnett의 사후 테스트에 의해 pGX0001 대조군과 비교하여 전체 세포 반응의 유의한 차이를 나타낸다.

도 6는 BALB/c 마우스의 pGX3024 면역화 후 HPV6 및 HPV11 체액성 반응을 예시한다. BALB/c 마우스 혈청 샘플은 지시된 용량의 pGX3024 단독 또는 지시된 용량의 플라스미드 류린 IL-12 (pGX6012), 또는 음성 대조군 플라스미드 (pGX0001)와 조합하여 면역화 전 (0주) 및 1차 (2주) 및 2차 (3주) 면역화 후에 수집되었다. HPV6 E7 (왼쪽 패널) 또는 HPV11 E7 (오른쪽 패널) 항원에 대한 특정 IgG 결합 항체를 ELISA로 측정하였다. 별표는 유의함을 나타내고 "ns"는 양방향 ANOVA에 의한 0주차와 비교하여 유의한 차이가 없음을 나타낸다.

도 7은 NZW 토끼의 INO-3107 면역화 후 HPV6- 및 HPV11-특이적 세포 반응의 시간 경과를 예시한다. NZW 토끼 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)는 INO-3107 또는 1X 식염수-구연산나트륨 완충제 (SSC)으로 면역화 후 지정된 시점에 수집되었다. HPV6 E6 및 E7 펩티드와 HPV11 E6 및 E7 펩티드에 대한 특정 세포 반응을 IFN γ ELISpot 분석으로 측정하였다. 데이터는 개별 동물에 대한 HPV6 E6 및 E7 (왼쪽 패널) 또는 HPV11 E6 및 E7 (오른쪽 패널) 반응의 합계로 표시된다.

도 8은 NZW 토끼의 INO-3107 면역화 후 HPV6- 및 HPV11-특이적 세포 반응을 예시한다. 11주차 (4차 접종 후 2주), NZW 토끼에 대한 HPV6 E6, HPV6 E7, HPV11 E6 또는 HPV11 E7 항원에 대한 T 세포 반응은 도 7에 설명된 대로 INO-3107 또는 1X SSC를 사용한 11주차 (4차 접종 후 2주)에 있다. 개별 토끼 (왼쪽 패널) 또는 각 치료군 (오른쪽 패널)에 대한 평균 $\pm$ SEM에 대한 데이터가 표시된다. 별표는 Mann-Whitney U-테스트에 의해 결정된 유의한 차이 ($p < 0.05$)를 나타낸다.

도 9는 NZW 토끼의 INO-3107 면역화 후 HPV6 및 HPV11 체액 반응의 시간 경과를 보여준다. NZW 토끼 혈청 샘플은 INO-3107 또는 1X SSC로 면역화 후 지정된 시점에 수집되었다. HPV6 E7 (왼쪽 패널) 및 HPV11 E7 (오른쪽 패널) 항원에 대한 특이적 체액 반응을 IgG 결합 ELISA로 측정하였다. 개별 동물에 대한 데이터가 표시된다.

도 10은 INO-3107 (왼쪽 패널) 또는 1X SSC (오른쪽 패널)가 투여된 NZW 토끼에 대한 체중 측정의 시간 경과를 보여준다.

도 11은 하틀리 기니 피그의 pGX3024 면역화 후 HPV6- 및 HPV11-특이적 세포 반응의 시간 경과를 예시한다. 기니 피그 (n/5)는 CELLECTRA 피내 전기천공에 의해 투여된 100 ug pGX3024로 0주, 2주, 및 4주에 면역화되었다. 천연 기니 피그 (n/2)는 음성 대조군으로 사용되었다. 기니 피그 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 pGX3024로 면역화한 후 지정된 시점에 또는 천연 기니 피그로부터 수집하였다. HPV6 E6 및 E7 펩티드와 HPV11 E6 및 E7 펩티드에 대한 특정 세포 반응을 IFN γ ELISpot 분석으로 측정하였다. 데이터는 HPV6 E6 및 E7 각 처리 군에 대한 평균 $\pm$ SEM으로 표시된다.

도 12는 하틀리 기니 피그의 pGX3024 면역화 후 HPV6- 및 HPV11-특이적 체액 반응의 시간 경과를 보여준다. 하틀리 기니 피그 (n/5)는 CELLECTRA 피내 전기천공법에 의해 투여된 100 ug pGX3024로 0주, 2주 및 4주에 면역화되었다. ELISA에 의한 HPV6 E7 (왼쪽) 또는 HPV11 E7 (오른쪽) 항원에 대한 특이적 IgG 결합 항체의 측정을 위해 pGX3024로 면역화한 후 지정된 시점에서 기니 피그 혈청 샘플을 수집하였다. 데이터는 5마리 동물의 평균 $\pm$ SEM으로 표시된다.

도 13은 NZW 토끼에게 INO-3107을 피내 전달한 후 유도된 면역 반응을 보여준다. 면역화 전 (0주차) 및 각 면역화 후 2주차 (2주차, 5주차 및 8주차)에 IFN γ ELISpot에 의해 세포 면역 반응을 평가하였다. 두 항원, HPV6 및 HPV11에 대한 조합된 면역 반응은 각각의 면역화 후에 증가했으며, T 세포 반응은 HPV6 E6 및 HPV11 E6에 더 특이적이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 개시된 핵산 분자, 단백질, 백신, 및 방법은 본 개시내용의 일부를 형성하는 첨부된 도면과 관련하여 취해진 다음의 상세한 설명을 참조하여 더 쉽게 이해될 수 있다. 개시된 핵산 분자, 단백질, 백신, 및 방법은 본원에 기술 및/또는 제시된 특정 핵산 분자, 단백질, 백신 및 방법으로 제한되지 않으며, 본원에서 사용된 용어는 특정 구체예를 단지 예로서 설명하기 위한 목적을 위한 것이며 청구된 핵산 분자, 단백질, 백신, 및 방법을 제한하려는 의도가 아니다.
- [0026] 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 가능한 메커니즘 또는 작용 방식 또는 개선 이유에 대한 설명은 단지 예시를 위한 것이며, 개시된 핵산 분자, 단백질, 백신, 및 방법은 그러한 제안된 메커니즘이나 행동 방식 또는 개선 이유의 정확성 또는 부정확성에 의해 제약을 받지 않는다.
- [0027] 본원 전반에 걸쳐, 설명은 조성물 및 상기 조성물을 사용하는 방법을 언급한다. 개시내용이 조성물과 관련된 특징 또는 구체예를 기술하거나 청구하는 경우, 그러한 특징 또는 구체예는 상기 조성물을 사용하는 방법에 동등하게 적용가능하다. 마찬가지로, 본 개시내용이 조성물을 사용하는 방법과 관련된 특징 또는 구체예를 기술하거나 청구하는 경우, 이러한 특징 또는 구체예는 조성물에 동등하게 적용 가능하다.
- [0028] 개시된 핵산 분자, 단백질, 백신, 및 방법의 특정 특징은 명료함을 위해 별도의 구체예의 맥락에서 본원에 기술되며 또한 단일 구체예에서 조합되어 제공될 수 있음을 이해해야 한다. 역으로, 간결성을 위해 단일 구체예의 맥락에서 설명된 개시된 핵산 분자, 단백질, 백신, 및 방법의 다양한 특징은 또한 개별적으로 또는 임의의 하위 조합으로 제공될 수 있다.
- [0029] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 충돌이 있는 경우 정의를 포함하여 본 문서가 우선한다. 예시적인 방법 및 물질이 아래에 기술되지만, 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있다. 여기에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 기타 참고문헌은 그 전체가 참조로 포함된다. 본원에 개시된 재료, 방법 및 실험예는 예시일 뿐이며 제한하려는 의도가 아니다. 본원에서 사용한 용어는 단지 특정된 구체예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 한정하려는 의도가 아니다.
- [0030] 본원에서 사용되는 용어 "포함하다(comprise)", "포함하다(include)", "가지는(having)", "가지다(has)", "할 수 있다(can)", "함유하다(contain)" 및 이들의 변형은 추가적인 행동이나 구조의 가능성을 배제하지 않는 개방형 전환 문구, 용어 또는 단어로 의도된다. "포함하는"이라는 용어는 "본질적으로 이루어진" 및 "로 이루어진"이라는 용어에 의해 포함되는 예를 포함하는 것으로 의도되고; 유사하게, 용어 "본질적으로 이루어진"은 용어 "로 이루어진"에 포함되는 예를 포함하는 것으로 의도된다. 본 개시내용은 또한 명시적으로 기술되었는지 여부에 관계없이 본원에 제시된 구체예 또는 요소를 "포함하는", "구성되는" 및 "본질적으로 구성되는" 다른 구체예를 고려한다.
- [0031] 단수형 "a", "and" 및 "the"는 문맥상 명백하게 달리 지시하지 않는 한 복수 참조를 포함한다.
- [0032] 본원에서 수치 범위를 설명하기 위해, 동일한 정도의 정확도로 그 사이에 개입하는 각각의 수치가 명시적으로 고려된다. 예를 들어, 6-9의 범위에 대해 6 및 9에 더하여 숫자 7 및 8이 고려되고, 6.0-7.0 범위에 대해 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.
- [0033] 본원에 주어진 정량적 표현 중 일부는 용어 "약"으로 한정되지 않는다. 용어 "약"이 명시적으로 사용되었는지 여부에 관계없이 주어진 모든 양은 실제 주어진 값을 나타내도록 의도된 것으로 이해되며, 이는 또한 그러한 값에 대한 실험적 및/또는 측정 조건으로 인한 근사치를 포함하여 당업자에 기초하여 합리적으로 추론될 그러한 주어진 값에 대한 근사치를 지칭하는 것을 의미한다.
- [0034] 본원에서 사용되는 "보조제"는 본원에 기재된 면역원성 조성물에 첨가되어 항원 및 항원-암호화 핵산 분자의 면역원성을 향상시키기 위해 하기에 기재된 서열에 첨가된 임의의 분자를 의미한다.
- [0035] "항원"은 HPV6 E6 도메인, HPV6 E7 도메인, HPV11 E6 도메인, HPV11 E7 도메인 또는 이들의 임의의 조합을 갖는 단백질을 지칭하고, 바람직하게는 HPV6 E6 도메인, HPV6 E7 도메인, HPV11 E6 도메인 및 HPV11 E7 도메인의 융합 단백질이며 각 도메인 사이에 내단백질 분해 절단 부위가 있다. 항원에는 서열번호 1; 본원에 제시된 길이의 단편, 변이체, 즉 본원에 제시된 서열번호 1과 상동성인 서열을 갖는 단백질, 본원에 제시된 길이를 갖는 변이체의 단편 및 이들의 조합이 포함된다. 항원은 서열번호 10의 IgE 리더 서열을 가질 수 있거나 N-말단 끝에서 제거된 그러한 서열을 대안적으로 가질 수 있다. 예를 들어, 각 도메인 사이에 내단백질 분해 절단 부위가 있

나 없는 HPV6 E6 도메인, HPV6 E7 도메인, HPV11 E6 도메인 및 HPV11 E7 도메인을 포함하는 HPV 항원은 HPV 항원의 N-말단 HPV 도메인에 대한 N-말단에 위치한 IgE 리더 서열을 가질 수 있다. 항원은 선택적으로 다른 단백질로부터의 신호 펩티드와 같은 신호 펩티드를 포함할 수 있다.

[0036] "바이오시밀러" (승인된 참조 제품/생물학적 약물, 즉 참조 목록 약물)라는 용어는 임상적으로 불활성인 구성 요소의 사소한 차이에도 불구하고 참조 제품과 매우 유사한 (a) 임상적으로 비활성 성분의 사소한 차이에도 불구하고 생물학적 제제가 대조약과 매우 유사함을 입증하는 분석적 연구; (b) 동물 연구(독성 평가 포함); 및/또는 (c) 대조약이 허가되고 사용되도록 의도된 하나 이상의 적절한 사용 조건에서 안전성, 순도 및 효능을 입증하기에 충분한 임상 연구 또는 연구 (면역원성 및 약동학 또는 약력학 평가 포함) 바이오시밀러에서 파생된 테이터를 기반으로 안전성, 순도 및 역가 측면에서 바이오시밀러와 참조 제품 간에 임상적으로 의미 있는 차이가 없는 생물학적 제품을 의미한다. 바이오시밀러는 처방 의료 전문가의 개입 없이 약국에서 참조 제품을 대체할 수 있는 상호 교환 가능한 제품일 수 있다. "호환성"이라는 추가 기준을 충족하기 위해 바이오시밀러는 주어진 환자에서 대조약과 동일한 임상 결과를 나타낼 것으로 예상되며, 바이오시밀러가 개체에게 1회 이상 투여될 경우 안전성 측면에서 위험이 있다. 또는 바이오시밀러와 대조약의 사용을 번갈아 사용하거나 전환하여 감소된 효능은 그러한 변경이나 전환 없이 대조약을 사용할 위험보다 크지 않다. 바이오시밀러는 참조 제품에 대해 알려진 메커니즘의 범위 내에서 제안된 사용 조건에 대해 동일한 작용 메커니즘을 활용한다. 바이오시밀러에 대해 제안된 라벨링에서 처방, 권장 또는 제안된 사용 조건 또는 조건은 대조 제품에 대해 이전에 승인되었다. 바이오시밀러의 투여 경로, 제형 및/또는 강도는 대조 제품과 동일하며 바이오시밀러는 바이오시밀러가 지속되도록 설계된 표준을 충족하는 시설에서 제조, 가공, 포장 또는 보관된다. 안전하고 순수하며 강력하다. 바이오시밀러는 바이오시밀러 성능을 변화시킬 것으로 예상되지 않는 N- 또는 C-말단 절단과 같이 참조 제품과 비교할 때 아미노산 서열에 약간의 변형을 포함할 수 있다.

[0037] 본원에서 사용되는 "코딩 서열" 또는 "암호화 핵산"은 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 (RNA 또는 DNA 분자)을 의미한다. 코딩 서열은 핵산이 투여되는 개체 또는 포유동물의 세포에서 발현을 지시할 수 있는 프로모터 및 폴리아데닐화 신호를 포함하는 조절 요소에 작동가능하게 연결된 개시 및 종결 신호를 추가로 포함할 수 있다.

[0038] 본원에서 사용되는 "보체" 또는 "상보적인"은 참조 핵산 분자와 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체 사이에 Watson-Crick (예를 들어, A-T/U 및 C-G) 또는 Hoogsteen 염기 쌍을 갖는 핵산 분자를 지칭한다.

[0039] 본원에서 사용된 "공통" 또는 "공통 서열"은 상이한 유기체로부터의 동일한 유전자에 대한 다중 서열의 정렬 분석에 기초한 폴리펩티드 서열을 의미한다. 공통 폴리펩티드 서열을 암호화하는 핵산 서열을 제조할 수 있다. 공통 서열을 포함하는 단백질 및/또는 그러한 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 면역원성 조성물은 항원에 대한 광범위한 면역성을 유도하기 위해 사용될 수 있다.

[0040] 본원에서 상호 교환적으로 사용되는 "전기천공", "전기 투과성" 또는 "전기 역학적 향상" ("EP")은 생체막에서 미세 경로 (공극)를 유도하기 위해 막관통 전기장 펄스의 사용을 의미하고; 이들의 존재는 플라스미드, 올리고 뉴클레오타이드, siRNA, 약물, 이온 및 물과 같은 생체 분자가 세포막의 한쪽에서 다른 쪽으로 통과할 수 있도록 한다.

[0041] 핵산 서열과 관련하여 본원에서 사용되는 "단편"은 본원에 개시된 항원과 교차 반응하는 포유동물에서 면역 반응을 유도할 수 있는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 서열 또는 그의 일부를 의미한다. 단편은 아래 제시된 단백질 단편을 암호화하는 다양한 뉴클레오타이드 서열 중 적어도 하나로부터 선택된 DNA 단편일 수 있다. 단편은 아래 제시된 적어도 하나 이상의 핵산 서열 중 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 단편은 아래 제시된 적어도 하나의 핵산 서열 중 적어도 20개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 30개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 40개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 50개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 60개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 70개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 80개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 90개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 100개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 150개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 200개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 250개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 300개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 350개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 400개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 450개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 500개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 550개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 600개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 650개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 700개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 750개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 800개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 850개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 900개 이상의 뉴클레오타이드, 적어도 950개 이상의 뉴클레오타이드, 또는 적어

도 1000개 이상의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

- [0042] 폴리펩티드 서열에 관한 "단편" 또는 "면역원성 단편"은 본원에 개시된 항원과 교차 반응하는 포유동물에서 면역 반응을 유도할 수 있는 폴리펩티드를 의미한다. 단편은 하기 다양한 아미노산 서열 중 적어도 하나로부터 선택된 폴리펩티드 단편일 수 있다. 공통 단백질의 단편은 공통 단백질의 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 공통 단백질의 단편은 본원에 개시된 단백질 서열의 적어도 20개 이상의 아미노산, 적어도 30개 이상의 아미노산, 적어도 40개 이상의 아미노산, 적어도 50개 이상의 아미노산, 적어도 60개 이상의 아미노산, 적어도 70개 이상의 아미노산, 적어도 80개 이상의 아미노산, 적어도 90개 이상의 아미노산, 적어도 100개 이상의 아미노산, 적어도 110개 이상의 아미노산, 적어도 120개 이상의 아미노산, 적어도 130개 이상의 아미노산, 적어도 140개 이상의 아미노산, 적어도 150개 이상의 아미노산, 적어도 160개 이상의 아미노산, 적어도 170개 이상의 아미노산, 적어도 180개 이상의 아미노산을 포함할 수 있다.
- [0043] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유전적 작제물"은 단백질을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 또는 RNA 분자를 지칭한다. 코딩 서열은 핵산 분자가 투여되는 개체의 세포에서 발현을 지시할 수 있는 프로모터 및 폴리아데닐화 신호를 포함하는 조절 요소에 작동가능하게 연결된 개시 및 종료 신호를 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "발현가능한 형태"는 개체의 세포에 존재할 때 코딩 서열이 발현되도록 단백질을 암호화하는 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 필수 조절 요소를 함유하는 유전자 작제물을 지칭한다.
- [0044] 본원에서 사용되는 용어 "상동성"은 상보성의 정도를 지칭한다. 부분적 상동성 또는 완전한 상동성 (즉, 동일성)이 있을 수 있다. 완전히 상보적인 서열이 표적 핵산에 혼성화되는 것을 적어도 부분적으로 억제하는 부분적으로 상보적인 서열은 기능적 용어 "실질적으로 상동성"을 사용하여 언급된다. cDNA 또는 게놈 클론과 같은 이중 가닥 핵산 서열과 관련하여 사용될 때, 본원에서 사용되는 "실질적으로 상동성"이라는 용어는, 낮은 엄격도 조건 하에서 이중 가닥 핵산 서열의 가닥에 혼성화할 수 있는 프로브를 의미한다. 단일 가닥 핵산 서열과 관련하여 사용될 때, 본원에서 사용되는 "실질적으로 상동성"이라는 용어는, 낮은 엄격한 조건 하에서 단일 가닥 핵산 주형 서열에 혼성화할 수 있는 (즉, 상보적인) 프로브를 의미한다.
- [0045] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열과 관련하여 본원에서 사용되는 "동일한" 또는 "동일성"은 서열이 특정 영역에 대해 동일한 잔기의 특정 백분율을 갖는다는 것을 의미한다. 백분율은 두 서열을 최적으로 정렬하고, 지정된 영역에 대해 두 서열을 비교하고, 일치하는 위치의 수를 산출하기 위해 두 서열에서 동일한 잔기가 발생하는 위치의 수를 결정하고, 일치하는 위치의 수를 다음으로 나눔으로써 계산할 수 있다. 지정된 영역의 총 위치 수, 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출한다. 두 서열의 길이가 다르거나 정렬이 하나 이상의 엇갈린 끝을 생성하고 지정된 비교 영역이 단일 서열만 포함하는 경우 단일 서열의 잔기는 계산의 분자가 아닌 분모에 포함된다. DNA와 RNA를 비교할 때 티민 (T)과 우라실 (U)은 동등한 것으로 간주할 수 있다. 동일성은 수동으로 수행하거나 BLAST 또는 BLAST 2.0과 같은 컴퓨터 서열 알고리즘을 사용하여 수행할 수 있다.
- [0046] 본원에서 사용되는 "INO-3107"은 2개의 DNA 플라스미드의 면역원성 조성물을 의미한다: 인간 IL-12를 암호화하는 DNA 플라스미드 pGX6010과 조합하여 HPV6 및 HPV11 모두의 SynCon® E6 및 E7 항원을 포함하는 HPV 항원을 암호화하는 DNA 플라스미드 pGX3024. HPV6 및 HPV11 모두의 SynCon® E6 및 E7 항원을 포함하는 HPV 항원의 아미노산 서열은 서열번호 1에 제공된다. HPV6 및 HPV11 모두의 SynCon® E6 및 E7 항원을 포함하는 HPV 항원을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 서열번호 2에 제공된다. DNA 플라스미드 pGX3024의 핵산 서열은 서열번호 3에 제시되어 있다. DNA 플라스미드 pGX6010의 서열은 서열번호 4에 제시되어 있다. "INO-3107"은 식염수-구연산나트륨 완충제를 더 포함할 수 있다. "INO-3107 약물 제품"은 150 mM 염화나트륨 및 15 mM 구연산나트륨 (pH 7)에 6.25 mg 총 플라스미드/mL (6 mg/mL pGX3024, 0.25 mg/mL pGX6010)를 함유하는 면역원성 조성물을 의미한다.
- [0047] 본원에서 사용되는 "면역 반응"은 항원의 도입에 대한 반응으로 숙주의 면역 시스템, 예를 들어 포유동물의 면역 시스템의 활성화를 의미한다. 면역 반응은 세포 반응 또는 체액 반응 또는 둘 모두의 형태일 수 있다.
- [0048] 본원에서 사용된 "핵산" 또는 "올리고뉴클레오티드" 또는 "폴리뉴클레오티드"는 함께 공유 결합된 적어도 2개의 뉴클레오티드를 의미한다. 단일 가닥의 도시는 또한 상보적 가닥의 서열을 정의한다. 따라서, 핵산은 또한 도시된 단일 가닥의 상보적 가닥을 포함한다. 핵산의 많은 변이체는 주어진 핵산과 동일한 목적을 위해 사용될 수 있다. 따라서, 핵산은 또한 실질적으로 동일한 핵산 및 이의 보체를 포함한다. 단일 가닥은 엄격한 혼성화 조건 하에서 표적 서열에 혼성화할 수 있는 프로브를 제공한다. 따라서, 핵산은 또한 엄격한 혼성화 조건 하에서 혼성화하는 프로브를 포함한다.

- [0049] 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있거나 이중 가닥 및 단일 가닥 서열 모두의 일부를 함유할 수 있다. 핵산은 게놈 및 cDNA 모두인 DNA, RNA 또는 하이브리드일 수 있으며, 여기서 핵산은 테옥시리보- 및 리보-뉴클레오타이드의 조합, 및 우라실, 아데닌, 티민, 시토신, 구아닌, 이노신, 크산틴 하이포크산틴, 이소시토신 및 이소구아닌을 포함하는 염기의 조합을 포함할 수 있다. 핵산은 화학적 합성 방법 또는 재조합 방법으로 얻을 수 있다.
- [0050] 본원에서 사용된 "작동가능하게 연결된"은 유전자의 발현이 그것이 공간적으로 연결된 프로모터의 제어하에 있음을 의미한다. 프로모터는 통제하에 있는 유전자의 5' (업스트림) 또는 3' (다운스트림)에 위치할 수 있다. 프로모터와 유전자 사이의 거리는 해당 프로모터와 프로모터가 파생된 유전자에서 조절하는 유전자 사이의 거리와 대략 동일할 수 있다. 당업계에 공지된 바와 같이, 이 거리의 변화는 프로모터 기능의 손실 없이 수용될 수 있다.
- [0051] 본원에서 사용되는 "펩티드", "단백질" 또는 "폴리펩티드"는 연결된 아미노산 서열을 의미할 수 있고, 천연, 합성, 또는 천연과 합성의 변형 또는 조합일 수 있다.
- [0052] 본원에서 사용되는 "프로모터"는 세포에서 핵산의 발현을 부여, 활성화 또는 향상시킬 수 있는 합성 또는 천연 유래 분자를 의미한다. 프로모터는 발현을 추가로 향상시키고/시키거나 공간적 발현 및/또는 시간적 발현을 변경하기 위해 하나 이상의 특정 전사 조절 서열을 포함할 수 있다. 프로모터는 또한 말단 인핸서 또는 리프레서 요소를 포함할 수 있으며, 이는 전사 시작 부위로부터 수천 개의 염기쌍만큼 위치할 수 있다. 프로모터는 바이러스, 박테리아, 진균, 식물, 곤충 및 동물을 포함하는 공급원에서 유래할 수 있다. 프로모터는 유전자 구성요소의 발현을 구성적으로 또는 발현이 일어나는 세포, 조직 또는 기관에 대해 또는 발현이 일어나는 발달 단계에 대해 또는 생리적 스트레스, 병원체, 금속 이온, 또는 유도제와 같은 외부 자극에 대한 반응으로 차별적으로 조절할 수 있다. 프로모터의 대표적인 예는 박테리오파지 T7 프로모터, 박테리오파지 T3 프로모터, SP6 프로모터, lac 오퍼레이터-프로모터, tac 프로모터, SV40 후기 프로모터, SV40 초기 프로모터, RSV-LTR 프로모터, CMV IE 프로모터, SV40 초기 프로모터 또는 SV40 후기 프로모터 및 CMV IE 프로모터를 포함한다.
- [0053] "신호 펩티드" 및 "리더 서열"은 본원에서 상호교환적으로 사용되며 본원에 제시된 단백질의 아미노 말단에서 연결될 수 있는 아미노산 서열을 지칭한다. 신호 펩티드/리더 서열은 일반적으로 단백질의 국소화를 지시한다. 본원에서 사용되는 신호 펩티드/리더 서열은 단백질이 생산되는 세포로부터 단백질의 분비를 촉진할 수 있다. 신호 펩티드/리더 서열은 종종 세포에서 분비될 때 종종 성숙한 단백질이라고 하는 단백질의 나머지 부분에서 절단된다. 신호 펩티드/리더 서열은 단백질의 아미노 말단 (즉, N 말단)에서 연결된다.
- [0054] 본원에 사용된 "실질적으로 상보적인"은 제1 서열이 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 30개, 35개, 40개, 45개, 50개, 55개, 60개, 65개, 70개, 75개, 80개, 85개, 90개, 95개, 100개, 180개, 270개, 360개, 450개, 540개, 또는 이상의 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 영역에 걸쳐 제2 서열의 상보체와 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% 동일하거나, 또는 두 서열이 엄격한 혼성화 조건 하에 혼성화한다는 것을 의미한다.
- [0055] 본원에서 사용된 "실질적으로 동일한"은 제1 서열이 제2 서열의 상보체에 실질적으로 상보적인 경우, 제1 및 제2 서열이 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 30개, 35개, 40개, 45개, 50개, 55개, 60개, 65개, 70개, 75개, 80개, 85개, 90개, 95개, 100개, 180개, 270개, 360개, 450개, 540개, 또는 이상의 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 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% 동일하다는 것을 의미한다.
- [0056] 본원에서 사용되는 표현 "치료를 필요로 하는 대상체"는 재발성 호흡기 유두종증 (RRP)의 하나 이상의 증상 또는 징후를 나타내고/보이거나 RRP로 진단되고, 치료가 필요한 인간 또는 인간이 아닌 포유동물을 의미한다. 많은 구체예에서, "대상체"라는 용어는 "환자"라는 용어와 상호교환적으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 인간 대상체는 RRP 및/또는 쉰 목소리, 약한 울음, 만성 기침, 호흡 문제, 호흡곤란, 재발성 상기도 감염, 폐렴, 삼킴곤란, 천명, 번성 실패, 및/또는 호흡기 종양을 포함하나 이에 제한되지 않는 하나 이상의 증상 또는 표지를 가진 것으로 진단될 수 있다. 예를 들어, 표현에는 새로 진단된 대상체가 포함된다. 일부 구체예에서, 표현은 개시된 방법에 따른 치료가 초기 치료 (예를 들어, 환자가 RRP에 대한 사전 전신 치료를 받지 않은 "제1차" 치료)인 대상체를 포함한다. 특정 구체예에서, 표현은 개시된 방법에 따른 치료가 "2차" 치료인 대상체를 포함하며, 여기서 환자는 수술, 항바이러스제 치료, 및 기관절개술을 포함하나 이에 제한되지 않는 "표준 치료" 요법으로 이전

에 치료를 받았다.

- [0057] 본원에서 사용되는 "치료하다", "치료하는" 등의 용어는 증상을 완화시키는 것을 의미한다. 일시적 또는 영구적으로 증상의 원인을 제거하고, 종양 성장을 지연 또는 억제하고, 종양 세포 부하 또는 종양 부담을 줄이고, 종양 퇴행, 종양 수축, 괴사 및/또는 소실 유발, 종양 재발 방지, 악성 변형 방지 또는 억제, 및/또는 대상체의 생존 기간 증가를 촉진한다.
- [0058] 본원에서 사용되는 바와 같이, 달리 언급되지 않는 한, 용어 "임상적으로 입증된" (독립적으로 사용되거나 용어 "안전한" 및/또는 "유효한"을 변형하기 위해 사용됨)은 임상 시험이 미국 식품의약국, EMA 또는 해당 국가 규제 기관의 승인 기준을 충족하는 임상 시험에 의해 입증되었음을 의미할 것이다. 예를 들어, 여기에 제공된 실험에 설명된 임상 시험에 의해 증거가 제공될 수 있다.
- [0059] 인간 유두종바이러스 (HPV) 항원 (예를 들어, pGX3024 또는 INO-3107 약물 제품 또는 이의 바이오시밀러로 투여되는 HPV 항원)을 사용한 용량, 용량 요법, 치료 또는 방법과 관련하여 "임상적으로 입증된 안전성"이라는 용어는 표준 치료 또는 다른 비교군과 비교하여 허용 가능한 빈도 및/또는 허용 가능한 중증도의 치료 관련 부작용 (TEAE라고 함)을 갖는 유리한 위험:이득 비율을 의미한다. 부작용은 약물 제품을 투여받은 환자에게 발생하는 뜻밖의 의학적 발생이다. 하나의 안전 지표는 부작용 CTCAE v5.0에 대한 일반 독성 기준에 따라 등급이 매겨진 국립 암 연구소 (NCI) 부작용 (AE) 발생률이다.
- [0060] 투여량, 투여 요법, 치료 또는 방법과 관련하여 본원에서 사용되는 "임상적으로 입증된 효능" 및 "임상적으로 입증된 유효"라는 용어는 특정 투여량, 투여량 또는 치료 요법의 유효성을 지칭한다. 효능은 본 발명의 제제에 대한 질병 경과와 변화에 기초하여 측정될 수 있다. 예를 들어, 인간 유두종 바이러스 (HPV) 항원 (예를 들어, pGX3024 또는 INO-3107 약물 제품 또는 이의 바이오시밀러로 투여되는 HPV 항원)은 개선, 바람직하게는 치료되는 장애의 중증도를 반영하는 적어도 하나의 지표에서 지속적인 개선을 유도하기에 충분한 양 및 시간 동안 환자에게 투여된다. 치료의 양과 시간이 충분한지 여부를 결정하기 위해 대상체의 질병, 질환 또는 상태의 정도를 반영하는 다양한 지표를 평가할 수 있다. 이러한 지표는 예를 들어 질병 중증도, 증상 또는 문제의 장애 징후의 임상적으로 인식된 지표를 포함한다. 개선 정도는 일반적으로 징후, 증상, 생검, 및 기타 검사 결과를 기반으로 이러한 결정을 내릴 수 있고, 주어진 질병에 대해 개발된 삶의 질 설문지와 같이 대상체에게 관리되는 설문지를 사용할 수도 있는 내과 의사가 결정한다. 개선은 질병 활동 지수의 개선, 임상 증상의 개선 또는 질병 활동의 다른 측정에 의해 표시될 수 있다. 예를 들어, 인간 유두종바이러스 (HPV) 항원 (예를 들어, pGX3024 또는 INO-3107 약물 제품 또는 이의 바이오시밀러로 투여되는 HPV 항원)은 RRP 외과 개입 빈도 감소, RRP 병기 평가 점수의 변화, 수술 간 간격 증가, 또는 HPV 제거 또는 질병 부담 감소와 관련된 환자 상태의 개선을 달성하기 위해 투여될 수 있다.
- [0061] 핵산과 관련하여 본원에서 사용된 "변이체"는 (i) 참조된 뉴클레오타이드 서열의 일부 또는 단편; (ii) 참조된 뉴클레오타이드 서열 또는 그 일부의 상보체; (iii) 참조된 핵산 또는 이의 보체와 실질적으로 동일한 핵산; 또는 (iv) 엄격한 조건 하에서 언급된 핵산, 이의 보체 또는 이와 실질적으로 동일한 서열에 혼성화하는 핵산을 의미한다. 변이체는 전체 유전자 서열 또는 이의 단편의 전체 길이에 걸쳐 실질적으로 동일한 핵산 서열일 수 있다. 핵산 서열은 유전자 서열 또는 이의 단편의 전체 길이에 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.
- [0062] 폴리펩티드에 관한 "변이체"는 아미노산의 삽입, 결실, 또는 보존적 치환에 의해 아미노산 서열이 다르지만 참조 폴리펩티드의 적어도 하나의 생물학적 활성을 유지하는 것이다. 변이체는 또한 적어도 하나의 생물학적 활성을 유지하는 아미노산 서열을 갖는 기준 단백질과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 단백질을 의미할 수 있다. 변이체는 아미노산 서열 또는 이의 단편의 전체 길이에 걸쳐 실질적으로 동일한 아미노산 서열일 수 있다. 아미노산 서열은 아미노산 서열 또는 이의 단편의 전체 길이에 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.
- [0063] 본원에서 사용되는 "벡터"는 복제 기점을 포함하는 핵산 서열을 의미한다. 벡터는 바이러스 벡터, 박테리오파지, 박테리아 인공 염색체 또는 효모 인공 염색체일 수 있다. 벡터는 DNA 또는 RNA 벡터일 수 있다. 벡터는 자가-복제 염색체의 벡터일 수 있으며, 일 구체예에서 발현 플라스미드이다. 벡터는 하나 이상의 이중 핵산 서열을 함유하거나 포함할 수 있다.
- [0064] 본원에서 사용되는 바와 같이, "와 조합하여"라는 어구는 HPV6 E6 및 E7 항원 및 HPV11 E6 및 E7 항원이 보조제 투여와 동시에, 투여 직전 또는 투여 직후 대상체에게 투여됨을 의미한다. 특정 구체예에서, HPV6 E6 및 E7 항

원 및 HPV11 E6 및 E7 항원은 보조제와 함께 공동 제형으로 투여된다.

[0065] 본원에서 사용되는 바와 같이, "임상적으로 입증된" (독립적으로 사용되거나 "안전한" 및/또는 "효과적인"이라는 용어를 변형하기 위해 사용됨)이라는 용어는 임상 시험이 미국 식품의약국, EMA 또는 해당 국가 규제 기관의 승인 기준을 충족하는 임상 시험에 의해 입증되었음을 의미한다. 예를 들어, 여기에 제공된 예에 설명된 임상 시험에 의해 증거가 제공될 수 있다.

