(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년11월28일
(11) 등록번호 10-2736152
(24) 등록일자 2024년11월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/10 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01) *G01N 33/569* (2017.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/1081 (2013.01)
A61P 31/14 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2023-7018988(분할)
(22) 출원일자(국제) 2016년04월14일
심사청구일자 2023년07월03일
(85) 번역문제출일자 2023년06월05일
(65) 공개번호 10-2023-0087616
(43) 공개일자 2023년06월16일
(62) 원출원 특허 10-2017-7032434
원출원일자(국제) 2016년04월14일
심사청구일자 2021년04월14일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/027466
(87) 국제공개번호 WO 2016/168417
국제공개일자 2016년10월20일
(30) 우선권주장
62/147,354 2015년04월14일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20130189279 A1
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
반더빌트유니버시티
미국 37240 테네시주 내쉬빌 웨스트 엔드 애비뉴 2201 커클랜드 홀 305
(72) 발명자
크로우, 제임스, 이.
미국 37212 테네시주 내슈빌 20쓰 애비뉴 사우쓰 2101
스미스, 스콧, 에이.
미국 37187 테네시주 화이트 블러프 레더우드 로드 1140
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

전체 청구항 수 : 총 22 항 심사관 : 이수진

(54) 발명의 명칭 **치쿤군야 바이러스의 항체-매개 중화**

(57) 요 약

본 개시내용은 치쿤군야 바이러스 (CHIKV)에 결합하고 그를 중화시키는 항체 및 그의 사용 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도4

(52) CPC특허분류
G01N 33/56983 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/507 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
G01N 2333/181 (2024.08)

(72) 발명자
더머디, 테렌스
미국 37027 테네시주 브렌트우드 더비 글렌 레인 203
실비아, 로리
미국 37211 테네시주 내슈빌 웨스트크레스트 드라이브 512

(56) 선행기술조사문헌
WO2015010125 A1*
Chua et al, Journal of Virological Methods (2013.10.14.), vol 195, pp 126-133.
Goh et al, Clinical Immunology (2013.10.13.), vol 149, Iss 3, pp 487-497.
Selvarajah et al, PLoS Neglected Tropical Diseases (2013.09.12.), vol 7, Iss 9, pp 1-11.
Warter L et al, The Journal of Immunology (2011), vol 186, pp 3258-3264.
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명 세 서

청구범위

청구항 1

단리된 및/또는 재조합 모노클로날 항체 또는 항체 단편이며,

상기 항체 또는 항체 단편은

서열식별번호: 124로 이루어지는 CDRH1;

서열식별번호: 125로 이루어지는 CDRH2;

서열식별번호: 126으로 이루어지는 CDRH3;

서열식별번호: 208로 이루어지는 CDRL1;

서열식별번호: 209로 이루어지는 CDRL2; 및

서열식별번호: 210으로 이루어지는 CDRL3

을 포함하는 것인 모노클로날 항체 또는 항체 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이 서열식별번호: 17의 경쇄 가변 서열 및 서열식별번호: 16의 중쇄 가변 서열에 의해 코딩되는 것인 모노클로날 항체 또는 항체 단편.

청구항 3

제1항에 있어서, 항체 단편이 재조합 ScFv (단일 쇄 단편 가변) 항체, Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편 또는 Fv 단편인 모노클로날 항체 또는 항체 단편.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 항체가 키메라 항체이거나, 또는 당단백질 이외의 치쿤군야 바이러스 항원을 표적화하는 이중특이적 항체인 모노클로날 항체 또는 항체 단편.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 항체가 IgG인 모노클로날 항체 또는 항체 단편.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이 세포 침투 펩티드를 추가로 포함하고/거나 인트라바디인 모노클로날 항체 또는 항체 단편.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄 가변 영역이 서열식별번호: 67을 포함하거나 이로 이루어지고, 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄 가변 영역이 서열식별번호: 68을 포함하거나 이로 이루어지는 것인 모노클로날 항체 또는 항체 단편.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 하이브리도마.

청구항 9

대상체에서 치쿤군야 바이러스 감염을 검출하는 방법이며,

(a) 상기 대상체로부터의 샘플을 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항체 단편과 접촉시키는 단계; 및

(b) 상기 샘플 내의 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 대한 상기 항체 또는 항체 단편의 결합에 의해 상기 샘플 내의 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2를 검출하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 샘플이 체액인 방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 단계 (a) 및 (b)를 재차 수행하고, 제1 검정과 비교 시 E2 수준에서의 변화를 결정하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 12

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항체 단편을 포함하는, 치쿤군야 바이러스로 감염된 대상체를 치료하거나 또는 치쿤군야 바이러스에 걸릴 위험이 있는 대상체의 감염 가능성을 감소시키기 위한 제약 조성물이며,

상기 항체 또는 항체 단편이 상기 대상체에게 전달되는 것인 제약 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이 감염 전에 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이 감염 후에 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 15

제12항에 있어서, 전달은 항체 또는 항체 단편 투여, 또는 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 RNA 또는 DNA 서열 또는 벡터를 사용한 유전적 전달을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 단리된 및/또는 재조합 모노클로날 항체 또는 항체 단편을 포함하는 제약 조성물.

청구항 17

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 단리된 및/또는 재조합 모노클로날 항체 또는 항체 단편을 생성하는 세포주.

청구항 18

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 단리된 및/또는 재조합 모노클로날 항체 또는 항체 단편을 생성하는 방법이며,

상기 방법은

(a) 상기 단리된 및/또는 재조합 모노클로날 항체 또는 항체 단편을 생성하는 세포주를 배양하는 단계; 및

(b) 생성된 단리된 및/또는 재조합 모노클로날 항체 또는 항체 단편을 정제하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, (c) 상기 단리된 및/또는 재조합 모노클로날 항체 또는 항체 단편을 제약 조성물로 제제화시키는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 20

항체 또는 항체 단편이 제18항의 방법에 의해 수득되는 것인 단리된 및/또는 재조합 모노클로날 항체 또는 항체 단편.

청구항 21

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 하나의 단리된 및/또는 재조합 모노클로날 항체 또는 항체 단편을 포함하는 키트.

청구항 22

제21항에 있어서, 포장재를 추가로 포함하는 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 배경

[0002] 본 발명은 국립 보건원의 승인 번호 K08 AI103038, F32 AI096833, 및 U54 AI057157 하의 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 발명에 대해 특정 권리를 갖는다.

[0003] 1. 개시내용의 분야

[0004] 본 개시내용은 일반적으로 의학, 감염성 질환 및 면역학 분야에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 개시내용은 치쿤군야 바이러스를 중화시키는 항체에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 2. 배경

[0006] 치쿤군야 바이러스 (CHIKV)는 토가비리다에(*Togaviridae*) 패밀리의 알파바이러스 속의 외피보유 양성-센스 RNA 바이러스이고, 아에데스(*Aedes*) 모기에 의해 전염된다. 성숙한 CHIKV 비리온은 단백질 분해 절단에 의해 전구체 폴리단백질 p62-E1로부터 생성된 2개의 당단백질 E1 및 E2를 함유한다. E2는 바이러스 부착에서 기능을 하는 반면, E1은 바이러스 도입을 허용하기 위한 막 융합을 매개한다 (Kielian *et al*., 2010). 인간에서 CHIKV 감염은 심각하고 일부 사례에는 수년 동안 지속될 수 있는 발열 및 관절통을 유발한다 (Schilte *et al*., 2013; Sissoko *et al*., 2009; Staples *et al*., 2009). CHIKV는 사하라 이남 아프리카의 대부분의 지역과 아시아, 유럽 및 인도양과 태평양의 일부 지역에서 발병을 유발하였다. 2013년 12월에, 서반구에서 CHIKV의 첫 번째 전염이 발생하였고, 세인트 마틴에서 토착 사례가 확인되었다 (CDC, 2013). 이러한 바이러스는 중미, 남미 및 북미뿐만 아니라 카리브해의 거의 모든 섬으로 급속히 확산되었다. 1년이 되지 않아, 서반구에서 백만 명이 넘는 CHIKV 의심 사례가 보고되었고, 미국을 포함한 40개국 초과의 나라에서 풍토성 전염이 기록되었다 (CDC, 2014). 현재, CHIKV 감염을 예방하거나 치료할 수 있는 허가된 백신 또는 항바이러스 요법이 존재하지 않는다.

[0007] 인간에서 CHIKV 감염에 대한 방어 면역 메카니즘은 완전히 이해되지는 않았지만, 체액성 반응이 감염을 제어하고 조직 손상을 제한한다 (Chu *et al*., 2013; Hallengard *et al*., 2014; Hawman *et al*., 2013; Kam *et al*., 2012b; Lum *et al*., 2013; Pal *et al*., 2013). 면역 인간 γ-글로불린은 배양된 세포에서 감염성을 중화시키고, 바이러스 접종 후 24시간까지 투여할 경우에 마우스에서 이환율을 억제한다 (Couderc *et al*., 2009). CHIKV 시험접종 후에 마우스 또는 비인간 영장류를 치료하기 위해 조합 사용될 때 효능을 갖는 일부 항체를 비롯하여 (Pal *et al*., 2013; Pal *et al*., 2014), CHIKV 감염을 중화시키는 몇 개의 뮤린 모노클로날 항체 (mAb)가 문헌에서 설명되었다 (Brehin *et al*., 2008; Goh *et al*., 2013; Masrinoul *et al*., 2014; Pal *et al*., 2013; Pal *et al*., 2014). 이와 대조적으로, 제한된 수의 인간 CHIKV mAb가 보고되었고, 그 중 대다수는 높지 않은 중화 활성을 보였다 (Fong *et al*., 2014; Fric *et al*., 2013; Lee *et al*., 2011; Selvarajah *et al*., 2013; Warter *et al*., 2011).

발명의 내용

[0008] 따라서, 본 개시내용에 따르면, 대상체에서 치쿤군야 바이러스 감염을 검출하는 방법이며, (a) 상기 대상체로부터의 샘플을 각각 표 3 및 4로부터의 클론-쌍형성된 중쇄 및 경쇄 CDR 서열을 갖는 항체 또는 항체 단편과 접촉시키는 단계; 및 (b) 상기 샘플 내의 E2에 대한 상기 항체 또는 항체 단편의 결합에 의해 상기 샘플 내의 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2를 검출하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 샘플은 체액, 예컨대 혈액, 객담, 눈물, 타액, 점액 또는 혈청, 소변 또는 대변일 수 있다. 검출은 ELISA, RIA 또는 웨스턴 블롯을 포함할 수 있다. 상기 방법은 단계 (a) 및 (b)를 재차 수행하고, 제1 검정과 비교 시 E2 수준에서의 변화를 결정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 항체는 표 1에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 가변 서열에 의해 코딩되거나, 표 1에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 가변 서열에 대해 70%, 80%, 90% 또는 95% 동일성을 갖는 경쇄 및 중쇄 가변 서열에 의해 코딩되거나, 또는 표 2에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 서열을 특징으로 하는 경쇄 및 중쇄 가변 서열을 갖거나, 또는 표 2로부터의 클론-쌍형성된 서열에 대해 70%, 80%, 90% 또는 95% 동일성을 갖는 경쇄 및 중쇄 가변 서열을 가질 수 있다. 항체 단편은 재조합 ScFv (단일 쇄 단편 가변) 항체, Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편 또는 Fv 단편일 수 있다. 항체는 IgG 및/또는 키메라 항체일 수 있다.

[0009] 또 다른 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스로 감염된 대상체를 치료하거나 또는 치쿤군야 바이러스에 걸릴 위험이 있는 대상체의 감염 가능성을 감소시키는 방법이며, 상기 대상체에게 각각 표 3 및 4로부터의 클론-쌍형성된 중쇄 및 경쇄 CDR 서열을 갖는 항체 또는 항체 단편을 전달하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 항체는 표 1에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 가변 서열에 의해 코딩되거나, 표 1에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 가변 서열에 대해 70%, 80%, 90% 또는 95% 동일성을 갖는 경쇄 및 중쇄 가변 서열에 의해 코딩되거나, 또는 표 2에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 서열을 특징으로 하는 경쇄 및 중쇄 가변 서열을 갖거나, 또는 표 2로부터의 클론-쌍형성된 서열에 대해 70%, 80%, 90% 또는 95% 동일성을 갖는 경쇄 및 중쇄 가변 서열을 가질 수 있다. 항체 단편은 재조합 ScFv (단일 쇄 단편 가변) 항체, Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편 또는 Fv 단편일 수 있다. 항체는 IgG 및/또는 키메라 항체일 수 있다. 항체 또는 항체 단편은 감염 전에 또는 감염 후에 투여될 수 있다. 전달하는 단계는 항체 또는 항체 단편 투여, 또는 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 RNA 또는 DNA 서열 또는 벡터를 이용한 유전적 전달을 포함할 수 있다.