[0066] 용어 "임상적으로 입증된 안전"은 보조제와 조합된 HPV6 E6 및 E7 항원 및 HPV11 E6 및 E7 항원 (예를 들어, pGX3024로서 투여됨)을 사용한 용량, 투여 요법, 치료 또는 방법에 관한 것으로, 예를 들어, IL-12 (예를 들어, pGX6010으로 투여됨)는 표준 치료 또는 다른 비교군과 비교하여 치료 관련 부작용 (AE 또는 TEAE라고 함)의 허용 가능한 빈도 및/또는 허용 가능한 중증도를 갖는 유리한 위험:이득 비율을 나타낸다. 부작용은 약물 제품을 투여받은 대상체에게 발생하는 뜻밖의 의학적 발생이다.

[0067] 투여량, 투여 요법, 치료 또는 방법과 관련하여 본원에서 사용되는 "임상적으로 입증된 효능" 및 "임상적으로 입증된 효능"이라는 용어는 특정 투여량, 투여량 또는 치료 요법의 유효성을 지칭한다. 효능은 본 발명의 제제에 대한 질병 경과와 변화에 기초하여 측정될 수 있다. 예를 들어, HPV6 E6 및 E7 항원 및 HPV11 E6 및 E7 항원의 조합 (예를 들어, pGX3024로 투여) IL-12와 같은 보조제와 함께 (예를 들어, pGX6010으로 투여)은 개선, 바람직하게는 치료되는 장애의 중증도를 반영하는 적어도 하나의 지표에서 지속적인 개선을 유도하기에 충분한 양과 시간 동안 대상체에게 투여된다. 치료의 양과 시간이 충분한지 여부를 결정하기 위해 대상체의 질병, 질환 또는 상태의 정도를 반영하는 다양한 지표를 평가할 수 있다. 이러한 지표는 예를 들어 질병 중증도, 증상 또는 문제의 장애 징후의 임상적으로 인식된 지표를 포함한다. 개선 정도는 일반적으로 징후, 증상, 생검, 및 기타 검사 결과를 기반으로 이러한 결정을 내릴 수 있고, 주어진 질병에 대해 개발된 삶의 질 설문지와 같이 대상체에게 관리되는 설문지를 사용할 수도 있는 내과 의사가 결정한다. 예를 들어, HPV6 E6 및 E7 항원 및 HPV11 E6 및 E7 항원 (예를 들어, pGX3024로 투여) IL-12와 같은 보조제와 함께 (예를 들어, pGX6010으로 투여)의 조합을 투여하여 RRP와 관련된 환자의 상태를 개선할 수 있다. 개선은 질병 활동 지수의 개선, 임상 증상의 개선 또는 질병 활동의 다른 측정에 의해 표시될 수 있다.

[0068] 핵산 분자, 단백질, 백신을 포함하는 면역원성 조성물, 및 면역 반응을 유도하고/하거나 RRP를 예방 또는 치료하기 위한 이들의 사용 방법이 본원에 제공된다. 면역원성 조성물은 바람직하게는 HPV6 E6 항원성 도메인, HPV6 E7 항원성 도메인, HPV11 E6 항원성 도메인 및 HPV11 E7 항원성 도메인을 포함하는 인간 유두종바이러스 (HPV) 항원을 포함한다. 개시된 면역원성 조성물은 변형된 공통 서열이 생성되고 코돈 최적화, RNA 최적화 및 고효율 면역글로빈 리더 서열의 추가를 포함하는 유전적 변형이 이루어진 다중 단계 전략으로부터 발생한다. 면역원성 조성물은 HPV의 여러 변종에 대해 보호하여 HPV 기반 병리를 치료, 예방 및/또는 보호하는 데 사용할 수 있다. 특히, 면역원성 조성물은 HPV6- 및/또는 HPV11-기반 병리를 예방하거나 치료하기 위해 사용될 수 있다. 면역원성 조성물은 면역원성 조성물이 투여된 대상체의 면역 반응을 유의하게 유도하여 HPV6 감염, HPV11 감염 또는 둘 모두에 대해 보호하고 치료할 수 있다.

[0069] 백신은 DNA 백신, 펩티드 백신, 또는 DNA와 펩티드 백신의 조합일 수 있다. DNA 백신은 HPV 항원을 암호화하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 핵산 서열은 DNA, RNA, cDNA, 이들의 변이체, 이들의 단편 또는 이들의 조합일 수 있다. 핵산 서열은 또한 펩티드 결합에 의해 HPV 항원에 연결된 링커, 리더 또는 태그 서열을 암호화하는 추가 서열을 포함할 수 있다. 펩티드 백신은 HPV 항원성 펩티드, HPV 항원성 단백질, 이의 변이체, 이의 단편 또는 이의 조합을 포함할 수 있다. 조합 DNA 및 펩티드 백신은 HPV 항원 및 HPV 항원성 펩티드 또는 단백질을 암호화하는 전술한 핵산 서열을 포함할 수 있으며, 여기서 HPV 항원성 펩티드 또는 단백질 및 암호화된 HPV 항원은 동일한 아미노산 서열을 갖는다.

[0070] 백신은 백신이 투여된 대상체에서 체액성 면역 반응을 유도할 수 있다. 유도된 체액성 면역 반응은 HPV6 E6 항원성 도메인, HPV6 E7 항원성 도메인, HPV11 E6 항원성 도메인, HPV11 E7 항원성 도메인 또는 이들의 임의의 조합에 대해 특이적일 수 있다. 유도된 체액성 면역 반응은 HPV6 E6 항원, HPV6 E7 항원, HPV11 E6 항원, HPV11 E7 항원 또는 이들의 임의의 조합과 반응성일 수 있다. 체액성 면역 반응은 백신이 투여된 대상체에서 약 1.5-배 내지 약 16-배, 약 2-배 내지 약 12-배, 또는 약 3-배 내지 약 10-배로 백신이 투여된 대상체에서 유도될 수 있다. 체액성 면역 반응은 적어도 약 1.5-배, 적어도 약 2.0-배, 적어도 약 2.5-배, 적어도 약 3.0-배, 적어도 약 3.5-배, 적어도 약 4.0-배, 적어도 약 4.5-배, 적어도 약 5.0-배, 적어도 약 5.5-배, 적어도 약 6.0-배, 적어도 약 6.5-배, 적어도 약 7.0-배, 적어도 약 7.5-배, 적어도 약 8.0-배, 적어도 약 8.5-배, 적어도 약 9.0-배, 적어도 약 9.5-배, 적어도 약 10.0-배, 적어도 약 10.5-배, 적어도 약 11.0-배, 적어도 약 11.5-배, 적어도 약

12.0-배, 적어도 약 12.5-배, 적어도 약 13.0-배, 적어도 약 13.5-배, 적어도 약 14.0-배, 적어도 약 14.5-배, 적어도 약 15.0-배, 적어도 약 15.5-배, 또는 적어도 약 16.0-배까지 유도될 수 있다.

[0071] 백신에 의해 유도된 체액성 면역 반응은 백신이 투여되지 않은 대상체와 비교하여 백신이 투여된 대상체와 관련된 증가된 수준의 IgG 항체를 포함할 수 있다. 이들 IgG 항체는 HPV6 E6 항원, HPV6 E7 항원, HPV11 E6 항원, HPV11 E7 항원 또는 이들의 조합에 대해 특이적일 수 있다. 이들 IgG 항체는 HPV6 E6 항원, HPV6 E7 항원, HPV11 E6 항원, HPV11 E7 항원 또는 이들의 조합과 반응할 수 있다. 백신이 투여된 대상체와 관련된 IgG 항체의 수준은 백신이 투여되지 않은 대상체에 비해 약 1.5-배 내지 약 16-배, 약 2-배 내지 약 12-배, 또는 약 3-배 내지 약 10-배 증가될 수 있다. 백신이 투여된 대상체와 관련된 IgG 항체의 수준은 백신이 투여되지 않은 대상체와 비교하여 적어도 약 1.5-배, 적어도 약 2.0-배, 적어도 약 2.5-배, 적어도 약 3.0-배, 적어도 약 3.5-배, 적어도 약 4.0-배, 적어도 약 4.5-배, 적어도 약 5.0-배, 적어도 약 5.5-배, 적어도 약 6.0-배, 적어도 약 6.5-배, 적어도 약 7.0-배, 적어도 약 7.5-배, 적어도 약 8.0-배, 적어도 약 8.5-배, 적어도 약 9.0-배, 적어도 약 9.5-배, 적어도 약 10.0-배, 적어도 약 10.5-배, 적어도 약 11.0-배, 적어도 약 11.5-배, 적어도 약 12.0-배, 적어도 약 12.5-배, 적어도 약 13.0-배, 적어도 약 13.5-배, 적어도 약 14.0-배, 적어도 약 14.5-배, 적어도 약 15.0-배, 적어도 약 15.5-배, 또는 적어도 약 16.0-배 증가될 수 있다.

[0072] 백신은 백신이 투여된 개체에서 세포성 면역 반응을 유도할 수 있다. 유도된 세포 면역 반응은 HPV6 E6 항원, HPV6 E7 항원, HPV11 E6 항원, HPV11 E7 항원 또는 이들의 조합에 대해 특이적일 수 있다. 유도된 세포 면역 반응은 HPV6 E6 항원, HPV6 E7 항원, HPV11 E6 항원, HPV11 E7 항원 또는 이들의 임의의 조합에 대해 반응성일 수 있다. 유도된 세포성 면역 반응은 T 세포 반응을 유도하는 것을 포함할 수 있다. 유도된 T 세포 반응은 HPV6 E6 항원, HPV6 E7 항원, HPV11 E6 항원, HPV11 E7 항원 또는 이들의 임의의 조합과 반응성일 수 있다. 도출된 T 세포 반응은 다기능적일 수 있다. 유도된 세포 면역 반응은 T 세포가 인터페론-감마 (IFN- γ)를 생성하는 T 세포 반응을 유도하는 것을 포함할 수 있다. 유도된 세포성 면역 반응은 백신이 투여되지 않은 대상체와 비교하여 백신이 투여된 대상체와 관련된 증가된 T 세포 반응을 포함할 수 있다. 백신이 투여된 대상체와 관련된 T 세포 반응은 백신이 투여되지 않은 대상체에 비해 약 2-배 내지 약 30-배, 약 3-배 내지 약 25-배, 또는 약 4-배 내지 약 20-배 증가될 수 있다. 백신이 투여된 대상체와 관련된 T 세포 반응은 백신이 투여되지 않은 대상체와 비교하여 적어도 약 1.5-배, 적어도 약 2.0-배, 적어도 약 3.0-배, 적어도 약 4.0-배, 적어도 약 5.0-배, 적어도 약 6.0-배, 적어도 약 6.5-배, 적어도 약 7.0-배, 적어도 약 7.5-배, 적어도 약 8.0-배, 적어도 약 8.5-배, 적어도 약 9.0-배, 적어도 약 9.5-배, 적어도 약 10.0-배, 적어도 약 10.5-배, 적어도 약 11.0-배, 적어도 약 11.5-배, 적어도 약 12.0-배, 적어도 약 12.5-배, 적어도 약 13.0-배, 적어도 약 13.5-배, 적어도 약 14.0-배, 적어도 약 14.5-배, 적어도 약 15.0-배, 적어도 약 16.0-배, 적어도 약 17.0-배, 적어도 약 18.0-배, 적어도 약 19.0-배, 적어도 약 20.0-배, 적어도 약 21.0-배, 적어도 약 22.0-배, 적어도 약 23.0-배, 적어도 약 24.0-배, 적어도 약 25.0-배, 적어도 약 26.0-배, 적어도 약 27.0-배, 적어도 약 28.0-배, 적어도 약 29.0-배, 또는 적어도 약 30.0-배 증가될 수 있다.

[0073] 본 발명의 백신은 백신 자체가 질병이나 사망을 유발하지 않도록 안전하여야 하고; 바이러스나 박테리아와 같은 살아 있는 병원체에 노출되어 발생하는 질병으로부터 보호하고; 본 발명의 세포를 방지하기 위해 항체를 유도하고; 세포내 병원균에 대한 보호 T 세포를 유도하며; 투여 용이성, 부작용 거의 없음, 생물학적 안정성 및 낮은 용량당 비용을 제공하는 것과 같은 효과적인 백신에 요구되는 특징을 가질 수 있다.

[0074] 백신은 근육 또는 피부와 같은 상이한 조직에 투여될 때 면역 반응을 추가로 유도할 수 있다. 백신은 전기천공법, 또는 주사, 또는 피하, 또는 근육내 투여 시 면역 반응을 추가로 유도할 수 있다.

[0075] HPV 항원은 하나 이상의 HPV 균주에 대해 포유동물에서 면역 반응을 유도할 수 있다. 따라서 HPV6 항원성 도메인 및 HPV11 항원성 도메인을 포함하는 HPV 항원이 본원에 개시된다. HPV6 항원 도메인은 HPV11 항원 도메인에 대해 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다.

[0076] 일부 구체예에서, HPV6 항원 도메인은 HPV6 E6 항원 도메인, 이의 단편, 또는 이의 변이체 및 HPV6 E7 항원 도메인, 이의 단편, 이의 변이체, 또는 이의 조합을 포함한다. HPV6 E6 항원 도메인은 HPV6 E7 항원 도메인에 대해 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 일부 구체예에서, HPV6 E6 항원성 도메인은 면역 반응이 유도될 수 있는 면역원으로서 특히 효과적이게 하는 에피토프를 포함할 수 있다. HPV6 E6 항원성 도메인은 2개 이상의 HPV6 균주로부터 유래된 공통 서열일 수 있다. HPV6 E6 항원성 도메인은 개선된 발현을 위한 공통 서열 및/또는 변형을 포함할 수 있다. 변형은 코돈 최적화, RNA 최적화, 증가된 번역 개시를 위한 코작 서열의 첨가, 및/또는 HPV6 E6 항원성 도메인의 면역원성을 증가시키기 위한 면역글로불린 리더 서열의 첨가를 포함할 수 있다. HPV6

E6 공통 항원성 도메인은 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들어 면역글로불린 E (IgE) 또는 면역글로불린 (IgG) 신호 펩티드와 같은 신호 펩티드를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, HPV6 E6 공통 항원성 도메인은 헤마글루티닌 (HA) 태그를 포함할 수 있다. HPV6 E6 공통 항원 도메인은 상응하는 코돈 최적화된 HPV6 E6 항원 도메인보다 더 강하고 더 넓은 세포 및/또는 체액 면역 반응을 유도하도록 디자인될 수 있다. 일부 구체예에서, HPV6 E7 항원성 도메인은 면역 반응이 유도될 수 있는 면역원으로서 특히 효과적이게 하는 에피토프를 포함할 수 있다. HPV6 E7 항원성 도메인은 HPV6의 2개 이상의 변종으로부터 유래된 공통 서열일 수 있다. HPV6 E7 항원성 도메인은 개선된 발현을 위한 공통 서열 및/또는 변형을 포함할 수 있다. 변형은 코돈 최적화, RNA 최적화, 증가된 번역 개시를 위한 코작 서열의 첨가, 및/또는 HPV6 E7 항원성 도메인의 면역원성을 증가시키기 위한 면역글로불린 리더 서열의 첨가를 포함할 수 있다. HPV6 E7 공통 항원성 도메인은 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들어 면역글로불린 E (IgE) 또는 면역글로불린 (IgG) 신호 펩티드와 같은 신호 펩티드를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, HPV6 E7 공통 항원성 도메인은 헤마글루티닌 (HA) 태그를 포함할 수 있다. HPV6 E7 공통 항원 도메인은 상응하는 코돈 최적화 HPV6 E7 항원 도메인보다 더 강하고 더 넓은 세포 및/또는 체액 면역 반응을 유도하도록 디자인될 수 있다.

[0077] 일부 구체예에서, HPV11 항원 도메인은 HPV11 E6 항원 도메인, 이의 단편, 또는 이의 변이체 및 HPV11 E7 항원 도메인, 이의 단편, 이의 변이체, 또는 이의 조합을 포함한다. HPV11 E6 항원성 도메인은 HPV11 E7 항원성 도메인에 대해 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 일부 구체예에서, HPV11 E6 항원성 도메인은 면역 반응이 유도될 수 있는 면역원으로서 특히 효과적이게 하는 에피토프를 포함할 수 있다. HPV11 E6 항원성 도메인은 HPV11의 2개 이상의 균주로부터 유래된 공통 서열일 수 있다. HPV11 E6 항원성 도메인은 개선된 발현을 위한 공통 서열 및/또는 변형을 포함할 수 있다. 변형은 코돈 최적화, RNA 최적화, 증가된 번역 개시를 위한 코작 서열의 첨가, 및/또는 HPV11 E6 항원성 도메인의 면역원성을 증가시키기 위한 면역글로불린 리더 서열의 첨가를 포함할 수 있다. HPV11 E6 공통 항원성 도메인은 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들어, 면역글로불린 E (IgE) 또는 면역글로불린 (IgG) 신호 펩티드와 같은 신호 펩티드를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, HPV11 E6 공통 항원성 도메인은 헤마글루티닌 (HA) 태그를 포함할 수 있다. HPV11 E6 공통 항원 도메인은 상응하는 코돈 최적화된 HPV11 E6 항원 도메인보다 더 강하고 더 넓은 세포 및/또는 체액 면역 반응을 유도하도록 설계될 수 있다. 일부 구체예에서, HPV11 E7 항원성 도메인은 면역 반응이 유도될 수 있는 면역원으로서 특히 효과적이게 하는 에피토프를 포함할 수 있다. HPV11 E7 항원성 도메인은 HPV11의 2개 이상의 균주로부터 유래된 공통 서열일 수 있다. HPV11 E7 항원성 도메인은 개선된 발현을 위한 공통 서열 및/또는 변형을 포함할 수 있다. 변형은 코돈 최적화, RNA 최적화, 증가된 번역 개시를 위한 코작 서열의 첨가, 및/또는 HPV11 E7 항원성 도메인의 면역원성을 증가시키기 위한 면역글로불린 리더 서열의 첨가를 포함할 수 있다. HPV11 E7 공통 항원성 도메인은 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들어, 면역글로불린 E (IgE) 또는 면역글로불린 (IgG) 신호 펩티드와 같은 신호 펩티드를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, HPV11 E7 공통 항원성 도메인은 헤마글루티닌(HA) 태그를 포함할 수 있다. HPV11 E7 공통 항원 도메인은 상응하는 코돈 최적화 HPV11 E7 항원 도메인보다 더 강하고 더 넓은 세포 및/또는 체액 면역 반응을 이끌어내도록 설계될 수 있다.

[0078] 일부 측면에서, HPV 항원은 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열; 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상동성인 아미노산 서열; 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열의 면역원성 단편; 또는 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열의 면역원성 단편과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상동성인 아미노산 서열을 포함한다.

[0079] 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열의 단편은 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열 전체 길이의 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% 이상을 포함할 수 있다. 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열의 단편은 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열 전체 길이 길이의 60%, 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 이상을 포함할 수 있다. 서열번호 1 또는 서열번호 11의 단편은 각 경우에 위치 1에 신호 펩티드 및/또는 메티오닌이 있거나 없는 경우. N 및/또는 C 말단에서 적어도 하나의 아미노산이 누락된 것을 제외하고 전장 참조 서열과 100% 동일할 수 있다. 서열번호 1 또는 서열번호 11의 단편은 첨가된 임의의 이중 신호 펩티드를 제외하고 전장 서열번호 1 또는 서열번호 11 길이의 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% 이상을 포함할 수 있다. 단편은 바람직하게는 서열번호 1 또는 서열번호 11과 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상 상동성인 서열번호 1 또는 서열번호 11의 단편을 포함할 수 있고 퍼센트 상동성을 계산할 때 포함되지 않는 N 말단 메티오닌 또는 이중 신호 펩티드를 추가로 포함

한다. 단편은 N-말단 메티오닌 및/또는 번역글로불린 신호 펩티드, 예를 들어 IgE 또는 IgG 신호 펩티드와 같은 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. N-말단 메티오닌 및/또는 신호 펩티드는 단편에 연결될 수 있다.

- [0080] 일부 구체예에서, 서열번호 1 또는 서열번호 11의 단편은 100개 이상의 잔기; 일부 구체예에서, 200개 이상의 잔기; 일부 구체예에서 300개 이상의 잔기; 일부 구체예에서, 400개 이상의 잔기; 및 일부 구체예에서 500개 이상의 잔기를 포함할 수 있다.
- [0081] 일부 측면에서, HPV 항원은 하나 이상의 번역 후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위 또는 둘 모두에 의해 분리된 HPV6 및 HPV11 항원 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 번역 후 절단 부위는 HPV6과 HPV11 항원 도메인 사이, HPV6 E6과 E7 항원 도메인 사이, 및/또는 HPV11 E6과 E7 항원 도메인 사이에 위치한다. 일부 구체예에서, 번역 건너뛰기 부위는 HPV6과 HPV11 항원 도메인 사이, HPV6 E6과 E7 항원 도메인 사이, 및/또는 HPV11 E6과 E7 항원 도메인 사이에 위치한다. 일부 구체예에서, 번역 후 절단 부위 및 번역 건너뛰기 부위는 HPV6 및 HPV11 항원 도메인 사이, HPV6 E6 및 E7 항원 도메인 사이 및/또는 HPV11 E6 및 E7 항원 도메인 사이에 위치한다. 일부 구체예에서, 번역 후 절단 부위는 푸린 절단 부위이다. 일부 구체예에서, 번역 건너뛰기 부위는 P2A 부위이다. 일부 측면에서, HPV 면역원성 단백질은 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0082] 일부 측면에서, HPV 항원은 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열; 서열번호 1 또는 서열번호 11과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상동성인 아미노산 서열; 서열번호 1 또는 서열번호 11의 면역원성 단편; 또는 서열번호 1 또는 서열번호 11의 면역원성 단편과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상동성인 아미노산 서열을 포함한다.
- [0083] 본 발명의 단백질은 잘 알려진 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 일부 구체예에서, 예를 들어, 본 발명의 단백질을 암호화하는 DNA 분자는 발현 시스템에서 사용하기 위해 시판되는 발현 벡터에 삽입될 수 있다. 생성된 단백질은 세포를 용해시키거나 적절하고 당업자에게 공지된 배양 배지로부터 배양물로부터 회수된다. 당업자는 잘 알려진 기술을 사용하여 이러한 발현 시스템을 사용하여 생산된 단백질을 분리할 수 있다. 상기와 같이 특정 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 이용하여 천연자원으로부터 단백질을 정제하는 방법은 재조합 DNA 방법론에 의해 생산된 단백질을 정제하는 데에도 동일하게 적용될 수 있다. 재조합 기술로 단백질을 생산하는 것 외에도 자동화된 펩티드 합성기를 사용하여 분리된 본질적으로 순수한 단백질을 생산할 수 있다.
- [0084] HPV 항원은 본원에 개시된 HPV6-HPV11 융합 항원을 암호화하는 핵산 분자일 수 있다. HPV11 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 HPV6 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 5' 또는 3'에 위치할 수 있다.
- [0085] 일부 구체예에서, HPV6 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열은 HPV6 E6 항원 도메인 및 HPV6 E7 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열을 포함한다. HPV6 E6 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열은 HPV6 E7 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열의 5' 또는 3'에 위치할 수 있다.
- [0086] 일부 구체예에서, HPV11 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열은 HPV11 E6 항원 도메인 및 HPV11 E7 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열을 포함한다. HPV11 E6 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열은 HPV11 E7 항원 도메인을 암호화하는 핵산 서열의 5' 또는 3'에 위치할 수 있다.
- [0087] 일부 측면에서, HPV 항원의 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 하나 이상의 번역 후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 의해 분리될 수 있다. 일부 구체예에서, 번역 후 절단 부위를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 HPV6 및 HPV11 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 사이, HPV6 E6 및 E7 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 사이, HPV11 E6 및 E7 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 사이, 또는 이들의 임의의 조합에 위치한다. 일부 구체예에서, 번역 건너뛰기 부위를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 HPV6 및 HPV11 항원 도메인을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열 사이, HPV6 E6 및 E7 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 사이, HPV11 E6 및 E7 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 사이, 또는 이들의 임의의 조합에 위치한다. 일부 구체예에서, 번역 후 절단 부위 및 번역 건너뛰기 부위를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 HPV6 및 HPV11 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 사이, HPV6 E6 및 E7 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 사이, HPV11 E6 및 E7 항원 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 사이, 또는 이들의 임의의 조합에 위치한다. 일부 구체예에서, 번역 후 절단 부위는 푸린 절단 부위이다. 일부 구체예에서, 번역 건너뛰기 부위는 P2A 부위이다.
- [0088] 일부 구체예에서, HPV 항원을 암호화하는 핵산 서열은 서열번호 2 또는 서열번호 12의 뉴클레오타이드 서열; 서열

번호 2 또는 서열번호 12의 뉴클레오티드 서열과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상동성인 뉴클레오티드 서열; 서열번호 2 또는 서열번호 12의 뉴클레오티드 서열의 단편; 또는 서열번호 2 또는 서열번호 12의 뉴클레오티드 서열의 단편과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상동성인 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 단편은 N 말단 메티오닌 및/또는 번역글로불린 신호 펩티드, 예를 들어 IgE 또는 IgG 신호 펩티드와 같은 신호 펩티드에 대한 코딩 서열을 추가로 포함할 수 있다. N-말단 메티오닌 및/또는 신호 펩티드를 암호화하는 코딩 서열은 단편에 연결될 수 있다.

[0089] 번역원을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자는 조절 요소에 작동가능하게 연결될 수 있다. 핵산 분자는 DNA, RNA, cDNA, 이들의 변이체, 이들의 단편, 또는 이들의 조합일 수 있다. 핵산 서열은 또한 펩티드 결합에 의해 항원에 연결된 링커 또는 태그 서열을 암호화하는 추가 서열을 포함할 수 있다.

[0090] 일부 측면에서, HPV 항원을 암호화하는 핵산 분자는 발현 벡터이다. 발현 벡터는 원형 플라스미드 또는 선형 핵산일 수 있다. 발현 벡터는 적절한 대상 세포에서 특정 뉴클레오티드 서열의 발현을 지시할 수 있다. 발현 벡터는 종료 신호에 작동 가능하게 연결될 수 있는 항원-암호화 뉴클레오티드 서열에 작동 가능하게 연결된 프로모터를 가질 수 있다. 발현 벡터는 또한 뉴클레오티드 서열의 적절한 번역에 필요한 서열을 포함할 수 있다. 관심 있는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터는 키메라일 수 있는데, 이는 그의 구성요소 중 적어도 하나가 그의 다른 구성요소 중 적어도 하나와 관련하여 이중임을 의미한다. 발현 카세트에서 뉴클레오티드 서열의 발현은 구성적 프로모터 또는 유도성 프로모터의 제어하에 있을 수 있으며, 이는 숙주 세포가 일부 특정 외부 자극에 노출될 때만 전사를 개시한다. 다세포 유기체의 경우, 프로모터는 또한 특정 조직 또는 기관 또는 발달 단계에 특이적일 수 있다.

[0091] 일 구체예에서, 핵산은 RNA 분자이다. 따라서, 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 관심 폴리펩티드를 암호화하는 RNA 분자를 제공한다. RNA는 플러스 가닥일 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, RNA 분자는 역전사와 같은 임의의 중간 복제 단계를 필요로 하지 않고 세포에 의해 번역될 수 있다. 본 발명에 유용한 RNA 분자는 5' 캡 (예를 들어, 7-메틸구아노신)을 가질 수 있다. 이 캡은 RNA의 생체 내 번역을 향상시킬 수 있다. 본 발명에 유용한 RNA 분자의 5' 뉴클레오티드는 5' 트리포스페이트 군을 가질 수 있다. 캡핑된 RNA에서 이것은 5'-to-5' 다리를 통해 7-메틸구아노신에 연결될 수 있다. RNA 분자는 3' 폴리-A 꼬리를 가질 수 있다. 또한 3' 말단 근처에 폴리-A 중합효소 인식 서열 (예를 들어, AAUAAA)을 포함할 수 있다. 본 발명에 유용한 RNA 분자는 단일 가닥일 수 있다. 일부 구체예에서, RNA 분자는 네이키드 RNA 분자이다. 일 구체예에서, RNA 분자는 벡터 내에 포함된다.

[0092] 일 구체예에서, RNA는 5' 및 3' UTR을 갖는다. 일 구체예에서, 5' UTR은 길이가 0 내지 3000개 뉴클레오티드이다. 코딩 영역에 추가될 5' 및 3' UTR 서열의 길이는 UTR의 상이한 영역에 어닐링하는 PCR용 프라이머 설계를 포함하지만 이에 제한되지 않는 상이한 방법에 의해 변경될 수 있다. 이러한 접근법을 사용하여, 당업자는 전사된 RNA의 형질감염 후 최적 번역 효율을 달성하기 위해 필요한 5' 및 3' UTR 길이를 변형할 수 있다.

[0093] 5' 및 3' UTR은 관심 유전자에 대한 천연 발생 내인성 5' 및 3' UTR일 수 있다. 대안적으로, 관심 있는 유전자에 내인성이 아닌 UTR 서열은 UTR 서열을 정방향 및 역방향 프라이머에 통합하거나 주형의 다른 변형에 의해 추가할 수 있다. 관심 있는 유전자에 내인성이 아닌 UTR 서열의 사용은 RNA의 안정성 및/또는 번역 효율을 변형하는 데 유용할 수 있다. 예를 들어, 3' UTR 서열의 AU가 풍부한 요소는 RNA의 안정성을 감소시킬 수 있는 것으로 알려져 있다. 따라서, 3' UTR은 당업계에 잘 알려진 UTR의 특성에 기초하여 전사된 RNA의 안정성을 증가시키도록 선택되거나 설계될 수 있다.

[0094] 일 구체예에서, 5' UTR은 내인성 유전자의 코작 서열을 함유할 수 있다. 대안적으로, 관심 유전자에 내인성이 아닌 5' UTR이 상기 기재된 바와 같이 PCR에 의해 추가되는 경우, 공통 코작 서열은 5' UTR 서열을 추가함으로써 재설계될 수 있다. 코작 서열은 일부 RNA 전사물의 번역 효율성을 높일 수 있지만 모든 RNA가 효율적인 번역을 가능하게 하는 데 필요한 것으로 보이지는 않는다. 많은 RNA에 대한 코작 서열에 대한 요건은 당업계에 공지되어 있다. 다른 구체예에서, 5' UTR은 RNA 게놈이 세포에서 안정한 RNA 바이러스로부터 유래될 수 있다. 다른 구체예에서, RNA의 엑소뉴클레아제 분해를 방해하기 위해 다양한 뉴클레오티드 유사체가 3' 또는 5' UTR에 사용될 수 있다.

[0095] 일 구체예에서, RNA는 리보솜 결합, 번역 개시 및 세포 내 RNA의 안정성을 결정하는 5' 말단 및 3' 폴리(A) 꼬리 둘 모두에 캡을 갖는다.

[0096] 일 구체예에서, RNA는 뉴클레오시드-변형된 RNA이다. 뉴클레오사이드-변형 RNA는 예를 들어 증가된 안정성, 낮

거나 없는 선천적 면역원성 및 향상된 번역을 포함하여 변형되지 않은 RNA에 비해 특별한 이점을 가지고 있다.

- [0097] 발현 벡터는 세포 계층으로의 통합에 의해 표적 세포를 형질전환시키거나 염색체외에 존재할 수 있는 원형 플라스미드일 수 있다 (예를 들어, 복제 기점이 있는 자율 복제 플라스미드). 벡터는 pVAX, pcDNA3.0, provax, 또는 항원을 암호화하는 DNA를 발현할 수 있고 세포가 서열을 면역계에 의해 인식되는 항원으로 번역할 수 있게 하는 임의의 다른 발현 벡터일 수 있다.
- [0098] 또한 전기천공을 통해 대상체에게 효율적으로 전달될 수 있고 하나 이상의 원하는 항원을 발현할 수 있는 선형 핵산 면역원성 조성물 또는 선형 발현 카세트 ("LEC")가 본원에서 제공된다. LEC는 인산염 백본이 없는 선형 DNA일 수 있다. DNA는 하나 이상의 항원을 암호화할 수 있다. LEC는 프로모터, 인트론, 정지 코돈 및/또는 폴리 아데닐화 신호를 포함할 수 있다. 항원의 발현은 프로모터에 의해 조절될 수 있다. LEC는 항생제 내성 유전자 및/또는 인산염 백본을 포함하지 않을 수 있다. LEC는 원하는 항원 유전자 발현과 무관한 다른 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 없다. LEC는 선형화될 수 있는 임의의 플라스미드로부터 유도될 수 있다. 플라스미드는 항원을 발현할 수 있다. 플라스미드는 pNP (Puerto Rico/34) 또는 pM2 (New Caledonia/99)일 수 있다. 플라스미드는 WLVO09, pVAX, pcDNA3.0, 또는 provax, 또는 항원을 암호화하는 DNA를 발현할 수 있고 세포가 서열을 면역계에 의해 인식되는 항원으로 번역할 수 있게 하는 임의의 다른 발현 벡터일 수 있다. LEC는 pcrM2일 수 있다. LEC는 pcrNP일 수 있다. pcrNP 및 pcrMR은 각각 pNP (Puerto Rico/34) 및 pM2 (New Caledonia/99)에서 파생될 수 있다.
- [0099] 벡터는 상기 기재된 항원을 암호화하는 이중 핵산을 포함할 수 있고 상기 기재된 항원의 하나 이상의 암 항원 코딩 서열의 업스트림일 수 있는 개시 코돈, 및 코딩 서열의 다운스트림일 수 있는 정지 코돈을 추가로 포함할 수 있다.
- [0100] 벡터는 프로모터를 가질 수 있다. 프로모터는 유전자 발현을 구동하고 단리된 핵산의 발현을 조절할 수 있는 임의의 프로모터일 수 있다. 이러한 프로모터는 본원에 기재된 항원 서열을 전사하는 DNA 의존성 RNA 중합효소를 통한 전사에 필요한 시스 작용 서열 요소이다. 이중 핵산의 발현을 지시하는 데 사용되는 프로모터의 선택은 특정 적용에 따라 다르다. 프로모터는 자연 환경에서 전사 시작 부위에서와 마찬가지로 벡터의 전사 시작에서 거의 동일한 거리에 위치할 수 있다. 그러나 이 거리의 변화는 프로모터 기능의 손실 없이 수용될 수 있다.
- [0101] 개시 및 종결 코돈은 상기 기재된 항원의 코딩 서열과 프레임 내에 있을 수 있다. 벡터는 또한 상기 기재된 항원의 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함할 수 있다. 상기 기재된 항원의 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터는 시미안 바이러스 40 (SV40), 마우스 유방 종양 바이러스 (MMTV) 프로모터, 소 면역결핍 바이러스 (BIV) 긴 말단 반복 (LTR) 프로모터와 같은 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 프로모터, 몰로니 바이러스 프로모터, 조류 백혈병 바이러스 (ALV) 프로모터, 거대세포바이러스 (CMV) 프로모터, 예컨대 CMV 즉시 초기 프로모터, 엡스타인 바 바이러스 (EBV) 프로모터, 또는 라우스 육종 바이러스 (RSV) 프로모터로부터의 프로모터일 수 있다. 프로모터는 또한 인간 액틴, 인간 미오신, 인간 헤모글로빈, 인간 근육 크레아틴 또는 인간 메탈로티오네인과 같은 인간 유전자로부터의 프로모터일 수 있다. 프로모터는 또한 천연 또는 합성의 근육 또는 피부 특이적 프로모터와 같은 조직 특이적 프로모터일 수 있다. 이러한 프로모터의 예는 미국 특허 출원 공보 US20040175727에 기술되어 있으며, 그 내용은 전체적으로 본원에 포함된다.
- [0102] 벡터는 또한 전술한 항원 및/또는 항체의 코딩 서열의 다운스트림일 수 있는 폴리 아데닐화 신호를 포함할 수 있다. 폴리 아데닐화 신호는 SV40 폴리 아데닐화 신호, LTR 폴리 아데닐화 신호, 소 성장 호르몬 (bGH) 폴리 아데닐화 신호, 인간 성장 호르몬 (hGH) 폴리 아데닐화 신호, 또는 인간 β -글로빈 폴리 아데닐화 신호일 수 있다. SV40 폴리 아데닐화 신호는 pCEP4 벡터 (Invitrogen, San Diego, CA)로부터의 폴리 아데닐화 신호일 수 있다.
- [0103] 벡터는 또한 상기 기재된 항원의 업스트림 인핸서를 포함할 수 있다. 인핸서는 발현에 필요할 수 있다. 인핸서는 인간 액틴, 인간 미오신, 인간 헤모글로빈, 인간 근육 크레아틴 또는 CMV, HA, RSV 또는 EBV와 같은 바이러스 인핸서일 수 있다.
- [0104] 벡터는 기능적 스플라이스 공여체 및 수용체 부위를 갖는 인핸서 및 인트론을 포함할 수 있다. 벡터는 효율적인 종결을 제공하기 위해 구조 유전자의 다운스트림에 전사 종결 영역을 포함할 수 있다. 종결 영역은 프로모터 서열과 동일한 유전자로부터 얻어질 수 있거나 상이한 유전자로부터 얻어질 수 있다.
- [0105] 벡터는 염색체로 통합되는 것을 억제하는 요소 또는 시약을 추가로 포함할 수 있다. 벡터는 염색체외에서 벡터를 유지하고 세포에서 벡터의 다중 카피를 생성하기 위해 포유동물 복제 기점을 포함할 수 있다. 벡터는 Invitrogen (San Diego, CA)의 pVAX1, pCEP4 또는 pREP4일 수 있으며, 이는 Epstein Barr 바이러스 복제 기점

및 핵 항원 EBNA-1 코딩 영역을 포함할 수 있으며, 이는 통합 없이 높은 복제 수의 에피솜 복제를 생성할 수 있다. 벡터는 pVAX1 또는 본원에 기재된 변이체 플라스미드와 같은 변화를 갖는 pVAX1 변이체일 수 있다. 변형 pVax1 플라스미드는 백본 벡터 플라스미드 pVAX1 (Invitrogen, Carlsbad CA)의 2998 염기쌍 변형이다. CMV 프로모터는 염기 137-724에 위치한다. T7 프로모터/프라이밍 부위는 염기 664-683에 있다. 여러 복제 부위는 기지 696-811에 있다. 소 GH 폴리아데닐화 신호는 염기 829-1053에 있다. 카나마이신 내성 유전자는 염기 1226-2020에 있다. pUC 기점은 염기 2320-2993에 있다.