[0010] 또 다른 실시양태에서, 각각 표 3 및 4로부터의 클론-쌍형성된 중쇄 및 경쇄 CDR 서열을 특징으로 하는 모노클로날 항체가 제공된다. 상기 항체는 표 1에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 가변 서열에 의해 코딩되거나, 표 1에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 가변 서열에 대해 70%, 80%, 90% 또는 95% 동일성을 갖는 경쇄 및 중쇄 가변 서열에 의해 코딩되거나, 또는 표 2에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 서열을 특징으로 하는 경쇄 및 중쇄 가변 서열을 갖거나, 또는 표 2로부터의 클론-쌍형성된 서열에 대해 70%, 80%, 90% 또는 95% 동일성을 갖는 경쇄 및 중쇄 가변 서열을 가질 수 있다. 항체 단편은 재조합 ScFv (단일 쇄 단편 가변) 항체, Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편 또는 Fv 단편일 수 있다. 항체는 키메라 항체, 또는 당단백질 이외의 치쿤군야 바이러스 항원을 표적화하는 이중특이적 항체일 수 있다. 항체는 IgG일 수 있다. 항체 또는 항체 단편은 세포 침투 펩티드를 추가로 포함하고/거나, 인트라바디이다.

[0011] 또한, 각각 표 3 및 4로부터의 클론-쌍형성된 중쇄 및 경쇄 CDR 서열을 특징으로 하는 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 하이브리도마 또는 조작된 세포가 제공된다. 상기 항체 또는 항체 단편은 표 1에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 가변 서열에 의해 코딩되거나, 표 1에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 가변 서열에 대해 70%, 80%, 90% 또는 95% 동일성을 갖는 경쇄 및 중쇄 가변 서열에 의해 코딩되거나, 또는 표 2에 제시된 바와 같은 클론-쌍형성된 서열을 특징으로 하는 경쇄 및 중쇄 가변 서열을 갖거나, 또는 표 2로부터의 클론-쌍형성된 서열에 대해 70%, 80%, 90% 또는 95% 동일성을 갖는 경쇄 및 중쇄 가변 서열을 가질 수 있다. 항체 단편은 재조합 ScFv (단일 쇄 단편 가변) 항체, Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편 또는 Fv 단편일 수 있다. 항체는 키메라 항체, 또는 IgG일 수 있다. 항체 또는 항체 단편은 세포 침투 펩티드를 추가로 포함하고/거나, 인트라바디이다.

[0012] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 서열식별번호(SEQ ID NO): 53/54, 55/56, 57/58, 59/60, 61/62, 63/64, 65/66, 67/68, 70/71, 72/73, 74/75, 76/77, 81/82, 83/84, 85/86, 87/88, 89/90, 91/92, 93/94, 95/96 및 97/98로 이루어진 군으로부터 선택되는 중쇄 및 경쇄 가변 서열 쌍을 포함한다.

[0013] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 103, 104 및 105의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별

번호: 187, 188 및 189의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0014] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 106, 107 및 108의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 190, 191 및 192의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0015] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 109, 110 및 111의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 193, 194 및 195의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0016] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 112, 113 및 114의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 서열식별번호: 196, 197 및 198의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0017] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 115, 116 및 117의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 199, 200 및 201의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0018] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 118, 119 및 120의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 202, 203 및 204의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0019] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 121, 122 및 123의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 서열식별번호: 205, 206 및 207의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0020] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 124, 125 및 126의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 서열식별번호: 208, 209 및 210의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0021] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 130, 131 및 132의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 서열식별번호: 211, 212 및 213의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0022] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 133, 134 및 135의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 214, 215 및 216의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0023] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 136, 137 및 138의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 217, 218 및 219의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0024] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 139, 140 및 141의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 220, 221 및 222의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0025] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 151, 152 및 153의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 223, 224 및 225의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0026] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 154, 155 및 156의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 226, 227 및 228의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0027] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 157, 158 및 159의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 229, 230 및 231의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0028] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항

원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 160, 161 및 162의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 서열식별번호: 232, 233 및 234의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0029] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 163, 164 및 165의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 235, 236 및 237의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0030] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 166, 167 및 168의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 238, 239 및 240의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0031] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 169, 170 및 171의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 241, 242 및 243의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0032] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 172, 173 및 174의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 244, 245 및 246의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0033] 한 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 당단백질 E2에 특이적으로 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 175, 176 및 177의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열 및 각각 서열식별번호: 247, 248 및 249의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.

[0034] 청구범위 및/또는 명세서에서 용어 "포함하는"과 함께 사용될 때, 단수형 단어의 사용은 "하나"를 의미할 수 있지만, "하나 이상", "적어도 하나" 및 "하나 또는 하나 초과"를 의미한다. "약"이라는 단어는 언급된 숫자의 ±5%를 의미한다.

[0035] 본원에서 설명되는 임의의 방법 또는 조성물은 본원에서 설명되는 임의의 다른 방법 또는 조성물에 관하여 구현될 수 있는 것으로 고려된다. 본 개시내용의 다른 목적, 특징 및 이점은 다음의 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 그러나, 본 개시내용의 사상 및 범위 내의 다양한 변화 및 수정이 상세한 설명으로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이기 때문에, 본 발명의 특정 실시예를 나타내는 상세한 설명 및 특정 실시예는 단지 예시를 위해 제시된 것임을 이해하여야 한다.

도면의 간단한 설명

[0036] 하기 도면은 본 명세서의 일부를 형성하고, 본 개시내용의 특정 측면을 추가로 예시하기 위해 포함된다. 본 개시내용은 본원에서 제시되는 특정 실시양태에 대한 상세한 설명과 조합하여 이들 도면 중 하나 이상을 참조하여 더 잘 이해될 수 있다.

도 1A-C. mAb 결합에 중요한 E2 잔기의 구조 분석. (도 1A) 본 연구에 사용된 CHIKV 균주로부터의 E2의 서열 정렬. 균주 명칭은 왼쪽에 나타낸다 (S27, 서열식별번호: 1, 수탁 번호 AF369024.2; SL15649, 수탁 번호 GU189061; LR2006_OPY1, 수탁 번호 DQ443544.2; 99659, 수탁 번호 KJ451624; RSU1, 수탁 번호 HM045797.1; NI 64 IbH35, 수탁 번호 HM045786.1). 서열 위의 번호는 성숙 E2 단백질 내의 아미노산 위치에 상응한다. 균주 S27과 동일한 아미노산은 대시로 표시된다. CHIKV E2/E1 이종이량체의 결정 구조로부터 결정된 E2의 도메인 (Voss *et al.*, 2010)은 서열 정렬 위의 모식도에 도시되어 있고, 색으로 구분된다 (시안: 도메인 A, 보라색: β-리본 커넥터, 녹색: 도메인 B, 분홍색: 도메인 C, 회갈색 음영: 결정 구조에 존재하지 않는 영역). 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발에 의해 결정된, 알라닌 치환이 mAb 결합을 파괴하는 잔기의 위치는 각각의 특정 항체에 대한 정렬 위에 색으로 구분된 점으로 표시한다. 여러 항체의 결합에 영향을 주는 잔기는 회색으로 음영진 정사각형으로 표시되고, 회색 음영이 짙을수록 해당 잔기에서 알라닌 치환의 영향을 받는 항체의 수가 더 많다. (도 1B) 성숙한 외피 당단백질 복합체 (PDB ID 3N41)의 결정 구조 상에 맵핑된 mAb 결합에 필요한 잔기의 위치. E1/E2의 단일 이종이량체의 리본 트레이스의 측면도가 제시되고, 여기서 E1은 밝은 시안색으로 표시되고, E2의 도메인은 패널 A에서와 같이 착색된다. 항체 결합에 필요한 아미노산의 측쇄는 공간 충전 형태로 제시되고, 패널 A의 범례에 따라 20개의 각각의 개별 항체에 대해 색으로 구분된다. 여러 항체의 결합에 영향을 미치는 잔기는 회색 음영으로 표시되고, 여기서 음영이 어두울수록 해당 잔기에서 알라닌 치환의 영향을 받는 항체의 수 (왼쪽에 제시된 범례)가 더 많다. (도 1C) 도 1B의 구조로부터 90° 회전된 E1/E2 이종이량체의 평면도.

도 2A-B. 인간 항-CHIKV mAb에 의한 중화 메카니즘. (도 2A) 부착 전 및 부착 후 중화 검정. SL15649 VRP

는 (i) 미리 냉각된 Vero 세포에 첨가하기 전에 1시간 동안 4℃에서 제시된 mAb (양성 대조군 mAb인 CHK-152 포함)와 함께 인큐베이션한 후, 3회 세척에 의해 비결합 바이러스를 제거하거나 (부착 전, 채워진 원) 또는 (ii) 4℃에서 1시간 동안 미리 냉각된 Vero 세포에 흡착시킨 후, 4℃에서 1시간 동안 표시된 mAb를 첨가하였다 (부착 후; 빈 원). (도 2B) FFWO 검정. SL15649 VRP를 미리 냉각된 Vero 세포에 4℃에서 1시간 흡착시킨 후, 제시된 mAb (양성 대조군 뮤린 mAb인 CHK-152 포함)를 1시간 동안 첨가하였다. 비결합된 바이러스를 제거하고, 세포를 낮은 pH 배지 (pH 5.5; 채워진 원)에 37℃에서 2분 동안 노출시켜 원형질막에서 바이러스 융합을 촉발하였다. 음성 대조군으로서, 세포를 37℃에서 2분 동안 중성 pH 배지 (pH 7.4, 빈 원)에 노출시켰다. 도 2A 및 도 2B 둘 다에서, 감염 후 18시간까지 세포를 37℃에서 인큐베이션하고, 형광 현미경을 사용하여 GFP 양성 세포를 정량하였다. 데이터는 각각 삼중으로 수행된 2개의 독립적인 실험으로부터 조합된 것이다.

도 3A-D. Ifnar$^{-/-}$ 마우스에서 치명적인 CHIKV 감염에 대한 인간 mAb 요법. (도 3A) CHIKV의 치명적인 시험접종 24시간 전에 50 μg의 지시된 CHIKV-특이적 또는 대조군 mAb를 복강 내 주사에 의해 투여하였다 (시험된 mAb 당 n = 3 내지 6마리의 마우스). (도 3B) CHIKV의 치명적인 시험접종 24시간 후에 50 μg의 지시된 CHIKV-특이적 또는 대조군 mAb를 복강 내 주사에 의해 투여하였다 (시험된 mAb당 n = 4 내지 6마리의 마우스). (도 3C) CHIKV의 치명적인 시험접종 48시간 후에 250 μg의 지시된 CHIKV-특이적 또는 대조군 mAb를 복강 내 주사에 의해 투여하였다 (시험된 mAb당 n = 7 내지 10마리의 마우스). (도 3D) CHIKV의 치명적인 시험접종 60시간 후에 250 μg의 지시된 CHIKV-특이적 mAb 또는 대조군 mAb를 복강 내 주사에 의해 투여하였다 (n = 3인 4J21 + 2H1을 제외하고, 시험된 mAb 조합당 n = 8마리의 마우스). 4J21 또는 4N12를 사용한 단독요법으로 사용하는 경우, 500 μg의 단일 용량을 제공하였다 (시험된 mAb당 n = 4 내지 5 마리의 마우스).

도 4. 급성 제시 시의 구진성 발진. 대상체는 주치의에게 3일 동안 열 (102°F)이 있고, 팔꿈치 및 손가락에 양측 관절통이 동시에 발생하고, 발진이 나타났다고 호소하였다. 공급자는 등, 가슴 및 복부에 걸쳐 돌출된 비-소양성, 창백성, 구진성 발진 (도면에 제시된 사진)에 주목하였다.

도 5. mAb 경쟁 군의 확인. mAb를 경쟁 군에 할당하기 위해 옥텟-기반 생물층 간섭계를 사용한 정량적 경쟁 결합이 사용되었다. 고정화된 CHIKV-LR2006 E2 엑토도메인으로 덮인 항-펜타-His 바이오센서 팁을 1차 mAb를 함유하는 웰에 침지하고, 이어서 경쟁 mAb를 함유하는 웰에 침지하였다. 제시된 값은 제1 mAb의 존재 하에 경쟁 mAb의 퍼센트 결합이다 (제1 mAb 복합체 이후에 적용된 경쟁 mAb의 최대 신호를 경쟁 mAb 단독의 최대 신호와 비교함으로써 결정됨). MAb는 경쟁 mAb의 최대 결합이 그의 비-경쟁 결합의 <30%으로 감소되면 동일한 부위에 대한 결합을 위해 잘 경쟁하는 것으로 판단하거나 (흑색 정사각형), 경쟁 mAb의 최대 결합이 그의 비-경쟁 결합의 < 70%으로 감소되면 부분적인 경쟁을 보이는 것으로 판단하였다 (회색 정사각형). MAb는 경쟁 mAb의 최대 결합이 그의 비-경쟁 결합의 > 70%이면 비-경쟁하는 것으로 간주하였다 (백색 정사각형). 4개의 경쟁 결합 군이 확인되었고, 색칠된 박스로 표시되었다. 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발에 의해 발견된 mAb에 대한 상응하는 주요 항원 부위 (표 1 및 도 1A-C)는 경쟁 매트릭스의 오른쪽에 세로로 요약되어 있다. DA는 도메인 A를 나타내고; DB는 도메인 B를 나타내며, e는 아치 1 및 2 둘 다를 나타내고; NT는 시험하지 않았음을 나타내고; NotReact는 mAb가 야생형 외피 단백질에 대해 반응하지 않았음을 나타내고; NoReduct는 mAb가 야생형 E 단백질에 결합하였지만, 임의의 돌연변이체에 대해서는 재현성있게 감소하지 않았음을 나타낸다. 데이터는 하나의 실험에서 조합되고, 여기서 각각의 mAb 단독에 대해서는 다수회 판독하고, 각각의 경쟁 항체와 조합한 mAb에 대해서는 단일 판독을 수행하였다.