- [0106] Invitrogen으로부터 입수가 가능한 pVAX1의 서열에 기초하여, pVAX1의 서열에서 다음의 돌연변이가 발견되었다:
- [0107] CMV 프로모터의 C>G241
- [0108] C>T 1942 백본, 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 신호(bGH폴리A)의 다운스트림
- [0109] A> - 2876 백본, 카나마이신 유전자 다운스트림
- [0110] pUC 복제 기점 (Ori) 고카피수 돌연변이에서 C>T 3277 (Nucleic Acid Research 1985 참조)
- [0111] RNaseH 사이트의 pUC 복제 기점 업스트림 맨 끝에서 G>C 3753
- [0112] 염기쌍 2, 3 및 4는 CMV 프로모터의 업스트림인 백본에서 ACT에서 CTG로 변경된다.
- [0113] 벡터의 백본은 pAV0242일 수 있다. 벡터는 복제 결함 아데노바이러스 5형 (Ad5) 벡터일 수 있다.
- [0114] 벡터는 또한 벡터가 투여되는 포유동물 또는 인간 세포에서 유전자 발현에 매우 적합할 수 있는 조절 서열을 포함할 수 있다. 본원에 개시된 항원 서열은 숙주 세포에서 코딩 서열의 보다 효율적인 전사를 허용할 수 있는 코돈을 포함할 수 있다.
- [0115] 벡터는 대장균 (E. coli)에서 단백질 생산에 사용될 수 있는 pSE420 (Invitrogen, San Diego, CA)일 수 있다. 벡터는 또한 효모의 사카로마이세스 세레비지에 균주에서 단백질 생산에 사용될 수 있는 pYES2 (Invitrogen, San Diego, CA)일 수 있다. 벡터는 곤충 세포에서 단백질 생산에 사용될 수 있는 MAXBAC™ 완전 배큘로바이러스 발현 시스템 (Invitrogen, San Diego, CA)일 수도 있다. 벡터는 또한 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 세포와 같은 포유동물 세포에서 단백질 생산에 사용될 수 있는 pcDNA I 또는 pcDNA3 (Invitrogen, San Diego, CA)일 수 있다. 벡터는 Sambrook 등, Molecular Cloning and Laboratory Manual, Second Ed., Cold Spring Harbor (1989)를 포함하는 통상적인 기술 및 용이하게 입수가 가능한 출발 물질에 의해 단백질을 생산하기 위한 발현 벡터 또는 시스템일 수 있으며, 이는 참조에 의해 본원에 완전히 포함된다.
- [0116] 예시적인 DNA 플라스미드는 서열번호 3을 포함한다.
- [0117] 본 발명의 면역원성 조성물은 본 발명의 HPV 항원, 본 발명의 HPV 항원을 암호화하는 뉴클레오티드 서열, 본 발명의 HPV 항원을 암호화하고/하거나 본 발명의 HPV 항원을 포함하는 약독화 생균을 포함하는 제조합 백신; 본 발명의 HPV 항원을 포함하는 사멸된 병원체; 또는 본 발명의 HPV 항원을 포함하는 리포솜 또는 서브유닛 백신과 같은 조성물을 포함할 수 있다. 본 발명은 추가로 개시된 면역원성 조성물을 포함하는 약제학적 조성물, 예를 들어 주사 가능한 약제학적 조성물에 관한 것이지만 이에 제한되지 않는다.
- [0118] 본 발명의 면역원성 조성물은 적합한 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제, 및 적합한 전달(transfer), 전달(delivery), 내성 등을 제공하는 기타 작용제와 함께 제형화될 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 부형제는 비히클, 담체, 또는 희석제와 같은 기능성 분자일 수 있다.
- [0119] 약제학적으로 허용가능한 부형제는 면역 자극 복합체 (ISCOMS)와 같은 표면 활성제, 프로인트 불완전 보조제, 모노포스포릴 지질 A를 포함하는 LPS 유사체, 무라밀 펩티드, 퀴논 유사체, 스쿠알렌 및 스쿠알렌과 같은 소포체, 히알루론산, 지질, 리포솜, 칼슘 이온, 바이러스 단백질, 다중음이온, 다중양이온 또는 나노입자, 또는 기타 공지된 형질감염 촉진제를 포함할 수 있는 형질감염 촉진제일 수 있다.
- [0120] 약제학적으로 허용가능한 부형제는 보조제일 수 있다. 일부 측면에서 보조제와 함께 본 발명의 HPV 항원을 포함하는 조성물 및 백신이 제공된다. 보조제는 대체 플라스미드에서 발현되거나 본 발명의 HPV 항원과 함께 단백질로 전달되는 다른 유전자일 수 있다. 보조제는 α -인터페론 (IFN- α), β -인터페론 (IFN- β), γ -인터페론, 혈소판 유래 성장 인자(PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, 표피 성장 인자 (EGF), 피부 T 세포 유인 케모카인 (CTACK), 상피 흥선 발현 케모카인 (TECK), 점막 관련 상피 케모카인 (MEC), IL-12, IL-15, MHC, CD80, 신호 서열이 결실된 IL-15를 포함하고 선택적으로 IgE로부터의 신호 펩티드를 포함하는 CD86으로 이루어진 군에서 선

택될 수 있다. 보조제는 IL-12, IL-15, IL-28, CTACK, TECK, 혈소판 유래 성장 인자 (PDGF), $TNF\ \alpha$, $TNF\ \beta$, GM-CSF, 표피 성장 인자 (EGF), IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0121] 보조제로서 유용할 수 있는 다른 유전자는 MCP-1, MIP-1a, MIP-1p, IL-8, RANTES, L-셀렉틴, P-셀렉틴, E-셀렉틴, CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1, LFA-1, VLA-1, Mac-1, p150.95, PECAM, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, CD2, LFA-3, M-CSF, G-CSF, IL-4, IL-18의 돌연변이 형태, CD40, CD40L, 혈관성장인자, 섬유아세포성장인자, IL-7, IL-22, 신경 성장 인자, 혈관 내피 성장 인자, Fas, TNF 수용체, Flt, Apo-1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, Apo-3, AIR, LARD, NGRF, DR4, DR5, 킬러, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, 카스파제 ICE, Fos, c-jun, Sp-1, Ap-1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, Ikb, 비활성 NIK, SAP K, SAP-1, JNK, 인터페론 반응 유전자, NFkB, Bax, TRAIL, TRAILrec, TRAILrecDRC5, TRAIL-R3, TRAIL-R4, 순위, 순위 리간드, OX40, OX40 리간드, NKG2D, MICA, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, TAP1, TAP2 및 이들의 기능적 단편을 암호화하는 유전자를 포함한다.

[0122] 특정 구체예에서, 보조제는 인터루킨-12 (IL12)이다. IL12는 p35 및 p40 서브유닛의 형태로 백신에 포함될 수 있다. 보조제 IL-12는 p35 및 p40 서브유닛으로서 대상체에게 투여될 수 있다. IL12 p35 및 p40 서브유닛은 동일한 발현 벡터 또는 별도의 발현 벡터에 의해 암호화될 수 있다. IL12를 암호화하는 핵산 분자는 HPV11 항원에 융합된 HPV6 항원을 암호화하는 핵산 분자와 동일하거나 상이할 수 있다. 일부 측면에서, IL12를 암호화하는 핵산 분자는 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. IL12의 p35 서브유닛을 암호화하는 핵산 분자는 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상동성인 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편; 또는 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상동성인 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. IL12의 p40 서브유닛을 암호화하는 핵산 분자는 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상동성인 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편; 또는 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 단편과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. IL12의 p35 서브유닛을 암호화하는 핵산 분자는 서열번호 5의 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 5의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 5의 뉴클레오타이드 서열의 단편; 또는 서열번호 5의 뉴클레오타이드 서열의 단편과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. IL12의 p40 서브유닛을 암호화하는 핵산 분자는 서열번호 7의 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 7의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; 서열번호 7의 뉴클레오타이드 서열의 단편; 또는 서열번호 7의 뉴클레오타이드 서열의 단편과 적어도 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0123] 기재된 면역원성 조성물의 일부 구체예에서, 조성물은 pGX3024 및 pGX6010을 포함한다. 일부 구체예에서, 조성물은 INO-3107이다.

[0124] 본원에서 사용되는 "완충제"는 산-염기 공액 성분의 작용에 의해 pH 변화에 저항하는 완충 용액을 의미한다. 완충제는 일반적으로 약 4.0 내지 약 8.0, 예를 들어 약 5.0 내지 약 7.0의 pH를 갖는다. 일부 구체예에서, 완충제는 식염수-시트르산나트륨 (SSC) 완충제다. 면역원성 조성물이 상기 기재된 바와 같은 HPV 항원을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 벡터를 포함하는 일부 구체예에서, 면역원성 조성물은 완충제, 예를 들어 SSC 완충제에 6 mg/ml의 벡터를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구체예에서, 면역원성 조성물은 완충제 중에 6 mg/mL의 DNA 플라스미드 pGX3024를 포함한다. 면역원성 조성물이 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 별개의 벡터를 추가로 포함하는 일부 구체예에서, 면역원성 조성물은 0.25 mg/ml의 완충제에 있는 별개의 벡터를 포함한다. 일부 구체예에서, 면역원성 조성물은 HPV 항원을 코딩하는 핵산 분자 (예를 들어, pGX3024)를 포함하는 벡터에 더하여 완충제에 0.25 mg/mL의 DNA 플라스미드 pGX6010을 포함한다.

[0125] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 사용되는 투여 방식에 따라 제형화된다. 약제학적 조성물이 주사 가능한 약제학적 조성물인 경우, 이들은 무균이고 발열원이 없고 미립자가 없다. 등장성 제형이 바람직하게 사용된다. 일반적으로, 등장성을 위한 첨가제는 염화나트륨, 텍스트로스, 만니톨, 소르비톨 및 락토스를 포함할 수 있다. 경우에 따라 인산염 완충 식염수와 같은 등장액이 선호된다. 안정제는 젤라틴과 알부민을 포함한다. 일부 구체예

에서, 혈관수축제는 제형에 첨가된다.

- [0126] 또한 본 발명의 백신을 대상체에게 투여함으로써 이를 필요로 하는 대상체의 질병을 치료, 보호 및/또는 예방하는 방법이 본원에 제공된다. 대상체에게 백신을 투여하면 대상체에서 면역 반응을 유도하거나 유도할 수 있다. 대상체에게 유효량의 본 발명의 HPV 항원을 투여하여 면역 반응을 유도하는 것을 포함하는 대상체에서 면역 반응을 유도하는 방법이 제공된다.
- [0127] 대상체에게 유효량의 본 발명의 HPV 항원을 투여하여 HPV6, HPV11, 또는 둘 모두에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 포함하는, HPV6, HPV11, 또는 둘 모두에 대해 대상체를 예방적 또는 치료적으로 면역화하는 방법이 추가로 제공된다. 또한 대상체에게 유효량의 본 발명의 HPV 항원을 투여함으로써 RRP를 치료 또는 예방하는 것을 포함하는, 대상체에서 재발성 호흡기 유두종증 (RRP)을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다.
- [0128] 유도된 면역 반응은 질병, 예를 들어 HPV 감염과 관련된 병리를 치료, 예방, 및/또는 보호하는 데 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 대상체에게 본 발명의 HPV 항원을 투여함으로써 이를 필요로 하는 대상체에서 RRP를 치료, 보호, 및/또는 예방하는 방법이 제공된다. 유도된 면역 반응은 하나 이상의 HPV 균주에 대한 백신 저항성을 투여받은 대상체를 제공한다. 유도된 면역 반응은 유도된 체액성 면역 반응 및/또는 유도된 세포성 면역 반응을 포함할 수 있다.
- [0129] 대상체는 인간, 말, 소, 돼지, 양, 고양이, 개, 토끼, 기니 피그, 래트, 또는 마우스와 같은 포유동물일 수 있다.
- [0130] 백신 투여량은 주사당 총 플라스미드 1 µg 내지 10 mg, 바람직하게는 주사당 총 플라스미드 6.25 mg일 수 있다. 백신은 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 14일, 15일, 16일, 17일, 18일, 19일, 20일, 21일, 22일, 23일, 24일, 25일, 26일, 27일, 28일, 29일, 30일, 또는 31일마다 투여할 수 있다. 효과적인 치료를 위한 백신 투여 횟수는 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 또는 10회가 될 수 있다.
- [0131] 백신은 예방적으로 또는 치료적으로 투여될 수 있다. 예방적 투여에서, 백신은 면역 반응을 유도하기에 충분한 양으로 투여될 수 있다. 치료 적용에서, 백신은 치료 효과를 이끌어내기 위해 충분한 양으로 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 이를 달성하기에 충분한 양을 "치료적 유효 용량"으로 정의한다. 이러한 사용에 효과적인 양은 예를 들어 투여되는 백신 요법의 특정 구성, 투여 방식, 질병의 단계 및 중증도, 환자의 일반적인 건강 상태 및 처방 내과 의사의 판단에 따라 달라질 것이다.
- [0132] 백신은 Donnelly 등 (Ann. Rev. Immunol. 15:617-648 (1997)); Felgner 등 (미국 특허 번호 5,580,859, 1996년 12월 3일 발행); Felgner (미국 특허 번호 5,703,055, 1997년 12월 30일 발행); 및 Carson 등 (미국 특허 번호 5,679,647, 1997년 10월 21일 발행)에 기재된 바와 같이 당업계에 잘 알려진 방법에 의해 투여될 수 있으며, 이들 모두의 내용은 전문이 본원에 참고로 포함된다. 백신의 DNA는 예를 들어 백신 건을 사용하여 개체에게 투여될 수 있는 입자 또는 비드와 복합화될 수 있다. 당업자는 생리학적으로 허용가능한 화합물을 포함하는 약제학적으로 허용가능한 담체의 선택이 예를 들어 발현 벡터의 투여 경로에 따라 달라진다는 것을 알 것이다.
- [0133] 기재된 방법의 일부 구체예에서, 대상체에게 pGX3024 및 pGX6010을 투여한다. 일부 구체예에서, pGX3024 및 pGX6010은 대상에게 INO-3107로서 투여된다. 일부 구체예에서, pGX3024 및 pGX6010은 150 mM 염화나트륨 및 15mM 시트르산나트륨, pH 7 중 6.25mg 총 플라스미드/mL (6 mg/mL pGX3024, 0.25 mg/mL pGX6010)를 함유하는 INO-3107 약물 제품으로서 대상체에게 투여된다.
- [0134] 백신은 다양한 경로를 통해 전달될 수 있다. 전형적인 전달 경로는 비경구 투여, 예를 들어 피내, 근육내 또는 피하 전달을 포함한다. 다른 경로에는 경구 투여, 비강내 및 질내 경로가 포함된다. 특히 백신의 DNA의 경우, 백신은 개체의 조직 간질 공간으로 전달될 수 있다 (Felgner 등, 미국 특허 번호 5,580,859 및 5,703,055, 이들 모두의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨). 백신은 또한 근육에 투여될 수 있거나, 피내 또는 피하 주사를 통해, 또는 이온 영동과 같은 경피 투여될 수 있다. 백신의 표피 투여도 사용될 수 있다. 표피 투여는 자극제에 대한 면역 반응을 자극하기 위해 표피의 최외층을 기계적으로 또는 화학적으로 자극하는 것을 포함할 수 있다 (Carson 등, 미국 특허 번호 5,679,647, 이의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함됨).
- [0135] 일부 구체예에 따르면, 백신은 개체의 면역 시스템의 활성을 조절하기 위해 개체에게 전달되며, 이로써 RRP를 치료하기 위해 HPV에 대한 면역 반응을 향상시킨다. 본 발명의 HPV 항원을 암호화하는 핵산 분자가 개체의 세포에 흡수되면, 뉴클레오타이드 서열이 세포에서 발현되고 그에 따라 단백질이 개체에게 전달된다. 재조합 백신의 일부로서 그리고 약독화된 백신의 일부로서 벡터의 단리된 단백질 또는 단백질 일부로서 플라스미드와 같은 핵

산 분자 상에 단백질의 코딩 서열을 전달하는 방법이 제공된다.

- [0136] 방법은 대상체에게 본 발명의 HPV 항원을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 측면에서, 방법은 제공된 핵산 분자를 도입한 후 전기천공하는 단계를 포함한다.
- [0137] 개시된 방법은 단일 플라스미드와 같은 단일 핵산 분자의 복수 카피, 또는 둘 이상의 상이한 플라스미드와 같은 둘 이상의 상이한 핵산 분자의 복수 카피의 투여를 포함할 수 있다. 예를 들어, 방법은 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개 이상의 상이한 핵산 분자의 투여를 포함할 수 있다.
- [0138] 특정 구체예에서, 면역 반응을 유도하는 개시된 방법 또는 RRP를 예방하거나 치료하는 방법은 대상체에게 보조제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 특정 구체예에서, 보조제는 IL12이다. IL12는 p35 및 p40 서브유닛의 형태로 백신에 포함될 수 있다. 보조제 IL-12는 p35 및 p40 서브유닛으로서 대상체에게 투여될 수 있다. IL12 p35 및 p40 서브유닛은 동일한 발현 벡터 또는 별도의 발현 벡터에 의해 암호화될 수 있다. 일 구체예에서, IL12 p35 암호화 서열은 서열번호 5에 제시된 바와 같다. 일 구체예에서, IL12 p35 서브유닛은 서열번호 6에 기재된 아미노산 서열을 갖는다. 일 구체예에서, IL12 p40 암호화 서열은 서열번호 7에 제시된 바와 같다. 일 구체예에서, IL12 p40 서브유닛은 서열번호 8에 기재된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구체예에서, 발현 벡터는 pGX6012 또는 pGX6010이다. 특정 구체예에서, 방법은 임상적으로 입증된 안전성, 임상적으로 입증된 효과적이거나 둘 모두이다.
- [0139] 일부 구체예에서, 방법은 (a) 본원에 개시된 바와 같은 HPV 항원을 포함하는 면역원성 조성물 및 (b) 본원에 개시된 하나 이상의 IL-12 서브유닛 (예를 들어, p35 및/또는 p40)을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 조성물의 동시 투여를 포함한다. 일부 구체예에서, 방법은 여기서 개시된 HPV 항원을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 조성물의 사전 투여 후에 본원에 개시된 하나 이상의 IL-12 서브유닛 (예를 들어, p35 및/또는 p40)을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 방법은 여기서 개시된 하나 이상의 IL-12 서브유닛(예를 들어, p35 및/또는 p40)을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 조성물의 사전 투여 후에 본원에 개시된 HPV 항원을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0140] 투여 경로는 근육내, 비강내, 복강내, 피내, 피하, 정맥내, 동맥내, 안구내 및 경구뿐만 아니라 국소적으로, 경피적으로, 흡입 또는 좌약에 의해 또는 질, 직장, 요도, 협측 및 설하 조직 세척과 같은 점막 조직을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 바람직한 투여 경로는 근육내, 복강내, 피내 및 피하 주사를 포함한다. 유전적 구조물은 전기천공 방법 및 장치, 전통적인 주사기, 무바늘 주사 장치 또는 "미세입자 투사법 곤 건"을 포함하나 이에 제한되지 않는 수단에 의해 투여될 수 있다.
- [0141] 백신은 그 내용이 본원에 참조로 포함된 미국 특허 번호 7,664,545에 기재된 방법과 같은 전기천공법을 통해 투여될 수 있다. 전기천공은 미국 특허 번호 6,302,874; 5,676,646; 6,241,701; 6,233,482; 6,216,034; 6,208,893; 6,192,270; 6,181,964; 6,150,148; 6,120,493; 6,096,020; 6,068,650; 및 5,702,359에 기재된 방법 및/또는 장치에 의할 수 있으며, 그 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 전기천공법은 최소 침습 장치를 통해 수행될 수 있다.
- [0142] 최소 침습 전기천공 장치 ("MID")는 전술한 백신 및 관련 유체를 신체 조직에 주사하기 위한 장치일 수 있다. 장치는 속이 빈 바늘, DNA 카세트 및 유체 전달 수단을 포함할 수 있으며, 여기서 장치는 신체 조직에 바늘을 삽입하는 동안 신체 조직에 DNA를 동시에 (예를 들어 자동으로) 주사하기 위해 사용 중인 유체 전달 수단을 작동시키도록 구성된다. 이것은 바늘이 삽입되는 동안 DNA 및 관련 체액을 점진적으로 주사하는 능력이 신체 조직을 통해 체액의 보다 균일한 분포를 유도한다는 이점이 있다. 보다 넓은 부위에 주사되는 DNA의 분포로 인해 주사 시 경험하는 통증이 감소될 수 있다.
- [0143] MID는 바늘을 사용하지 않고 조직에 백신을 주사할 수 있다. MID는 백신이 조직의 표면을 뚫고 밑에 있는 조직 및/또는 근육으로 들어가는 힘으로 백신을 작은 흐름 또는 제트로 주사할 수 있다. 작은 스트림 또는 제트 뒤에 있는 힘은 초 단위로 마이크로 오리피스스를 통해 이산화탄소와 같은 압축 가스의 팽창에 의해 제공될 수 있다. 최소 침습 전기천공 장치의 예 및 이를 사용하는 방법은 공개된 미국 특허 출원 번호 20080234655; 미국 특허 번호 6,520,950; 7,171,264; 6,208,893; 6,009,347; 6,120,493; 7,245,963; 7,328,064; 및 6,763,264에 설명되어 있으며, 각각의 내용은 참조로 여기에 포함된다.
- [0144] MID는 고통 없이 조직을 관통하는 액체의 고속 제트를 생성하는 주사기를 포함할 수 있다. 이러한 무바늘 주사기는 시중에서 구입할 수 있다. 본원에서 이용될 수 있는 무바늘 주사기의 예는 미국 특허 번호 3,805,783; 4,447,223; 5,505,697; 및 4,342,310에 기재된 것을 포함하며, 이들 각각의 내용은 본원에 참조로 포함된다.

- [0145] 직접적 또는 간접적 전기수송에 적합한 형태의 원하는 백신은 일반적으로 백신을 조직으로 침투시키기에 충분한 힘으로 작용제 제트의 전달을 작동시키기 위해 조직 표면을 주사기와 접촉시킴으로써 무바늘 주사기를 사용하여 치료할 조직에 도입 (예를 들어, 주사)될 수 있다. 예를 들어, 치료할 조직이 점막, 피부 또는 근육인 경우, 작용제가 각질층을 통해 진피층으로 또는 밑에 있는 조직 및 근육 각각으로 침투하도록 작용제가 충분한 힘으로 점막 또는 피부 표면을 향해 투사된다.
- [0146] 무바늘 주사기는 모든 유형의 조직, 특히 피부와 점막에 백신을 전달하는 데 매우 적합하다. 일부 구체예에서, 무바늘 주사기는 백신을 포함하는 액체를 표면으로 그리고 대상체의 피부 또는 점막으로 추진하는 데 사용될 수 있다. 본 발명의 방법을 사용하여 치료될 수 있는 다양한 유형의 조직의 대표적인 예는 췌장, 후두, 비인두, 하인두, 구인두, 입술, 인후, 폐, 심장, 신장, 근육, 유방, 결장, 전립선, 흉선, 고환, 피부, 점막 조직, 난소, 혈관, 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0147] MID는 조직을 전기천공하는 바늘 전극을 가질 수 있다. 예를 들어 직사각형 또는 정사각형 패턴으로 설정된 다중 전극 어레이에서 여러 쌍의 전극 사이에 펄싱함으로써 한 쌍의 전극 사이에 펄싱하는 것보다 개선된 결과를 제공한다. 예를 들어, "Needle Electrodes for Mediated Delivery of Drugs and Genes"라는 제목의 미국 특허 번호 5,702,359는 치료 치료 동안 복수 쌍의 바늘이 펄싱될 수 있는 바늘 어레이이다. 완전히 설명된 것처럼 본원에 참조로 포함되는 그 출원에서, 바늘은 원형 배열로 배치되었지만 대향 쌍의 바늘 전극 사이에서 펄싱을 가능하게 하는 커넥터 및 스위칭 장치를 갖는다. 재조합 발현 벡터를 세포에 전달하기 위한 한 쌍의 바늘 전극이 사용될 수 있다. 이러한 장치 및 시스템은 미국 특허 번호 6,763,264에 기술되어 있으며, 그 내용은 본원에 참조로 포함된다. 대안적으로, 일반적인 주사 바늘과 유사한 단일 바늘로 DNA의 주사 및 전기천공을 가능하게 하고 현재 사용되는 장치에 의해 전달되는 것보다 낮은 전압의 펄스를 인가하여 환자가 경험하는 전기 감각을 감소시키는 단일 바늘 장치를 사용할 수 있다.
- [0148] MID는 하나 이상의 전극 어레이를 포함할 수 있다. 어레이는 동일한 직경 또는 상이한 직경의 2개 이상의 바늘을 포함할 수 있다. 바늘은 고르게 또는 고르지 않게 떨어져 있을 수 있다. 바늘은 0.005 인치 내지 0.03 인치, 0.01 인치 내지 0.025 인치; 또는 0.015 인치 내지 0.020 인치일 수 있다. 바늘의 직경은 0.0175 인치일 수 있다. 바늘은 0.5 mm, 1.0 mm, 1.5 mm, 2.0 mm, 2.5 mm, 3.0 mm, 3.5 mm, 4.0 mm, 또는 그 이상 떨어져 있을 수 있다.
- [0149] MID는 단일 단계에서 백신 및 전기천공 펄스를 전달하는 펄스 생성기 및 2개 이상의 바늘 백신 주사기로 이루어질 수 있다. 펄스 발생기는 플래시 카드 작동 개인용 컴퓨터를 통한 펄스 및 주사 매개변수의 유연한 프로그래밍뿐만 아니라 전기천공 및 환자 데이터의 포괄적인 기록 및 저장을 허용할 수 있다. 펄스 발생기는 짧은 시간 동안 다양한 볼트 펄스를 전달할 수 있다. 예를 들어, 펄스 발생기는 지속 시간이 100 ms인 3개의 15 볼트 펄스를 전달할 수 있다. 이러한 MID의 예는 미국 특허 번호 7,328,064에 기재된 Inovio Biomedical Corporation의 Elgen 1000 시스템이며, 그 내용은 본원에 참고로 포함된다.
- [0150] MID는 CELLECTRA® (Inovio Pharmaceuticals, Blue Bell Pa.) 장치 및 시스템일 수 있으며, DNA와 같은 거대분자를 신체 또는 식물의 선택된 조직의 세포로 도입하는 것을 용이하게 하는 모듈형 전극 시스템이다. 모듈형 전극 시스템은 다수의 바늘 전극; 피하 바늘; 프로그래밍 가능한 정전류 펄스 제어기로부터 복수의 바늘 전극으로 전도성 링크를 제공하는 전기 커넥터; 및 전원을 포함할 수 있다. 시술자는 지지 구조물에 장착된 다수의 바늘 전극을 잡고 신체 또는 식물의 선택된 조직에 단단히 삽입할 수 있다. 그런 다음 거대분자는 피하 바늘을 통해 선택된 조직으로 전달된다. 프로그래밍 가능한 정전류 펄스 컨트롤러가 활성화되고 정전류 전기 펄스가 복수의 바늘 전극에 인가된다. 인가된 정전류 전기 펄스는 복수의 전극 사이의 세포 내로 거대분자의 도입을 용이하게 한다. 세포의 과열로 인한 세포 사멸은 정전류 펄스로 인해 조직의 전력 소실을 제한함으로써 최소화된다. CELLECTRA 장치 및 시스템은 미국 특허 번호 7,245,963에 기술되어 있으며, 그 내용은 여기에 참조로 포함된다. CELLECTRA® 장치는 CELLECTRA 2000® 장치 또는 CELLECTRA® 3PSP 장치일 수 있다. CELLECTRA® 2000 장치는 ID (피내) 또는 IM (근육내) 투여를 지원하도록 제조업체에서 구성한다. CELLECTRA™ 2000에는 CELLECTRA™ 펄스 발생기, 적절한 어플리케이션, 일회용 멸균 어레이 및 일회용 시스템 (ID 전용)이 포함되어 있다. DNA 플라스미드는 전기 천공 처리 직전에 전극으로 표시된 영역에서 바늘과 주사기 주사를 통해 별도로 전달된다.
- [0151] MID는 Elgen 1000 시스템 (Inovio Pharmaceuticals)일 수 있다. Elgen 1000 시스템은 속이 빈 바늘; 및 상기 장치는 신체 조직에 바늘을 삽입하는 동안 신체 조직에 본원에 기재된 백신인 유체를 동시에 (예를 들어, 자동으로) 주사하기 위해 사용 중인 유체 전달 수단을 작동시키도록 구성되는 유체 전달 수단을 제공하는 장치를 포함할 수 있다. 이점은 바늘이 삽입되는 동안 유체를 점진적으로 주사할 수 있는 능력으로 신체 조직을 통해 유

체가 더 고르게 분포되도록 한다. 또한 더 넓은 영역에 걸쳐 주사되는 유체의 부피 분포로 인해 주사 중에 경험하는 통증이 감소되는 것으로 여겨진다.

- [0152] 또한, 유체의 자동 주사는 주사된 유체의 실제 투여량의 자동 모니터링 및 등록을 용이하게 한다. 이 데이터는 원하는 경우 문서화 목적으로 제어 장치에서 저장할 수 있다.
- [0153] 주사 속도는 선형 또는 비선형일 수 있으며 주사는 바늘이 치료 대상체의 피부를 통해 삽입된 후에 수행될 수 있으며 바늘이 신체 조직에 더 삽입되는 동안 수행될 수 있음을 알 수 있다. 본 발명의 장치에 의해 유체가 주사될 수 있는 적합한 조직은 종양 조직, 피부, 또는 근육 조직을 포함한다.
- [0154] 장치는 신체 조직으로 바늘의 삽입을 안내하기 위한 바늘 삽입 수단을 더 포함한다. 유체 주사 속도는 바늘 삽입 속도에 의해 제어된다. 이것은 삽입 속도가 원하는 대로 주사 속도와 일치될 수 있도록 바늘 삽입 및 유체 주사가 모두 제어될 수 있다는 장점이 있다. 또한 사용자가 장치를 더 쉽게 조작할 수 있다. 원하는 경우 바늘을 신체 조직에 자동으로 삽입하는 수단이 제공될 수 있다.
- [0155] 사용자는 유체 주사를 시작할 시기를 선택할 수 있다. 그러나 이상적으로는 바늘 끝이 근육 조직에 도달했을 때 주사가 시작되고 장치는 바늘이 유체 주사가 시작되기에 충분한 깊이로 삽입되었을 때를 감지하는 수단을 포함할 수 있다. 즉, 바늘이 원하는 깊이 (보통 근육 조직이 시작되는 깊이)에 도달하면 유체 주사가 자동으로 시작되도록 프로그래밍될 수 있다. 근육 조직이 시작되는 깊이는 예를 들어 바늘이 피부층을 통과하기에 충분한 것으로 간주되는 4 mm의 값과 같은 미리 설정된 바늘 삽입 깊이로 취해질 수 있다.
- [0156] 감지 수단은 초음파 프로브를 포함할 수 있다. 감지 수단은 임피던스 또는 저항의 변화를 감지하기 위한 수단을 포함할 수 있다. 이 경우, 그 수단은 신체 조직에서 바늘의 깊이를 기록하지 않을 수 있지만 바늘이 다른 유형의 신체 조직에서 근육으로 이동할 때 임피던스 또는 저항의 변화를 감지하도록 적응될 것이다. 이러한 대안 중 하나는 주사가 시작될 수 있음을 감지하는 비교적 정확하고 간단한 작동 수단을 제공한다. 바늘의 삽입 깊이는 원하는 경우 추가로 기록될 수 있으며 주사되는 유체의 부피가 바늘 삽입 깊이가 기록됨에 따라 결정되도록 유체의 주사를 제어하는 데 사용될 수 있다.
- [0157] 장치는 바늘을 지지하기 위한 베이스; 및 내부에 베이스를 수용하는 하우징을 더 포함할 수 있고, 상기 베이스는 하우징에 대해 제1 후방 위치에 있을 때 바늘이 하우징 내에서 후퇴하고 베이스가 하우징 내에서 제2 전방 위치에 있을 때 바늘이 하우징 밖으로 연장되도록 하우징에 대해 이동 가능하다. 이것은 하우징이 환자의 피부에 정렬될 수 있고 바늘이 베이스에 대해 하우징을 이동함으로써 환자의 피부에 삽입될 수 있기 때문에 사용자에게 유리하다.
- [0158] 전술한 바와 같이, 바늘이 피부에 삽입될 때 바늘의 길이에 걸쳐 유체가 고르게 분포되도록 제어된 유체 주사 속도를 달성하는 것이 바람직하다. 유체 전달 수단은 제어된 속도로 유체를 주사하도록 적응된 피스톤 구동 수단을 포함할 수 있다. 피스톤 구동 수단은 예를 들어 서보 모터에 의해 활성화될 수 있다. 그러나, 피스톤 구동 수단은 하우징에 대해 축 방향으로 이동되는 베이스에 의해 작동될 수 있다. 유체 전달을 위한 대안적인 수단이 제공될 수 있음을 이해할 것이다. 따라서, 예를 들어 제어된 또는 제어되지 않은 속도로 유체 전달을 위해 압착할 수 있는 밀폐 용기가 주사기 및 피스톤 시스템 대신에 제공될 수 있다.
- [0159] 전술한 장치는 임의의 유형의 주사에 사용될 수 있다. 그러나 이것은 전기천공 분야에서 특히 유용한 것으로 생각되며 바늘에 전압을 인가하기 위한 수단을 추가로 포함할 수 있다. 이것은 바늘이 주사뿐만 아니라 전기 천공 동안 전극으로도 사용될 수 있게 한다. 이는 주사된 유체와 동일한 영역에 전기장이 인가된다는 점에서 특히 유리하다. 전기천공법에는 전통적으로 이전에 주사된 유체와 전극을 정확하게 정렬하는 것이 매우 어렵다는 점과 그래서 사용자들은 필요한 것보다 더 넓은 면적에 더 많은 양의 유체를 주사하고 주사된 물질과 전기장의 중첩을 보장하기 위해 더 높은 면적에 전기장을 인가하는 경향이 있다는 문제가 있었다. 본 발명을 사용하면, 전기장과 유체 사이에 양호한 적합성을 달성하면서 주사되는 유체의 부피와 인가되는 전기장의 크기가 모두 감소될 수 있다.
- [0160] 추가로 본원에는 상기 기재된 백신접종 방법을 사용하여 대상체를 치료하는데 사용될 수 있는 키트가 제공된다. 키트는 백신을 포함할 수 있다. 키트는 또한 상기 기재된 백신접종 방법을 수행하기 위한 지침서 및/또는 키트를 사용하는 방법을 포함할 수 있다. 키트에 포함된 지침서는 포장재에 부착하거나 패키지 삽입물로 포함될 수 있다. 지침서는 일반적으로 서면 또는 인쇄된 자료이지만 이에 제한되지 않는다. 지침서를 저장하고 이를 최종 사용자에게 전달할 수 있는 임의의 매체가 본 개시에 의해 고려된다. 이러한 매체는 전자 저장 매체 (예를 들어, 자기 디스크, 테이프, 카트리지), 광학 매체 (예를 들어, CD ROM) 등을 포함하지만 이에 제한되지

않는다. 여기에서 사용된 "지침서"라는 용어는 지침서를 제공하는 인터넷 사이트의 주소를 포함할 수 있다.