도 6A-F. CHIKV MAb의 고해상도 에피토프 맵핑. (A) 각각의 아미노산이 개별적으로 알라닌으로 돌연변이된, 910 E2/E1 돌연변이를 포함하는 CHIKV 외피 단백질에 대한 알라닌 스캐닝 돌연변이 라이브러리를 구축하였다. 각각의 돌연변이 어레이 플레이트의 각각의 웰은 정의된 치환을 갖는 1개의 돌연변이체를 함유한다. 반응성 결과의 대표적인 384-웰 플레이트가 제시된다. 8개의 양성 (야생형 E2/E1) 및 8개의 음성 (모의 형질감염된) 대조군 웰이 각각의 플레이트에 포함된다. (B) 에피토프 맵핑을 위해, CHIKV 외피 돌연변이 라이브러리를 발현하는 인간 HEK-293T 세포를 관심 MAb (여기에 제시된 MAb 4G20)와의 면역 반응성에 대해 시험하고, 인텔리사이트 (Intellicyt) 고처리량 유동 세포계측기를 사용하여 측정하였다. 야생형 CHIKV E2/E1과 비교하여 <30% 반응성을 갖지만 다른 CHIKV E2/E1 MAb에 대해 >70% 반응성을 갖는 클론은 MAb 결합을 위해 결정적인 것으로 초기에 확인되었다. (C) 4개의 개별 잔기의 돌연변이는 4G20 결합을 감소시켰지만 (적색 막대), 다른 형태 의존성 MAb (회색 막대) 또는 토끼 폴리클로날 항체 (아이비티 바이오서비시즈(IBT Bioservices)로부터 얻은 rPAb)의 결합에는 큰 영향을 미치지 않았다. 막대는 적어도 2개의 복제 데이터 포인트의 평균 및 범위를 나타낸다. (D) PRNT50 < 1,000 ng/ml인 중화 MAb의 에피토프는 E2/E1 (PDB Entry 2XFC)의 삼량체 결정 구조 상에 맵핑된다. 모든 중화 에피토프는 E2/E1의 잘 노출된 막-원위 도메인에 맵핑된다. 각각의 개별 E2/E1 이종이량체 서브유닛

은 명확성을 위해 상이한 색상으로 제시된다. 다수의 MAb에 대한 결정적 에피토프 잔기를 함유하는 E2 도메인 A 및 B의 고도로 면역원성인 영역은 E2의 단일 서브유닛 상에 적색으로 윤곽이 그려져있다.

도 7. 경쟁 군에 맵핑된 항체에서 mAb 결합에 중요한 E2 잔기의 구조 분석. E1/E2 (PDB ID 2XFB)의 결정 구조 상에 맵핑된 상이한 경쟁 군 (도 1A-C으로부터 인간 또는 마우스 mAb의 결합에 필요한 잔기의 위치. E1이 백색으로 착색되고 각각의 E2 단량체가 담회색, 암회색 또는 흑색으로 착색된 E1/E2 삼량체의 공간 충전 모델. 항체 결합에 필요한 잔기는 그들이 속한 경쟁 군(들)에 따라 색으로 구분된다. 적색은 5N23의 결합에 필요하고 경쟁 군 1에 속하는 잔기 D117 및 I121을 나타낸다. 청색은 I06 또는 5M16에 의한 결합에 필요하고 경쟁 군 2에 속하는 잔기 R80 및 G253을 나타낸다. 녹색은 CHK-285, CHK-88, 또는 3A2에 의한 결합에 필요하고 경쟁 군 3에 속하는 잔기 Q184, S185, I190, V197, R198, Y199, G209, L210, T212, 및 I217을 나타낸다. 오렌지색은 5F19의 결합에 필요하고 경쟁 군 4에 속하는 잔기 H18을 나타낸다. 보라색은 5N23, CHK-84, 또는 CHK-141에 의한 결합에 필요하고 경쟁 군 1 및 2에 속하는 잔기 E24, A33, L34, R36, V50, D63, F100, T155를 나타낸다. 암록색은 1H12에 의한 결합에 필요하고 경쟁 군 2 및 3에 속하는 잔기 T58, D59, D60, R68, I74, D77, T191, N193, 및 K234를 나타낸다. 갈색은 CHK-84 및 1H12에 의한 결합에 필요하고 경쟁 군 1, 2 및 3에 속하는 잔기 D71을 나타낸다. 노란색은 잔기 D71을 제외하고 추정 수용체-결합 도메인 (RBD)을 포함하고 경쟁 군 1, 2 및 3에 속하는 잔기 (T58, D71, N72, I74, P75, A76, D77, S118 및 R119)를 나타낸다. 상부 패널은 삼량체의 조감도를 제시하고, 중간 패널은 상부 패널의 구조로부터 x축으로 45도 회전된 삼량체의 각진 측면도를 제시하고, 하부 패널은 중간 패널의 구조에서 x축으로 45도 회전된 삼량체의 측면도를 제시한다.

도 8. 2개의 인간 항-CHIKV mAb, 즉 2H1 또는 4N12에 의한 중화 메카니즘. 부착 전 및 후 중화 검정. CHIKV 균주 SL15649 바이러스 레플리콘 입자 (VRP)를 (1) 미리 냉각된 Vero 세포에 첨가하기 전에 제시된 mAb (2H1 또는 4N12)와 함께 인큐베이션한 후, 3회 세척에 의해 비결합 바이러스를 제거하거나 (부착 전, 채워진 원) 또는 (2) 4미리 냉각된 Vero 세포에 흡착시킨 후, 표시된 mAb를 첨가하였다 (부착 후; 빈 원). 이들 mAb는 부착 전 또는 후에 첨가될 때 중화시켰다.

도 9. B6 마우스 급성 질환 모델. CHO 세포에서 생성된 재조합 항체는 제1일에 투여 시에, D+3의 대조군 항체 치료와 비교 시 발목에서 바이러스를 감소시킨다. 실험은 10^3 FFU의 CHIKV-LR을 피하 접종한 후, 4주령의 WT 마우스에서 수행되었다. 항체는 D+1에 투여되었고, 조직은 병소 형성 검정에 의한 적정을 위해 D+3에서 수집되었다.

도 10. B6 마우스 급성 질환 모델. CHO 세포에서 생성된 CHKV mAb 4N12는 제3일에 전신 투여 시에 발목에서 바이러스 역가를 감소시킨다. 실험은 10e3 FFU의 CHIKV-LR을 피하 접종한 후, 4주령의 WT 마우스에서 수행되었다. 항체는 D+3에 투여되었고, 조직은 병소 형성 검정에 의한 적정을 위해 D+5에서 수집되었다.

도 11. B6 마우스 만성 질환 모델. CHO 세포에서 생성된 CHKV mAb는 제3일에 전신 투여 시에 제28일에 발목에서 바이러스 게놈 당량을 감소시킨다. 실험은 10e3 FFU의 CHIKV-LR을 접종한 후, 4주령의 WT 마우스에서 수행되었다. 항체 (300 μg)는 D+3에 투여되었고, 조직은 qRT-PCR에 의한 분석을 위해 D+28에서 수집되었다.

도 12. INFNAR 녹아웃 치사 질환 마우스 모델. CHO 세포에서 생성된 CHKV mAb는 감염 60시간 후에 전신 투여 시에 생존을 향상시킨다. 실험은 10e3 FFU의 CHIKV-LR을 피하 접종한 후, 4-5주령의 IFNAR-/- 마우스에서 수행되었다. 항체는 감염 60시간 후에 투여되었고, 21일 동안 사망률을 추적 조사하였다.

도 13. 하이브리도마-생산된 ('올드') 또는 재조합 ('뉴') CHIKV-특이적 mAb에 대한 중화 곡선. 중화 곡선은 BHK21 세포에서 수행되었다. 100 FFU의 CHIKV-LR을 BHK21 세포에 첨가하기 전에 나타낸 mAb와 37℃에서 1시간 동안 혼합하였다. 감염은 병소 형성 검정에 의해 결정되었다.

도 14. 하이브리도마-생산된 항체 대 재조합 CHO 세포-생산된 항체에 대한 최대 유효 억제 농도의 절반 (EC_{50}; ng/mL). 데이터는 하이브리도마-생산된 대 재조합에 대해 유사하다.

도 15. E1과 E2 단백질 둘 다의 아미노산, 및 그 단백질을 코딩하는 유전자의 뉴클레오티드의 정렬. 단백질에 대한 진뱅크(Genbank) 수탁 번호는 바이러스 균주와 함께 제시된다. 프로토타입 군으로부터의 바이러스에 대한 3개의 균주가 제공된다: 동부.중앙.남부 아프리카 (ECSA), 2개의 아시아 균주, 및 하나의 서부 아프리카리카 균주. 이들 항체는 모든 균주에서 교차 반응한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 본 발명자들은 세포 배양액에서 CHIKV 감염성을 중화시키고 치사 용량의 CHIKV를 접종한 *Ifnar*$^{-/-}$ 마우스 (I형 인터페론 수용체가 결여됨)를 감염 후 60시간의 매우 늦은 시기에 투여하는 경우에도 성공적으로 치료하는 인간 mAb의 대규모 패널을 단리하였다. 본 발명자들은 극히 높은 활성으로 CHIKV 감염을 광범위하게 중화시키는 mAb에 의한 인식을 위한 주요 항원 부위로서 E2의 A 도메인을 확인하였고, 주요 억제 메카니즘은 융합을 억제하는 것임을 제시하였다. 본 개시내용의 이들 및 다른 측면은 아래에서 상세히 설명된다.

[0038] **I. 치쿤군야 및 치쿤군야 바이러스**

[0039] 치쿤군야는 치쿤군야 바이러스에 의해 야기되는 감염이다. 이것은 통상적으로 2 내지 7일 지속되는 갑작스런 발열 및 전형적으로 수주 또는 수개월, 때로는 수년 동안 지속되는 관절통을 특징으로 한다. 사망률은 1000명 중 1명보다 약간 적으며, 노인이 사망할 가능성이 가장 높다. 이러한 바이러스는 아에데스 속의 2종의 모기인 에이. 알보픽투스(*A. albopictus*) 및 에이. 아에깁티(*A. aegypti*)에 의해 인간에게 전염된다. 바이러스의 동물 저장소에는 원숭이, 새, 소, 설치류가 포함된다. 이것은 영장류만이 숙주인 뎅기열과는 대조적이다.

[0040] 최선의 예방 수단은 전체적인 모기 방제 및 임의의 감염된 모기에 물리지 않는 것이다. 특별한 치료법은 알려져 있지 않지만, 증상을 줄이기 위해 약물을 사용할 수 있다. 휴식 및 수분 공급도 유용할 수 있다.

[0041] 치쿤군야 질환의 잠복기는 2 내지 12일, 전형적으로 3 내지 7일이다. 감염된 사람들의 72 내지 97%가 증상을 나타낼 것이다. 증상은 갑작스런 발병, 때로는 전형적으로 수일 내지 1주, 때로는 10일까지 지속되는, 통상적으로 39℃ (102°F) 초과이고 때로는 41℃ (104°F)에 이르는 이상성 열 및 통상적으로 수주 내지 수개월 지속되지만 때로는 수년 동안 지속되는 강한 관절통 또는 뻣뻣함을 포함한다. 발진 (통상적으로 반구진성), 근육통, 두통, 피로, 메스꺼움 또는 구토가 나타날 수도 있다. 눈의 염증은 홍채 모양체염 또는 포도막염으로서 존재할 수 있고, 망막 병변이 발생할 수 있다. 전형적으로, 발열은 2일 동안 지속된 후, 갑작스럽게 끝납니다. 그러나, 두통, 불면증 및 극도의 쇠약이 다양한 기간 동안, 통상적으로 약 5 내지 7일 지속된다.

[0042] 최근의 전염병에 대한 관찰은 치쿤군야가 급성 감염 후에 장기간의 증상을 일으킬 수 있다고 제시하였다. 2006년의 레위니옹 발병 동안, 45세 초과의 대상체 중 50% 초과가 장기간 근골격계 통증을 보고하였고, 초기 감염 후 3년이 지난 시점에서 60%까지의 사람들이 장기간에 걸친 관절 통증을 보고하였다. 프랑스의 수입 사례 연구에 따르면, 59%의 사람들이 급성 감염 2년 후에 여전히 관절통으로 고통받았다고 보고하였다. 이탈리아에서 치쿤군야의 국지적인 유행 후에, 66%의 사람들이 급성 감염 1년 후에 근육통, 관절통 또는 무력감을 보고하였다. 장기간의 증상은 완전히 새로운 관찰은 아니고; 장기간 관절염이 1979년 발생 후에 관찰되었다. 장기간 증상의 일반적인 예측 인자는 연령 증가 및 이전의 류마티스 질환이다. 이러한 만성 증상의 원인은 현재 완전히 알려진 바 없다. 만성 증상을 보고한 사람에게서 자가면역 또는 류마티스 질환의 마커가 발견되지 않았다. 그러나, 인간 및 동물 모델의 일부 증거에 따르면, 치쿤군야는 숙주 내에서 만성 감염을 확립할 수 있다고 한다. 바이러스 항원은 초기 발병 3개월 후에 재발 에피소드를 앓는 사람들의 근육 생검에서 검출되었다. 또한, 바이러스 항원 및 RNA는 초기 감염 18개월 후에 근골격계 질환이 재발하는 동안 사람의 윤활막 대식세포에서 발견되었다. 몇몇 동물 모델은 치쿤군야 바이러스가 지속적인 감염을 일으킬 수도 있다고 제시하였다. 마우스 모델에서, 바이러스 RNA는 접종 후 적어도 16주 동안 관절 관련 조직에서 특이적으로 검출되었고, 만성 윤활막염과 연관되었다. 유사하게, 또 다른 연구는 접종 후 수주 동안 마우스의 관절 조직에서 바이러스 리포터 유전자의 검출을 보고하였다. 비-인간 영장류 모델에서, 치쿤군야 바이러스는 적어도 6주 동안 비장에 지속되는 것으로 밝혀졌다.

[0043] 치쿤군야 바이러스는 약 11.6kb의 양성-센스 단일-가닥 RNA 게놈을 갖는 알파바이러스이다. 이것은 셈리키 포레스트(Semliki Forest) 바이러스 복합체의 멤버이고, 로스 리버(Ross River) 바이러스, 오뇽뇽(O'nyong'nyong) 바이러스 및 셈리키 포레스트 바이러스와 밀접하게 관련된다. 미국에서는 카테고리 C 우선 병원체로 분류되고, 작업은 생물안전성 레벨 III 예방 조치를 필요로 한다. 인간 상피 세포 및 내피 세포, 1차 섬유모세포 및 단핵구 유래 대식세포는 시험관내에서 치쿤군야 바이러스에 대해 허용성이고, 바이러스 복제는 고도의 세포 변성 작용을 하지만, I형 및 II형 인터페론에 민감하다. 생체내에서, 치쿤군야 바이러스는 섬유모세포, 골격근 전구 세포 및 근섬유에서 복제하는 것으로 보인다.

[0044] 치쿤군야 바이러스는 동부형 말 뇌염 및 서부형 말 뇌염을 일으키는 바이러스와 마찬가지로 알파바이러스이다. 치쿤군야는 일반적으로 에이. 아에깁티 모기에 물림으로써 퍼지지만, 파리의 파스퇴르 연구소의 최근 연구는 2005-2006년 레위니옹 섬 발병에서의 치쿤군야 바이러스 균주가 아시아 호랑이 모기 (에이. 알보픽투스)에 의한 전염을 촉진하는 돌연변이를 일으켰음을 제시하였다.

[0045] 에이. 알보픽투스의 치쿤군야 바이러스 감염은 바이러스 외피 유전자 중 하나 (E1)의 점 돌연변이에 의해 야기되었다. 에이. 알보픽투스에 의한 치쿤군야 바이러스의 전염 증가는 아시아 호랑이가 있는 다른 지역에서의 발병 위험이 증가함을 의미할 수 있다. 이탈리아의 최근 유행병은 에이. 알보픽투스에 의해 지속되었을 가능성이 있다. 아프리카에서, 치쿤군야는 이러한 바이러스가 인간 발병 사이에 다른 영장류에 주로 존재하는 야생 사이클에 의해 전파된다.

[0046] 치쿤군야에 감염되면, 숙주의 섬유모세포는 1형 (알파 및 베타) 인터페론을 생성한다. 인터페론 알파 수용체가 결핍된 마우스는 10^2 치쿤군야 PFU에 노출된 후 2 내지 3일 내에 죽는 반면, 야생형 마우스는 10^6 PFU의 많은 바이러스에 노출되더라도 생존한다. 이와 동시에, 부분적 1형 결여 (IFN α/β +/-) 상태인 마우스는 경미한 영향을 받아 근육 약화 및 혼수 상태와 같은 증상을 경험한다. 문헌 [Partidos *et al*. (2011)]에서는 생 약독화 균주 CHIKV181/25와 유사한 결과를 관찰하였다. 그러나, 1형 인터페론 결여 (IFN α/β -/-) 마우스는 죽기보다는 일시적으로 사용할 수 없고, 부분적 1형 인터페론 결여 마우스에는 아무런 문제가 없었다.

[0047] 치쿤군야 감염에 대한 숙주의 반응에 관여하는 1형 인터페론 경로의 상류 성분을 찾기 위해 여러 연구가 시도되었다. 지금까지, 누구도 치쿤군야 특이적 병원체 연관 분자 패턴을 알고 있지 않다. 그럼에도 불구하고, 카디프(Cardif), MAVS 및 VISA로도 알려진 IPS-1이 중요한 요소로 밝혀졌다. 2011년에, 화이트(White) 등은 IPS-1 방해가 인터페론 조절 인자 3 (IRF3)의 인산화 및 IFN-β의 생성을 감소시킨다는 것을 발견하였다. 다른 연구에 따르면, IRF3 및 IRF7은 연령 의존적 방식으로 중요함이 밝혀졌다. 이러한 조절 요소 둘 다가 부족한 성체 마우스는 치쿤군야 감염 시에 사망한다. 다른 한편으로, 신생아는 상기 인자 중 하나가 결여되면 바이러스에 의해 죽는다.

[0048] 치쿤군야는 RBP1을 분해하고 DNA를 전사하는 숙주 세포의 능력을 차단하는 비 구조 단백질인 NS2를 생산함으로써 I형 인터페론 반응에 대항한다. NS2는 JAK-STAT 신호 전달 경로를 방해하고, STAT가 인산화되지 않도록 한다.

[0049] 치쿤군야에 대한 일반적인 실험실 시험에는 RT-PCR, 바이러스 단리 및 혈청 검사가 포함된다. 바이러스 단리는 가장 확실한 진단을 제공하지만, 완료하기까지 1 내지 2주가 소요되고, 생물안전성 수준 III 실험실에서 수행해야 한다. 이러한 기술은 특정 세포주를 전혈 샘플에 노출시키고, 치쿤군야 바이러스 특이적 반응을 확인하는 것을 포함한다. 네스티드 프라이머 쌍을 사용하는 RT-PCR은 전혈로부터 여러 치쿤군야 특이적 유전자를 증폭하기 위해 사용된다. 결과는 1 내지 2일 안에 결정될 수 있다.

[0050] 혈청학적 진단은 다른 방법보다 더 다량의 혈액을 필요로 하고, 치쿤군야 특이 IgM 수준을 측정하기 위해 ELISA 검정을 이용한다. 결과는 2 내지 3일을 필요로 하고, 오뇽뇽 바이러스 및 셈리키 포레스트 바이러스와 같은 다른 관련 바이러스를 통한 감염으로 인한 위양성이 발생할 수 있다.

[0051] 감별 진단에는 인플루엔자 및 뎅기열과 같은 다른 모기 매개 바이러스 감염이 포함될 수 있다. 만성 재발성 다발 관절통은 감염 1년 후에 치쿤군야 환자의 적어도 20%에서 발생하지만, 이러한 증상은 뎅기열에서는 흔하지 않다.

[0052] 현재 구체적인 치료법은 없다. 증상 완화를 위한 시도는 NSAID, 예컨대 나프록센 또는 파라세타몰 (아세트아미노펜) 및 수액의 사용을 포함한다. 아스피린은 권장되지 않는다. 관절염이 2주 초과 동안 지속하는 사람에게는 리바비린이 유용할 수 있다. 클로로퀸의 효과는 명확하지 않다. 급성 질환에는 도움이 되는 것으로 보이지 않지만, 만성 관절염 환자에게는 도움이 될 수 있다는 잠정적인 증거가 있다. 스테로이드도 유용한 것으로 보이지 않는다.

[0053] 치쿤군야는 주로 개발 도상국에 존재한다. 치쿤군야의 역학은 모기, 그의 환경 및 인간 행동과 관련된다. 대략 5,000년 전에 북아프리카의 변화하는 기후에 적응하기 위해 모기는 사람들이 물을 저장하는 환경을 찾게 되었다. 이때부터 인간 거주지와 모기의 환경은 매우 긴밀하게 연결되었다. 전염 기간 동안, 인간이 바이러스의 저장소이다. 다른 시기 동안, 원숭이, 새 및 다른 척추동물이 저장소로 이용되었다.

[0054] 이 바이러스의 3가지 유전형이 설명된 바 있다: 서부 아프리카리카, 동부/중앙/남부 아프리카, 및 아시아 유전자형. 2005년 인도양 및 2011년 태평양 제도, 및 현재 아메리카 대륙에서 폭발적인 전염병은 계속해서 유전형의 분포를 변화시키고 있다.

[0055] 2009년 5월 28일에, 바이러스가 풍토병인 태국의 짱왓 뜨랑(Changwat Trang)에서 지역 병원은 모체-태아 바이러스 전염을 예방하기 위해 치쿤군야에 감염된 뜨랑 현지인 엄마 (꽌루에따이 수트무에앙(Khwanruethai

Sutmueang), 28세)로부터 남아를 제왕절개술로 분만하기로 결정하였다. 그러나, 분만 후, 의사는 아기가 이미 바이러스에 감염된 것을 발견하였고, 감염으로 인해 아기가 스스로 숨을 쉴 수 없거나 젖을 먹지 못해 중환자실로 보냈다. 의사는 바이러스가 엄마로부터 태아에게 전염될 수 있다고 추측했지만, 실험실에서 확인하지는 못하였다.

[0056] 2013년 12월에, 카리브해의 섬인 세인트 마틴에서 치쿤군야가 확인되었고, 확인된 사례는 66건이며 의심되는 사례는 약 181건이었다. 이러한 질환이 감염된 모기 집단으로부터 사람에게 전염된 것은 서반구에서 처음이다. 2014년 1월까지, 캐나다 공중 보건국은 영국령 버진 제도, 세인트-바르텔레미, 과들루프, 도미니카, 마르티니크 및 프랑스령 가이아나에서 사례가 확인되었음을 보고하였다. 2014년 4월에, 치쿤군야는 질병 통제 예방 센터(CDC)에 의해 도미니카 공화국에서 확인되었다. 4월말까지, 이러한 바이러스는 전염병이 선언된 자메이카, 세인트 루시아, 세인트 키츠 및 네비스와 아이티를 비롯한 모두 14개국으로 확산되었다.

[0057] 2014년 5월말까지 바이러스가 풍토병인 지역에서 플로리다로 여행하는 사람들에 의해 미국에서 10명이 넘는 수입 사례가 보고되었다. 카리브해로부터 미국으로 퍼지는 치쿤군야의 균주는 에이. 아에깁티에 의해 가장 쉽게 전염된다. 이러한 치쿤군야의 균주가 에이. 알보픽투스 벡터를 보다 효율적으로 만들도록 돌연변이를 일으킬 수 있다는 우려가 있다. 이러한 돌연변이가 일어나면, 에이. 알보픽투스 또는 아시아 호랑이 모기가 미국에서 더 널리 퍼져 있고 에이. 아에깁티보다 공격적이기 때문에 치쿤군야는 미국에서 더 많은 공중 보건 문제가 될 것이다.

[0058] 2014년 6월에, 브라질에서 6건 사례의 바이러스가 확인되었고, 그 중 2건은 상파울루 주의 캄피나스시에서 확인되었다. 이러한 6건 사례는 아이티에서 유엔 안정화 사절단의 일원으로 재건 노력에 참여한, 최근 아이티에서 귀국한 브라질 육군 병사들이었다. 이러한 정보는 캄피나스 자치체가 공식적으로 발표한 것으로, 적절한 조치를 취한 것으로 간주된다.