- [0161] 예시적인 구체예
- [0162] 구체예 1. 인간 유두종 바이러스 (HPV) 항원을 암호화하는 핵산 분자로서, HPV 항원은 HPV6 항원 도메인 및 HPV11 항원 도메인을 포함하는 핵산 분자.
- [0163] 구체예 2. 구체예 1에 있어서, 상기 HPV6 항원 도메인은 HPV6 E6-E7 융합 항원인 핵산 분자.
- [0164] 구체예 3. 구체예 1 또는 2에 있어서, 상기 HPV11 항원성 도메인은 HPV11 E6-E7 융합 항원인 핵산 분자.
- [0165] 구체예 4. 임의의 선행하는 구체예에 있어서, 상기 HPV 항원은:
- [0166] 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열; 또는
- [0167] 서열번호 1 또는 서열번호 11과 적어도 95% 상동성인 아미노산 서열을 포함하는 것인 핵산 분자.
- [0168] 구체예 5. 임의의 선행하는 구체예에 있어서:
- [0169] 서열번호 2 또는 서열번호 12와 적어도 95% 상동성인 뉴클레오티드 서열;
- [0170] 서열번호 2의 뉴클레오티드 서열; 또는
- [0171] 서열번호 12의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인 핵산 분자.
- [0172] 구체예 6. 임의의 선행하는 구체예에 있어서, 상기 HPV11 항원성 도메인을 암호화하는 핵산 서열은 HPV6 항원성 도메인을 암호화하는 핵산 서열의 5'에 위치하는 것인 핵산 분자.
- [0173] 구체예 7. 임의의 선행하는 구체예에 있어서, 상기 HPV6 항원성 도메인 및 HPV11 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인 핵산 분자.
- [0174] 구체예 8. 구체예 2에 있어서, 상기 HPV6 E6 항원성 도메인 및 HPV6 E7 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인 핵산 분자.
- [0175] 구체예 9. 구체예 3에 있어서, 상기 HPV11 E6 항원성 도메인 및 HPV11 E7 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인 핵산 분자.
- [0176] 구체예 10. 임의의 선행하는 구체예에 따른 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터.
- [0177] 구체예 11. 구체예 10에 있어서, DNA 플라스미드를 포함하는 발현 벡터.
- [0178] 구체예 12. 구체예 10에 있어서, 서열번호 3의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터.
- [0179] 구체예 13. 인간 유두종바이러스 (HPV) 6 항원성 도메인 및 HPV11 항원성 도메인을 포함하는 면역원성 단백질.
- [0180] 구체예 14. 구체예 14에 있어서, 상기 HPV6 항원성 도메인은 HPV6 E6 항원성 도메인 및 HPV6 E7 항원성 도메인을 포함하는 것인 면역원성 단백질.
- [0181] 구체예 15. 구체예 13 또는 14에 있어서, 상기 HPV11 항원성 도메인은 HPV11 E6 항원성 도메인 및 HPV11 E7 항원성 도메인을 포함하는 것인 면역원성 단백질.
- [0182] 구체예 16. 구체예 13 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열; 또는
- [0183] 서열번호 1 또는 서열번호 11의 아미노산 서열과 적어도 95% 상동성인 아미노산 서열을 포함하는 것인 면역원성 단백질.
- [0184] 구체예 17. 구체예 13 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 상기 HPV11 항원성 도메인은 HPV6 항원의 N-말단에 위치하는 것인 면역원성 단백질.
- [0185] 구체예 18. 구체예 13 내지 17 중 어느 하나에 있어서, 상기 HPV6 항원성 도메인 및 HPV11 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인 면역원성 단백질.
- [0186] 구체예 19. 구체예 14에 있어서, 상기 HPV6 E6 항원성 도메인 및 HPV6 E7 항원성 도메인은 하나 이상의 번역후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인 면역원성 단백질.

- [0187] 구체예 20. 구체예 15에 있어서, 상기 HPV11 E6 항원성 도메인 및 HPV11 E7 항원성 도메인은 하나 이상의 번역 후 절단 부위, 하나 이상의 번역 건너뛰기 부위, 또는 둘 모두에 의해 분리되는 것인 면역원성 단백질.
- [0188] 구체예 21. 구체예 1 내지 9 중 어느 하나의 핵산 분자 또는 구체예 10 내지 12 중 어느 하나의 발현 벡터 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 백신.
- [0189] 구체예 22. 구체예 1 내지 9 중 어느 하나의 핵산 분자 또는 구체예 10 내지 12 중 어느 하나의 발현 벡터 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.
- [0190] 구체예 23. 구체예 22에 있어서, 보조제를 포함하는 약제학적 조성물.
- [0191] 구체예 24. 구체예 23에 있어서, 상기 보조제는 인터루킨-12 (IL12)를 포함하는 것인 약제학적 조성물.
- [0192] 구체예 25. 구체예 24에 있어서, 상기 IL12는 핵산 분자에 의해 암호화되는 것인 약제학적 조성물.
- [0193] 구체예 26. 구체예 25에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 핵산 분자는 발현 벡터인 것인 약제학적 조성물.
- [0194] 구체예 27. 구체예 13 내지 20 중 어느 하나에 따른 면역원성 단백질을 포함하는 백신.
- [0195] 구체예 28. 구체예 13 내지 20 중 어느 하나의 면역원성 단백질 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.
- [0196] 구체예 29. 구체예 28에 있어서, 보조제를 포함하는 약제학적 조성물.
- [0197] 구체예 30. 구체예 29에 있어서, 상기 보조제는 인터루킨-12 (IL12)를 포함하는 것인 약제학적 조성물.
- [0198] 구체예 31. 구체예 23 또는 29에 있어서, 상기 보조제는 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 것인 약제학적 조성물.
- [0199] 구체예 32. 구체예 31에 있어서, 상기 IL12의 p35 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은:
- [0200] 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 또는
- [0201] 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 약제학적 조성물.
- [0202] 구체예 33. 구체예 31 또는 32에 있어서, 상기 IL12의 p40 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은:
- [0203] 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 또는
- [0204] 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 약제학적 조성물.
- [0205] 구체예 34. 구체예 31, 32 또는 33에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은:
- [0206] 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열; 또는
- [0207] 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 약제학적 조성물.
- [0208] 구체예 35. 구체예 31 내지 34 중 어느 하나에 있어서, 상기 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자는 발현 벡터인 약제학적 조성물.
- [0209] 구체예 36. 구체예 35에 있어서, 상기 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터는 HPV 항원을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터와 동일한 발현 벡터 또는 상이한 발현 벡터인 약제학적 조성물.
- [0210] 구체예 37. 구체예 22 내지 26 또는 28 내지 36 중 어느 하나에 있어서, 상기 약제학적으로 허용가능한 부형제는 완충제, 선택적으로 식염수-시트르산나트륨 완충제, 선택적으로 150 mM 염화나트륨 및 15 mM 시트르산나트륨을 포함하는 pH 7의 완충제를 포함하는 것인 약제학적 조성물.
- [0211] 구체예 38. 구체예 37에 있어서, 상기 조성물은 식염수-시트르산나트륨 완충제 완충제 밀리리터당 HPV 항원을 암호화하는 벡터 6 mg 및 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛 또는 둘 모두를 암호화하는 벡터 0.25 mg을 포함하는 것인 약제학적 조성물.

- [0212] 구체예 39. 구체예 38에 있어서, 상기 조성물은 식염수-구연산나트륨 완충제 밀리리터당 pGX3024 6 mg 및 완충제 밀리리터당 pGX6010 0.25 mg 포함하는 것인 약제학적 조성물.
- [0213] 구체예 40. 대상체에게 구체예 1 내지 9 중 어느 하나에 따른 핵산 분자, 구체예 10 내지 12 중 어느 하나에 따른 발현 벡터, 구체예 13 내지 20 중 어느 하나에 따른 면역원성 단백질, 구체예 21 또는 구체예 27에 따른 백신, 또는 구체예 22 내지 26 또는 28 내지 39 중 어느 하나에 따른 유효량의 약제학적 조성물을 투여함으로써 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하는 대상체에서 면역 반응을 유도하는 방법.
- [0214] 구체예 41. 대상체에게 구체예 1 내지 9 중 어느 하나에 따른 핵산 분자, 구체예 10 내지 12 중 어느 하나에 따른 발현 벡터, 구체예 13 내지 20 중 어느 하나에 따른 면역원성 단백질, 구체예 21 또는 구체예 27에 따른 백신, 또는 구체예 22 내지 26 또는 28 내지 39 중 어느 하나에 따른 유효량의 약제학적 조성물을 투여하여 HPV6, HPV11 또는 둘 모두에 대한 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하는 HPV6 및/또는 HPV11에 대해 대상체를 예방적 또는 치료적으로 면역화하는 방법.
- [0215] 구체예 42. 대상체에게 구체예 1 내지 9 중 어느 하나에 따른 핵산 분자, 구체예 10 내지 12 중 어느 하나에 따른 발현 벡터, 구체예 13 내지 20 중 어느 하나에 따른 면역원성 단백질, 구체예 21 또는 구체예 27에 따른 백신, 또는 구체예 22 내지 26 또는 28 내지 39 중 어느 하나에 따른 유효량의 약제학적 조성물을 투여하여 RRP를 치료 또는 예방하는 단계를 포함하는 대상체에서 재발성 호흡기 유두종증 (RRP)을 치료 또는 예방하는 방법.
- [0216] 구체예 43. 구체예 42에 있어서, 상기 RRP는 청소년-발병 RRP 또는 성인-발병 RRP인 것인 방법.
- [0217] 구체예 44. 구체예 40 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 핵산 분자는 서열번호 2, 서열번호 3, 또는 서열번호 12의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 방법.
- [0218] 구체예 45. 구체예 40 내지 44 중 어느 하나에 있어서, 보조제를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [0219] 구체예 46. 구체예 45에 있어서, 상기 보조제는 인터루킨-12 (IL12)인 방법.
- [0220] 구체예 47. 구체예 46에 있어서, 상기 IL12는 핵산 분자에 의해 암호화되는 것인 방법.
- [0221] 구체예 48. 구체예 45에 있어서, 상기 보조제는 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 것인 방법.
- [0222] 구체예 49. 구체예 48에 있어서, 상기 IL-12의 p35 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은:
- [0223] 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 또는
- [0224] 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 방법.
- [0225] 구체예 50. 구체예 48 또는 49에 있어서, 상기 IL-12의 p40 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은:
- [0226] 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 또는
- [0227] 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 방법.
- [0228] 구체예 51. 구체예 47에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 핵산 분자는
- [0229] 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열; 또는
- [0230] 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 방법.
- [0231] 구체예 52. 구체예 47에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 핵산 분자는 발현 벡터, 선택적으로 플라스미드인 것인 방법.
- [0232] 구체예 53. 구체예 52에 있어서, 상기 플라스미드는 pGX6010인 방법.
- [0233] 구체예 54. 구체예 40 내지 53 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 인간인 것인 방법.
- [0234] 구체예 55. 구체예 40 내지 54 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여하는 단계는 피내 또는 근육내 주사를 포함하

는 것인 방법.

- [0235] 구체예 56. 구체예 55에 있어서, 상기 투여는 전기천공법을 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0236] 구체예 57. 예방약 또는 약제의 제조에서 유효량의 구체예 1 내지 9 중 어느 하나에 따른 핵산 분자, 구체예 10 내지 12 중 어느 하나에 따른 발현 벡터, 또는 구체예 13 내지 20 중 어느 하나에 따른 면역원성 단백질의 용도.
- [0237] 구체예 58. 인간 유두종 바이러스 (HPV) 6 또는 HPV11 감염을 예방 또는 치료하기 위한 예방적 또는 약제의 제조에서 유효량의 구체예 1 내지 9 중 어느 하나에 따른 핵산 분자, 구체예 10 내지 12 중 어느 하나에 따른 발현 벡터, 또는 구체예 13 내지 20 중 어느 하나에 따른 면역원성 단백질의 용도.
- [0238] 구체예 59. 인간 유두종 바이러스 (HPV) 6 또는 HPV11 감염을 예방 또는 치료하기 위한 유효량의 구체예 1 내지 9 중 어느 하나에 따른 핵산 분자, 구체예 10 내지 12 중 어느 하나에 따른 발현 벡터, 구체예 13 내지 20 중 어느 하나에 따른 면역원성 단백질, 구체예 21 또는 구체예 27에 따른 백신, 또는 구체예 22 내지 26 또는 28 내지 39 중 어느 하나에 따른 약제학적 조성물의 용도.
- [0239] 구체예 60. 재발성 호흡기 유두종증 (RRP)을 예방 또는 치료하기 위한 유효량의 구체예 1 내지 9 중 어느 하나에 따른 핵산 분자, 구체예 10 내지 12 중 어느 하나에 따른 발현 벡터, 구체예 13 내지 20 중 어느 하나에 따른 면역원성 단백질, 구체예 21 또는 구체예 27 중 어느 하나에 따른 백신, 또는 구체예 22 내지 26 또는 28 내지 39 중 어느 하나에 따른 약제학적 조성물의 용도.
- [0240] 구체예 61. 구체예 60에 있어서, 상기 RRP는 청소년-발병 RRP 또는 성인-발병 RRP인 것인 용도.
- [0241] 구체예 62. 구체예 57 내지 61 중 어느 하나에 있어서, 상기 핵산 분자는 서열번호 2, 서열번호 3, 또는 서열번호 12의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 용도.
- [0242] 구체예 63. 구체예 57 내지 62 중 어느 하나에 있어서, 보조제와 조합된 것인 용도.
- [0243] 구체예 64. 구체예 63에 있어서, 상기 보조제는 인터루킨-12 (IL12)인 것인 용도.
- [0244] 구체예 65. 구체예 64에 있어서, 상기 IL12는 핵산 분자에 의해 암호화되는 것인 용도.
- [0245] 구체예 66. 구체예 65에 있어서, 상기 보조제는 IL-12의 p35 서브유닛, IL-12의 p40 서브유닛, 또는 둘 모두를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 것인 용도.
- [0246] 구체예 67. 구체예 66에 있어서, 상기 IL-12의 p35 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은:
- [0247] 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 또는
- [0248] 서열번호 6을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 용도.
- [0249] 구체예 68. 구체예 66 또는 67에 있어서, 상기 IL-12의 p40 서브유닛을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은:
- [0250] 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; 또는
- [0251] 서열번호 8을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 용도.
- [0252] 구체예 69. 구체예 65에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 핵산 분자는
- [0253] 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열; 또는
- [0254] 서열번호 4의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 상동성인 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것인 용도.
- [0255] 구체예 70. 구체예 65에 있어서, 상기 IL12를 암호화하는 핵산 분자는 발현 벡터, 선택적으로 플라스미드인 것인 용도.
- [0256] 구체예 71. 구체예 70에 있어서, 상기 플라스미드는 pGX6010인 것인 용도.
- [0257] 본 발명은 하기 구체예에서 추가로 설명된다. 이들 구체예는 본 발명의 구체예를 나타내지만 단지 예시로서 제공된 것임을 이해해야 한다. 상기 논의 및 이들 구체예로부터, 당업자는 본 발명의 본질적인 특징을 확인할 수

있고, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 본 발명을 다양한 용도 및 조건에 적응시키기 위해 본 발명의 다양한 변경 및 변형을 가할 수 있다. 따라서, 본원에 도시되고 기재된 것 이외에 본 발명의 다양한 변형이 기술한 설명으로부터 당업자에게 명백할 것이다. 그러한 변형은 또한 첨부된 청구 범위 내에 있는 것으로 의도된다.

[0258] 본원 전반에 걸쳐 인용된 미국 특허, 미국 출원 및 참고문헌 각각은 그 전체가 참조로 본원에 포함된다.

[0259] 실험예

[0260] HPV6 및 HPV11 E6/E7 공통-기반 융합 면역원 DNA 작제물의 생성

[0261] GenBank에서 얻은 서열을 사용하여 HPV6 E6/E7 및 HPV11 E6/E7 공통 서열을 생성하였다. p53에 결합하고 분해하는 능력을 억제하기 위해 HPV6 E6 및 HPV11 E6 단백질에 두 개의 점 돌연변이가 도입되었다. p130의 결합을 없애기 위해 HPV6 E7 및 HPV11 E7 단백질에 한 점 돌연변이가 도입되었다. 서열은 Inovio의 독점 유전자 최적화 알고리즘을 사용하여 최적화되었다. 도 1a는 다른 HPV6 및/또는 HPV11 플라스미드에 암호화된 항원의 개략도를 보여준다. 개별 항원은 번역 건너뛰기를 위한 P2A 절단 부위와 P2A 서열의 번역 후 절단을 위한 푸린 절단 부위에 의해 분리된다. DNA 플라스미드 pGX3024는 HPV6 및 HPV11의 공통 SynCon® E6 및 E7 항원을 암호화한다. 도 1b는 pGX3024의 플라스미드 지도를 제공한다.

[0262] 시험관내 형질감염 및 웨스턴 블롯 분석

[0263] 시험관내 pGX3024의 발현. pGX3024 매개 HPV6 및 HPV11 E6 및 E7 항원 발현은 pGX3024 플라스미드로 HEK-293T 세포의 시험관내 형질감염 후 웨스턴 블롯 분석에 의해 확인되었다. HPV6 또는 HPV11 E6 및 E7 항원 (각각 pGX3021 및 pGX3022)을 암호화하는 플라스미드로 형질감염된 세포는 양성 대조군 역할을 하는 반면 빈 플라스미드 백본 (pGX0001)으로 형질감염된 세포는 음성 대조군 역할을 하였다.

[0264] HEK-293T 세포를 6-웰 조직 배양 디쉬에서 트랜스펙션 전날 80% 컨플루언스로 플레이팅하였다. 다음날 리포펙타민 3000 형질전환 시약 (Thermo Scientific)을 사용하여 3 µg의 플라스미드 DNA로 제조업체 권장 사항에 따라 세포를 형질감염시켰다. 형질감염 48시간 후 세포 용해물을 수확하고 단백질 농도를 BCA 분석 (Quick Start™ Bradford Protein Assay, BioRad)으로 결정하였다. 30 마이크로그램 (30 µg)의 세포 용해물을 12% Bis-Tris 아크릴아미드 겔 (Thermo Scientific)에 넣고 PVDF 멤브레인으로 옮겼다. Precision Plus Protein™ Dual Xtra Prestained Protein Standards (BioRad, cat# 1610377)를 분자량 기준으로 로드하였다. 이동 후, 블롯을 1x PBS/0.05% Tween-20에서 세척하고 실온에서 1x PBS/0.05% Tween-20/5% 우유에서 1시간 동안 차단한 다음 실온에서 희석된 항-HPV11 E7 (Genetex)로 밤새 실온에서 밤새 프로브하였다. 다음날, 블롯을 세척한 후 항-마우스 IgG HRP (Bethyl Laboratories) 1:10,000으로 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한 후 다시 세척하였다. 검출을 위해, 블롯을 ECL 프라임 웨스턴 블롯 기질 (GE Lifesciences/Amersham cat# RPN2232/89168-782)과 함께 5분 동안 인큐베이션하였다. 블롯은 화학발광에 의해 Protein Simple FluorChem®에서 이미지화되었다. 검출 후, 복원 시약 (ThermoFisher, cat# 21059)을 15분 동안 첨가하여 블롯을 제거한 다음 세척하고 항-2A (EMD Millipore) 또는 항-β-액틴 (Santa Cruz Biotech)으로 탐침하고 이전과 같이 현상하였다.

[0265] 도 2에 도시된 바와 같이, E6 및 E7 단백질은 pGX3024 및 대조군 pGX3021 및 pGX3022 플라스미드로 형질감염된 세포에서 검출되었지만, 음성 대조군 pGX0001 플라스미드에서는 검출되지 않았다. E7 단백질 발현은 상업적으로 이용 가능한 항-HPV11 E7 항체를 사용하여 검출되었다 (도 2, 왼쪽 패널). E7 단백질은 pGX3024로 형질감염된 세포에서 검출되었지만 음성 대조군 pGX0001 플라스미드에서는 검출되지 않았다. E7 항원은 HPV6 항원-단독 플라스미드 (pGX3021)뿐만 아니라 HPV11 항원-단독 플라스미드 (pGX3022)로 형질감염된 세포에서 검출되었으며, 이는 항-HPV11 E7 항체가 HPV6 및 HPV11 E7 항원 둘 모두에 대해 교차 반응성이 있음을 나타내고 pGX3024-형질감염된 세포에서 검출된 밴드가 HPV6 및 HPV11 E7 단백질 발현 모두를 나타낸다는 것을 시사한다.

[0266] 다수의 시판 시약을 평가한 후, HPV6 또는 HPV11 E6 단백질을 특이적으로 인식하는 항체를 확인할 수 없었다. 그러나 항-HPV11 E7 프로브를 사용하여 E7 및 E7-푸린/P2A에 대해 각각 ~10.7 kDa 및 ~13 kDa의 예상 분자량에서 두 개의 특정 밴드가 검출되었고, 이는 시험관내 시스템에서 P2A 서열의 부분적인 푸린 절단을 나타낸다 (도 2, 왼쪽 패널). 따라서 E6 및 E7 항원 발현은 부분적으로 절단된 단백질 생성물에 대한 항-2A 항체 프로브를 사용하여 검출될 수 있었다 (도 2, 중간 패널). ~20 kDa E6-푸린/P2A를 나타내는 밴드가 pGX3024에서 검출되었지만 항-2A 항체로 프로빙한 후 pGX0001-형질감염된 세포를 제어하지 않았다. 또한 ~15 kDa E7-푸린/P2A 밴드가 pGX3024에서 검출되었지만 항-HPV11 E7 프로브를 사용하여 검출된 것과 일치하는 형질감염된 세포인 대조군 pGX0001에서는 검출되지 않았다.

[0267] *마우스 IFN- γ ELISpot*

[0268] pGX3024는 2개의 마우스 모델에서 면역원성에 대해 평가되었다 (도 3 내지 6). DNA 백신 pGX3024로 유도된 세포 및 체액 면역 반응은 두 개의 독립적인 연구에서 C57BL/6 마우스 모델에서 특성화되었다. 암컷 C57BL/6 마우스 (각각 연구 1 또는 연구 2에서 군 당 n/5 또는 10)는 20 μ g pGX3024 또는 대조군 DNA 백신의 근육내 전기천공법(IM-EP) 전달에 의해 2주 간격으로 2회 면역화를 받았다. T 세포 반응은 HPV6/HPV11 E6 또는 E7 펩티드로 비장 세포 자극 후 IFN γ ELISpot에 의해 두 번째 면역화 1주 후에 측정되었다. 안락사 후, 마우스 비장을 분리하고 5 ml의 R10 배지 (10% 태아 소 혈청, 1% 페니실린-스트렙토마이신 및 0.001% 2-메르캅토에탄올이 보충된 RPMI 1640)를 함유하는 튜브에 넣었다. GentleMACS Dissociator (Miltenyi Biotech)를 사용하여 비장을 기계적으로 파괴하여 비장 세포를 분리한 다음 40 μ m 셀 스트레이너 (BD Falcon)를 사용하여 여과하였다. 원심분리 후, 재현탁된 세포 펠릿을 ACK 용해 완충제 (Lonza)으로 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시켰다. 비장 세포를 PBS로 세척하고, 원심분리하고, R10 배지에 재현탁하고, Vi-세포 (Beckman Coulter)를 사용하여 계수하였다. 마우스 IFN- γ ELISpot 키트는 항원 특이적 반응을 평가하기 위해 MabTech (MabTech #3321-4APW-10)에서 구입하였다. 미리 코팅된 96-웰 플레이트를 제조업체의 프로토콜에 따라 PBS로 세척하고 R10 배지로 실온에서 2시간 동안 차단하였다. 분리된 비장 세포를 R10 배지에 재현탁시키고 웰당 2×10^5 개 세포로 3중으로 플레이팅하였다. HPV6 E6 및 E7 단백질뿐만 아니라 HPV11 E6 및 E7 단백질에 대한 접치는 15-mer 펩티드가 합성되었다. 이 펩티드를 DMSO(Sigma)에 재현탁하고 세포 자극을 위해 각 항원(HPV6 E6, HPV6 E7, HPV11 E6 및 HPV11 E7)당 2개의 펩티드 풀에 펩티드당 $\sim 2 \mu$ g/ml의 농도로 풀링하였다. 양성 대조군으로는 Concanavalin A (Sigma)를 5 μ g/ml로 사용하였고, 음성 대조군으로는 DMSO를 포함하는 완전 배지를 사용하였다. 플레이트를 37°C 5% CO₂에서 최소 18 시간 동안 배양하였다. 개발을 위해 플레이트를 먼저 PBS에서 세척한 다음 실온에서 2시간 동안 비오틴화된 항-마우스 IFN- γ 검출 항체(R4-6A2-비오틴)와 함께 인큐베이션하였다. 세척 후, 플레이트를 실온에서 1시간 동안 스트렙타비딘-ALP (MabTech #3321-4APW-10)와 함께 인큐베이션하였다. 제조업체의 지침 (MabTech)에 따라 여과된 기질 용액 (BCIP/NBT-plus)을 사용하여 스폿을 검출하였다. 플레이트가 건조되면 자동 ELISpot 판독기 (Cellular Technology)를 사용하여 반점을 세었다. 평균 스폿 형성 단위 (SFU)는 1×10^6 비장 세포로 조정되었고 항원 특이적 반응은 DMSO 대조군보다 큰 1×10^6 비장 세포당 IFN- γ SFU의 수로 보고된다.

[0269] HPV6 및 HPV11 특이적 T 세포 반응은 pGX3024로 면역화한 후 마우스에서 검출되었지만 음성 대조군 pGX0001, 플라스미드에서는 검출되지 않았다 (도 3). pGX3021 및/또는 pGX3022로 면역화된 마우스와 비교하여 pGX3024로 면역화된 마우스의 T 세포 반응에는 일원 분산 분석, Tukey의 사후 테스트 (도 3)에 의해 결정된 바와 같이 유의한 차이가 없었다. pGX3024로 면역화하면 HPV6 E7, HPV11 E6 및 HPV11 E7 항원에 대한 T 세포 반응이 유도되지만 이 모델에서는 HPV6 E6 항원이 아니다. 근친교배 C57BL/6 마우스는 단일 MHC 일배체형 (H2b)을 가지며, 이는 이 모델에서 HPV6 E6 세포 반응의 부족을 설명할 수 있다. T 세포 반응은 두 개의 독립적인 연구 사이에서 매우 재현 가능하였다.

[0270] HPV6 및 HPV11 E7 항원에 대한 항체는 pGX3024 또는 음성 대조군 플라스미드 (pGX0001)로 면역화 전 (0주차) 및 첫 번째 (2주차) 및 두 번째 (3주차) 면역화 후에 수집된 혈청 샘플에서 IgG ELISA를 결합하여 측정되었다.

[0271] *IgG 항원 결합 ELISA*

[0272] 96-웰 고 결합 Nunc™ 플레이트 (Thermo Scientific)는 4°C에서 밤새 1x DPBS (Thermo Scientific)에서 각 단백질 (HPV6 E7 및 HPV11 E7 - Tulip BioLabs) 0.5 μ g/ml로 코팅되었다. 다음날, 플레이트를 1x PBS + 0.05% Tween-20으로 세척하고 37°C에서 2시간 동안 PBS + Tween-20 중 3% BSA로 차단하였다. 그런 다음 플레이트를 이전과 같이 세척하고 연속 희석된 혈청 샘플을 첨가하고 플레이트를 37°C에서 2시간 동안 배양하였다. 플레이트를 세척하고 실온에서 1시간 동안 항-마우스 또는 토끼 IgG HRP 2차 항체 (Bethyl Laboratories, Inc)의 1:10,000 희석액과 함께 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고 100 μ l/웰의 SureBlue TMP 기질 (KPL 5120-0077)을 플레이트에 첨가하였다. 6분 배양 후 100 μ l/웰의 TMB 정지 용액 (KPL 5150-0021)을 첨가하여 반응을 정지시키고 플레이트를 Biotek Synergy 플레이트 판독기에서 450 nm 파장으로 판독하였다.

[0273] HPV6 E7 결합 항체는 1차 및 2차 면역화 후 pGX3024에서 검출되었지만, pGX0001에서는 검출되지 않았다 (도 4, 왼쪽 패널). 일반적으로, HPV11 E7 결합 항체는 면역화된 마우스에서 HPV6 E7 결합 항체에 비해 감소하였으나, HPV11 E7 결합 항체는 pGX0001과 비교하여 pGX3024로 면역화된 마우스에서 두 번째 면역화 (3주) 후에 더 컸다 (도 4, 오른쪽 패널).

[0274] *BALB/c 마우스에서 pGX3024 면역원성*. 이전에 언급한 바와 같이, C57BL/6 마우스는 이 모델에서 HPV6 E6 세포

반응의 부족을 설명할 수 있는 단일 MHC 일배체형 (H2b)을 가지고 있다. 따라서 pGX3024 백신 유도 세포 반응은 다른 MHC 일배체형 (H2d)을 가진 BALB/c 마우스 모델에서 조사되었다. pGX3024 용량 및 뮤린 IL-12 보조제 (pGX6012)를 암호화하는 플라스미드와의 조합의 영향도 조사되었다. 암컷 BALB/c 마우스 (군 당 n/6)는 1 µg, 5 µg, 10 µg, 또는 20 µg pGX3024 DNA 백신 단독 또는 5 µg pGX3024의 근육내 전기천공법 (IM-EP) 전달에 의해 2주 간격으로 2회 면역화를 받았다. 2 µg 또는 11 µg pGX6012 마우스 IL-12 플라스미드로 보강되었다. 40 µg의 빈 pGX0001 플라스미드로 면역화된 마우스는 음성 대조군으로 사용되었다. T 세포 반응은 도 5에 도시된 바와 같이 HPV6/HPV11 E6 또는 E7 펩티드로 비장 세포 자극 후 IFN γ ELISpot에 의해 2차 면역화 1주 후에 측정되었다. HPV6 및 HPV11 특이적 T 세포 반응은 용량 관련 방식으로 플라스미드 pGX0001이 아닌 pGX3024의 모든 용량 수준으로 면역화한 후 마우스에서 검출되었다. 총 HPV6 및 HPV11 세포 반응은 pGX3024 용량이 증가함에 따라 증가하였다. C57BL/6 모델과 달리, pGX3024 면역화된 BALB/c 마우스는 HPV6 E6 항원뿐만 아니라 HPV6 E7, HPV11 E6 및 HPV11 E7 항원에 대해서도 T 세포 반응을 보였다. Tukey의 사후 테스트인 일원 분산 분석에 의해 결정된 바와 같이 pGX6012의 용량 수준이 있거나 없는 5 µg pGX3024로 면역화된 마우스 사이에서 T 세포 반응에 유의한 차이가 없었다.

[0275] HPV6 및 HPV11 E7 항원에 대한 항체는 5 µg, 10 µg, 또는 20 µg pGX3024 DNA 백신 단독 또는 2 µg 마우스 IL-12 플라스미드 (pGX6012)로 보강된 5 µg pGX3024로 면역화 전 (0주차) 및 첫 번째 (2주차) 및 두 번째 (3주차) 면역화 후 수집된 혈청 샘플에서 IgG ELISA를 결합하여 측정되었다. 40 µg의 빈 pGX0001 플라스미드로 면역화된 마우스의 혈청이 음성 대조군으로 사용되었다. HPV6 E7 및 HPV11 E7 결합 항체는 IL-12 플라스미드의 용량 또는 존재 여부에 관계없이 pGX3024 면역화된 BALB/c 마우스에서 0주에 비해 3주에 유의하게 증가했지만 pGX0001 마우스에서는 그렇지 않았다 (도 6). 항체 수준은 또한 20 µg pGX3024 또는 2 µg 뮤린 IL-12 플라스미드로 보강된 5 µg pGX3024로 단일 면역화 (2주차) 후에 상당히 증가했다. 특히 2주차 시점에서 5 µg pGX3024에 뮤린 IL-12를 첨가하여 두 항원에 대한 결합 항체가 증가하는 경향이 있었다.

[0276] 토끼 면역원성 연구

[0277] INO-3107 (pGX6010을 포함하는 pGX3024)은 토끼 모델에서 면역원성 및 안전성에 대해 평가되었다.

[0278] New Zealand White (NZW) 토끼 (군 당 5마리의 n)는 INO-3107 (6 mg pGX3024 및 0.25 mg pGX6010)이 1 mL 1X SSC에서 공동 제형화됨, 또는 CELLECTRA® 2000 전기천공 장치를 사용하여 전기천공법 (EP)에 이어 대퇴사두근에 근육내 (IM) 주사에 의한 1mL 1X SSC (음성 대조군)의 3주 간격으로 4회 면역화를 받았다. 세포 및 체액 면역 반응은 면역화 전 (0주차) 및 각각의 면역화 후 2주차 (2주차, 5주차, 8주차 및 11주차) 각각 IFN γ ELISpot 및 IgG 결합 ELISA에 의해 평가되었다. 체중, 혈액학, 혈청 화학 및 일반적인 외관을 포함한 생리학적 매개변수는 백신 안전성 및 동물 건강의 지표로서 연구 전반에 걸쳐 모니터링되었다.