[0059] 2014년 6월 16일에 플로리다에는 총 42건 사례가 누적되었다. 2014년 9월 11일부로, 1년 동안 푸에르토 리코에서 보고된 사례는 1,636건이다. 10월 28일까지 숫자는 2,974건의 확증 사례 및 10,000건 넘는 의심 사례로 증가하였다. 2014년 6월 17일에, 미국 미시시피주 보건부 관리는 최근 아이티로 여행한 미시시피주 거주자에서 처음으로 잠재적인 사례를 조사하고 있음을 확인하였다. 2014년 6월 19일에, 이러한 바이러스는 미국 조지아로 퍼졌다. 2014년 6월 24일에 미국 플로리다주 포크 카운티의 포인시아나에서 한 건의 사례가 보고되었다. 2014년 6월 25일에 미국 알칸사주 보건국은 해당 주 출신의 한 사람이 치쿤군야를 보유하고 있음을 확인하였다. 2014년 6월 26일에, 멕시코의 할리스코주에서 한 건의 사례가 보고되었다.

[0060] 2014년 7월 17일에, 미국에서 획득된 최초의 치쿤군야 사례가 플로리다에서 질환 통제 예방 센터에 의해 보고되었다. 2006년 이래로 미국에서 200건 넘는 사례가 보고되었지만, 모두 다른 나라로 여행한 사람들이었다. 이러한 바이러스가 모기에 의해 미국 본토의 사람에게 전염된 것은 처음이었다. 2014년 9월 2일에, 질병 통제 예방 센터는 질환을 지역에서 획득한 사람들에서 치쿤군야가 확증된 사례가 미국에서 7건 있음을 보고하였다.

[0061] 2014년 9월 25일에 엘살바도르 당국은 이러한 새로운 전염병에 대한 30,000건 넘는 확증된 사례를 보고하였다. 자메이카와 바베이도스에서도 새로운 전염병이 증가하고 있다. 해당 국가로의 관광객이 바이러스를 본국으로 도입할 수 있는 위험이 있다. 2014년 11월에, 브라질에서는 미주 지역에서 기록된 적이 없는 치쿤군야의 상이한 변종 (유전자형)의 지역 전염을 보고하였다. 이것은 아프리카 유전자형이지만, 그것이 남부 아프리카 또는 서부 아프리카리카형인지 이상하게 설명하지 못 한다. 새로운 유전형 (미주 지역)은 현재 미주 대륙을 통해 퍼지고 있는 아시아 유전자형보다 더 심각하고, 하나의 유전형에 대한 면역성이 다른 것에 대한 면역성을 부여하지는 않는다. 프랑스령 폴리네시아는 진행중인 발병을 경험하는 다른 지역들 중 하나이다.

[0062] 2014년 11월 7일에, 멕시코에서는 치아빠스주 남부에서 지역 전염에 의해 획득된, 치쿤군야의 발병을 보고하였다. 발병은 과테말라 국경으로부터 와하카의 이웃하는 주까지 해안선을 거쳐 확장한다. 보건 당국은 39건의 실험실-확증 사례를 누적 보고하였다 (48주 끝에). 의심 사례는 보고되지 않았다. 2015년 1월에, 콜롬비아에서는 90,481건의 치쿤군야 사례가 보고되었다.

[0063] II. 모노클로날 항체 및 그의 생산

[0064] A. 일반적인 방법

[0065] 치쿤군야 바이러스에 결합하는 모노클로날 항체는 몇 가지 응용 용도를 가질 것이라는 것을 이해할 것이다. 여기에는 치쿤군야 바이러스 감염의 검출 및 진단 뿐만 아니라 그의 치료에 사용하기 위한 진단 키트의 생산이 포함된다. 이러한 측면에서, 상기 항체를 진단제 또는 치료제에 연관시키고, 경쟁 검정에서 이들을 포획제 또는

경쟁자로 사용하거나, 또는 추가의 작용제를 부착시키지 않고 개별적으로 사용할 수 있다. 항체는 이하에서 추가로 논의되는 바와 같이 돌연변이되거나 변형될 수 있다. 항체를 제조하고 특성화하는 방법은 관련 기술분야에 잘 알려져있다 (예를 들어, 문헌 [Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988]; 미국 특허 4,196,265 참조).

[0066] 모노클로날 항체 (MAb)를 생성하는 방법은 일반적으로 폴리클로날 항체를 제조하는 방법과 동일한 라인을 따라 시작한다. 이들 방법 둘 다의 제1 단계는 적절한 숙주의 면역화 또는 이전의 자연 감염으로 인한 면역력이 있는 대상체의 확인이다. 관련 기술분야에 잘 공지된 바와 같이, 면역화를 위한 주어진 조성물은 그의 면역원성이 다를 수 있다. 따라서, 펩티드 또는 폴리펩티드 면역원을 담체에 커플링시킴으로써 달성될 수 있는 바와 같이, 숙주 면역계를 부스팅시키는 것이 종종 필요하다. 예시적이고 바람직한 담체는 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH) 및 소 혈청 알부민 (BSA)이다. 난알부민, 마우스 혈청 알부민 또는 토끼 혈청 알부민과 같은 다른 알부민도 담체로서 사용될 수 있다. 폴리펩티드를 담체 단백질에 접합시키는 수단은 관련 기술분야에 잘 공지되어 있고, 글루타르알데히드, m-말레이미도벤코일-N-히드록시숙신이미드 에스테르, 카르보디이미드 및 비스-디아조화 벤지딘을 포함한다. 또한, 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 특정한 면역원 조성물의 면역원성은 아주반트로 알려진 면역 반응의 비특이적 자극제의 사용에 의해 향상될 수 있다. 예시적이고 바람직한 아주반트는 완전 프로인트 아주반트 (사멸된 미코박테리움 투베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*)을 함유하는 면역 반응의 비특이적 자극제), 불완전 프로인트 아주반트 및 수산화알루미늄 아주반트를 포함한다.

[0067] 폴리클로날 항체의 생산에 사용되는 면역원성 조성물의 양은 면역화에 사용되는 동물 뿐만 아니라 면역원의 특성에 따라 다양하다. 다양한 경로를 사용하여 면역원을 투여할 수 있다 (피하, 근육내, 피내, 정맥내 및 복강내). 폴리클로날 항체의 생성은 면역화 후의 다양한 시점에서 면역화된 동물의 혈액 샘플을 채취하여 모니터링할 수 있다. 제2의 부스터 주사가 시행될 수도 있다. 부스팅 및 적정 과정은 적합한 역가가 달성될 때까지 반복된다. 원하는 수준의 면역원성이 수득되면, 면역화된 동물을 출혈시키고/거나, 혈청을 단리 및 저장하고/거나, 동물을 사용하여 MAb를 생성시킬 수 있다.

[0068] 면역화 후에, 항체 생성을 위한 잠재력을 갖는 체세포, 특히 B 림프구 (B 세포)가 MAb 생성 프로토콜에 사용하기 위해 선택된다. 이러한 세포는 생검된 비장 또는 림프절로부터 또는 순환 혈액에서 얻을 수 있다. 이어서, 면역화된 동물로부터의 항체-생산 B 림프구는 불멸 골수종 세포, 일반적으로 면역화된 동물과 동일한 종의 세포 또는 인간 또는 인간/마우스 키메라 세포와 융합된다. 하이브리도마-생산 융합 절차에서 사용하기 적합한 골수종 세포주는 바람직하게 비-항체-생산이고, 높은 융합 효율을 가지며, 원하는 융합 세포 (하이브리도마)의 성장만을 지지하는 특정 선별 배지에서 성장할 수 없도록 만드는 효소 결핍을 보인다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 알려진 많은 골수종 세포 중 임의의 하나가 사용될 수 있다 (Goding, pp. 65-66, 1986; Campbell, pp. 75-83, 1984).

[0069] 항체-생산 비장 또는 림프절 세포 및 골수종 세포의 하이브리드를 생성하는 방법은 체세포와 골수종 세포를 2:1의 비율로 혼합하는 것을 통상적으로 포함하지만, 그 비율은 세포막의 융합을 촉진하는 작용제(들) (화학적 또는 전기적)의 존재 하에 각각 약 20:1 내지 약 1:1로 다양할 수 있다. 센다이(Sendai) 바이러스를 이용한 융합 방법은 문헌 [Kohler and Milstein (1975; 1976)]에 의해 설명되었고, 37% (v/v) PEG와 같은 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 사용하는 방법은 문헌 [Gefter *et al.*(1977)]에 의해 설명되었다. 전기 유도 융합 방법의 사용 또한 적절하다 (Goding, pp. 71-74, 1986). 융합 절차는 통상적으로 낮은 빈도, 약 1×10^{-6} 내지 1×10^{-8}로 생존가능한 하이브리드를 생산한다. 그러나, 이것은 생존가능한 융합된 하이브리드잡종이 선택 배지에서 배양함으로써 주입된 모 세포 (특히 무한 분열을 통상적으로 계속하는 주입된 골수종 세포)와 구별되기 때문에 문제를 일으키지 않는다. 선택 배지는 일반적으로 조직 배양 배지에서 뉴클레오티드의 드 노보 합성을 차단하는 작용제를 함유하는 배지이다. 예시적이고 바람직한 작용제는 아미노프테린, 메토트렉세이트 및 아자세린이다. 아미노프테린 및 메토트렉세이트는 퓨린 및 피리미딘 둘 다의 드 노보 합성을 차단하는 반면, 아자세린은 퓨린 합성만을 차단한다. 아미노프테린 또는 메토트렉세이트가 사용되는 경우, 배지는 뉴클레오티드의 공급원으로서 히포크산틴 및 티미딘으로 보충된다 (HAT 배지). 아자세린이 사용되는 경우, 배지는 히포크산틴으로 보충된다. 우아바인은 골수종에 융합되지 않은 엡스타인 바 바이러스 (EBV) 형질전환된 세포주를 제거하기 위해 B 세포 공급원이 EBV로 형질전환된 인간 B 세포주인 경우에 추가된다.

[0070] 바람직한 선택 배지는 HAT 또는 우아바인을 함유하는 HAT이다. 뉴클레오티드 샐비지 경로를 작동할 수 있는 세포만이 HAT 배지에서 생존할 수 있다. 골수종 세포는 샐비지 경로의 핵심 효소, 예를 들어 히포크산틴 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HPRT)가 결여되어 생존할 수 없다. B 세포는 이러한 경로를 작동할 수 있지만, 배양액에

서 제한된 수명을 가지며, 일반적으로 약 2주 이내에 사망한다. 따라서, 선택 배지에서 생존할 수 있는 유일한 세포는 골수종 및 B 세포로 형성된 하이브리드이다. 융합에 사용된 B 세포의 공급원이 EBV로 형질전환된 B 세포주일 때, EBV로 형질전환된 B 세포는 약물 사멸에 취약하기 때문에 우아바인이 하이브리드의 약물 선택을 위해 사용될 수 있는 반면, 사용된 골수종 파트너는 우아바인 내성인 것으로 선택된다.

[0071] 배양은 그로부터 특정 하이브리도마가 선택되는 하이브리도마 집단을 제공한다. 전형적으로, 하이브리도마의 선택은 미량역가 플레이트에서 단일-클론 희석에 의해 세포를 배양하고, 이어서 원하는 반응성에 대해 개별 클론 상청액 (약 2 내지 3주 후)을 시험함으로써 수행된다. 이러한 검정은 방사면역검정, 효소 면역검정, 세포독성 검정, 플라크 검정, 도트 면역결합 검정 등과 같이 민감하고 간단하며 신속해야 한다. 이어서, 선택된 하이브리도마는 연속적으로 희석되거나, 유동 세포계측 분류에 의해 단일-세포 분류되고, 개별 항체-생산 세포주에 클로닝된 후, 클론은 mAb를 제공하기 위해 무한 증식될 수 있다. 세포주는 2가지 기본적인 방법으로 MAb 생산에 이용될 수 있다. 하이브리도마의 샘플은 동물 (예를 들어, 마우스)에게 (종종 복강 내로) 주입할 수 있다. 임의로, 동물은 주사 전에 탄화수소, 특히 프리스탄 (테트라메틸펜타데칸)과 같은 오일로 프라이밍한다. 인간 하이브리도마가 이런 방식으로 사용될 때, 종양 거부를 예방하기 위해 SCID 마우스와 같은 면역손상 마우스에게 주입하는 것이 최적이다. 주사된 동물은 융합된 세포 하이브리드에 의해 생성된 특정 모노클로날 항체를 분비하는 종양을 발생시킨다. 이어서, 혈청 또는 복수액과 같은 동물의 체액을 고농도의 MAb를 제공하기 위해 탭핑할 수 있다. 개별 세포주는 시험관내에서 배양될 수도 있는데, MAb는 고농도로 쉽게 얻을 수 있는 배지 내에 자연적으로 분비된다. 별법으로, 인간 하이브리도마 세포주는 세포 상청액에서 이뮤노글로불린을 생산하기 위해 시험관내에서 사용될 수 있다. 세포주는 고순도의 인간 모노클로날 이뮤노글로불린을 회수하는 능력을 최적화하기 위해 무혈청 배지에서의 성장을 위해 적합할 수 있다.

[0072] 임의의 수단에 의해 생산된 MAb는 원한다면 여과, 원심분리 및 다양한 크로마토그래피 방법, 예컨대 FPLC 또는 친화도 크로마토그래피를 사용하여 추가로 정제할 수 있다. 본 개시내용의 모노클로날 항체의 단편은 펩신 또는 파파인과 같은 효소를 사용한 소화를 포함하는 방법 및/또는 화학적 환원에 의한 디술피드 결합의 절단에 의해 정제된 모노클로날 항체로부터 수득될 수 있다. 별법으로, 본 개시내용에 포함되는 모노클로날 항체 단편은 자동화된 펩티드 합성기를 사용하여 합성될 수 있다.

[0073] 또한, 모노클로날 항체를 생성하기 위해 분자 클로닝 접근법이 사용될 수 있는 것이 고려된다. 이를 위해, 하이브리도마 세포주로부터 RNA를 단리하고, RT-PCR에 의해 항체 유전자를 얻고, 이뮤노글로불린 발현 벡터에 클로닝할 수 있다. 별법으로, 조합 이뮤노글로불린 파지미드 라이브러리는 세포주로부터 단리된 RNA로부터 제조되고, 적절한 항체를 발현하는 파지미드는 바이러스 항원을 사용하여 패닝에 의해 선택된다. 기존의 하이브리도마 기술에 비해, 이러한 접근법의 이점은 약 10^4배의 많은 항체를 생산하여 단일 라운드에서 스크리닝할 수 있고, H 및 L 사슬 조합에 의해 새로운 특이성이 만들어져 적절한 항체를 찾을 확률이 보다 높아진다는 것이다.

[0074] 본 개시내용에 유용한 항체의 생산을 교시하는, 각각 본원에 참조로 포함된 다른 미국 특허는 조합 접근법을 사용한 키메라 항체의 생산을 기술하는 미국 특허 5,565,332; 재조합 이뮤노글로불린 제제를 기술하는 미국 특허 4,816,567; 및 항체-치료제 접합체를 기술하는 미국 특허 4,867,973을 포함한다.

[0075] B. 본 개시내용의 항체

[0076] 본 개시내용에 따른 항체는, 제1 예에서, 그의 결합 특이성에 의해 정의될 수 있으며, 이는 이러한 경우에 치쿤군야 바이러스 당단백질 (GP)에 대한 것이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 기술을 사용하여 주어진 항체의 결합 특이성/친화도를 평가함으로써 관련 기술분야의 통상의 기술자는 그 항체가 본 발명의 청구범위 내에 속하는지 여부를 결정할 수 있다. 한 측면에서, 각각 표 3 및 4에 예시된 중쇄 및 경쇄로부터 클론-쌍형성된 CDR을 갖는 모노클로날 항체가 제공된다. 이러한 항체는 본원에서 설명되는 방법을 사용하여 하기 실시예 섹션에서 논의되는 클론에 의해 생성될 수 있다.

[0077] 제2 측면에서, 항체는 추가의 "프레임워크" 영역을 포함하는 그의 가변 서열에 의해 정의될 수 있다. 이들은 전체 가변 영역을 코딩하거나 나타내는 표 1 및 표 2에 제시된다. 또한, 항체 서열은 임의로 아래에서 보다 상세히 논의되는 방법을 사용하여 이들 서열과 다를 수 있다. 예를 들어, 핵산 서열은 (a) 가변 영역이 경쇄 및 중쇄의 불변 도메인으로부터 분리될 수 있거나, (b) 핵산이 그에 의해 코딩되는 잔기에 영향을 주지 않으면서 상기 제시된 것과 상이할 수 있거나, (c) 핵산이 주어진 백분율, 예를 들어 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 상동성에 의해 상기 제시된 것과 상이할 수 있거나, (d) 핵산이 약 50℃ 내지 약 70℃의 온도에서 약 0.02 M 내지 약 0.15 M NaCl로 제공되는 것과 같은 저염 및/또는 고온 조건에 의해 예시되는 바와 같이, 고 엄격성 조건 하에 혼성화하는 능력에 의해 상기 제시된 것과 상이할 수 있거

나, (e) 아미노산이 주어진 백분율, 예를 들어 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 상동성에 의해 상기 제시된 것과 상이할 수 있거나, 또는 (f) 아미노산이 보존적 치환 (아래에서 논의됨)을 허용함으로써 상기 제시된 것과 상이할 수 있다는 점에서 상기 제시된 것과 상이할 수 있다. 상기 각각의 내용은 표 1에 제시된 핵산 서열 및 표 2의 아미노산 서열에 적용된다.

[0078] C. 항체 서열의 조작

[0079] 다양한 실시양태에서, 개선된 발현, 개선된 교차반응성 또는 감소된 표적 벗어남 결합과 같은 다양한 이유로 확인된 항체의 서열을 조작할 수 있다. 다음은 항체 조작을 위한 관련 기술에 대한 일반적인 논의이다.

[0080] 하이브리도마를 배양한 후, 세포를 용해시키고, 총 RNA를 추출할 수 있다. RNA의 cDNA 카피를 생성하기 위해 무작위로 선발한 육량체를 RT와 함께 사용할 수 있으며, 이어서 모든 인간 가변 유전자 서열을 증폭할 것으로 예상되는 PCR 프라이머의 다중 혼합물을 사용하여 PCR을 수행할 수 있다. PCR 생성물을 pGEM-T 이지(Easy) 벡터 내에 클로닝한 후, 표준 벡터 프라이머를 사용하여 자동화된 DNA 서열결정에 의해 서열결정할 수 있다. 결합 및 중화의 검정은 하이브리도마 상청액으로부터 수집된 항체를 사용하여 수행될 수 있고, 단백질 G 칼럼을 사용하여 FPLC에 의해 정제될 수 있다.

[0081] 재조합 전장 IgG 항체는 클로닝 벡터로부터의 중쇄 및 경쇄 Fv DNA를 IgG 플라스미드 벡터 내로 서브클로닝하고, 293 프리스타일(Freestyle) 세포 또는 CHO 세포에 형질감염시켜 생성하고, 항체는 293 또는 CHO 세포 상청액으로부터 수거하고 정제하였다.

[0082] 최종 cGMP 제조 공정과 동일한 숙주 세포 및 세포 배양 공정에서 생성된 항체의 신속한 이용가능성은 공정 개발 프로그램의 시간을 단축시킬 잠재력을 갖는다. 론자(Lonza)는 CHO 세포에서 소량 (최대 50 g)의 항체를 신속하게 생산하기 위해 CDACF 배지에서 성장시키고 함께 수거된 형질감염체를 사용하는 일반적인 방법을 개발하였다. 진정한 일시적인 시스템보다 약간 느리지만, 그 이점은 생성물 농도가 더 높고 생산 세포주와 동일한 숙주와 공정을 사용한다는 것이다. 일회용 생물반응성 기에서 모델 항체를 발현하는 GS-CHO 풀의 성장 및 생산성의 예: 유가식 모드로 작동하는 일회용 백 생물반응성 기 배양물 (5 L 작용 부피)에서 2 g/L의 수거한 항체 농도가 형질감염 9주 이내에 달성되었다.

[0083] 항체 분자는 예를 들어 mAb 또는 재조합 수단을 통해 생산가능한 단일-쇄 이뮤노글로불린의 단백질 분해 절단에 의해 생성되는 단편 (예컨대, F(ab'), $F(ab')_2$)을 포함할 것이다. 이러한 항체 유도체는 1가이다. 한 실시양태에서, 이러한 단편은 서로 조합되거나 또는 다른 항체 단편 또는 수용체 리간드와 조합되어 "키메라" 결합 분자를 형성할 수 있다. 중요하게도, 이러한 키메라 분자는 동일한 분자의 상이한 에피토프에 결합할 수 있는 치환체를 함유할 수 있다.

[0084] 관련된 실시양태에서, 항체는 개시된 항체의 유도체, 예를 들어 개시된 항체와 동일한 CDR 서열을 포함하는 항체 (예를 들어, 키메라 또는 CDR 이식 항체)이다. 별법으로, 보존적 변화를 항체 분자에 도입하는 것과 같은 변형을 만들기를 원할 수 있다. 그러한 변화를 만들 때, 아미노산의 소수친수성 지수가 고려될 수 있다. 단백질에 상호작용하는 생물학적 기능을 부여하는데 있어 아미노산 소수친수성 지수의 중요성은 관련 기술분야에서 일반적으로 이해된다 (Kyte and Doolittle, 1982). 아미노산의 상대적 소수친수성 특성은 단백질의 다른 분자, 예를 들어 효소, 기질, 수용체, DNA, 항체, 항원 등과의 상호작용을 규정하는 생성되는 단백질의 2차 구조에 기여하는 것으로 받아들여지고 있다.

[0085] 또한, 유사한 아미노산의 치환이 친수성에 기초하여 효과적으로 이루어질 수 있다는 것도 관련 기술분야에서 이해된다. 본원에 참조로 포함된 미국 특허 4,554,101은 그의 인접 아미노산의 친수성에 의해 좌우되는 단백질의 최대 국소 평균 친수성이 단백질의 생물학적 특성과 상호 관련이 있다고 기술하고 있다. 미국 특허 4,554,101에 상세히 기술된 바와 같이, 다음의 친수성 값이 아미노산 잔기에 할당되었다: 염기성 아미노산: 아르기닌 (+3.0), 라이신 (+3.0) 및 히스티딘 (-0.5); 산성 아미노산: 아스파 테이트 (+3.0 ± 1), 글루타메이트 (+3.0 ± 1), 아스파라긴 (+0.2) 및 글루타민 (+0.2); 친수성, 비이온성 아미노산: 세린 (+0.3), 아스파라긴 (+0.2), 글루타민 (+0.2), 및 트레오닌 (-0.4), 황 함유 아미노산: 시스테인 (-1.0) 및 메티오닌 (-1.3); 소수성 비 방향성 아미노산: 발린 (-1.5), 류신 (-1.8), 이소류신 (-1.8), 프롤린 (-0.5 ± 1), 알라닌 (-0.5) 및 글리신 (0); 소수성 방향족 아미노산: 트립토판 (-3.4), 페닐알라닌 (-2.5) 및 티로신 (-2.3).

[0086] 아미노산은 유사한 친수성을 갖는 다른 아미노산으로 치환될 수 있고 생물학적으로 또는 면역학적으로 변형된 단백질을 생산할 수 있는 것으로 이해된다. 이러한 변화에서, 그의 친수성 값이 ± 2 이내인 아미노산의 치환이 바람직하고, ± 1 이내인 아미노산의 치환이 특히 바람직하고, ± 0.5 이내인 아미노산의 치환이 훨씬 더 특

히 바람직하다.

[0087] 상기 약술한 바와 같이, 아미노산 치환은 일반적으로 아미노산 측쇄 치환체의 상대적 유사성, 예를 들어 그의 소수성, 친수성, 전하, 크기 등에 기초한다. 다양한 상기 특징을 고려한 예시적인 치환은 통상의 기술자에게 잘 알려져 있으며, 아르기닌 및 라이신; 글루타메이트 및 아스파르테이트; 세린 및 트레오닌; 글루타민 및 아스파라긴; 및 발린, 류신 및 이소류신을 포함한다.

[0088] 본 개시내용은 또한 이소형 변형을 고려한다. 상이한 이소형을 갖도록 Fc 영역을 변형함으로써, 상이한 기능성을 달성할 수 있다. 예를 들어, IgG_1로 변경하면 항체 의존성 세포 세포독성이 증가하고, 클래스 A로 전환하면 조직 분포가 개선되고, 클래스 M으로 전환하면 결합가를 개선할 수 있다.

[0089] 변형된 항체는 표준 분자 생물학적 기술을 통한 발현 또는 폴리펩티드의 화학적 합성을 비롯한 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 임의의 기술에 의해 제조될 수 있다. 재조합 발현을 위한 방법은 본원 명세서의 다른 곳에서 다루어진다.