[0279] HPV6/HPV11 E6 및 E7 펩티드로 PBMC를 자극한 후 IFN γ ELISpot 검정에 의해 토끼 세포 반응을 평가하였다. SepMate-15ml 튜브를 3.5 ml의 Ficoll-Paque 구배로 채우고 실온에서 평형을 이루도록 했다. 전혈을 K2EDTA 튜브에 채혈한 후 여러 번 뒤집어 혼합하였다. 혈액을 Hank's Balanced Salts Solution (HBSS)으로 희석하고 SepMate 튜브의 Ficoll-Paque 기울기 위에 천천히 층을 이루었다. 튜브를 회전시키고 버퍼 코트를 수집하여 새로운 15ml 튜브에 넣었다. R10 배지 (10% 태아 소 혈청, 1% 페니실린-스트렙토마이신 및 0.001% 2-메르캅토에탄올이 보충된 RPMI 1640)로 희석하여 세포를 세척하였다. 세포 펠렛을 ACK 용해 완충제 (Lonza)에 재현탁하여 적혈구를 용해시키고 실온에서 4분 동안 인큐베이션하였다. PBMC를 세척하고, 회전시키고, R10 배지에 재현탁시키고, Vi-세포 (Beckman Coulter)를 사용하여 계수하였다. 토끼 IFN- γ ELISpot 키트 (MabTech (MabTech #3110-4HPW-10))를 사용하여 항원 특이적 반응을 평가하였다. 제조업체의 프로토콜에 따라 플레이트를 준비하고 토끼 PBMC를 웰당 2×10^5 개 세포로 3중으로 플레이팅하였다. HPV6 및 HPV11의 E6 및 E7 단백질에 대한 겹치는 15-mer 펩티드를 세포 자극에 사용하였다. 포르볼 12-미리스테이트 13-아세테이트 및 이오노마이신 (PMA/I) (Sigma) 및 DMSO를 포함하는 배지는 각각 양성 및 음성 대조군 역할을 하였다. 플레이트를 37°C 5% CO₂에서 최소 18시간 동안 배양하였다. 다음날, 제조업체의 프로토콜에 따라 플레이트를 개발하고 플레이트가 건조되면 자동 ELISpot 판독기 (Cellular Technology)를 사용하여 반점을 세었다. 평균 스폿 형성 단위 (SFU)는 1×10^6 비장 세포로 조정되었고 항원 특이적 반응은 DMSO 대조군보다 큰 1×10^6 비장 세포당 IFN- γ SFU의 수로 보고된다.

[0280] 기준선 이상의 HPV6 및 HPV11 특이적 T 세포 반응이 INO-3107로 면역화한 후 모든 토끼에서 검출되었지만, 1X SSC로 처리된 토끼에서는 검출되지 않았다. HPV6 및 HPV11 T 세포 반응은 INO-3107로 연속적으로 면역화할 때마다 증가함에 따라 증폭될 수 있었다(도 7). INO-3107로 면역화하면 HPV6 및 HPV11 E6 항원에 대한 T 세포 반응

이 유도되지만, 이 모델에서는 HPV6 또는 HPV11 E7 항원에 대해서는 그렇지 않다(도 8).

[0281] HPV6 및 HPV11 E7 항원에 대한 체액 반응은 각각의 면역화 전 및 2주 후에 수집된 혈청 샘플에서 결합 IgG ELISA에 의해 측정되었다. 항체 수준의 시간 경과를 도 9에 나와 있다. INO-3107로 면역화된 토끼 5마리 중 4마리에서 HPV6 또는 HPV11 E7 결합 항체가 검출되었지만 1X SSC를 투여한 토끼에서는 검출되지 않았다. 일반적으로 HPV6 E7 결합 항체는 면역화된 토끼에서 HPV11 E7 결합 항체에 비해 감소했다. 함께 취한 ELISpot 및 ELISA 데이터는 토끼 모델에서 INO-3107에 의해 암호화된 모든 항원의 면역원성을 확인한다.

[0282] INO-3107-매개 면역 반응에 더하여, 체중, 혈액학, 혈청 화학, 및 일반적인 외관을 포함하는 생리학적 매개변수를 백신 안전성 및 동물 건강의 지표로서 연구 전반에 걸쳐 모니터링하였다. INO-3107을 투여한 토끼에서는 시간 경과에 따른 체중 또는 체중 변화의 유의한 차이가 관찰되지 않았다 (도 10). 또한, 연구 기간 동안 어느 처리군에 대해서도 일반적인 외모 (코, 눈, 털, 움직임)를 모니터링하는 동안 어떠한 발견도 관찰되지 않았다. 혈액학 및 혈청 임상 화학 분석을 위해 예방접종 후 5주차, 8주차 및 11주차에 혈액학 및 혈청 임상 화학 분석을 위해 샘플을 수집하고 임상 수의과 병리학자 (IDEXX BioAnalytics)의 독립적인 검토를 위해 결과를 제출하였다. 기준치와 비교하여 INO-3107을 투여한 결과 NZW 토끼에서 5주차 (8주차 또는 11주차는 아님)에 림프구 수가 약간 증가하였다. INO-3107의 투여로부터 생물학적으로 관련된 영향을 나타내는 다른 혈액학적 또는 혈청학적 임상 화학 결과는 없었다.

[0283] 토끼의 피내 (ID) 전달 평가

[0284] 세포 면역 반응을 평가하기 위해 NZW 토끼에서 피내(ID) 주사 연구를 수행하였다. NZW 토끼 (n/5)는 ID 전달에 의해 0.1 mL 1X SSC에 1 mg pGX3024로 제형화된 INO-3107로 3주 간격으로 3회 면역화되었다. 이전에 설명한 토끼 IFN γ ELISpot는 첫 번째 백신 접종 전과 2주, 5주 및 8주차에 수행되었다. 두 항원, HPV6 및 HPV11에 대한 복합 면역 반응은 각각의 면역화 후 증가했으며, T 세포 반응은 HPV6 E6 및 HPV11 E6에 더 특이적이다 (도 13).

[0285] 기니 피그 모델에서 피내 (ID) 전달 평가

[0286] 하틀리 기니 피그 (n/5)는 2주 간격으로 pGX3024 (최종 0.1 mL 1X SSC에 제형화된 0.1mg), 피내 (ID) 주사 후 CELLECTRA® 2000 전기천공 장치를 사용하여 전기천공법 (EP)으로 3회 면역화를 받았다. 천연 기니 피그는 음성 대조군 (n/2)으로 사용되었다. 세포 및 체액 면역 반응은 면역화 전 (0주차) 및 각 면역화 후 2주차 (2주차, 4주차 및 6주차) 각각 IFN γ ELISpot 및 IgG 결합 ELISA에 의해 평가되었다.

[0287] 동물 생산, 면역화 및 샘플 수집은 동물 복지법, PHS 정책, AAALACi 지침, USDA 및 동물 및 동물 관련 실험과 관련된 기타 연방 법령 및 규정을 준수하는 IACUC 승인 프로토콜 하에 Acculab Life Sciences(San Diego, CA)에서 수행되었다. 모든 샘플 분석은 Inovio (San Diego, CA)에서 수행되었다. pGX3024는 0.1 mL 투약 용액의 최종 0.1 mg에 대해 1X SSC에서 제형화되었고 사용할 때까지 2-8°C에서 보관되었다. 8주령의 암컷 하틀리 기니 피그를 표 1에 따라 각각 5마리 또는 2마리씩 2개의 군으로 무작위로 나누었다. 각 치료는 제조사의 프로토콜에 따라 3P 어레이 (Inovio Pharmaceuticals)가 있는 CELLECTRA 2000® 적응형 정전류 전기천공 장치를 사용하여 피부에 100 μ L 투여 용액을 Mantoux 피내 (ID) 주사하여 전달하였다.

표 1

군 수 (n)	플라스미드	# 주사 부위 / 위치 / Tx	EP 장치 & 주사 방법	주사 부피 (μ L)	DNA 용량 / 플라스미드 (μ g)
1 (5)	pGX3024	1 / ID	CELLECTRA 3P	100	100
2 (2)	천연	-	-	-	-

[0288]

[0289] 군 1 동물은 2주 간격으로 총 3번의 면역화를 받았다. 0주차, 2주차, 4주차 및 6주차에 체액성 면역원성 평가를 위해 모든 동물로부터 혈청 샘플을 수집하였다. 2주차, 4주차, 및 6주차에 세포 면역원성 평가를 위해 모든 동물로부터 전혈 샘플을 수집하였다.

[0290] 기니 피그 IFN- γ ELISpot. 기니 피그 IFN- γ ELISpot은 Schultheis, 등, J Vis Exp. 2019;(143):10.3791/58595. 2019년 1월 20일 발행. doi:10.3791/58595.에 기재된 방법에 따라 수행하였다. 각

마취된 동물의 경정맥에서 말초 혈액을 채취하여 즉시 EDTA 채혈 튜브로 옮겼다. 혈액을 인산염-완충 식염수로 1:1로 희석하였다. 희석된 혈액을 SepMate™ 튜브 (Stemcell)의 Ficoll-Paque Plus (GE Healthcare Life Sciences) 위에 놓고 원심분리하였다 (1200g, 10분, 24℃). PBMC를 R10 배지에 1×10^6 개 세포/ml로 재현탁하고 R10 배지로 차단된 5 µg/ml 1차 항-IFN-γ 항체 V-E4 (독일 베를린 로버트 코흐 연구소 Schafer 박사 제공)로 미리 코팅된 96-웰 Millipore IP 플레이트 (Millipore)에 100 µl/웰로 플레이팅하였다. HPV6 E6, HPV6 E7, HPV11 E6, 또는 HPV11 E7 펩티드 풀 또는 포르볼 12-미리스테이트 13-아세테이트 (PMA)/이오노마이신 자극제 100 µl를 세포에 첨가하였다. 샘플을 3회 분석하였다. 37℃에서 18시간 동안 가습된 5% CO₂에서 인큐베이션한 후, 세포를 세척하여 제거하고 차단 완충액에 희석된 2 µg/ml 비오틀화된 2차 항-IFN-γ 항체 N-G3의 웰당 100 µl를 첨가하였다. 2시간 인큐베이션 및 세척 후, 알칼리 포스파타제 결합 스트렙타비딘 (MabTech)을 실온에서 1시간 동안 웰당 100 µl로 첨가하였다. 세척 후, 웰당 100 µl의 니트로-블루 테트라졸륨/5-브로모-4-클로로-3'-인돌리포스페이트 (BCIP/NBT) 검출 시약 기질 (MabTech)과 함께 실온에서 6-12분 동안 웰을 인큐베이션하였다. CTL-Immunospot® S6 ELISPOT 플레이트 판독기 및 CTL-Immunospot® 소프트웨어를 사용하여 인터페론-감마 양성 반점을 영상화, 분석 및 계수하였다. 항원 특이적 반응은 펩티드 처리된 웰에서 DMSO 처리된 점의 수를 빼서 결정되었다.

[0291] 3중 웰에 대해 얻은 개별 동물 반점 형성 단위 (SFU)/ 10^6 PBMC에 대한 결과가 표시된다. 기준선 이상의 HPV6 및 HPV11 특이적 T 세포 반응은 pGX3024로 면역화한 후 기니 피그에서 검출되었지만 천연 기니 피그에서는 검출되지 않았다 (도 11). pGX3024를 사용한 면역화는 이 모델에서 HPV6 및 HPV11 E6 및 E7 항원에 대한 T 세포 반응을 유도하였다 (도 11).

[0292] 항원 결합 ELISA. 96-웰 고 결합 Nunc™ 플레이트 (Thermo Scientific)를 1x Dulbecco의 인산염-완충 식염수 (DPBS) (Thermo Scientific)에서 재조합 HPV6 E7 또는 HPV11 E7 단백질 1 µg/ml로 4℃에서 밤새 코팅하였다. 다음날, 플레이트를 1x PBS + 0.05% Tween®-20으로 세척하고 실온에서 2시간 동안 PBS + 0.05% Tween®-20 중 3% BSA로 차단하였다. 그런 다음 플레이트를 이전과 같이 세척하고 연속 희석된 혈청 샘플을 첨가하고 플레이트를 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고 1:10,000 희석된 항-기니 피그 IgG 서양고추냉이 과산화효소 (HRP) 2차 항체 (Sigma)와 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고 100 µl/웰의 SureBlue™ TMB 기질 (KPL 5120-0077)을 플레이트에 첨가하였다. 6분 인큐베이션 후 100ul/웰의 TMB 정지 용액 (KPL 5150-0021)을 첨가하여 반응을 정지시키고 플레이트를 450 nm 파장에서 Biotek Synergy 플레이트 판독기에서 판독하였다.

[0293] HPV6 E7 및 HPV11 E7 항원에 대한 체액 반응은 각각의 면역화 전 및 2주 후에 수집된 혈청 샘플에서 결합 IgG ELISA에 의해 측정되었다. 항체 수준의 시간 경과상 도 12에 제시되어 있다. HPV6 E7 및 HPV11 E7 결합 항체는 pGX3024로 면역화한 후 기니 피그에서 검출되었다.

[0294] 1/2상 임상 시험: HPV-6- 및/또는 HPV-11-관련 재발성 호흡기 유두종증 (RRP)이 있는 대상체에서 전기천공법 (EP)을 사용한 INO-3107 [ClinicalTrials.gov 식별자: NCT04398433]

[0295] 이것은 HPV-6 및/또는 HPV-11 관련 재발성 호흡기 유두종증(RRP)이 있는 대상체에서 INO-3107 약물 제품의 안전성, 내약성, 면역원성 및 효능을 평가하기 위한 1/2상 오픈 라벨, 다기관 시험이다. INO-3107 약물 제품은 0일차, 3주차, 6주차, 및 9주차에 대상체에게 IM에 이어 EP로 투여될 것이다.

[0296] 이 연구는 첫 진단 연령이 12세 미만으로 정의되는 청소년-발병 RRP (J-O RRP) 또는 첫 진단 연령이 12세 이상으로 정의되는 성인-발병 RRP (A-O RRP)으로 진단된 약 20명의 성인 (≥18세)을 등록할 것이다. 시험 모집단은 A와 B의 두 코호트로 나뉜다: 코호트 A: RRP의 첫 진단 시 연령이 12세 미만인 것으로 정의된 청소년-발병 RRP 진단을 받은 참가자. 코호트 B: RRP의 첫 진단 연령이 12세 이상인 것으로 정의된 성인-발병 RRP 진단을 받은 참가자.

[0297] 이 연구는 등록된 각 참여자 사이에 1주일의 대기 기간을 두고 최대 6명의 참여자와 함께 안전 시운전을 할 것이다. 안전성과 내약성은 내약성이 확립된 후 연구 전반에 걸쳐 계속 평가될 것이다. 내약성은 다음과 같이 정의되는 용량 제한 독성 (DLT)의 보고된 발생률에 의해 결정된다.

[0298] - 부작용에 대한 치료 관련 NCI 공통 용어 기준 (CTCAE, 버전 5.0) 보조 요법에 반응하지 않고 48시간 이상 지속되는 등급 ≥3 비혈액학적 독성, 또는;

[0299] - 보조 요법에 반응하지 않고 48시간 이상 지속되는 치료 관련 NCI CTCAE v5.0 등급 ≥3 혈액학적 독성.

- [0300] 대상체는 0일 투약 전 14일 이내에 스크리닝 기간 동안 유두종 제거를 위한 일상적인 외과 수술을 받게 된다 (유두종 제거 및 0일 투약은 다른 적격성 기준이 충족된 경우 같은 날에 수행될 수 있음). 생검 조직을 수집하고 2차 및 탐색적 종에 대해 평가한다. 시험 기간 동안 질병의 상태가 모니터링된다.
- [0301] 코호트 A (청소년-발병 RRP를 가진 참여자)는 0일차, 3주차, 6주차 및 9주차에 CELLECTRA® 2000을 사용하여 전 기천공법(EP)에 이어 INO-3107 약물 제품 근육내 (IM) 주사의 6.25mg 주사를 1회 투여한다. 코호트 B (성인-발병 RRP가 있는 참여자)는 0일차, 3주차, 6주차 및 9주차에 CELLECTRA® 2000을 사용하여 EP에 이어 INO-3107 약물 제품 근육내 (IM) 주사 6.25mg 주사를 1회 투여한다.
- [0302] 연구의 1차 목적은 HPV-6 및/또는 HPV-11 관련 RRP에 걸린 대상체에서 INO-3107 약물 제품의 안전성 및 내약성을 평가하는 것이다. 1차 중단점은 보고된 부작용 (AE) 및 심각한 부작용 (SAE)에 의해 평가된 안전성 및 내약성이다. 1차 결과 측정은 부작용 (AE) 및 심각한 부작용 (SAE)이 있는 참가자의 비율이다 [시간 프레임: 최대 52주차 (최대 약 1년)까지 스크리닝]. 부작용 (AE)은 약물 제품을 투여받은 참여자 또는 임상 조사 참여자에게 발생하는 뜻밖의 의학적 발생이며 반드시 이 치료와 인과 관계가 있는 것은 아니다. AE에는 약물 제품 (연구용) 제품과 관련이 있는지 여부에 관계없이 약물 제품 (연구용) 제품의 사용과 일시적으로 관련된 바람직하지 않고 의도하지 않은 징후 (비정상적인 실험실 결과 포함), 증상 또는 질병이 포함될 수 있다. 심각한 부작용 (SAE)는 어떤 용량에서도 다음과 같은 뜻밖의 의료 사건이다. 1. 사망을 초래한다. 2. 생명을 위협하는 사건 그러나 여기에는 더 심각한 형태로 발생했다라면 사망에 이를 수 있었던 사건은 포함되지 않는다. 3. 입원환자 입원 또는 기존 입원의 연장이 필요하다. 4. 지속적이거나 심각한 장애/무능력을 초래한다. 5. 선천적 기형/출산을 초래한다.
- [0303] 연구의 2차 목적은 다음과 같다:
- [0304] 1. 0일 이전 연도의 빈도와 비교하여 시험용 제품의 첫 번째 투여 다음 연도에 RRP 외과 개입 빈도로 결정된 INO-3107 약물 제품의 효능을 평가하기 위해
- [0305] 2. 시간 경과에 따른 RRP 병기 평가의 변화에 따라 INO-3107 약물 제품의 효능을 평가하기 위해;
- [0306] 3. IM에 이어 EP를 투여했을 때 INO-3107 약물 제품에 대한 세포 면역 반응을 평가하기 위해;
- [0307] 4. 연구 시작 시 그리고 가능한 경우 후속 조직 절제 시 절제된 종양 조직에서 염증 유발 및 면역억제 요소에 의해 평가되는 INO-3107 약물 제품의 면역원성을 평가하기 위해;
- [0308] 5. 감소된 RRP 수술 개입 빈도와 마이크로RNA(miRNA) 프로파일의 잠재적 연관성을 평가하기 위해.
- [0309] 2차 중단점은 다음과 같다:
- [0310] 1. 0일 투여 이전 연도의 RRP 외과적 개입 횟수와 비교한 0일 후 52주 동안의 RRP 외과적 개입 횟수 [시간 프레임: 52주차까지 스크리닝 (최대 약 1년)]
- [0311] 2. 시간 경과에 따른 RRP 병기 평가 점수의 변화 [시간 프레임: 스크리닝, 0일, 6주, 11주, 26주, 52주(최대 약 1년)]. RRP 단계 평가 점수는 변형된 Derkay 단계 도구를 사용하여 결정된다. 여기에는 임상 매개변수의 주관적 기능 평가와 질병 분포의 해부학적 평가가 모두 포함된다. 그런 다음 해부학적 점수를 기능적 점수와 함께 사용하여 시간 경과에 따른 치료에 대한 개별 환자의 임상 경과 및 반응을 측정할 수 있다.
- [0312] 3. 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)에서 IFN- γ 분비 세포에 대한 인터페론-감마 효소 연결 면역흡착점 (IFN- γ ELISpot) 반응 크기의 기준선으로부터의 변화 [시간 프레임: 기준선, 6, 9, 11, 26, 52주]
- [0313] 4. PBMC에서 T-세포 표현형 및 용해 잠재력에 대한 유세포분석 반응 크기의 기준선으로부터의 변화 [시간 프레임: 기준선, 6, 9, 11, 26, 52주]
- [0314] 5. 전 염증 및 면역 억제 요소에 대한 절제된 종양 조직 반응 크기의 기준선에서 변경 [시간 프레임: 기준선 및 후속 조직 절제에서 최대 52주까지 (최대 약 1년)]
- [0315] 6. RRP 외과 개입 빈도 감소와 관련된 마이크로RNA (miRNA) 발현의 기준선으로부터의 변화 [시간 프레임: 기준선 및 6주].
- [0316] 시험의 탐색 목적은 다음과 같다:
- [0317] 1. 가능한 경우 절제된 조직에서 HPV-6 및/또는 11의 바이러스 제거를 설명하기 위해;

- [0318] 2. IM 이후 EP가 주어졌을 시 INO-3107 약물 제품에 대한 체액성 면역 반응을 평가하기 위해;
- [0319] 3. 전염증 및 말초 혈액의 면역억제 요소에 의해 평가되는 INO-3107 약물 제품의 면역원성을 평가하기 위해;
- [0320] 4. 순환 유리 HPV DNA (cfHPV DNA) 6/11을 INO-3107 약물 제품으로 치료한 RRP 환자의 질병 부담과 임상 결과의 상관관계로서 평가하기 위해.
- [0321] 탐색 종단점은 다음과 같다:
- [0322] 1. 기준선과 비교하여 절제된 조직에서 HPV-6/11의 제거;
- [0323] 2. ELISA에 의해 평가된 항원-특이적 체액성 면역 반응;
- [0324] 3. 말초 혈액의 전 염증 및 면역 억제 요소 평가; 및
- [0325] 4. INO-3107 약물 제품으로 치료된 RRP 환자에서 질병 부담과 임상 결과의 상관관계로서 cfHPV DNA 6/11 전 및 후 -INO-3107 약물 제품의 양.
- [0326] 효능 평가: HPV-6 및/또는 HPV-11 RRP 문서, 스크리닝 전 3년 이내에 발생한 RRP 수술 및 요법 목록, 완화 기간을 포함하는 각 대상체에 대한 상세한 병력을 얻을 것이다. 대상체는 연구 대상이 되기 위해 0일을 포함하여 그 이전 해에 적어도 2회의 외과적 RRP 개입 (레이저 포함)을 받아야 한다. 대상체는 본 연구에 참여하는 시점에 RRP 개입이 필요하며 대상체 전체의 기준선 병기의 표준화를 최대화하기 위해 0일 투약 전 14일 이내에 스크리닝 동안 유두종의 외과적 제거를 받아야 한다. 효능 평가는 0일 투약 이전 연도의 RRP 외과적 개입 횟수와 비교하여 0일 후 52주 동안의 RRP 외과적 개입 횟수를 기반으로 할 것이다. RRP 외과 개입에는 레이저 요법이 포함된다. 시험은 또한 시간 경과에 따른 RRP 병기 평가의 변화를 2차 종단점으로 평가할 것이다.
- [0327] 안전성 평가: 대상체는 정보에 입각한 동의서에 서명한 시점부터 52주차까지 또는 대상체의 마지막 방문까지 안전을 위해 추적될 것이다. INO-3107 약물 제품의 안전성은 CTCAE v5.0에 따라 측정되고 등급이 매겨진다. 기준선 평가로부터 실험실 매개변수 및 활력 징후의 임상적으로 유의한 변화가 평가될 것이다.
- [0328] 부작용은 약학 제품을 투여받은 환자 또는 임상 조사 대상에서 발생하는 모든 예상치 못한 의학적 발생이며 반드시 이러한 치료와 인과 관계를 가질 필요는 없다. 따라서 AE는 약물 제품과 관련된 것으로 간주되는지 여부에 관계없이 약물 제품 사용과 일시적으로 관련된 바람직하지 않고 의도하지 않은 징후 (예를 들어 비정상적인 실험실 결과 포함), 증상 또는 질병일 수 있다. 부작용 (AE)에는 다음이 포함된다: 스크리닝 중 또는 스크리닝 후 (임상 시험 약물 투여 전)에 프로토콜 규정 절차의 결과로 발생하는 치료 전 또는 후 합병증; 본 연구에서 조사 중인 상태를 제외하고, 임상 시험 약물 투여 단계 동안 또는 그 결과로서 중증도가 증가하거나 성질의 변화가 있는 모든 기존 상태; 임신 합병증. 부작용 (AE)에는 다음이 포함되지 않는다. 수행된 의료 또는 수술 절차 (예를 들어, 수술, 내시경 검사, 발치, 수혈), 그러나 절차로 이어지는 상태는 AE이다; 악화되지 않는 스크리닝 방문 전에 존재하거나 검출된 기존 질병 또는 병태 또는 검사실 이상; RRP의 재발; 예상치 못한 의료 사건이 발생하지 않은 상황 (예를 들어, 선택적 수술을 위한 입원, 사회 및/또는 편의 입원); 임상적 후유증이 없는 과다복용; 정보에 입각한 동의가 제공되기 전에 발병 날짜가 있는 임의의 의학적 상태 또는 임상적으로 유의한 검사실 이상은 AE가 아니다; 복잡하지 않은 임신; 의학적 이유 없이 임신을 종료하기 위한 유도된 선택 낙태.
- [0329] 약물 부작용 (ADR)은 임의의 투여와 관련된 약물 제품에 대한 모든 유해하고 의도하지 않은 반응을 포함한다. 이는 약물 제품과 부작용 사이의 인과관계가 적어도 합리적인 가능성이 있음을 의미한다 (즉, 관계를 배제할 수 없음).
- [0330] 심각한 부작용 (SAE)은 임의의 투여에서 다음과 같은 뜻밖의 의학적 사건이다: 사망을 초래함; 생명을 위협함; 입원 환자 입원 또는 기존 입원 연장이 필요함; 지속적이거나 상당한 장애/무능력을 초래함; 선천적 기형 또는 선천적 결함을 초래함; 및/또는 중요한 의료 사건.
- [0331] 예상하지 못한 약물 유해 반응은 유해 반응이며, 그 특성 또는 심각도는 적용 가능한 제품 정보와 일치하지 않는다. 예상치 못한 (심각한) 장치 부작용 (UADE)은 건강이나 안전, 생명을 위협하는 문제 또는 장치로 인해 발생하거나 장치와 관련된 사망, 문제, 또는 연구 계획 또는 신청 (보충 계획 또는 신청 포함)에서 사망의 성격, 중증도 또는 발병 정도가 사전에 확인되지 않은 경우, 또는 대상체의 권리, 안전 또는 복지와 관련된 장치와 관련된 기타 예상치 못한 심각한 문제에 대한 심각한 부작용이다.
- [0332] 면역원성 평가: 이 연구는 기준선 (즉, 스크리닝 및 투약 전 0일) 및 6주차, 9주차, 11주차, 26주차, 및 52주차에 채취한 혈액 샘플에서 체액 및 세포 매개 면역 반응을 탐색할 것이다. 조직 샘플은 기준선에서 그리고 연구

중에 임상적으로 지시된 경우 수집된다. 테스트에는 ELISA, ELISpot, 유세포 분석, 면역조직화학 (IHC), 말초 혈액 샘플 및/또는 절제된 조직에 대한 나노스트링 (가능한 경우 연구 입력 및 재발)이 포함될 수 있지만 이에 제한되지 않는다.

- [0333] miRNA의 프로파일링은 스크리닝, 0일 및 재발 시 얻은 조직을 사용하여 발생할 수 있다. 0일의 평가 및 선별 샘플은 INO-3107 치료 반응에 대한 예측 알고리즘을 탐색할 것이다. 재발로부터 평가된 샘플은 miRNA 프로파일의 변화가 재발 가능성과 어떻게 연관될 수 있는지 설명한다.
- [0334] 바이러스학적 평가: 실험은 기재된 바와 같이 연구 치료 전 및 후에 조직 샘플 및 말초 혈액에서 HPV-6/11 DNA의 존재를 평가할 것이다.
- [0335] 주요 포함 기준:
 - [0336] • 조직학적으로 문서화된 HPV-6 또는 HPV-11 양성 호흡기 유두종 또는 후원사가 승인한 HPV-6/11 유형별 분석을 사용한 저위험 양성 HPV 문서;
 - [0337] • 0일을 포함하여 전년도에 최소 2회의 RRP 수술 (레이저 포함) 수술로 정의된 바와 같이 호흡기 유두종을 제거하거나 절제하기 위한 빈번한 RRP 중재에 대한 요구 사항;
 - [0338] • 연구자의 판단 및 RRP 병기 평가 점수에 따라 예정된 수술 개입에 적합한 후보여야 한다;
 - [0339] • 다음에 의해 정의된 적절한 골수, 간 및 신장 기능: ANC (절대 호중구 수) ≥ 1000 세포/mm³, 혈소판 $\geq 50,000/\text{mm}^3$, 헤모글로빈 ≥ 9 g/dL; 총 혈청 빌리루빈 농도는 1.5 x 정상 상한 (ULN) 이내, AST 및 ALT는 1.5 x ULN 이내, 혈청 크레아티닌 ≤ 1.5 x ULN;
 - [0340] • 참가자는 다음 요구 사항 중 하나를 충족해야 한다:
 - [0341] o 비임신 가능성 (호르몬 대체 요법이 아닌 경우 여포 자극 호르몬[FSH]에 의해 확인된 ≥ 12 개월의 비치료 유발성 무월경);
 - [0342] o 외과적으로 불임 상태여야 한다 (남성의 경우 정관 절제술 또는 여성의 경우 난소 및/또는 자궁이 없음);
 - [0343] o 치료 기간 동안 및 마지막 투여 후 적어도 12주 동안 실패율이 연간 1% 미만인 하나의 매우 효과적인 피임법 또는 복합 피임법을 사용하는 데 동의한다; 또는
 - [0344] o 성교 금지에 동의한다.
- [0345] 주요 배제 기준:
 - [0346] • 항바이러스제 (시도포비르 포함), 방사선, 화학요법, 항혈관신생 요법 (베바시주맙 포함), 치료적 개입으로서의 예방적 HPV 백신접종 (가다실 포함), 또는 0일 전 3개월 이내에 실험적 약제를 사용한 요법을 포함하되 이에 제한되지 않는 RRP 질병(수술 또는 절제 제외)에 대한 치료를 받는 사람;
 - [0347] • 다음을 제외하고 전신 면역억제 치료가 필요한 자가면역 질환의 진행 중이거나 최근 (1년 이내) 증거: 백반증, 해결된 소아 천식, 1형 당뇨병, 호르몬 대체만 필요한 잔여 갑상선 기능 저하증 또는 전신 치료가 필요하지 않은 건선;
 - [0348] • 면역결핍 진단 또는 전신 코르티코스테로이드를 포함한 시험 치료의 첫 투여 전 28일 이내에 전신 면역억제 요법으로 치료;
 - [0349] • 출혈 위험이 높거나 알려진 출혈 체질을 관리하기 위해 항응고제를 사용해야 한다;
 - [0350] • 시험 치료의 첫 번째 투여 전 4주 이내에 모든 생 바이러스 백신을 받거나 시험 치료의 첫 번째 투여 전 2주 이내에 모든 비-생 바이러스 백신을 받는 사람;
 - [0351] • 참가자의 안전을 위태롭게 하거나 시험 평가 또는 종단점 평가를 방해하거나 시험 결과의 타당성에 영향을 미칠 수 있는 경우 (만성 신부전, 심근 허혈 또는 경색, 뉴욕 심장 협회(NYHA) 클래스 III/IV 심장 질환이 포함될 수 있음); 임의의 심장 전흉분 증후군(울프-파킨슨-화이트, 심근병증 또는 임상적으로 유의한 부정맥과 같은); 치료된 기저 또는 편평 세포 피부암, 전립선암 또는 자궁경부 상피내 암종을 제외한 현재 악성 종양; 연구 요법에 대한 면역 반응을 일으키는 능력에 영향을 미칠 수 있는 HIV; 또는 약물 또는 알코올 의존) 조사자의 판단에 따라 임상적으로 중요하고 의학적으로 불안정한 질병의 병력;

- [0352] · 삼각근 및 전외측 대퇴사두근을 고려할 때 IM 주사에 사용할 수 있는 허용 가능한 부위가 2개 미만이다 [다 음은 허용되지 않는 부위이다: 치료하고자 하는 부위로부터 2 cm 이내의 문신, 켈로이드 또는 비후성 흉터; 삼 각근 주사 부위와 동측에 위치한 제세동기 또는 심박 조율기 (생명을 위협하는 부정맥을 예방하기 위해) (심장 전문의가 허용하는 것으로 간주되지 않는 한) 의도된 치료 부위 내의 금속 임플란트 또는 이식 가능한 의료 기 기];
- [0353] · 임신 중이거나 현재 모유 수유 중이다.
- [0354] 임상 시험 치료: INO-3107 약물 제품은 본 연구에서 사용되는 조사 제품이다. INO-3107 약물 제품은 HPV 11 및 HPV 6 유전자 (pGX3024)의 E6 및 E7 단백질 발현을 위한 DNA 플라스미드와 인간 IL-12 서브유닛 (pGX6010)을 발현하는 발현 플라스미드를 포함한다. INO-3107 약물 제품은 150 mM 염화나트륨 및 15 mM 구연산나트륨 (pH 7)에 6.25 mg 총 플라스미드/mL (6 mg/mL pGX3024, 0.25 mg/mL pGX6010)를 포함하는 투명한 무색 용액이다. 근 육 주사를 위해 최소 1mL 용량을 2mL 투명 유리 바이알에 채운다.
- [0355] 대상체는 0일차, 3주차, 6주차, 및 9주차에 CELLECTRA® 2000 EP 장치를 사용하여 EP가 이어지는 INO-3107 약 물 제품의 6.25 mg 주사 1회를 근육내 투여받을 것이다.
- [0356] 분석 모집단은 다음과 같다:
- [0357] - 치료 의향 (ITT) 모집단에는 자격이 있는 모든 대상체가 포함된다.
- [0358] - 변형된 치료 의도 (mITT) 모집단은 INO-3107 약물 제품을 1회 이상 투여받은 모든 대상체를 포함한다.
- [0359] - 퍼-프로토콜 (PP) 모집단은 INO-3107 약물 제품의 모든 용량을 투여받고 프로토콜 위반이 없는 대상체로 구성 된다. PP 모집단에서 제외된 대상체는 시험 데이터베이스를 잠그기 전에 식별되고 문서화된다.
- [0360] - 안전성 분석 세트에는 INO-3107 약물 제품을 1회 이상 투여받은 모든 대상체가 포함된다.
- [0361] 말초 혈액 면역원성 평가: 전혈 및 혈청 샘플은 기준선 (스크리닝 및 투약 전 0일) 및 6주차, 9주차, 11주차, 26주차, 및 52주차에 수집된다. 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)는 전혈 샘플에서 분리된다. 세포 면역 활성의 평가 는 유전자 발현, 인터페론- γ 효소 연결 면역흡착점 (IFN- γ ELISpot) 및 유세포 분석법의 적용을 통해 발생할 수 있다. 용해성 과립 로딩 분석을 수행하기 위해 유세포분석 응용 프로그램을 통해 세포 면역 활동에 대한 추 가 평가가 발생할 수 있다. 용해성 과립 로딩 분석은 다음과 같은 외부 세포 마커를 검사할 수 있다: CD3, CD4, CD8 (T 세포 식별), Ki67, CD137, CD38 및 CD69 (T 세포 활성화 마커) 및 PD-1 (소진/활성화 마커), Tim-3 및 Lag-3. 용해성 과립 로딩 분석은 다음 세포내 마커를 추가로 분석할 수 있다: 그랜자임 A, 그랜자임 B, 그레놀 리신 및 퍼포린 (용해성 탈과립 및 세포 독성 가능성에 관여하는 단백질).
- [0362] miRNA의 프로파일링은 스크리닝, 0일차, 및 6주차에 얻은 혈장을 사용하여 수행될 것이다. 0일차 및 스크리닝 샘플의 평가는 INO-3107을 사용한 치료에 대한 반응에 대한 예측 알고리즘을 탐색할 것이다. 6주차부터 평가된 샘플은 miRNA 프로파일의 변화가 궁극적인 치료 성공 또는 실패와 어떻게 연관될 수 있는지 설명한다.
- [0363] 표준 결합 ELISA를 수행하여 INO-3107 약물 제품에 의해 유도된 항-HPV-6/11 항체 반응을 측정할 수 있다.
- [0364] HPV-6/11 시험: cfHPV DNA-6/11의 측정을 위해 0일차, 및 6주차, 11주차, 26주차 및 52주차에 투약 전 전혈을 수집할 것이다.
- [0365] 통계적 방법의 설명:
- [0366] 1차 분석: 이 시험의 1차 분석은 치료 응급 부작용 (TEAE)의 안전성 분석과 기준선에서 안전성 실험실 매개변수 의 임상적으로 유의한 변화이다. 이 시험에서 TEAE는 연구 약물 (IM + EP) 투여 후 0일 이후부터 마지막 투여 후 30일까지 발생하는 모든 AE로 정의된다. 모든 TEAE는 빈도별로 안전 모집단에 요약된다. 이러한 빈도는 시스 템 기관 등급 및 선호하는 용어, 영향을 받는 대상체의 비율에 따라 전반적으로 표시된다. 추가 빈도는 최대 중 증도 및 연구 치료와의 가장 강한 관계에 대해 제시될 것이다. 동일한 AE의 다중 발생은 중증도 및 연구 치료와 의 관계와 관련하여 최악의 접근법에 따라 한 번만 계산된다. 안전성 데이터의 주요 요약은 TEAE를 기반으로 한 다. 이 요약에서는 Clopper-Pearson의 정확한 방법을 사용하여 95% 신뢰 구간과 함께 선호 용어 이벤트의 빈도 를 계산한다. 별도의 요약은 언제 발생했는지에 관계없이 투여 후 7일 이내에 발생하는 사건을 기반으로 한다. TEAE 또는 심각한 TEAE가 아닌 AE 및 SAE는 목록에 표시된다.
- [0367] AE 데이터의 경우, 날짜의 일부가 연구 치료의 날짜와 일치할 때마다 사건을 치료 긴급으로 보존적으로 보고하

기 위해 부분 시작 날짜를 치료 날짜로 귀속시킬 것이다. 그렇지 않으면 부분 날짜와 일치하는 가장 빠른 날짜로 귀속된다. 완전히 누락된 발병 날짜는 치료 날짜로 간주된다. 부분 중지 날짜는 부분 날짜와 일치하는 가능한 가장 늦은 날짜로 간주된다.