[0090] **D. 단일 쇄 항체**

[0091] 단일 쇄 가변 단편 (scFv)은 짧은 (통상적으로 세린, 글리신) 링커와 함께 연결된, 이뮤노글로불린의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역의 융합체이다. 이러한 키메라 분자는 불변 영역의 제거 및 링커 펩티드의 도입에도 불구하고 본래의 이뮤노글로불린의 특이성을 유지한다. 이러한 변형은 통상적으로 특이성을 비변경된 상태로 둔다. 이러한 분자는 역사적으로 단일 펩티드로서 항원 결합 도메인을 발현하는 것이 매우 편리한 파지 디스플레이를 용이하게 하기 위해 만들어졌다. 별법으로, scFv는 하이브리도마에서 유래된 서브클로닝된 중쇄 및 경쇄로부터 직접 생성될 수 있다. 단일 쇄 가변 단편에는 완전한 항체 분자에서 발견되는 불변 Fc 영역, 및 따라서 항체를 정제하기 위해 사용되는 공통 결합 부위 (예를 들어, 단백질 A/G)가 결여되어 있다. 이들 단편은 종종 단백질 L을 사용하여 정제/고정화될 수 있으며, 이는 단백질 L이 카파 경쇄의 가변 영역과 상호작용하기 때문이다.

[0092] 가요성 링커는 일반적으로 알라닌, 세린 및 글리신과 같은 헬릭스- 및 턴- 촉진 아미노산 잔기로 이루어진다. 그러나, 다른 잔기도 기능할 수 있다. 문헌 [Tang *et al.* (1996)]에서는 단백질 링커 라이브러리로부터 단일-쇄 항체 (scFv)를 위한 맞춤형 링커를 신속하게 선택하는 수단으로 파지 디스플레이를 사용하였다. 중쇄 및 경쇄 가변 도메인에 대한 유전자가 가변 조성의 18개 아미노산의 폴리펩티드를 코딩하는 절편에 의해 연결된 랜덤 링커 라이브러리를 구축하였다. scFv 레퍼토리 (약 5 x 10^6개의 상이한 멤버)가 섬유상 파지 상에 디스플레이되었고, 이를 합텐을 사용한 친화도 선택에 적용하였다. 선택된 변이체의 집단은 결합 활성의 유의한 증가를 나타내지만, 상당한 서열 다양성을 유지하였다. 1054개의 개별 변이체의 스크리닝은 가용성 형태로 효율적으로 생산된 촉매 활성 scFv를 후속적으로 생산하였다. 서열 분석 결과, V_H C 말단 다음의 링커의 2개의 잔기에 보존된 프롤린이 존재하고 선택된 테더의 유일한 공통적인 특징으로서 다른 위치에 아르기닌 및 프롤린이 풍부하였다.

[0093] 본 개시내용의 재조합 항체는 또한 수용체의 이량체화 또는 다량체화를 허용하는 서열 또는 모이어티를 포함할 수 있다. 이러한 서열은 J-사슬과 함께 다량 체의 형성을 허용하는, IgA로부터 유래된 서열을 포함한다. 또 다른 다량체화 도메인은 Gal4 이량체화 도메인이다. 다른 실시양태에서, 사슬은 2개의 항체의 조합을 허용하는 비오틴/아비딘과 같은 작용제로 변형될 수 있다.

[0094] 별개의 실시양태에서, 단일 쇄 항체는 비-펩티드 링커 또는 화학적 단위를 사용하여 수용체 경쇄 및 중쇄를 연결함으로써 생성될 수 있다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄는 별개의 세포에서 생산되고, 정제된 후, 적절한 방식으로 함께 연결될 것이다 (즉, 중쇄의 N-말단이 적절한 화학적 다리를 통해 경쇄의 C-말단에 부착됨).

[0095] 가교결합 시약은 2종의 상이한 분자, 예를 들어 안정화 및 응고제의 기능적 기를 묶는 분자 다리를 형성하기 위해 사용된다. 그러나, 동일한 유사체의 이량체 또는 다량체 또는 상이한 유사체로 이루어진 이종 복합체가 생성될 수 있음이 고려된다. 단계적으로 2종의 상이한 화합물을 연결하기 위해, 불필요한 단일중합체 형성을 제거하는 이종-이중기능적 가교결합제가 사용될 수 있다.

[0096] 예시적인 이종-이중기능적 가교결합제는 다음과 같은 2개의 반응성 기를 함유한다: 1차 아민 기와 반응하는 기 (예를 들어, N-히드록시 숙신이미드) 및 티올 기와 반응하는 기 (예를 들어, 피리딜 디술피드, 말레이미드, 할로겐 등). 1차 아민 반응성 기를 통해 가교결합제는 하나의 단백질 (예를 들어, 선택된 항체 또는 단편)의 라이신 잔기(들)와 반응할 수 있으며, 이미 제1 단백질에 묶인 가교결합제는 티올 반응성 기를 통해 다른 단백질

(예를 들어, 선택제)의 시스테인 잔기 (자유 술프히드릴 기)와 반응한다.

[0097] 혈액 내에서 합리적인 안정성을 갖는 가교결합제가 사용되는 것이 바람직하다. 표적화 및 치료/예방제를 접합하기 위해 성공적으로 사용될 수 있는 많은 유형의 디술피드-결합 함유 링커가 공지되어 있다. 입체 방해가 있는 디술피드 결합을 포함하는 링커는 생체내에서 더 큰 안정성을 부여하여 표적화 펩티드가 작용 부위에 도달하기 전에 방출되는 것을을 방지할 수 있다. 따라서, 이러한 링커는 연결제의 한 군이다.

[0098] 또 다른 교차 결합 시약은 인접한 벤젠 고리 및 메틸 기에 의해 "입체적으로 방해받는" 디술피드 결합을 포함하는 이중기능적 가교결합제인 SMPT이다. 디술피드 결합의 입체 방해는 조직 및 혈액에 존재할 수 있는 글루타티온과 같은 티올레이트 음이온에 의한 공격으로부터 결합을 보호하여, 부착된 작용제가 표적 부위로 전달되기 전에 접합체의 디커플링을 방지하는 것을 돕는 것으로 생각된다.

[0099] SMPT 가교결합 시약은 다른 많은 알려진 가교결합 시약과 마찬가지로, 기능적 기, 예컨대 시스테인의 SH 또는 1차 아민 (예를 들어, 라이신의 엡실론 아미노 기)과 같은 기능적 기를 가교결합시키는 능력을 부여한다. 또 다른 가능한 가교결합제 유형은 술포숙신이미딜-2-(p-아지도 살리실아미도) 에틸-1,3'-디티오프로피오네이트와 같은 절단가능한 디술피드 결합을 함유하는 이종-이중기능적 광반응성 페닐아지드를 포함한다. N-히드록시-숙신이미딜 기는 1차 아미노 기와 반응하고, 페닐아지드 (광분해 시)는 임의의 아미노산 잔기와 비-선택적으로 반응한다.

[0100] 방해된 가교결합제 이외에, 방해받지 않은 링커도 본원에 따라 사용될 수 있다. 보호된 디술피드를 함유하거나 생성하는 것으로 여겨지지 않는 다른 유용한 가교결합제에는 SATA, SPDP 및 2-이미노티올란이 포함된다 (Wawrzynczak & Thorpe, 1987). 이러한 가교결합제의 사용은 관련 기술분야에 잘 이해되고 있다. 또 다른 실시양태는 가요성 링커의 사용을 포함한다.

[0101] 미국 특허 4,680,338에는 특히 킬레이팅제, 약물, 효소, 검출가능한 표지 등과 항체 접합체를 형성하기 위한, 아민 함유 중합체 및/또는 단백질과 리간드의 접합체를 제조하는데 유용한 이중기능적 링커가 기재되어 있다. 미국 특허 5,141,648 및 5,563,250은 다양한 온화한 조건 하에서 절단가능한 불안정한 결합을 함유하는 절단가능한 접합체를 개시하고 있다. 이러한 링커는 관심 작용제가 링커에 직접 결합될 수 있고, 절단에 의해 활성 작용제가 방출된다는 점에서 특히 유용하다. 특정한 용도는 단백질, 예컨대 항체 또는 약물에 자유 아미노 또는 자유 술프히드릴 기를 부가하는 것을 포함한다.

[0102] 미국 특허 5,856,456은 폴리펩티드 성분을 연결하여 융합 단백질, 예를 들어 단일 쇄 항체를 제조하는데 사용하기 위한 펩티드 링커를 제공한다. 링커는 길이가 약 50개 아미노산 이하이고, 적어도 하나의 하전된 아미노산 (바람직하게는 아르기닌 또는 라이신), 이어서 프롤린을 함유하고, 보다 큰 안정성 및 감소된 응집을 특징으로 한다. 미국 특허 5,880,270은 다양한 면역 진단 및 분리 기술에 유용한 아미노옥시-함유 링커를 개시하고 있다.

[0103] E. 인트라바디

[0104] 특정한 실시양태에서, 항체는 세포 내부에서의 작용에 적합한 재조합 항체이며, 이러한 항체는 "인트라바디"로 알려져 있다. 이러한 항체는 다양한 기작에 의해, 예컨대 세포내 단백질 수송을 변경하고, 효소 기능을 방해하고, 단백질-단백질 또는 단백질-DNA 상호작용을 차단함으로써 표적 기능을 방해할 수 있다. 많은 방식으로, 그들의 구조는 위에서 논의한 단일 쇄 및 단일 도메인 항체의 구조를 모방하거나 이와 유사하다. 실제로, 단일-전사체/단일-쇄는 표적 세포에서 세포내 발현을 가능하게 하고 또한 세포막을 가로지른 단백질의 수송을 보다 실현가능하게 하는 중요한 특징이다. 그러나, 추가 기능이 필요하다.

[0105] 인트라바디 치료제의 구현에 영향을 미치는 2가지 주요 쟁점은 세포/조직 표적화를 포함하는 전달, 및 안정성이다. 전달과 관련하여, 조직-지정 전달, 세포 유형 특이적 프로모터의 사용, 바이러스-기반 전달 및 세포 투과성/막 전위 펩티드의 사용과 같은 다양한 접근법이 사용되었다. 안정성과 관련하여, 접근법은 일반적으로 파지 디스플레이를 수반하고 서열 성숙 또는 컨센서스 서열의 개발을 포함할 수 있는 방법을 포함하는 강제적인 힘에 의한 스크리닝, 또는 보다 지시된 변형, 예컨대 삽입 안정화 서열 (예를 들어, Fc 영역, 샤페론 단백질 서열, 류신 지퍼) 및 디술피드 교체/변형이다.

[0106] 인트라바디가 필요로 할 수 있는 추가적인 특징은 세포내 표적화를 위한 신호이다. 세포질, 핵, 미토콘드리아 및 ER과 같은 하위세포 영역으로 인트라바디 (또는 다른 단백질)를 표적화할 수 있는 벡터가 설계되었고, 상업적으로 이용가능하다 (인비트로겐 코포레이션(Invitrogen Corp.); Persic *et al.*, 1997).

[0107] 세포 내로 들어가는 능력 때문에, 인트라바디는 다른 유형의 항체가 달성할 수 없는 추가의 용도를 가지고 있다. 본 발명의 항체의 경우에, 살아있는 세포에서 MUC1 세포질 도메인과 상호작용하는 능력은 MUC1 CD와 관련된 기능, 예컨대 신호전달 기능 (다른 분자에 대한 결합) 또는 올리고머 형성을 방해할 수 있다. 특히, 이러한 항체가 MUC1 이량체 형성을 억제하기 위해 사용될 수 있음이 고려된다.

[0108] **F. 정제**

[0109] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 항체는 정제될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "정제된"은 다른 성분으로부터 단리가능한 조성물을 지칭하며, 여기서 단백질은 그의 자연적으로 수득가능한 상태에 비해 임의의 정도로 정제된다. 따라서, 정제된 단백질은 자연적으로 발생할 수 있는 환경으로부터 유리된 단백질을 의미한다. 용어 "실질적으로 정제된"이 사용되는 경우, 이러한 명칭은 단백질 또는 펩티드가 조성물의 주요 성분을 형성하는, 예를 들어 조성물 내의 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95% 또는 그 초과의 단백질을 구성하는 조성물을 의미한다.

[0110] 단백질 정제 기술은 통상의 기술자에게 잘 알려져 있다. 이러한 기술은 한 수준에서 세포 환경의 폴리펩티드 및 비-폴리펩티드 분획으로의 조질 분획화를 포함한다. 폴리펩티드를 다른 단백질로부터 분리하면, 부분적 또는 완전한 정제 (또는 균질 수준으로의 정제)를 달성하기 위해 크로마토그래피 및 전기영동 기술을 사용하여 관심 폴리펩티드를 추가로 정제할 수 있다. 순수한 펩티드의 제조에 특히 적합한 분석 방법은 이온 교환 크로마토그래피, 배제 크로마토그래피; 폴리아크릴아미드 겔 전기영동; 등전점 포커싱이다. 단백질 정제를 위한 다른 방법은 황산암모늄, PEG, 항체 등을 이용한 침전 또는 열 변성, 이어서 원심분리; 겔 여과, 역상, 히드록실아파타이트 및 친화도 크로마토그래피; 및 상기 기술 및 다른 기술의 조합을 포함한다.