[0368] AE 기간은 (종료 날짜 - 시작 날짜) + 1로 계산된다.

[0369] 실험실 반응 변수는 시점당 및 95% 신뢰 구간을 포함하는 기준선으로부터의 변화로서 기술적으로 요약될 것이다. CTCAE에 따른 기준선으로부터의 변화도 제시될 것이다. 임상적으로 중요한 것으로 간주되는 실험실 값은 목록에 표시된다.

[0370] 모든 안전성 분석은 안전성 분석 세트의 대상체에 대해 수행된다.

[0371] 분석은 이전 외과 개입의 수 (≤ 2 , 3-5, 및 ≥ 6) 및 전체에 의해 요약 및 제시될 것이다.

[0372] 2차 분석:

[0373] 효능: 0일차 투약 이전 연도의 빈도와 비교하여 INO-3107 약물 제품의 첫 번째 투약 이후 연도의 RRP 외과 개입 빈도는 평균 배수 변화 및 95% t-분포 기반 CI를 사용하여 설명적으로 요약된다. 기준선 투여 전에서 각 투여 후 평가까지의 RRP 병기 평가 점수의 변화를 분석할 것이다. 중앙값 변경 및 관련 95% 신뢰 구간이 계산된다.

[0374] 효능 중단점 대 miRNA 결과 간의 관계를 조사할 것이다. 회귀 변수로 miRNA 결과 대 중단점 결과를 모델링하는 회귀 모델을 사용하여 관계를 조사한다.

[0375] 수술간 간격도 요약될 것이다. 분석은 이전 외과 개입의 수 (≤ 2 , 3-5, 및 ≥ 6) 및 전체에 의해 요약되고 제시될 것이다. mITT 집단을 이용한 효능 분석이 수행될 것이다. 퍼-프로토콜 모집단은 지원 분석에도 사용된다.

[0376] 면역원성: 기준선으로부터 인터페론- γ ELISpot의 증가 및 흐름 반응 크기가 요약될 것이다. 중앙값 증가 및 관련 95% 신뢰 구간이 계산된다. 중앙 조직 반응 크기의 기준선으로부터의 변화가 요약될 것이다. 평균 증가 및 연관된 95% t-분포 기반 신뢰 구간이 계산된다. 통계 분석 목적의 유효한 샘플은 지정된 방문일로부터 7일 이내에 수집된 샘플이다. 기준선은 첫 번째 치료 투여 이전의 마지막 측정으로 정의된다. mITT 모집단은 면역원성 분석에 사용된다. 분석은 이전 외과 개입의 수 (≤ 2 , 3-5, 및 ≥ 6) 및 전체에 의해 요약되고 제시될 것이다.

[0377] 탐색적 분석:

[0378] 효능: HPV 제거가 요약될 것이다; 기준선과 비교하여 절제된 중앙 조직에서 HPV-6/11을 제거한 피험자의 백분율을 계산할 것이다. cfHPV DNA 6/11 사전 및 사후 INO-3107 약물 제품 사이의 관계는 RRP 환자의 질병 부담 및 임상 결과의 상관관계로서 회귀 모델을 사용하여 조사될 것이다. 분석은 이전 외과 개입의 수 (≤ 2 , 3-5, 및 ≥ 6) 및 전체에 의해 요약되고 제시될 것이다.

[0379] 면역원성: 기준선 후 ELISA 역가를 기하학적 수단으로 분석할 것이다. 말초 혈액에서 기준선으로부터 유전자 발현의 변화가 요약될 것이다. 분석은 이전 외과 개입의 수 (≤ 2 , 3-5, 및 ≥ 6) 및 전체에 의해 요약되고 제시될 것이다.

[0380] 서열 및 서열 식별자

[0381] >pGX3024_IgE 리더 서열 없이 아미노산 서열만 삽입 <서열번호 1>

[0382] ESKDASTSATSIDQLCKTFNLSLHTLQIQCVFCRNALTTAEIYAYAYKNLKVWRDNFPFAACACCLELQGGKINQYRHFNYAAYAPTVEEETNEDILKVLIRCYLCHKPQCEIEKLKHILGKARFIKLNQKRGKRLHCWTTCCMEDLLPRGRKRRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPHGRLVTLKDIVLDLQPPDPVGLHAYEQLDSSSEDEVDKVDKQDSQPLTQHYQILTCCCGCDNSVRLVVECTDGDIRQLQDLLGLTLNIVCPICAPKPRGRKRRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPESANASTSATTIDQLCKTFNLSMHTLQINCVFCKNALTTAEIYSYAYKQLKVLFRGGYPYAACACCLEFHGKINQYRHFYAGYATTVEEETKQDILDVLIRCYLCHKPQCEVEKVKHILTKARFIKLNCTRKGRCLHCWTTCCMEDMLPRGRKRRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPHGRHVTLKDIVLDLQPPDPVGLHAYEQLVDSSEDEVDVGDQSQPLKQHYQIVTCCCGCDNSVRLVQCTETDIREVQQLLLGLTLNIVCPICAPKT

[0383] >pGX3024_IgE 리더 서열 없이만 삽입 <서열번호 2>

[0384] GAGAGCAAGGATGCCAGCACAAAGCGCCACCAGCATCGACCAGCTTTGCAAGACCTTTAACCTGAGCCTGCACACACTTCAGATCCAGTGTGTCTTCTGCCGA AATGCTCTGACAACAGCAGAAATCTACGCCTACGCCTACAAAAACCTGAAGGTGGTGGAGAGACAACTTTCCTTTCGCTGCCTGCGCTTGCTGCCTGGAGCTGCAGGGCAAGATCAATCAGTACCGGCACTTCACTACGCTGCCTACGCCCCACAGTGGAGGAGGAAACAAACGAAGACATCCTGAAGGTGCTGATCAGATGCTACCTCTGCCACAAGCCACAGTGTGAAATCGAGAAGCTGAAGCACATTCTGGGCAAGGCCAGATTTATCAAGCTGAACAACAGAGAAAGGGAAGATGCTGCACTGTTGGACAACCTGCATGGAGGACCTGCTGCCAGAGGCAGAAAGAGAAGATCTGGCAGCGGAGCTACCAACTTCTCTCTGCTGAAGCAGGCTGGA

GATGTTGAGGAGAACCCAGGCCCTCACGGCCGGCTGGTCACCTGAAGGATATCGTGCTGGATCTGCAGCCCCCTGATCTGTGGGCCTTCACGCCTACGAA
CAGCTGGAGGACAGCTCTGAAGACGAAGTGGACAAGGTGGACAAGCAGGACTCTCAGCCTTGACACAGCACTATCAGATCTGACCTGCTGCTGCGGCTGT
GACTCTAACGTGAGACTGGTGGTGGAGTGACCGATGGAGACATCAGACAGCTGCAGGACCTGCTGCTGGGTACCCTGAACATTGTGTGTCTATCTGTGCT
CCAAAGCCAAGAGGCAGGAAAAGAAGATCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTCTCCCTGCTGAAGCAAGCTGGAGATGTGGAGGAGAACCTGGCCCTGAGAGC
GCCAACGCCAGCAGATCCGCCACCACCATCGACAGCTGTGCAAGACCTTAACCTGAGCATGCACACTGCAGATCAACTGTGTCTTCTGCAAGAATGCC
CTGACCACAGCAGAGATCTACAGCTACGCCTACAAGCAGCTGAAGGTGCTGTTCAGAGGCGGCTACCCTTATGCTGCCTGTGCCTGCTGCCTGGAGTTCAC
GGCAAGATCAACCAGTACAGACACTTCGACTACGCTGGCTACGCCACCACAGTGAAGAGAGAAACAAGCAGGACATCTGGACGTGCTGATCCGATGCTAC
CTGTGCCACAAGCCTCAGTGTGAAGTGGAAAAAGTGAAGCACATCTGACCAAGGCCAGATTATCAAGCTGAACTGCACCAGAAAAGGCAGATGCCTGCAC
TGCTGGACCACCTGCATGGAAGACATGCTGCCTAGAGGCAGAAAAAGAAGCGGCTCTGGAGCCACCAACTTTTCCCTGCTGAAACAAGCTGGAGACGTG
GAGGAAAACCTGGCCCTCACGGCAGACAGTGCAGTGAAGGACATCGTGCTGGACCTGCAGCCTCCTGACCCTGTGGGCTGCACGCCTACGAGCAGCTG
GTGGACAGCAGCGAGGACGAAGTGGACGAAGTGGATGGCCAGGACAGCCAGCCTCTGAAGCAGCACTACCAGATCGTCACCTGCTGCTGTGGCTGTGATAGC
AATGTGAGGCTGGTGGTGCAGTGCACAGAAACAGACATCAGAGAAGTGACGCAACTGCTGCTGGGCACCTGAACATCGTGTGCCATCTGTGCTCCCAAG
ACATGATAA

[0385] >pGX3024_전체 서열 <서열번호 3>

[0386] gctgcttcgcatgtacgggccagatatacgcgttgacattgatattgactagttatataatagtaataatcaattacgggggtcattagttcatagecccatatat
ggagttccgcgttacataaacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccacgacccccgcccatgacgtcaataatgacgtatgttcccatagt aac
gccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaatgcccacttggcagtagatcaatgtagtcatatgccaagtacgccccctat
tgacgtcaatgacggttaaatggcccgcctggcattatgcccagtagacatttatgggactttcctacttggcagtagatctacgtattagtcacgctat
taccatgggtgatgcggttttggcagtagatcaatgggcgtggatagcgggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccatgacgtcaatgggagttt
gttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgt aacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacgggtgggaggtctataaag
cagagctctctggctaaatagagaacccactgcttactggcttatcgaaattataacgactcactataggagagacccaagctggctagcgtttaaacttaag
cttggtagcagctcggatccgcccacatggatggacctggattctctttctcgttggcgtgctactcgcgttcatagtgagagcaaggatgccagcaca
agcgcaccagcatcgaccagctttgcaagacctttaacctgagcctgcacacacttcagatccagtggtctctctgccgaaatgctctgacaacagcagaa
atctacgctacgctacaaaaacctgaaggtgggtgtggagagacaactttcctttcgctgcctgcgcttgcctggagctgcagggaagatcaatcag
taccggcactttaactacgtgcctacgcccctacagtgaggagggaacaaacgaagacatcctgaagtgctgatcagatgctacctctgccacaagcca
cagtgtagaatcgagaagctgaagcacattctgggcaaggccagatttatcaagctgaacaaccagagaaagggaagatgtctgactgttggacaacctgc
atggaggacctgctgccagaggcagaaagagaagatctggcagcggagctaccaacttctctctgctgaagcaggctggagatgttgaggagaaccaggc
cctcacggccgggtgggtcaccctgaaggatatcgtgctggatctgcagccccctgatcctgtgggccttcacgcctacgaacagctggaggacagctctgaa
gacgaagtggacaaggtggacaagcaggactctcagcctctgacacagcactatcagatcctgacctgctgctcggtgtgactctaacgtgagactgggtg
gtggagtgcaccgatggagacatcagacagctgcaggacctgctgctgggtaccctgaacattgtgtgtcctatctgtgctccaaagccaaggaggcaggaaa
agaagatccggcagcggagccaccaattttctcctgctgaagcaagctggagatgtggaggagaaccctggccctgagagcgccaacgccagcacatccgcc
accaccatcgaccagctgtgcaagaccttaacctgagcatgcacacactgcagatcaactgtgtctctgcaagaatgcctgaccacagcagagatctac
agctacgctacaagcagctgaagtgctgttcagaggcggctacccttatgctgcctgtgcctgctgcctggagtccacggcaagatcaaccagtacaga
cacttcgactacgtggctacgcccaccacagtggaaagaggaaacaaagcaggacatcctggacgtgctgatccgatgctacctgtgccacaagcctcagtg
gaagtggaaaaagtgaagcacatcctgaccaaggccagattcatcaagctgaactgcaccagaaaaggcagatgcctgactgctggaccacctgcatggaa
gacatgctgccttagaggcagaaaaagaagcggctctggagccaccaacttttcctgctgaaacaagctggagacgtggaggaaaacctggccctcac
ggcagacagctgacactgaaggacatcgtgctggacctgcagcctcctgacctgtgggcctgcagcctacgagcagctggaggacagcagaggacgaa
gtggacgaagtggatggccaggacagccagcctctgaagcagcactaccagatcgtcactgctgctgtggctgtgatagcaatgtgaggctgggtggcgag
tgacagaaaacagacatcagagaagtgcagcaactgctgctgggcacctgaacatcgtgtgtccatctgtgctcccaagacatgataactcgagtctaga
gggcccgtttaaacccgctgatcagcctcgactgtgccttctagtggcagccatctgttgtttgcccctccccctgcttcttgacctggaaggtgcc
actcccactgtcctttcctataaaaatgaggaaatgcatcgcatgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtgggggtggggcaggacagcaagggg
gaggattgggaagacaatagcaggcatgctggggatgcggtgggctctatggcttctactgggcgggttttatggacagcaagcgaaccggaattgccagctg
gggcgcctctggtaaggttgggaagccctgcaagtaaacctggatggctttcttggcccaaggatctgatggcgaggggatcaagctctgatcaagaga
caggatgaggatcgtttcgcatgattgaacaagatggatgcacgcagggtctccggccgcttgggtggagaggctattcggtatgactgggcacaacaga
caatcggtgctctgatgccgccgtgttccggctgtcagcgagggggccccgggtctttttgtcaagaccgacctgtccggtgcctgaatgaactgcaag
acgaggcagcgcggtctatcgtggctggccacgacgggcgttcttgcgcagctgtgctgcagctgtgactgaagcgggaaggaggtggctgctattgggcg
aagtggcggggcaggatctcctgtcatctcacttgcctcctgccagaaagtatccatcatggctgatgcaatgcggcggtgcatacgttgatccggcta
cctgccccattcgaccaccaagcgaacatcgcatcgagcgagcagctactcggtggaagccggctctgtcgatcaggatgatctggacgaagagcatcagg
ggctcgccagccagcgaactgttgcagggctcaaggcgagcatccccagcgcgaggatctcgtcgtgacccatggcgatgcctgcttgcgaatatcatgg
tggaaaaatggccgcttttctggattcatcgactgtggccggctgggtgtggcgaggcctatcaggacatagcgttggctaccctgatattgctgaagagc

ttggcggcgaatgggctgaccgcttctcgtgctttacggtatcgccgctcccgattcgacgcgcacgccttctatcgcttcttgacgagtcttctgaa
ttattaacgcttacaatttctgatgcggtattttctcttacgcatctgtgcggtatttcacaccgcatcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcgga
accctatttgtttatttttctaatacatctcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatagcacgtgctaaaacttcat
ttttaattttaaaggatctaggtgaagatcctttttgataatctcatgacaaaatcccttaacgtgagtttctgttccactgagcgtcagaccccgtagaa
aagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgcgtaaatctgctgcttgcaacaaaaaaccaccgctaccagcgggtggtttgtttgccggatcaa
gagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaatactgttcttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaac
tctgtagcaccgctacatacctcgctctgctaatacctgttaccagtggtgctgccagtgccgat aagtctgtcttaccgggttggactcaagacgatag
ttaccggataaaggcgcagcggctcgggctgaacggggggttctgtcacacagcccagcttgagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgag
ctatgagaaagcgcacgcttcccgaaggagaaaggcggacaggtatccggt aagcggcaggggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccaggggga
aacgcttggtatctttatagtctgtcggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcagggggcgaggacctatggaaaaacgc
agcaacgcggcctttttacggttctcggccttttctgctggccttttctcacatgttctt

[0387] 서열번호 4 pGX6010 전장 서열 및 주석:

요 소:	염기 쌍:
Kan 저항:	298-1059
pUC 복제 기점:	1227-1900
bGH 폴리A:	2290-2528
XhoI 부위:	2551-2556
hull-12 p35 코딩 서열	2557-3216 (참고: p35 서브유 닛은 반대쪽 가닥에서 암호 화된다)
PmeI 부위:	3217-3224
sCMV 프로모터:	3209-3711
hCMV 프로모터:	4200-5024
SalI 부위:	5030-5035
hull-12 p40:	5036 -6022
MluI 부위:	6023-6028
SV40 폴리A:	6024-6229

[0388]

[0389] aaatgggggc gctgaggctt gcctcgtgaa gaaggtgttg ctgactcata ccaggcctga 60
[0390] atcgcccat catccagcca gaaagtgagg gagccacggt tgatgagagc ttgtttgtag 120
[0391] gtggaccagt tggtagtttt gaacttttgc ttgccacgg aacggtctgc gttgtcggga 180
[0392] agatgcgtga tctgatcctt caactcagca aaagttcgat ttattcaaca aagccgccgt 240
[0393] cccgtcaagt cagcgtaatg ctctgccagt gttacaacca attaaccaat tctgcgttca 300
[0394] aaatggtatg cgttttgaca catccactat atatccgtgt cgttctgtcc actcctgaat 360
[0395] cccattccag aaattctcta gcgattccag aagtttttca gactcggaag gttgaccaga 420
[0396] cattacgaac tggcacagat ggtcataacc tgaaggaaga tctgattgct taactgcttc 480
[0397] agttaagacc gacgcgctcg tcgtataaca gatgcgatga tgcagaccaa tcaacatggc 540
[0398] acctgccatt gctacctgta cagtcaagga tggtagaaat gttgtcggtc cttgcacacg 600
[0399] aatattacgc catttgcttg cataattcaa cagctcttct acgataaggg cacaatcgc 660
[0400] atcgtggaac gtttgggctt ctaccgattt agcagtttga tacactttct ctaagtatcc 720
[0401] acctgaatca taaatcgga aaatagagaa aaattgacca tgtgtaagcg gccaatctga 780
[0402] ttccacctga gatgcataat ctagtagaat ctcttcgcta tcaaaattca cttccacctt 840
[0403] ccaactcacc gttgtccatt catggctgaa ctctgcttcc tctgttgaca tgacacacat 900
[0404] catctcaata tccgaatag gaccatcagt ctgacgacca agagagccat aaacaccaat 960
[0405] agccttaaca tcatcccat atttatcaa tttcgttcc ttaatttcat gaacaatctt 1020
[0406] cattctttct tctctagta ttattattgg tccgttcata acacccttg tattactgtt 1080

[0407] tatgtaagca gacagtttta ttgttcatga tgatataatt ttatcttgtg caatgtaaca 1140

[0408] tcagagattt tgagacacaa cgtggctttc cccggcccat gacaaaaatc ccttaacgtg 1200

[0409] agttttcggt ccaactgagcg tcagaccccg tagaaaagat caaaggatct tcttgagatc 1260

[0410] ctttttttct gcgcgtaatc tgctgcttgc aaacaaaaaa accaccgcta ccagcgggtg 1320

[0411] ttgttttgcc ggatcaagag ctaccaactc tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag 1380

[0412] cgcagatacc aaatactgtt cttctagtgt agccgtagt ttgccaccac ttcaagaact 1440

[0413] ctgtagcacc gcctacatac ctgcctctgc taatcctgtt accagtggct gctgccagt 1500

[0414] gcgataagtc gtgtcttacc ggggttgact caagacgata gttaccgat aaggcgcagc 1560

[0415] ggtcgggctg aacggggggg tcgtgcacac agcccagctt ggagcgaacg acctacaccg 1620

[0416] aactgagata cctacagcgt gagctatgag aaagcgccac gcttcccga gggagaaagg 1680

[0417] cggacaggta tccggtaagc ggcagggtcg gaacaggaga gcgcacgagg gagcttccag 1740

[0418] ggggaaacgc ctggtatctt tatagtctcg tcgggtttcg ccacctctga cttgagcgtc 1800

[0419] gatttttgtg atgctcgtca ggggggcgga gcctatggaa aaacgccagc aacgcgcct 1860

[0420] ttttacggtt cctggccttt tgctggcctt ttgctcacat gttctttcct gcgttatccc 1920

[0421] ctgattctgt ggataaccgt attaccgcct ttgagtgagc tgataccgt cgccgcagcc 1980

[0422] gaacgaccga gcgcagcgag tcagtgagcg aggaagcgga agagcgctg atgcggtatt 2040

[0423] ttctccttac gcatctgtgc ggtatttcac accgcatatg gtgcactctc agtaaatct 2100

[0424] gctctgatgc cgcatagtta agccagtatc tgctccctgc ttgtgtgtg gaggtcgctg 2160

[0425] agtagtgcgc gagcaaaatt taagctacaa caaggcaagg cttgaccgac aattgcatga 2220

[0426] agaactctgt tagggtagg cgttttgcgc tgcttcgca tgtacgggcc agatatagcc 2280

[0427] gcggcatcga tgataattcg gcttatttaa attccccagc atgcctgcta ttgtcttccc 2340

[0428] aatctctccc ctgtctgtcc tgccccacc cccccccag aatagaatga cacctactca 2400

[0429] gacaatcgca tgcaatttcc tcatittatt aggaaggagc agtgggagt gcaccttcca 2460

[0430] ggggtcaagga aggcacgggg gaggggcaaa caacagatgg ctggcaacta gaaggcacag 2520

[0431] tcgaggctga tcagcgagct cggcgcgcct ctcgagttag gaagcgttca ggtatgacat 2580

[0432] gaccgatca atagtacac cccgaatccg aaaggcatgc agcagaatgc acagcttgat 2640

[0433] ttttgcctta taaaagtcgg gttctccag actagacttc tgtgggacgg tttcgtatt 2700

[0434] gaagttcagg gcctgcatca gctcgtcaat cactgccagc atattctgat ccagaaagat 2760

[0435] ctgtcgttta gggatcatca gcagcttagc gttcatgggt ttgaattcca cctgatacat 2820

[0436] cttcagatcc tcgtagatgg agctcaggca cagtgccatc atgaagctgg tcttgcgact 2880

[0437] agccaggcaa gaccgcttgg tgatgaagga agtctccctg ctattcagac atgattcgtt 2940

[0438] cttggtcagc tcagtgga ggcaggcttc gactgtggag gttttgtcct tagtaaatc 3000

[0439] ctctggctgc atttctcag aagtacaagg gtaaaactcc agtgtctgtc tagctttctg 3060

[0440] cagcatattg gacacggccc gcagcagggt ctggctatgg tgcaggcagg ggaacatgcc 3120

[0441] aggatcgggg gtagcgacag gcagatttcg agccagtgc aggtgatcca gcaggaccag 3180

[0442] ggtagcgacc agcagcagg accgagcggg gcacatgttt aaacgtctct ccgacgtccc 3240

[0443] caggcagaat ggcgggttccc taaacgagca ttgcttatat agacctccca ttaggcacgc 3300

[0444] ctaccgcccc ttacgtcaa tggaacgccc atttgcgtca ttgccctcc ccattgacgt 3360

[0445] caatggggat gtacttggca gccatcgcg gccatttacc gccattgacg tcaatgggag 3420

[0446] tactgccaat gtaccctggc gtacttccaa tagtaatgta cttgccaagt tactattaat 3480

[0447] agatatgtat gtactgccaa gtgggccatt taccgtcatt gacgtcaata gggggcgtag 3540

[0448] gaacggatat gaatgggcaa tgagccatcc catlgacgtc aatggtgggt ggtcctattg 3600

[0449] acgtcaatgg gcattgagcc aggcggggcca ttaccgtaa ttgacgtcaa tgggggaggc 3660

[0450] gccatatacg tcaataggac cgcccatatg acgtcaatag gaaagacat gctaagccga 3720

[0451] attatcgcg ctatctgagg ggactagggt gtgttttaggc gaaaagcggg gcttcggttg 3780

[0452] tacgcggtta ggagtccct caggatatag tagtttcgct tttgcatagg gaggggga 3840

[0453] tgtagtctta tgcaatactc ttgtagtctt gcaacatggt aacgatgagt tagcaacatg 3900

[0454] ccttacaagg agagaaaaag caccgtgcat gccgattggt ggaagtaagg tggtagcatc 3960

[0455] gtgccttatt aggaaggcaa cagacgggtc tgacatggat tggacgaacc actgaattcc 4020

[0456] gcattgcaga gatattgtat ttaagtgcct agctcgatac aataaacgcc atttgacat 4080

[0457] tcaccacatt ggtgtgcacc tccaagcttc gaccaattct catgtttgac agcttatcat 4140

[0458] cgcagatccg ggcaacgttg ttgccattgc tgcaggcgca gaactggtag gtatggaaga 4200

[0459] tctatacatt gaatcaatat tggcaattag ccatattagt cattggttat atagcataaa 4260

[0460] tcaatattgg ctattggcca ttgcatacgt tgtatctata tcataatatg tacatttata 4320

[0461] ttggctcatg tccaatatga ccgccatgtt gacattgatt attgactagt tattaatagt 4380

[0462] aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc catatatgga gttccgcgtt acataactta 4440

[0463] cggtaaatgg cccgcctggc tgaccgcccc acgacccccg cccattgacg tcaataatga 4500

[0464] cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga ctttcattg acgtcaatgg gtggagtatt 4560

[0465] tacggtaaac tgcccaactg gcagtagatc aagtgtatca tatgccaagt ccgcccccta 4620

[0466] ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgctt ggcatatgc ccagtagatg accttacggg 4680

[0467] actttcctac ttggcagtag atctacgtat tagtcatcgc tattaccatg gtgatgcggt 4740

[0468] tttggcagta catcaatggg cgtggatagc ggtttgactc acggggattt ccaagtctcc 4800

[0469] accccattga cgicaatggg agtttgtttt ggcacaaaa tcaacgggac ttccaaaat 4860

[0470] gtcgtaacaa ctccgcccc ttgacgcaaa tgggcggtag gcgtgtacgg tgggaggtct 4920

[0471] atataagcag agctcgttta gtgaaccgtc agatcgctg gagacgcat ccacgtgtt 4980

[0472] ttgacctca tagaagacac cgggaccgat ccagcctccg cgggcgcgcg tcgacatgtg 5040

[0473] ccatcagcag ctggatcatc cttggttttag tctggtgttt ctggcttctc cactggtcgc 5100

[0474] tatctgggaa ctgaaaaagg atgtgtacgt ggtcgagctg gactggtagc cagatgcacc 5160

[0475] cggagaaatg gtgttcctga cctgcgacac acccgaggaa gatggcatca cttggaccct 5220

[0476] ggaccagagc tccgaggtgc tgggatctgg caagacactg actattcagg tcaaagaatt 5280

[0477] cggggatgcc ggacagtaca catgtcaciaa gggcggggag gtgctgagtc actcactgct 5340

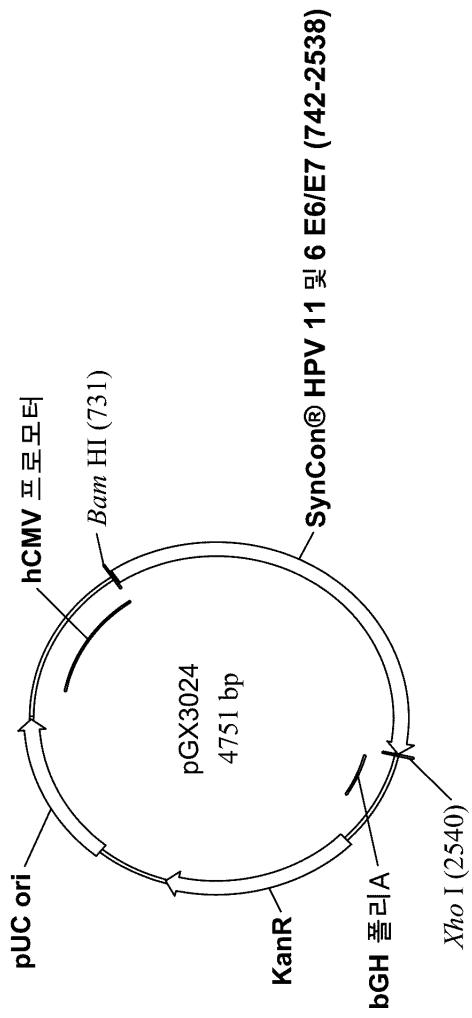
[0478] gctgctgcat aagaaagaag acggcatctg gtctactgac attctgaagg atcagaaaga 5400

- [0479] gcctaagaac aaaaccttcc tgagatgcga agctaagaat tatagtggga ggtttacctg 5460
- [0480] ttggtggctg accacaatct caactgacct gacctttagc gtgaaatcta gtagggggtc 5520
- [0481] aagcgatcca cagggagtga cctgcggagc agctacactg agcgccgagc gggtagagagg 5580
- [0482] agacaacaag gagtacgaat atagtgtcga gtgccaggaa gattcagcct gtcccgagc 5640
- [0483] cgaggaatcc ctgcctatcg aagtgatggt ggacgctgtg cacaagctga aatacgaaaa 5700
- [0484] ctacacatcc tctttcttta ttgcgacat cattaagcca gatcccccta aaaacctgca 5760
- [0485] gctgaagccc ctgaaaaatt cccgacaggt ggaggtctct tgggaatacc ctgatacatg 5820
- [0486] gagcactcca cattcttatt tcagctgac tttttgcgtg cagggtccagg gcaagagcaa 5880
- [0487] aagggagaag aaagaccgag tgttcaccga taagacatcc gctactgtca tctgtcgaaa 5940
- [0488] aaacgcaagc atttccgtgc gggcacagga taggtattat tccagcagtt ggtctgagtg 6000
- [0489] ggcttcgctc ccttgtagtt gaacgcgtaa aaagatccag acatgataag atacattgat 6060
- [0490] gagtttggac aaaccacaac tagaatgcag tgaaaaaaat gctttatttg tgaaatttgt 6120
- [0491] gatgctattg ctttatttgt aaccattata agctgcaata aacaagtaa caacaacaat 6180
- [0492] tgcattcatt ttatgtttca ggttcagggg gaggtgtggg aggtttttt 6229
- [0493] 서열번호 5 - p35 DNA 서열:
- [0494] ATGTGTCCAGCGCGCAGCCTCCTCTTGTGGCTACCTGGTCTCCTGGACCACCTCAGTTTGGCCAGAAACCTCCCGTGGCCACTCCAGACCCAGGAATG
TTCCCATGCCCTTACCCTCCCAAACTGCTGAGGGCCGTGAGCAACATGCTCCAGAAGGCCAGACAACTCTAGAATTTTACCCTTGCACCTTCTGAAGAG
ATTGATCATGAAGATATCAGAAAGATAAAACCAGCACAGTGGAGGCCGTGTTTACCATTGGAATTAACCAAGAATGAGAGTTGCCATAATTCAGAGAGACC
TCTTTATACTAATATGGAGTTGCCCTGCCCTCCAGAAAGACCTCTTTATGATGGCCCTGTGCCCTTAGTAGTATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAGGTG
GAGTTCAAGACCATGAATGCAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTCTAGATCAAAACATGCTGGCAGTTATTGATGAGCTGATGCAGGCCCTG
AATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAATCCTCCCTTGAAGAACCGGATTTTATAAACTAAATCAAGCTCTGCATACTTCTCATGCTTTCAGAATT
CGGGCAGTGACTATTGATAGAGTGATGAGCTATCTGAATGCTTCCTAA
- [0495] 서열번호 6 - p35 아미노산 서열:
- [0496] MCPARSLLLVATLVLLDHL SLARNLPVATPDPGMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDI TKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRET
SFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLMKYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNLMAV IDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRI
RAVTIDRVMSYLNAS*
- [0497] 서열번호 7 - p40 DNA 서열:
- [0498] ATGTGTCACCAGCAGTTGGTCATCTCTTGGTTTTCCCTGGTTTTTCTGGCATCTCCCTCGTGGCCATATGGGAAGTGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAA
TTGGATTGGTATCCGGATGCCCTGGAGAAATGGTGGTCTACCTGTGACACCCCTGAAGAAGATGGTATCACCTGGACCTTGGACCAGAGCAGTGAGGTC
TTAGGCTCTGGCAAAACCTGACCATCAAGTCAAAGAGTTTGAGAGTGCTGGCCAGTACACCTGTCACAAAGGAGGCGAGGTTCTAAGCCATTGCTCTCTG
CTGCTTCACAAAAGGAAGATGGAATTTGGTCCACTGATATTTAAAGGACCAGAAAGAACCCAAAAATAAGACCTTTCTAAGATGCGAGGCCAAGAATTAT
TCTGGACGTTTACCTGCTGGTGGGTGACGACAATCAGTACTGATTTGACATTCAGTGTCAAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCCAAGGGGTGACGTGC
GGAGCTGCTACACTCTCTGCAGAGAGAGTCAGAGGGGACAACAAGGAGTATGAGTACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCTGCCAGCTGCTGAGGAG
AGTCTGCCCATTGAGGTCATGGTGGATGCCGTTCAAGCTCAAGTATGAAAACACACAGCAGCTTCTCATCAGGACATCATCAAACCTGACCCACCC
AAGAAGTTCAGCTGAAGCCATTAAAGAATTCTCGGCAGGTGGAGGTGACGTTGGAGTACCTGACACCTGGAGTACTCCACATTCTACTTCTCCCTGACA
TTCTGCGTTCAAGTCCAGGGCAAGAGCAAGAGAGAAAAGAAAGATAGAGTCTTACGGACAGACCTCAGCCACGGTCATCTGCCGAAAAATGCCAGCATT
AGCGTGGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGCGAATGGGCATCTGTGCCCTGCAGTTAG
- [0499] 서열번호 8 p40 아미노산 서열:
- [0500] MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVVVELDWYPDAPGEMVVL TCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSL
LLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSEVCQEDSACPAAEE
SLPIEVMDVAHVHLKYENYSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASI
SVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS*

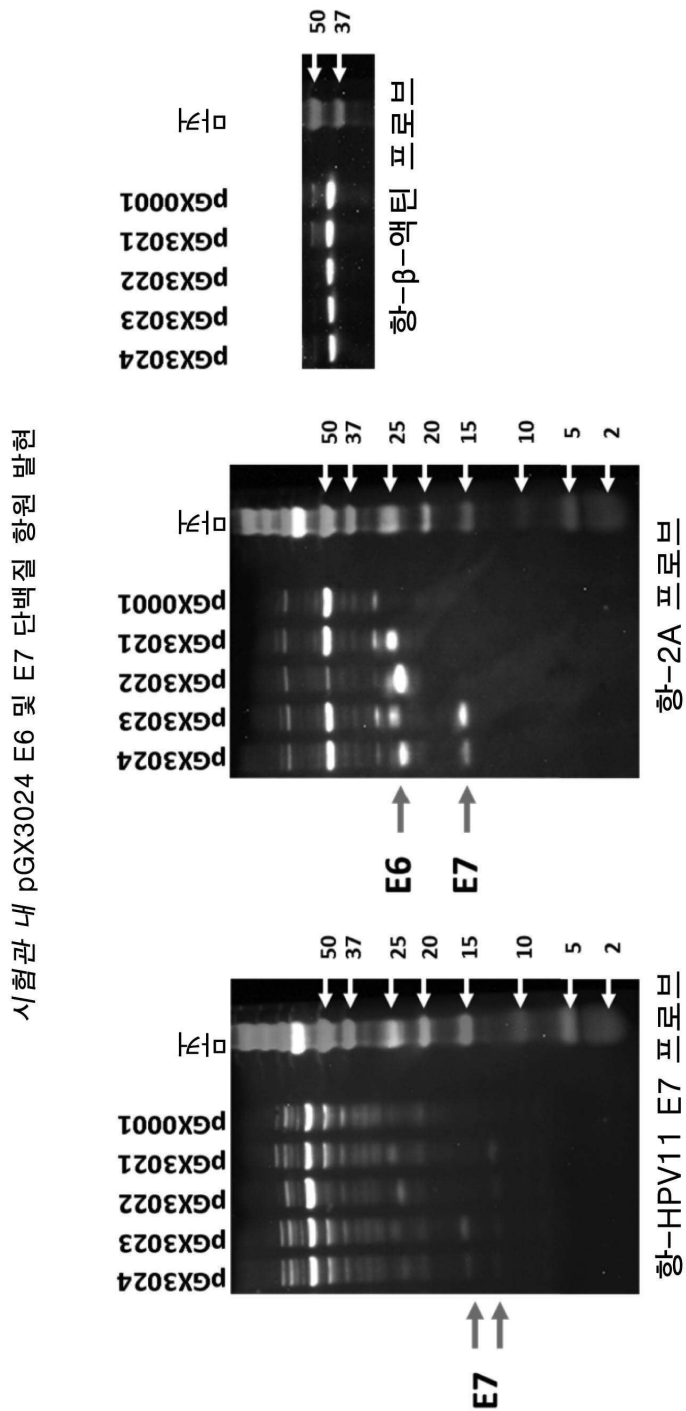
- [0501] 서열번호 9 IgE 리더 DNA 서열
- [0502] atggactgga cctggatcct gtctctggtg gccgctgcca cacgggtgca cagc
- [0503] 서열번호 10 IgE 리더 단백질
- [0504] Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg
- [0505] Val His Ser
- [0506] >pGX3024 삽입 아미노산 서열과 IgE 리더 서열 <서열번호 11>
- [0507] MDWTWILFLVAAATRVHSESKDASTSATSIDQLCKTFNLSLHTLQIQVFCRNALTAEIYAYAYKNLKVVRDNFPFAACACCELELQGKINQYRHFNYAAY
APTVEETNEDILKVLIRCYLCHKPQCEIEKLKHILGKARF IKLNNQRKGRCLEHWTTCMEDLLPRGRKRRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPHGRVLTK
DIVLDLQPPDPVGLHAYEQLDSEDEVKVDKQDSQPLTQHYQILTCCCGCDNSVRLVVECTDGDIRQLQDLLGLTLNIVCPICAPKPRGRKRRSGSGATN
FSLKQAGDVEENPGPESANASTSATTIDQLCKTFNLSMHTLQINCVFCKNALTAEIYSYAYKQLKVLFRGGYPYAAACACCLEFHGKINQYRHFYAGYAT
TVEEETKQDILDVLIRCYLCHKPQCEVEKVKHILTKARF IKLNCTRKGRCLHCWTTTCMEDMLPRGRKRRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPHGRHVTLDKI
VLDLQPPDPVGLHAYEQLVDSSEDEVDEVDGQDSQPLKQHYQIVTCCCGCDNSVRLVVQCTETDIREVQQLLLGLTLNIVCPICAPKT
- [0508] >pGX3024_IgE 리더 서열만 삽입 <서열번호 12>
- [0509] ATGGATTGGACCTGGATTCTCTTTCTCGTTGCCGCTGCTACTCGCGTTCATAGTGAGAGCAAGGATGCCAGCACAAAGCGCCACCAGCATCGACCAGCTTTGC
AAGACCTTTAACCTGAGCCTGCACACTTCAGATCCAGTGTGTCTTCTGCCGAAATGCTCTGACAACAGCAGAAATCTACGCCTACGCCTACAAAAACCTG
AAGGTGGTGTGGAGAGACAATTTCTTTCTCGCTGCCTGCCTTGTCTGCTGGAGCTGCAGGGCAAGATCAATCAGTACCGGCCTTCAACTACGCTGCCTAC
GCCCCACAGTGGAGGAGGAAACAAACGAAGACATCCTGAAGGTGCTGATCAGATGTACCTCTGCCACAAGCCACAGTGTGAAATCGAGAAGCTGAAGCAC
ATTCTGGGCAAGGCCAGATTTATCAAGCTGAACAACAGAGAAAGGGAAGATGTCTGCACTGTTGGACAACCTGCATGGAGGACCTGCTGCCAGAGGCAGA
AAGAGAAGATCTGGCAGCGGAGCTACCAACTTCTCTGCTGAAGCAGGCTGGAGATGTTGAGGAGAACCAGGCCCTCACGGCCGGCTGGTCACCCTGAAG
GATATCGTGTGGATCTGCAGCCCCCTGATCCTGTGGGCCTTCACGCCACGAACAGCTGGAGGACAGCTCTGAAGACGAAGTGGACAAGGTGGACAAGCAG
GACTCTCAGCCTCTGACACAGCACTATCAGATCCTGACCTGCTGCTGCGGCTGTGACTCTAACGTGAGACTGGTGGTGGAGTGCACCGATGGAGACATCAGA
CAGCTGCAGGACCTGCTGCTGGGTACCTGAAACATTGTGTGTCTTATCTGTGCTCCAAAGCCAAGAGGCAGGAAAAGAAGATCCGGCAGCGGAGCCACCAAT
TTCTCCCTGCTGAAGCAAGCTGGAGATGTGGAGGAGAACCCTGGCCCTGAGAGCGCAACGCCAGCACATCCGCCACCACCATCGACCAGCTGTGCAAGACC
TTCAACCTGAGCATGCACACTGCAGATCAACTGTGTCTTCTGCAAGAATGCCCTGACCACAGCAGAGATCTACAGTACGCCTACAAGCAGCTGAAGGTG
CTGTTAGAGGCGGCTACCTTATGCTGCCTGTGCCTGCTGCCTGGAGTTCCACGGCAAGATCAACCAGTACAGACACTTCGACTACGCTGGCTACGCCACC
ACAGTGAAGAGGAAACAAAGCAGGACATCCTGGACGTGCTGATCCGATGCTACCTGTGCCACAAGCCTCAGTGTGAAGTGGAAAAAGTGAAGCACATCCTG
ACCAAGGCCAGATTATCAAGCTGAAGTGCACAGAAAAGGCAGATGCCTGCACTGCTGGACCACCTGCATGGAAGACATGCTGCCTAGAGGCAGAAAAAGA
AGAAGCGGCTCTGGAGCCACCAACTTTTCCCTGCTGAAACAAGCTGGAGACGTGGAGGAAAACCTGGCCCTCACGGCAGACAGTGAAGGACATC
GTGCTGGACCTGCAGCCTCCTGACCCTGTGGGCCTGCACGCCTACGAGCAGCTGGTGGACAGCAGGAGGACGAAGTGGACGAAGTGGATGGCCAGGACAGC
CAGCCTCTGAAGCAGCACTACCAGATCGTCACCTGCTGCTGTGGCTGTGATAGCAATGTGAGGCTGGTGGTGCAGTGCACAGAAACAGACATCAGAGAAGTG
CAGCAACTGCTGCTGGGACCCCTGAACATCGTGTGTCCATCTGTGCTCCCAAGACATGATAA

도면1b

pGX3024의 플라스미드 지도

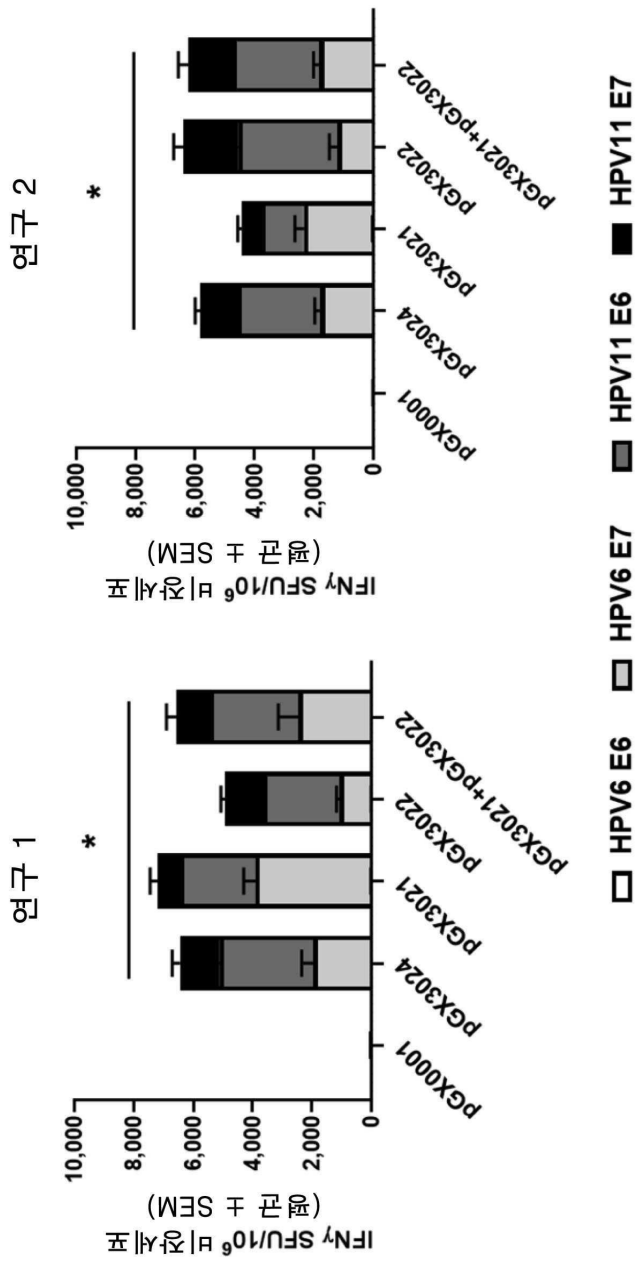


도면2



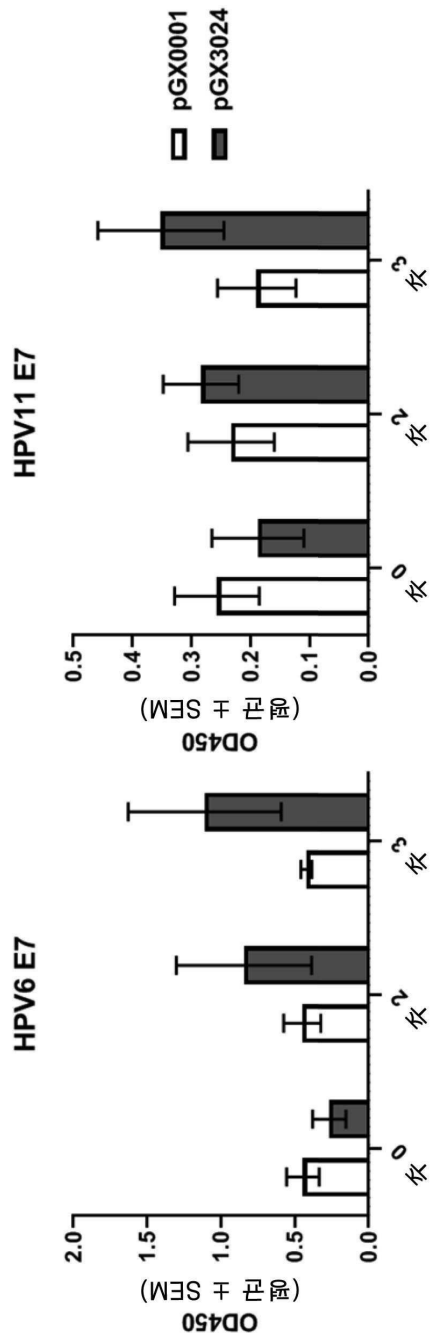
도면3

C57BL/6 마우스의 pGX3024 면역화 후 HPV6 및 HPV11 특이적 세포 반응



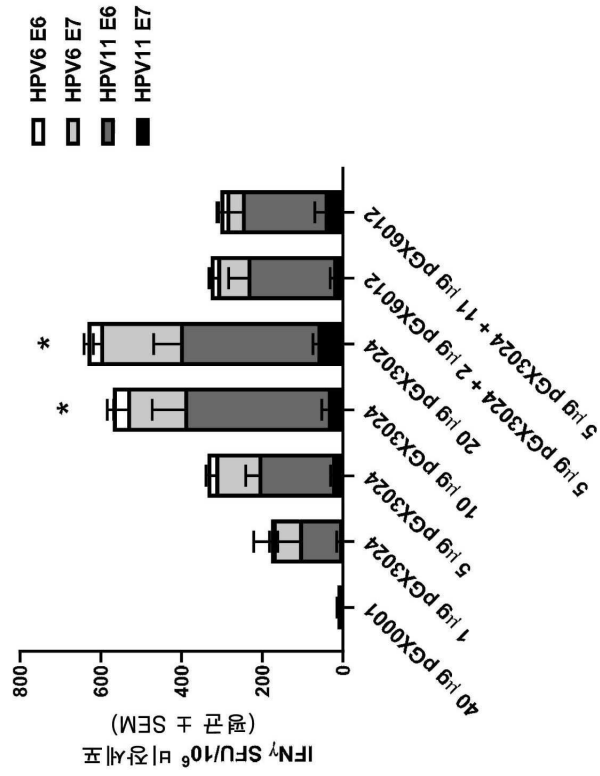
도면4

C57BL/6 마우스의 pGX3024 면역화 후 HPV6 및 HPV11 체액성 반응



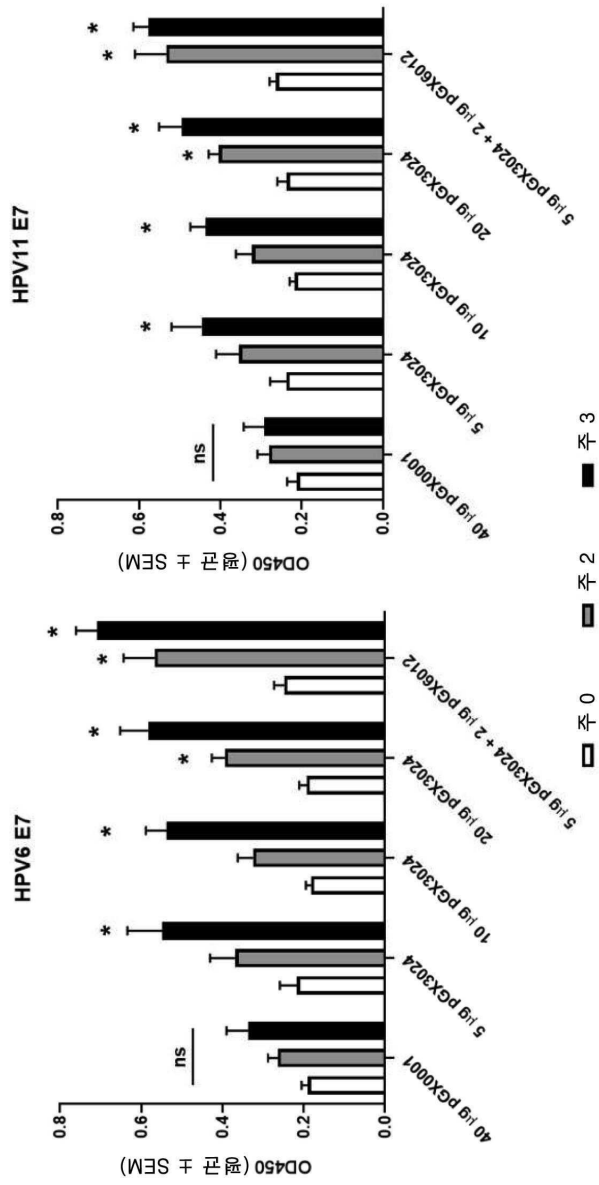
도면5

BALB/c 마우스의 pGX3024 면역화 후 HPV6 및 HPV11 특이적 세포 반응



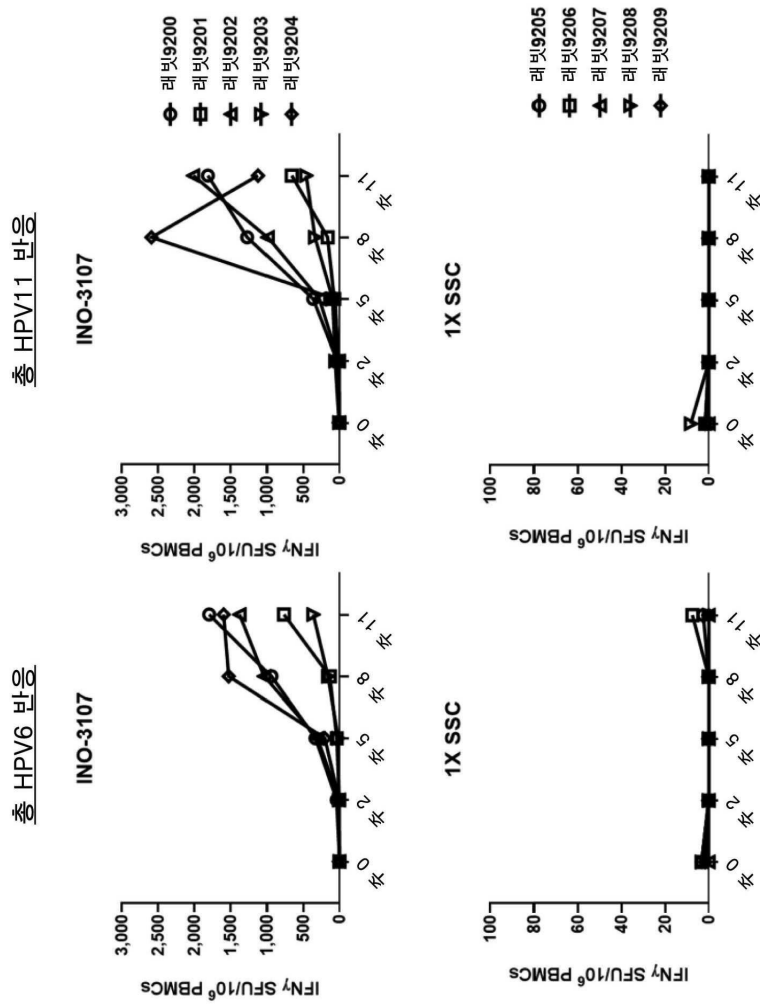
도면6

BALB/c 마우스의 pGX3024 면역화 후 HPV6 및 HPV11 체액성 반응



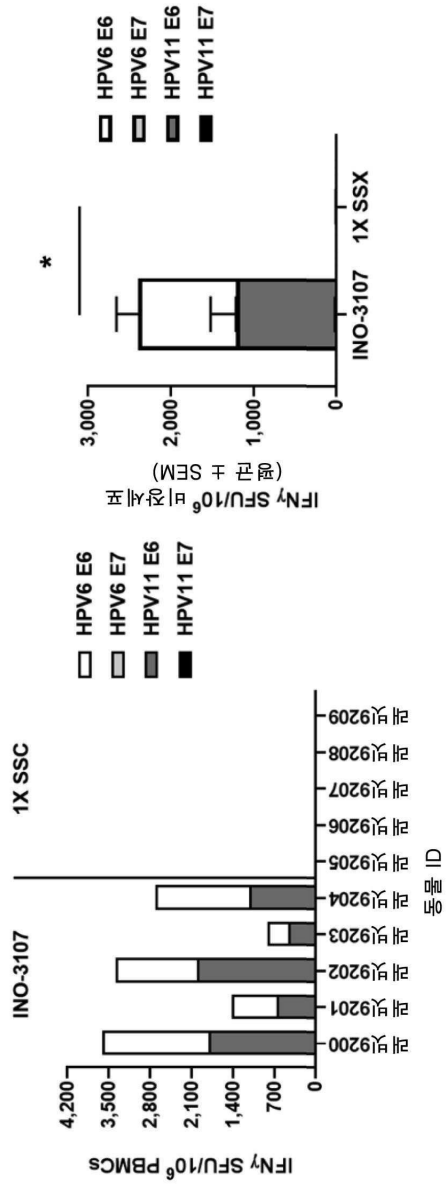
도면7

NZW 래빗의 INO-3107 면역화 후 HPV6 및 HPV11 특정 세포 반응의 시간 경과



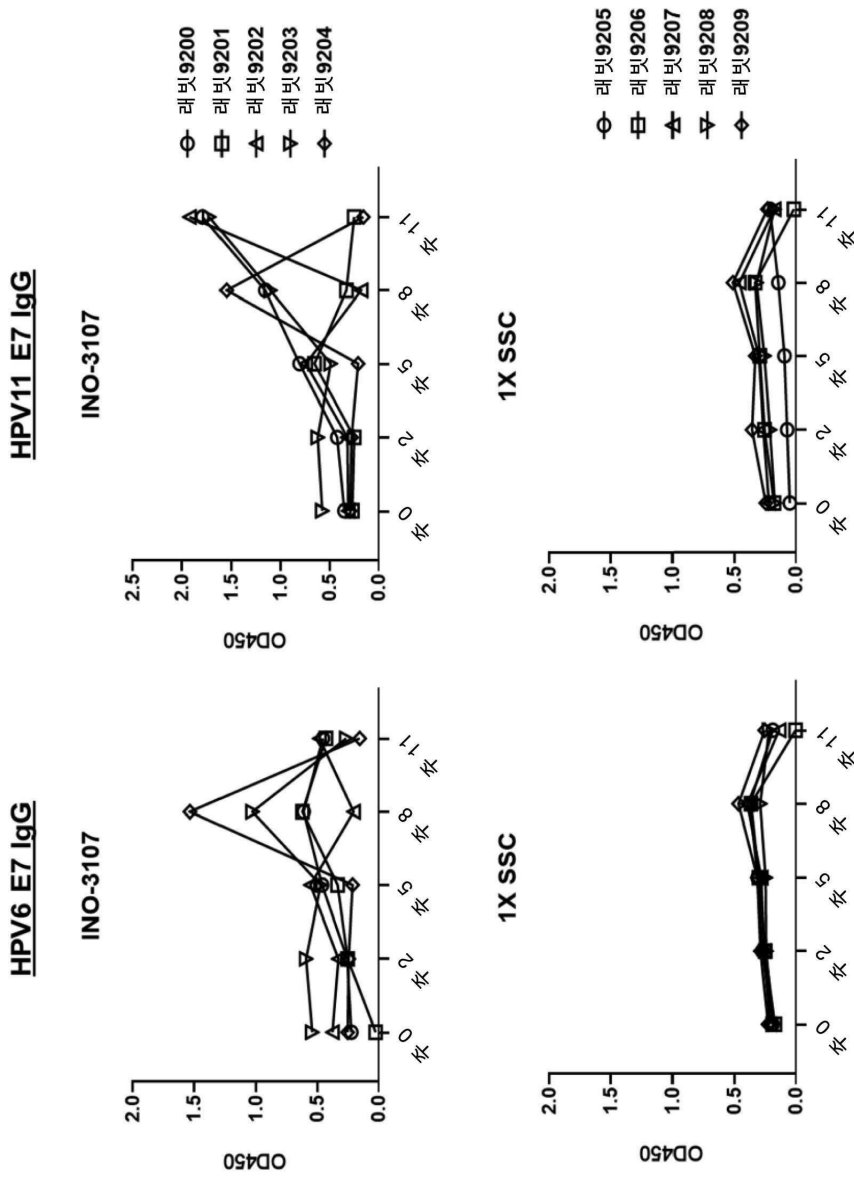
도면8

NZW 래빗의 INO-3107 면역화 후 HPV6 및 HPV11 특이적 세포 반응



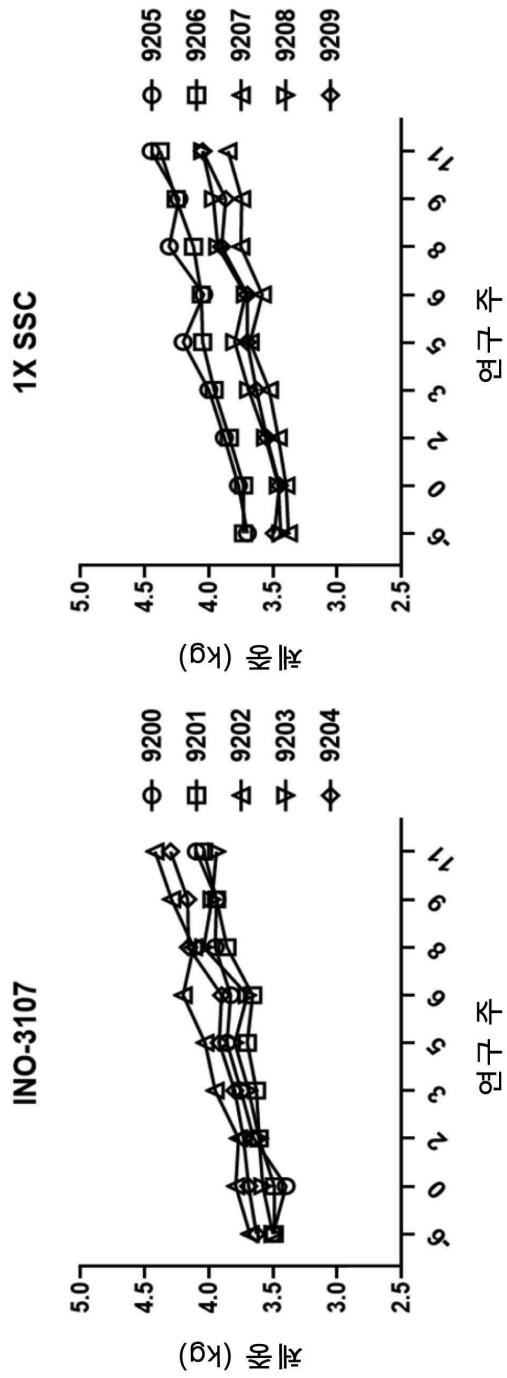
도면9

NZW 래빗의 INO-3107 면역화 후 HPV6 및 HPV11 체액성 반응의 시간 경과



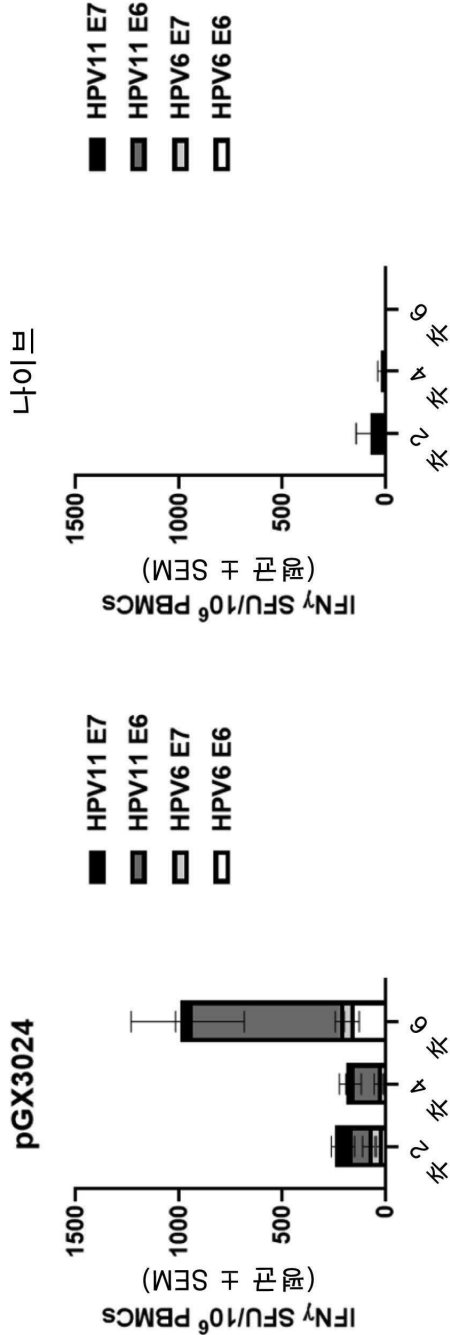
도면10

NZW 래빗의 INO-3107 면역화 체중



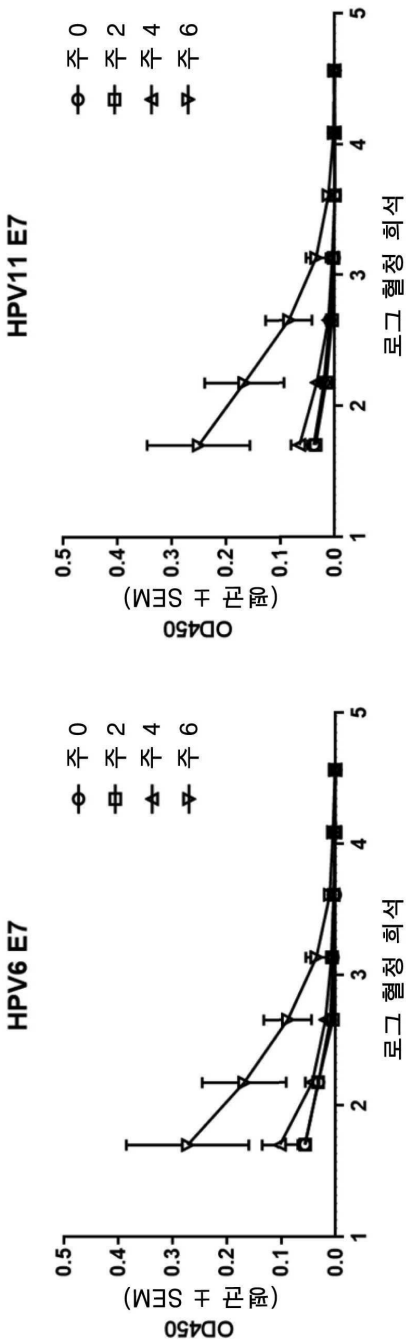
기니피그의 피내 pGX3024 면역화 후 HPV6 및 HPV11 특이적 세포 반응

도면11

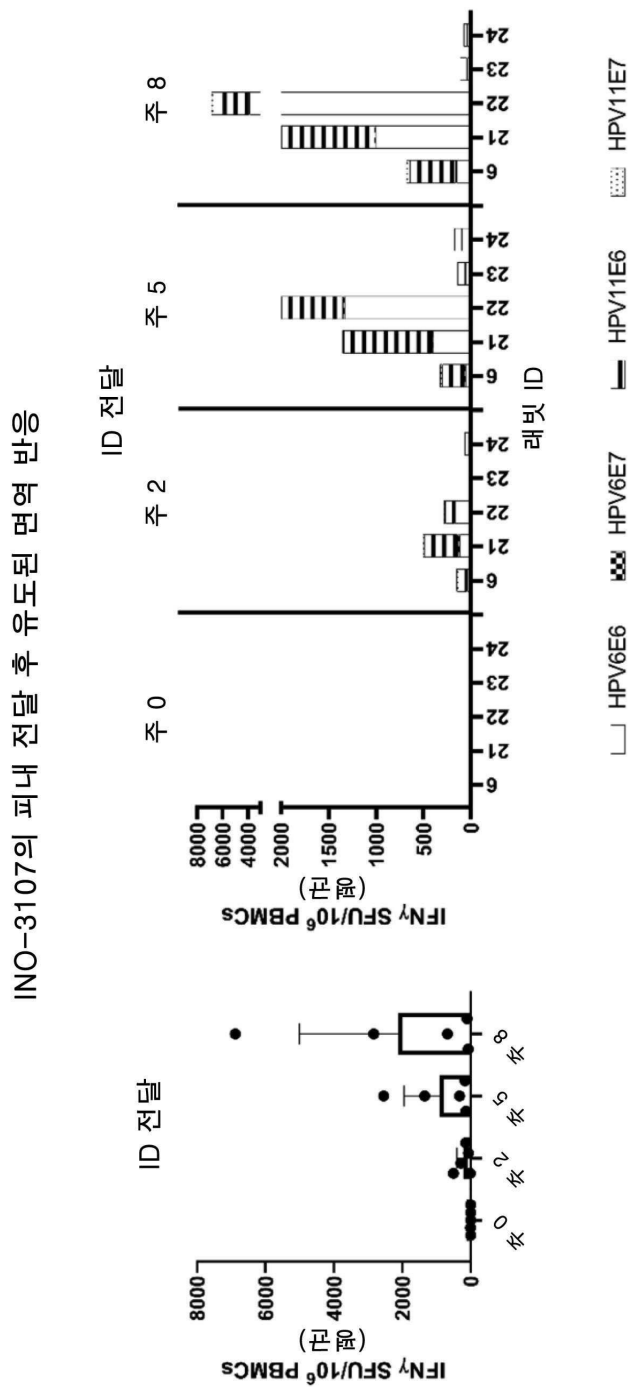


도면12

기니피그의 피내 pGX3024 면역화 후 HPV6 및 HPV11 체액성 반응



도면13



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> INOVIO PHARMACEUTICALS, INC.

<120> VACCINES FOR RECURRENT RESPIRATORY PAPILLOMATOSIS AND METHODS OF USING THE SAME

<130> 104409.000612 PCT

<140><141><150> 63/024,912

<151> 2020-05-14

<160> 12

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 579

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 1

Glu Ser Lys Asp Ala Ser Thr Ser Ala Thr Ser Ile Asp Gln Leu Cys
1 5 10 15

Lys Thr Phe Asn Leu Ser Leu His Thr Leu Gln Ile Gln Cys Val Phe
20 25 30

Cys Arg Asn Ala Leu Thr Thr Ala Glu Ile Tyr Ala Tyr Ala Tyr Lys
35 40 45

Asn Leu Lys Val Val Trp Arg Asp Asn Phe Pro Phe Ala Ala Cys Ala
50 55 60

Cys Cys Leu Glu Leu Gln Gly Lys Ile Asn Gln Tyr Arg His Phe Asn
65 70 75 80

Tyr Ala Ala Tyr Ala Pro Thr Val Glu Glu Glu Thr Asn Glu Asp Ile
85 90 95

Leu Lys Val Leu Ile Arg Cys Tyr Leu Cys His Lys Pro Gln Cys Glu
100 105 110

Ile Glu Lys Leu Lys His Ile Leu Gly Lys Ala Arg Phe Ile Lys Leu
115 120 125

Asn Asn Gln Arg Lys Gly Arg Cys Leu His Cys Trp Thr Thr Cys Met
130 135 140

Glu Asp Leu Leu Pro Arg Gly Arg Lys Arg Arg Ser Gly Ser Gly Ala
145 150 155 160

Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
165 170 175

Gly Pro His Gly Arg Leu Val Thr Leu Lys Asp Ile Val Leu Asp Leu
180 185 190

Gln Pro Pro Asp Pro Val Gly Leu His Ala Tyr Glu Gln Leu Glu Asp
195 200 205

Ser Ser Glu Asp Glu Val Asp Lys Val Asp Lys Gln Asp Ser Gln Pro
210 215 220

Leu Thr Gln His Tyr Gln Ile Leu Thr Cys Cys Cys Gly Cys Asp Ser
225 230 235 240

Asn Val Arg Leu Val Val Glu Cys Thr Asp Gly Asp Ile Arg Gln Leu
245 250 255

Gln Asp Leu Leu Leu Gly Thr Leu Asn Ile Val Cys Pro Ile Cys Ala
260 265 270

Pro Lys Pro Arg Gly Arg Lys Arg Arg Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn
275 280 285

Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
290 295 300

Glu Ser Ala Asn Ala Ser Thr Ser Ala Thr Thr Ile Asp Gln Leu Cys
305 310 315 320

Lys Thr Phe Asn Leu Ser Met His Thr Leu Gln Ile Asn Cys Val Phe
325 330 335

Cys Lys Asn Ala Leu Thr Thr Ala Glu Ile Tyr Ser Tyr Ala Tyr Lys
340 345 350

Gln Leu Lys Val Leu Phe Arg Gly Gly Tyr Pro Tyr Ala Ala Cys Ala
355 360 365

Cys Cys Leu Glu Phe His Gly Lys Ile Asn Gln Tyr Arg His Phe Asp
370 375 380

Tyr Ala Gly Tyr Ala Thr Thr Val Glu Glu Glu Thr Lys Gln Asp Ile
385 390 395 400

Leu Asp Val Leu Ile Arg Cys Tyr Leu Cys His Lys Pro Gln Cys Glu
405 410 415

Val Glu Lys Val Lys His Ile Leu Thr Lys Ala Arg Phe Ile Lys Leu

420 425 430
 Asn Cys Thr Arg Lys Gly Arg Cys Leu His Cys Trp Thr Thr Cys Met
 435 440 445
 Glu Asp Met Leu Pro Arg Gly Arg Lys Arg Arg Ser Gly Ser Gly Ala
 450 455 460

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

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

<210> 2

<211> 1743

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 2

gagagcaagg atgccagcac aagcgccacc agcatcgacc agctttgcaa gaccttaac	60
ctgagcctgc acacacttca gatccagtgt gtcttctgcc gaaatgctct gacaacagca	120
gaaatctacg cctacgccta caaaaacctg aaggtggtgt ggagagacaa ctttcctttc	180
gctgcctgcg ctgtctgcct ggagctgcag ggcaagatca atcagtaccg gcacttcaac	240

tacgtgcct acgcccctac agtggaggag gaaacaaacg aagacatcct gaagggtctg 300
atcagatgct acctctgccca caagccacag tgtgaaatcg agaagctgaa gcacattctg 360
ggcaaggcca gatttatcaa gctgaacaac cagagaaaagg gaagatgtct gcactgttgg 420

acaacctgca tggaggacct gctgcccaga ggcagaaaga gaagatctgg cagcggagct 480
accaacttct ctctgctgaa gcaggctgga gatgttgagg agaaccagg ccctcacggc 540
cggctggtea cctgaagga tatctgtctg gatctgcagc cccctgatcc tgtggcctt 600
cacgcctacg aacagctgga ggacagctct gaagacgaag tggacaaggt ggacaagcag 660
gactctcagc ctctgacaca gcaatcagc atcctgacct gctgctgcgg ctgtgactct 720
aacgtgagac tgggtgggga gtgcaccgat ggagacatca gacagctgca ggacctgctg 780
ctgggtaccc tgaacattgt gtgtcctatc tgtgtccaa agccaagagg caggaaaaga 840

agatccggca gcgagaccac caatttctcc ctgctgaagc aagctggaga tgtggaggag 900
aacctggcc ctgagagcgc caacgccagc acatccgcca ccaccatga ccagctgtgc 960
aagaccttca acctgagcat gcacacactg cagatcaact gtgtcttctg caagaatgcc 1020
ctgaccacag cagagatcta cagctacgcc tacaagcagc tgaaggtgct gttcagaggc 1080
ggctaccctt atgtgcctg tgcctgctgc ctggagtcc acggcaagat caaccgtac 1140
agacacttgc actacgtgg ctacgccacc acagtgaag aggaacaaa gcaggacatc 1200
ctggacgtgc tgatccgatg ctacctgtgc cacaagcctc agtgtgaagt ggaaaaagtg 1260

aagcacatcc tgaccaaggc cagattcatc aagctgaact gcaccagaaa aggcagatgc 1320
ctgcaactgt ggaccacctg catggaagac atgtgccta gaggcagaaa aagaagaagc 1380
ggctctggag ccaccaactt ttccctgctg aaacaagctg gagacgtgga ggaaaaccct 1440
ggccctcagc gcagacacgt gacactgaag gacatcgtgc tggacctgca gcctcctgac 1500
cctgtgggcc tgcacgccta cgagcagctg gtggacagca gcgaggacga agtggacgaa 1560
gtggatggcc aggacagcca gcctctgaag cagcactacc agatcgtcac ctgctgctgt 1620
ggctgtgata gcaatgtgag gctggtggtg cagtgcacag aaacagacat cagagaagtg 1680

cagcaactgc tgctgggcac cctgaacatc gtgtgtccca tctgtgtcc caagacatga 1740
taa 1743

<210> 3

<211> 4751

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 3

gctgcttcgc gatgtacggg ccagatatac gcgttgacat tgattattga ctagttatta	60
atagtaatca attacggggg cattagttca tagcccatat atggagttcc gcgttacata	120
acttacggta aatggcccg cttggctgacc gcccaacgac ccccgcccat tgacgtcaat	180
aatgacgtat gttcccatag taacccaat agggacttcc cattgacgtc aatgggtgga	240
glatttacgg taaactgccc acttggcagc acatcaagtg tatcatatgc caagtacgcc	300
ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgccagc acatgacctt	360
atgggacttt cctacttggc agtacatctc cgtattagtc atcgttatta ccatggtgat	420
gcggttttgg cagtacatca atgggcgtgg atagcggttt gactcacggg gatttccaag	480
tctccacccc attgacgtca atgggagttt gttttggcac caaaatcaac gggactttcc	540
aaaatgtcgt aacaactccg ccccatgtac gcaaatgggc ggtaggcgtg tacgggtgga	600
ggtctatata agcagagctc tctggctaac tagagaaccc actgcttact ggcttatcga	660
aattaatacg actcactata gggagacceca agctggctag cgtttaaact taagcttggc	720
accgagctcg gatccgccac catggattgg acctggattc tctttctcgt tgccgctgct	780
actcgcgttc atagttagag caaggatgcc agcacaagcg ccaccagcat cgaccagctt	840
tgcaagacct ttaacctgag cctgcacaca cttcagatcc agtgtgtctt ctgccgaaat	900
gctctgacaa cagcagaaat ctacgcctac gcctacaaaa acctgaaggt ggtgtggaga	960
gacaactttc ctttcgtcgc ctgcgcttgc tgcctggagc tgcagggcaa gatcaatcag	1020
taccggcact tcaactacgc tgcctacgcc cctacagtgg aggaggaaac aaacgaagac	1080
atcctgaagg tgctgatcag atgctacctc tgccacaagc cacagtgtga aatcgagaag	1140
ctgaagcaca ttctgggcaa ggccagattt atcaagctga acaaccagag aaagggaaga	1200
tgtctgcact gttggacaac ctgcatggag gacctgctgc ccagaggcag aaagagaaga	1260
tctggcagcg gagctaccaa cttctctctg ctgaagcagg ctggagatgt tgaggagaac	1320
ccaggccctc acggcgggct ggtcaccctg aaggatatcg tgctggatct gcagccccc	1380
gatcctgtgg gccttcacgc ctacgaacag ctggaggaca gctctgaaga cgaagtggac	1440
aaggtggaca agcaggactc tcagcctctg acacagcact atcagatcct gacctgctgc	1500
tgccgctgtg actctaactg gagactggcg gtggagtga ccgatggaga catcagacag	1560
ctgcaggacc tgctgtctggg taccctgaac attgtgtgtc ctatctgtgc tccaaagcca	1620
agaggcagga aaagaagatc cggcagcgga gccaccaatt tctccctgct gaagcaagct	1680
ggagatgtgg aggagaaccc tggccctgag agcgccaacg ccagcacatc cgccaccacc	1740

atcgaccagc tgtgcaagac cttcaacctg agcatgcaca cactgcagat caactgtgtc	1800
ttctgcaaga atgccctgac cacagcagag atctacagct acgcctacaa gcagctgaag	1860
gtgctgttca gaggcggtca cccttatgct gccgtgtcct gctgcctgga gttccacggc	1920
aagatcaacc agtacagaca cttcgactac gctggctacg ccaccacagt ggaagaggaa	1980
acaaagcagg acatcctgga cgtgctgac cgtatgctacc tgtgccacaa gcctcagtgt	2040
gaagtggaaa aagtgaagca catcctgacc aaggccagat tcatcaagct gaactgcacc	2100
agaaaaggca gatgcctgca ctgctggacc acctgcatgg aagacatgct gcctagaggc	2160
agaaaaagaa gaagcggctc tggagccacc aacttttccc tgcgtgaaaca agctggagac	2220
gtggaggaaa accctggccc tcacggcaga cacgtgacac tgaaggacat cgtgctggac	2280
ctgcagcctc ctgacctgt gggcctgcac gcctacgagc agctggtgga cagcagcgag	2340
gacgaagtgg acgaagtgga tggccaggac agccagcctc tgaagcagca ctaccagatc	2400
gtcacctgct gctgtggctg tgatagcaat gtgaggctgg tggcgcagtg cacagaaaca	2460
gacatcagag aagtgcagca actgctgctg ggcaccctga acatcgtgtg tcccatctgt	2520
gtcccaaga catgataact cgagctctaga gggcccgttt aaacccgctg atcagcctcg	2580
actgtgcctt ctagtgtcca gccatctgtt gtttggccct ccccgctgcc ttccttgacc	2640
ctggaagggtg ccactccac tgtcctttcc taataaaatg aggaaattgc atcgattgt	2700
ctgagtaggt gtatttctat tctgggggt ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat	2760
tgggaagaca atagcaggca tgctggggat gcggtgggct ctatggcttc tactgggcgg	2820
ttttatggac agcaagcgaa ccggaattgc cagctggggc gccctctggt aaggttggga	2880
agccctgcaa agtaaaactgg atggctttct tgccgccaag gatctgatgg cgcaggggat	2940
caagctctga tcaagagaca ggatgaggat cgtttcgcac gattgaacaa gatggattgc	3000
acgcaggttc tccggccgct tgggtggaga ggctattcgg ctatgactgg gcacaacaga	3060
caatcggtg ctctgatgcc gccgtgttcc ggctgtcagc gcaggggcgc ccggttcttt	3120
ttgtcaagac cgacctgtcc ggtgccctga atgaactgca agacgaggca gcgcggctat	3180
cgtggctggc cagcagggc gttccttgcg cagctgtgct cgacgtttgc actgaagcgg	3240
gaagggactg gctgctattg ggcgaagtgc cggggcagga tctcctgtca tctcaccttg	3300
ctctgccga gaaagtatcc atcatggctg atgcaatgcg gcggctgcat acgtttgatc	3360
cggctacctg cccattcgac caccaagcga aacatcgcat cgagcgagca cgtactcgga	3420
tggaagccgg tcttgtcgat caggatgatc tggacgaaga gcatcagggg ctgcgccag	3480

ccgaactgtt cgccaggctc aaggcgagca tgcccgcgg cgaggatctc gtcgtgaccc 3540

atggcgatgc ctgcttgccg aatatcatgg tggaaaatgg ccgcttttct ggattcatcg 3600

actgtggccg gctgggtgtg gcggaccgct atcaggacat agcgttggct acccgtgata 3660

ttgctgaaga gcttggcggc gaatgggctg accgcttctt cgtgctttac ggtatcgccg 3720

ctcccgattc gcagcgcatc gccttctatc gccttcttga cgagtcttct tgaattatta 3780

acgcttaciaa tttctgatg cggatatttc tccttacgca tctgtgcggg atttcacacc 3840

gcatcagggtg gcacttttgc gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttgttt atttttctaa 3900

atacatcaaa atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct tcaataatag 3960

cacgtgctaa aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat 4020

ctcatgacca aaatccctta acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa 4080

aagatcaaag gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca 4140

aaaaaacccac cgctaccagc ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt 4200

ccgaaggtaa ctggcttcag cagagcgagc ataccataa ctgttcttct agttagcccg 4260

tagttaggcc accacttcaa gaactctgta gcaccgcta catacctcgc tctgctaate 4320

ctgttaccag tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga 4380

cgatagttag cgataaggc gcagcggctg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc 4440

agcttggagc gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc 4500

gccacgcttc ccgaaggagc aaagcgggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaaca 4560

ggagagcgca cgaggagct tccaggggga aacgcctggg atctttatag tcctgtcggg 4620

tttcgccacc tcigacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta 4680

tggaaaaacg ccagcaacgc ggccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgc 4740

cacatgttct t 4751

<210> 4

<211> 6229

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 4

aaatgggggc gctgaggtct gcctcgtgaa gaaggtgttg ctgactcata ccaggcctga 60

atcgcccat catccagcca gaaagtgagg gagccacggg tgatgagagc tttgtttag 120

gtggaccagt tggtagtttt gaacttttgc ttgcccacgg aacgggtctgc gttgtcggga	180
agatgcgtga tctgacacct caactcagca aaagttcgat ttattcaaca aagccgccgt	240
cccgtaagt cagcgtaatg ctctgccagt gttacaacca attaaccaat tctgcgttca	300
aaatggtagt cgttttgaca catccactat atatccgtgt cgttctgtcc actcctgaat	360
cccatccag aaatttctta gcgattccag aagttttctca gattcggaag gttgaccaga	420
cattacgaac tggcacagat ggtcataacc tgaaggaaga tctgattgct taactgcttc	480
agttaagacc gacgcgctcg tcgtataaca gatgcgatga tgcagaccaa tcaaatggc	540
acctgccatt gctacctgta cagtcaagga tggtagaaat gttgtcggtc cttgcacacg	600
aatattacgc catttgcttg catattcaaa cagctcttct acgataaggg cacaatcgc	660
atcgtggaac gtttgggctt ctaccgattt agcagtttga tacactttct ctaagtatcc	720
acctgaatca taaatcgga aaatagagaa aaattgacca tgtgtaagcg gccaatctga	780
ttccacctga gatgcataat ctatagaat ctcttcgcta tcaaaattca cttccacctt	840
ccactcaccg gttgtccatt catggctgaa ctctgcttcc tctgttgaca tgacacacat	900
catctcaata tccgaatagc gaccatcagt ctgacgacca agagagccat aaacaccaat	960
agccttaaca tcatcccat atttatcaa tttcgttcc ttaatttcat gaacaatctt	1020
cattctttct tctctagta ttattattgg tccgttcata acacccttg tattactgtt	1080
tatgtaagca gacagtttta ttgttcatga tgatatattt ttatcttgtg caatgtaaca	1140
tcagagattt tgagacacaa cgtggctttc cccggcccat gacaaaaac ccttaacgtg	1200
agttttcgtt ccaactgagc tcagaccccg tagaaaagat caaaggatct tcttgagatc	1260
ctttttttct gcgcgtaatc tgctgcttgc aaacaaaaaa accaccgcta ccagcgttg	1320
tttgtttgcc ggatcaagc ctaccaactc tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag	1380
cgcagatacc aaatactgtt cttctagtgt agccgtagt aggccaccac ttcaagaact	1440
ctgtagcacc gcctacatac ctgctctgc taatcctgtt accagtggct gctgccagtg	1500
gcgataagtc gtgtcttacc gggttggact caagacgata gttaccgat aaggcgcagc	1560
ggtcgggctg aacgggggggt tcgtgcacac agcccagctt ggagcgaacg acctacaccg	1620
aactgagata cctacagcgt gagctatgag aaagcgccac gcttcccga gggagaaagg	1680
cggacaggta tccggaagc ggcagggtcg gaacaggaga gcgcacagg gagcttccag	1740
ggggaaacgc ctggtatctt tatagtcttg tcgggtttcg ccacctctga cttgagcgtc	1800
gatttttgtg atgctcgta ggggggcgga gcctatggaa aaacgccagc aacgcgcct	1860
ttttacggtt cctggccttt tgctggcctt ttgctcacat gttctttct gcgttatccc	1920

ctgattctgt ggataaccgt attaccgcct ttgagtgagc tgataccgct cgccgcagcc	1980
gaacgaccga ggcagcgcgag tcagtgcgcg aggaagcgga agagcgccctg atgcggtatt	2040
ttctccttac gcatctgtgc ggtattttac accgcatatg gtgcactctc agtacaatct	2100
gctctgatgc cgcatagtta agccagtatc tgctccctgc ttgtgtgttg gaggtcgctg	2160
agtagtgccg gagcaaaatt taagctacaa caaggcaagg cttgaccgac aattgcatga	2220
agaatctgct tagggttagg cgttttgcgc tgcttcgcga tgtacgggcc agatatagcc	2280
gcggcatcga tgataattcg gcttatttaa attccccagc atgcctgcta ttgtcttccc	2340
aatctctccc cttgctgtcc tgccccaccc cccccccag aatagaatga cacctactca	2400
gacaatgcga tgcaatttcc tcatittatt aggaaaggac agtgggagtg gcaccttcca	2460
gggtcaagga aggcacgggg gaggggcaaa caacagatgg ctggcaacta gaaggcacag	2520
tcgaggctga tcagcgagct cggcgcgccct ctcgagttag gaagcgttca ggtatgacat	2580
gacccgatca atagtgcacg cccgaatccg aaaggcatgc agcagaatgc acagcttgat	2640
ttttgtctta taaaagtcgg gttcctccag actagacttc tgtgggacgg ttctgctatt	2700
gaagttcagg gctgcacga gctcgtcaat cactgccagc atattctgat ccagaaagat	2760
ctgtcgttta gggatccatca gcagcttagc gttcatggtt ttgaattcca cctgatacat	2820
cttcagatcc tcgtagatgg agctcaggca cagtgccatc atgaagctgg tcttgcgact	2880
agccaggcaa gacccgttgg tgatgaagga agtctccctg ctattcagac atgattcggt	2940
cttggtcagc tccagtggca ggcaggcttc gactgtggag gttttgtcct tagtaatac	3000
ctcgtggtcg atttctcag aagtacaagg gtaaaactcc agtgtctgtc tagctttctg	3060
cagcatattg gacacggccc gcagcagggt ctggctatgg tgcaggcagg ggaacatgcc	3120
aggatcgggg gtagcgacag gcagatttcg agccagtgc aggtgatcca gcaggaccag	3180
ggtagcgacc agcagcaggg accgagcggg gcacatgttt aaacgctcct ccgacgtccc	3240
caggcagaat ggcggttccc taaacgagca ttgcttatat agacctcca ttaggcacgc	3300
ctaccgccc tttacgtcaa tggaacgccc atttgcgtca ttgccctcc ccattgacgt	3360
caatggggat gtacttggca gccatcgcg gccatttacc gccattgacg tcaatgggag	3420
tactgccaat gtaccctggc gtacttccaa tagtaatgta cttgccaagt tactattaat	3480
agatatgtat gtactgccaa gtgggccatt tacctcatt gacgtcaata gggggcgtga	3540
gaacggatat gaatgggcaa tgagccatcc cattgacgtc aatggtgggt ggtcctattg	3600
acgtcaatgg gcattgagcc aggcgggcca ttaccgtaa ttgacgtcaa tgggggaggc	3660

gccatatacg tcaataggac cgcccatatg acgtcaatag gaaagacat gctaagccga 3720
attatcgagg ctatctgagg ggactagggt gtgttttaggc gaaaagcggg gcttcgggtg 3780
tacgcggtta ggagtcacct caggatatag tagtttcgct tttgcatagg gagggggaaa 3840
ttagtcttta tgcaatactc ttgtagtctt gcaacatggt aacgatgagt tagcaacatg 3900
ccttacaagg agagaaaaag caccgtgcat gccgattggt ggaagtaagg tggtagcatc 3960
gtgccttatt aggaaggcaa cagacgggtc tgacatggat tggacgaacc actgaattcc 4020
gcattgcaga gatattglat ttaagtgcct agctcgatac aataaacgcc atttgacat 4080

taccacatt ggtgtgcacc tccaagcttc gaccaattct catgtttgac agcttatcat 4140
cgcagatccg ggcaacgttg ttgccattgc tgcaggcgca gaactggtag gtatggaaga 4200
tctatacatt gaatcaatat tggcaattag ccatattagt cattgggtat atagcataaa 4260
tcaatattgg ctattggcca ttgcatacgt tgcattctata tcataatatg tacatttata 4320
ttggctcatg tccaatatga ccgcatggtt gacattgatt attgactagt tattaatagt 4380
aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc catatatgga gttccgcgtt acataactta 4440
cggtaaatgg cccgcctggc tgaccgcca acgaccccg cccattgacg tcaataatga 4500

cgatatgtcc catagtaacg ccaataggga ctttcattg acgtcaatgg gtggagtatt 4560
tacggtaaac tgccacttg gcagtagatc aagtgtatca tatgccaagt ccgcccccta 4620
ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgctt ggcatatgc ccagtagatg accttacggg 4680
actttcctac ttggcagtag atctacgtat tagtcatcgc tattaccatg gtgatgcggt 4740
tttggcagta catcaatggg cgtggatagc ggtttgactc acggggattt ccaagtctcc 4800
acccattga cgtaaatggg agtttgtttt ggacacaaaa tcaacgggac ttccaaaat 4860
gtcgtacaaa ctccgcccc ttgacgcaaa tgggcggtag gcgtgtacgg tgggaggtct 4920

atataagcag agctcgttta gtgaaccgtc agatcgctg gagacgcat ccacgtgtt 4980
ttgacctcca tagaagacac cgggaccgat ccagcctcg cgggcgcgcg tcgacatgtg 5040
ccatcagcag ctggtcatct cttggttttag tctggtgttt ctggttctc cactggtcgc 5100
tatctgggaa ctgaaaaagg atgtgtacgt ggtcgagctg gactggatc cagatgcacc 5160
cggagaaatg gtggtcctga cctgcgacac acccgaggaa gatggcatca cttggaccct 5220
ggaccagagc tccgaggtgc tgggatctgg caagacactg actattcagg tcaaagaatt 5280
cggggatgcc ggacagtaca catgtcaciaa gggcggggag gtgctgagtc actcactgct 5340

gtgctgcat aagaaagaag acggcatctg gtctactgac attctgaagg atcagaaaga 5400
gcctaagaac aaaaccttc tgagatgcga agctaagaat tatagtggga ggtttacctg 5460
ttggtggctg accacaatct caactgacct gacctttagc gtgaaatcta gtaggggtc 5520

aagcgatcca cagggagtga cctgctggagc agctacactg agcgccgagc gggtagagagg 5580
 agacaacaag gactacgaat atagtgtcga gtgccaggaa gattcagcct gtcccgagc 5640
 cgaggaatcc ctgcctatcg aagtgatggt ggacgctgtg cacaagctga aatacgaaaa 5700
 ctacacatcc tctttcttta ttgcgcacat cattaagcca gatcccccta aaaacctgca 5760

gctgaagccc ctgaaaaatt cccgacaggt ggaggtctct tgggaatacc ctgatacatg 5820
 gagcactcca cattcttatt tcagtctgac tttttgcgtg caggtccagg gcaagagcaa 5880
 aagggagaag aaagaccgcg tggtcaccga taagacatcc gctactgtca tctgtcgaaa 5940
 aaacgcaagc atttccgtgc gggcacagga taggtattat tccagcagtt ggtctgagtg 6000
 ggcttccgtc cctttagatt gaacgcgtaa aaagatccag acatgataag atacattgat 6060
 gaggttggac aaaccacaac tagaatgcag tgaaaaaat gctttatttg tgaaatttgt 6120
 gatgctattg ctttatttgt aaccattata agctgcaata aacaagttaa caacaacaat 6180

tgcattcatt ttatgtttca gggtcagggg gaggtgtggg aggtttttt 6229

<210> 5

<211> 660

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

atgtgtccag cgcgcagcct cctccttgtg gctaccctgg tcctcctgga ccacctcagt 60
 ttggccagaa acctccccgt ggccactcca gaccaggaa tgttcccatg ccttcaccac 120
 tcccaaaacc tgctgagggc cgtcagcaac atgctccaga aggccagaca aactctagaa 180
 ttttaccctt gcacttctga agagattgat catgaagata tcacaaaaga taaaaccagc 240
 acagtggagg cctgtttacc attggaatta accaagaatg agagttgcct aaattccaga 300

gagacctctt tcataactaa tgggagttgc ctggcctcca gaaagacctc ttttatgatg 360
 gccctgtgcc ttagtagtat ttatgaagac ttgaagatgt accaggtgga gttcaagacc 420
 atgaatgcaa agcttctgat ggatcctaag aggcagatct ttctagatca aaacatgctg 480
 gcagttattg atgagctgat gcaggccctg aatttcaaca gtgagactgt gccacaaaaa 540
 tcctcccttg aagaaccgga tttttataaa actaaaatca agctctgcat acttcttcat 600
 gctttcagaa ttcgggcagt gactattgat agagtgatga gctatctgaa tgcttcttaa 660

<210> 6

<211> 219

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Cys Pro Ala Arg Ser Leu Leu Leu Val Ala Thr Leu Val Leu Leu

1 5 10 15

Asp His Leu Ser Leu Ala Arg Asn Leu Pro Val Ala Thr Pro Asp Pro

20 25 30

Gly Met Phe Pro Cys Leu His His Ser Gln Asn Leu Leu Arg Ala Val

35 40 45

Ser Asn Met Leu Gln Lys Ala Arg Gln Thr Leu Glu Phe Tyr Pro Cys

50 55 60

Thr Ser Glu Glu Ile Asp His Glu Asp Ile Thr Lys Asp Lys Thr Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Asn Ser Arg Glu Thr Ser Phe Ile Thr Asn Gly Ser Cys Leu Ala

100 105 110

Ser Arg Lys Thr Ser Phe Met Met Ala Leu Cys Leu Ser Ser Ile Tyr

115 120 125

Glu Asp Leu Lys Met Tyr Gln Val Glu Phe Lys Thr Met Asn Ala Lys

130 135 140

Leu Leu Met Asp Pro Lys Arg Gln Ile Phe Leu Asp Gln Asn Met Leu

145 150 155 160

Ala Val Ile Asp Glu Leu Met Gln Ala Leu Asn Phe Asn Ser Glu Thr

165 170 175

Val Pro Gln Lys Ser Ser Leu Glu Glu Pro Asp Phe Tyr Lys Thr Lys

180 185 190

Ile Lys Leu Cys Ile Leu Leu His Ala Phe Arg Ile Arg Ala Val Thr

195 200 205

Ile Asp Arg Val Met Ser Tyr Leu Asn Ala Ser

210 215

<210> 7

<211> 987

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg ttttcctgg tttttctggc atctccctc	60
gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat	120
gcccctggag aaatgggtgt cctcacctgt gacaccctg aagaagatgg tatcacctgg	180
accttggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa ccctgacat ccaagtcaaa	240
gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaggag gcgaggttct aagccattcg	300
ctcctgctgc ttcaaaaaa ggaagatgga atttggcca ctgatattt aaaggaccag	360
aaagaacca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattatc tggacgttc	420
acctgctggt ggctgacgac aatcagtact gatttgacat tcagtgtcaa aagcagcaga	480
ggctcttctg accccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc	540
agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgcca	600
gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat	660
gaaaactaca ccagcagctt cttcatcagg gacatcatca aacctgacc acccaagaac	720
ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac	780
acctggagta ctccacatc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggt ccagggaag	840
agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc	900
cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgct actatagctc atcttggagc	960
gaatgggcat ctgtgccctg cagttag	987

<210> 8

<211> 328

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

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

Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val

85 90 95

Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp

100 105 110

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

115 120 125

Leu Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu

180 185 190

Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile

195 200 205

Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr

210 215 220

Ser Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn

225 230 235 240

Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp

245 250 255

Glu Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr

260 265 270

Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg

275 280 285

Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala

290 295 300
Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser

305 310 315 320
Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser

325

<210> 9

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 9

atggactgga cctggatcct gttcctgggtg gccgctgccca cacgggtgca cagc 54

<210> 10

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 10

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

1 5 10 15

His Ser

<210> 11

<211> 597

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 11

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

1 5 10 15

His Ser Glu Ser Lys Asp Ala Ser Thr Ser Ala Thr Ser Ile Asp Gln
20 25 30

Leu Cys Lys Thr Phe Asn Leu Ser Leu His Thr Leu Gln Ile Gln Cys
35 40 45

Val Phe Cys Arg Asn Ala Leu Thr Thr Ala Glu Ile Tyr Ala Tyr Ala
50 55 60

Tyr Lys Asn Leu Lys Val Val Trp Arg Asp Asn Phe Pro Phe Ala Ala
65 70 75 80

Cys Ala Cys Cys Leu Glu Leu Gln Gly Lys Ile Asn Gln Tyr Arg His
85 90 95

Phe Asn Tyr Ala Ala Tyr Ala Pro Thr Val Glu Glu Glu Thr Asn Glu
100 105 110

Asp Ile Leu Lys Val Leu Ile Arg Cys Tyr Leu Cys His Lys Pro Gln
115 120 125

Cys Glu Ile Glu Lys Leu Lys His Ile Leu Gly Lys Ala Arg Phe Ile
130 135 140

Lys Leu Asn Asn Gln Arg Lys Gly Arg Cys Leu His Cys Trp Thr Thr
145 150 155 160

Cys Met Glu Asp Leu Leu Pro Arg Gly Arg Lys Arg Arg Ser Gly Ser
165 170 175

Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu
180 185 190

Asn Pro Gly Pro His Gly Arg Leu Val Thr Leu Lys Asp Ile Val Leu
195 200 205

Asp Leu Gln Pro Pro Asp Pro Val Gly Leu His Ala Tyr Glu Gln Leu
210 215 220

Glu Asp Ser Ser Glu Asp Glu Val Asp Lys Val Asp Lys Gln Asp Ser
225 230 235 240

Gln Pro Leu Thr Gln His Tyr Gln Ile Leu Thr Cys Cys Cys Gly Cys
245 250 255

Asp Ser Asn Val Arg Leu Val Val Glu Cys Thr Asp Gly Asp Ile Arg

260 265 270
 Gln Leu Gln Asp Leu Leu Leu Gly Thr Leu Asn Ile Val Cys Pro Ile
 275 280 285

 Cys Ala Pro Lys Pro Arg Gly Arg Lys Arg Arg Ser Gly Ser Gly Ala
 290 295 300
 Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
 305 310 315 320
 Gly Pro Glu Ser Ala Asn Ala Ser Thr Ser Ala Thr Thr Ile Asp Gln
 325 330 335
 Leu Cys Lys Thr Phe Asn Leu Ser Met His Thr Leu Gln Ile Asn Cys
 340 345 350

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

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

 Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu
 485 490 495
 Asn Pro Gly Pro His Gly Arg His Val Thr Leu Lys Asp Ile Val Leu
 500 505 510

Asp Leu Gln Pro Pro Asp Pro Val Gly Leu His Ala Tyr Glu Gln Leu
515 520 525

Val Asp Ser Ser Glu Asp Glu Val Asp Glu Val Asp Gly Gln Asp Ser
530 535 540

Gln Pro Leu Lys Gln His Tyr Gln Ile Val Thr Cys Cys Cys Gly Cys
545 550 555 560

Asp Ser Asn Val Arg Leu Val Val Gln Cys Thr Glu Thr Asp Ile Arg
565 570 575

Glu Val Gln Gln Leu Leu Leu Gly Thr Leu Asn Ile Val Cys Pro Ile
580 585 590

Cys Ala Pro Lys Thr
595

<210> 12

<211> 1797

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 12

atggattgga cctggattct ctttctcggt gccgctgcta ctgcggttca tagtgagagc	60
aaggatgcca gcacaagcgc caccagcatc gaccagcttt gcaagacctt taacctgagc	120
ctgcacacac ttcagatcca gtgtgtcttc tgccgaaatg ctctgacaac agcagaaatc	180
tacgcctacg cctacaaaaa cctgaagggt gtgtggagag acaactttcc tttcgctgcc	240
tgcgcttgct gcctggagct gcagggaag atcaatcagt accggcactt caactacgt	300
gcctacgccc ctacagtga ggaggaaaca aacgaagaca tctgaaggt gctgatcaga	360

tgctacctct gccacaagcc acagtgtgaa atcgagaagc tgaagcacat tctgggcaag	420
gccagattta tcaagctgaa caaccagaga aagggaagat gtctgactg ttggacaacc	480
tgcatggagg acctgctgcc cagaggcaga aagagaagat ctggcagcgg agctaccaac	540
ttctctctgc tgaagcaggc tggagatgtt gaggagaacc caggccctca cggccggctg	600
gtcaccctga aggatatcgt gctggatctg cagccccctg atcctgtggg ctttcacgcc	660
tacgaacagc tggaggacag ctctgaagac gaagtggaca aggtggacaa gcaggactct	720

cagcctctga cacagcacta tcagatcctg acctgctgct gcggctgtga ctctaacgtg	780
agactgggtg tggagtgcac cgatggagac atcagacagc tgcaggacct gctgctgggt	840
acctgaaca ttgtgtgtcc tatctgtgct ccaaagccaa gaggcaggaa aagaagatec	900
ggcagcggag ccaccaatit ctccctgctg aagcaagctg gagatgtgga ggagaaccct	960
ggccctgaga gcgccaacgc cagcacatcc gccaccacca tgcaccagct gtgcaagacc	1020
ttcaacctga gcatgcacac actgcagatc aactgtgtct tctgcaagaa tgccctgacc	1080
acagcagaga tctacagcta cgcctacaag cagctgaagg tgctgttcag aggcggctac	1140
ccttatgctg cctgtgcctg ctgcctggag ttccacggca agatcaacca gtacagacac	1200
ttcgactacg ctggctacgc caccacagtg gaagaggaaa caaagcagga catcctggac	1260
gtgctgatcc gatgctacct gtgccacaag cctcagtgtg aagtggaaaa agtgaagcac	1320
atcctgacca aggccagatt catcaagctg aactgcacca gaaaaggcag atgcctgcac	1380
tgctggacca cctgcatgga agacatgctg cctagaggca gaaaaagaag aagcggctct	1440
ggagccacca acttttcctt gctgaaacaa gctggagacg tggaggaaaa ccctggccct	1500
cacggcagac acgtgacact gaaggacatc gtgctggacc tgcagcctcc tgacctgtg	1560
ggcctgcacg cctacgagca gctggtggac agcagcgagg acgaagtgga cgaagtggat	1620
ggccaggaca gccagcctct gaagcagcac taccagatcg tcacctgctg ctgtggctgt	1680
gatagcaatg tgaggctggg ggtgcagtgc acagaaacag acatcagaga agtgcagcaa	1740
ctgctgctgg gcacctgaa catcgtgtgt cccatctgtg ctccaagac atgataa	1797