[0111] 본 개시내용의 항체를 정제할 때, 원핵 또는 진핵 발현 시스템에서 폴리펩티드를 발현시키고 변성 조건을 이용하여 단백질을 추출하는 것이 바람직할 수 있다. 폴리펩티드는 폴리펩티드의 태그 부착된 부분에 결합하는 친화도 칼럼을 사용하여 다른 세포 성분으로부터 정제될 수 있다. 관련 기술분야에 일반적으로 공지된 바와 같이, 다양한 정제 단계를 수행하는 순서는 변경되거나, 특정 단계가 생략될 수 있고, 그 경우에도 여전히 실질적으로 정제된 단백질 또는 펩티드의 적합한 제조 방법이 얻어지는 것으로 생각된다.

[0112] 일반적으로, 완전한 항체는 항체의 Fc 부분에 결합하는 작용제 (즉, 단백질 A)를 사용하여 분획화된다. 별법으로, 항원을 사용하여 적절한 항체를 동시에 정제하고 선택할 수 있다. 이러한 방법은 종종 칼럼, 필터 또는 비드와 같은 지지체에 결합된 선택제를 이용한다. 항체는 지지체에 결합하고, 오염물을 제거 (예를 들어, 세척 제거)하고, 항체를 조건 (염, 열 등)을 적용하여 방출시킨다.

[0113] 단백질 또는 펩티드의 정제 정도를 정량하기 위한 다양한 방법은 본 개시내용에 비추어 통상의 기술자가 알고 있을 것이다. 이것은 예를 들어 활성 분획의 비활성을 결정하거나, SDS/PAGE 분석에 의해 분획 내의 폴리펩티드의 양을 평가하는 것을 포함한다. 분획의 순도를 평가하는 또 다른 방법은 분획의 비활성을 계산하고, 이를 초기 추출물의 비활성과 비교하여 순도를 계산하는 것이다. 활성의 양을 나타내기 위해 사용되는 실제 단위는 물론 정제 후의 선택된 특정한 검정 기술 및 발현된 단백질 또는 펩티드가 검출가능한 활성을 나타내는지의 여부에 따라 결정될 것이다.

[0114] 폴리펩티드의 이동은 때때로 SDS/PAGE의 상이한 조건에 따라 상이할 수 있다는 것이 알려져 있다 (Capaldi *et al.*, 1977). 따라서, 상이한 전기영동 조건 하에서, 정제되거나 부분적으로 정제된 발현 산물의 겉보기 분자량은 상이할 수 있음을 이해할 것이다.

[0115] **III. 능동/수동 면역화 및 치쿤군야 감염의 치료/예방**

[0116] **A. 제제화 및 투여**

[0117] 본 개시내용은 항-치쿤군야 바이러스 항체 및 그를 생성하기 위한 항원을 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 이러한 조성물은 예방 또는 치료 유효량의 항체 또는 그의 단편, 또는 펩티드 면역원, 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 특정 실시양태에서, "제약상 허용되는"이란 용어는 미국 연방 정부 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 미국 약전 또는 동물, 특히 인간에서의 사용을 위해 일반적으로 인정되는 다른 약전에 제시되어 있음을 의미한다. 용어 "담체"는 치료제가 투여되는 희석제, 부형제 또는 비히클을 의미한다. 이러한 제약 담체는 땅콩유, 대두유, 광유, 참기름 등과 같은 석유, 동물, 식물 또는 합성 유래의 것을 포함하는 물 및 오일과 같은 멸균 액체일 수 있다. 물은 제약 조성물이 정맥 내로 투여될 때의 특정한 담체이다. 염수 용액 및 수성 덱스트로스 및 글리세롤 용액은 또한 특히 주사가능한 용액을 위한 액체 담체로서 사용될 수 있다. 다른 적

합한 제약 부형제는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 곡분, 백악, 실리카겔, 스테아르산 나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화나트륨, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜 등을 포함한다.

[0118] 조성물은 필요한 경우, 소량의 습윤제 또는 유화제 또는 pH 완충제를 또한 함유할 수 있다. 이러한 조성물은 용액, 현탁액, 에멀젼, 정제, 환제, 캡슐, 분말, 지속 방출 제제 등의 형태를 취할 수 있다. 경구 제제는 만니톨, 락토스, 전분, 스테아르산마그네슘, 사카린나트륨, 셀룰로스, 탄산마그네슘 등의 제약 등급과 같은 표준 담체를 포함할 수 있다. 적합한 약제의 예는 문헌 ["Remington's Pharmaceutical Sciences]"에 기재되어 있다. 이러한 조성물은 환자에게 적절한 투여 형태를 제공하기 위해 예방 또는 치료 유효량의 항체 또는 그의 단편을, 바람직하게는 정제된 형태로 적합한 양의 담체와 함께 함유할 것이다. 제제는 경구, 정맥내, 동맥내, 구강내, 비강내, 분무, 기관지 흡입 또는 기계적 환기에 의해 전달될 수 있는 투여 방식에 적합해야 한다.

[0119] 또한, 개시된 것과 같은 항체가 치쿤군야 바이러스 감염 위험이 있는 대상체의 생체내에서 생성되는 활성 백신이 구상된다. E1 및 E2에 대한 서열은 첨부된 서열 목록의 서열식별번호: 253-276으로 열거되어 있다. 이러한 백신은 비경구 투여를 위해 제제화될 수 있고, 예를 들어, 피내, 정맥내, 근육내, 피하 또는 심지어 복강내 경로를 통한 주사를 위해 제제화될 수 있다. 피내 및 근육내 경로에 의한 투여가 고려된다. 백신은 별법으로 점막에 대한 직접적인 국소 경로에 의해, 예를 들어 비내 점적, 흡입 또는 연무기에 의해 투여될 수 있다. 제약상 허용되는 염은 산염, 및 무기산, 예를 들어 염산 또는 인산, 또는 유기산, 예컨대 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 만델산 등을 사용하여 형성된 것을 포함한다. 자유 카르복실 기로 형성된 염은 또한 무기 염기, 예를 들어 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화암모늄, 수산화칼슘 또는 수산화제2철, 및 유기 염기, 예컨대 이소프로필아민, 트리메틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로카인 등으로부터 유래될 수 있다.

[0120] 인위적으로 획득한 수동 면역으로 알려진 항체의 수동 전달은 일반적으로 정맥내 또는 근육내 주사의 사용을 수반할 것이다. 항체의 형태는 정맥내 (IVIG) 또는 근육내 (IG) 사용을 위한 함께 모은 인간 이뮤노글로불린으로서의, 면역화된 공여자로부터의 또는 질환으로부터 회복 중인 공여자로부터의 고역가 인간 IVIG 또는 IG로서의, 및 모노클로날 항체 (MAb)로서의 사람 또는 동물의 혈장 또는 혈청일 수 있다. 이러한 면역성은 일반적으로 단지 단기간 동안만 지속되며, 특히 비-인간 기원의 감마 글로불린에 대한 과민 반응 및 혈청 질환의 잠재적 위험이 또한 존재한다. 그러나, 수동 면역성은 즉각적인 보호를 제공한다. 항체는 주사에 적합한, 즉, 멸균 및 주사가능한 담체 내에서 제제화될 것이다.

[0121] 일반적으로, 본 개시내용의 조성물의 성분은 개별적으로 공급되거나 또는 단위 투여 형태로, 예를 들어 활성 작용제의 양을 나타내는 앰플 또는 사쉐와 같은 밀폐된 용기 내의 무수 동결건조된 분말 또는 무수 농축물로서 함께 혼합된다. 조성물이 주입에 의해 투여되어야 하는 경우, 멸균 제약 등급의 물 또는 염수를 함유하는 주입병으로 분배될 수 있다. 조성물을 주사로 투여하는 경우, 투여하기 전에 성분을 혼합할 수 있도록 주사용 멸균수 또는 염수의 앰플을 제공할 수 있다.

[0122] 본 개시내용의 조성물은 중성 또는 염 형태로 제제화될 수 있다. 제약상 허용되는 염은 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 타르타르산 등으로부터 유도된 것들과 같은 음이온으로 형성된 것, 및 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화암모늄, 수산화칼슘, 수산화제2철, 이소프로필아민, 트리에틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로카인 등으로부터 유도된 것과 같은 양이온으로 형성된 것을 포함한다.

[0123] **IV. 항체 접합체**

[0124] 본 개시내용의 항체는 항체 접합체를 형성하기 위해 적어도 하나의 작용제에 연결될 수 있다. 진단제 또는 치료제로서의 항체 분자의 효능을 증가시키기 위해, 적어도 하나의 목적하는 분자 또는 모이어티를 연결하거나 공유 결합시키거나 복합체화하는 것이 일반적이다. 그러한 분자 또는 모이어티는 적어도 하나의 이펙터 또는 리포터 분자일 수 있으나, 이로 제한되지 않는다. 이펙터 분자는 원하는 활성, 예를 들어, 세포독성 활성을 갖는 분자를 포함한다. 항체에 부착된 이펙터 분자의 비제한적인 예는 독소, 항종양제, 치료 효소, 방사성 핵종, 항바이러스제, 킬레이팅제, 시토카인, 성장 인자 및 올리고- 또는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 이와 대조적으로, 리포터 분자는 검정을 사용하여 검출될 수 있는 임의의 모이어티로서 정의된다. 항체에 접합된 리포터 분자의 비제한적인 예는 효소, 방사성 표지, 합텐, 형광 표지, 인광 분자, 화학발광 분자, 발색단, 광친화도 분자, 착색 입자 또는 리간드, 예컨대 비오틴을 포함한다.

[0125] 항체 접합체는 진단제로서 사용하기에 일반적으로 바람직하다. 항체 진단제는 2개의 클래스, 즉 일반적으로 다양한 면역검정과 같이 시험관내 진단에서 사용하기 위한 것 및 일반적으로 "항체-지정 영상화"로 알려진 생체내

진단 프로토콜에 사용하기 위한 것에 속한다. 많은 적절한 조영제가 항체에 대한 그의 부착 방법과 같이 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 5,021,236, 4,938,948 및 4,472,509 참조). 사용되는 영상화 모이어티는 상자성 이온, 방사성 동위원소, 형광색소, NMR-검출가능한 물질 및 X-선 조영제일 수 있다.

[0126] 상자성 이온의 경우에, 예를 들어 크로뮴 (III), 망가니즈 (II), 철 (III), 철 (II), 코발트 (II), 니켈 (II), 구리 (II), 네오디뮴 (III), 사마륨 (III), 이테르븀 (III), 가돌리늄 (III), 바나듐 (II), 테르븀 (III), 디스프로슘 (III), 홀뮴 (III) 및/또는 에르븀 (III)과 같은 이온을 언급할 수 있고, 가돌리늄이 특히 바람직하다. X-선 영상화와 같은 다른 상황에서 유용한 이온은 란타넘 (III), 금 (III), 납 (II) 및 특히 비스무트 (III)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0127] 치료 및/또는 진단 적용을 위한 방사성 동위원소의 경우에, 아스타틴^{211}, ^{14}탄소, ^{51}크로뮴, ^{36}염소, ^{57}코발트, ^{58}코발트, 구리^{67}, ^{152}Eu, 갈륨^{67}, ^{3}수소, 아이오딘^{123}, 아이오딘^{125}, 아이오딘^{131}, 인듐^{111}, ^{59}철, ^{32}인, 레늄^{186}, 레늄^{188}, ^{75}셀레늄, ^{35}황, 테크니슘^{99m} 및/또는 이트륨^{90}을 언급할 수 있다. ^{125}I는 특정 실시양태에서 사용하는 것이 종종 바람직하며, 긴 범위 검출을 위한 그의 낮은 에너지 및 적합성으로 인해 테크니슘^{99m} 및/또는 인듐^{111}이 또한 종종 선호된다. 본 개시내용의 방사성 표지된 모노클로날 항체는 관련 기술분야에 공지된 방법에 따라 생산될 수 있다. 예를 들어 모노클로날 항체는 아이오딘화나트륨 및/또는 아이오딘화칼륨 및 화학적 산화제, 예컨대 차아염소산나트륨 또는 효소적 산화제, 예컨대 락토퍼옥시다제와의 접촉에 의해 아이오딘화될 수 있다. 본 개시내용에 따른 모노클로날 항체는 리간드 교환 공정에 의해, 예를 들어, 퍼테크네이트를 주석 용액으로 환원시키고, 환원된 테크네튬을 세파덱스(Sephadex) 칼럼에서 킬레이팅하고, 항체를 이러한 칼럼에 적용함으로써 테크네튬^{99m}으로 표지될 수 있다. 별법으로, 예를 들어 퍼테크네이트, $SNCl_2$와 같은 환원제, 나트륨-칼륨 프탈레이트 용액과 같은 완충제 용액, 및 항체를 인큐베이션함으로써 직접 표지 기술을 사용할 수 있다. 금속 이온으로 존재하는 방사성 동위원소를 항체에 결합시키기 위해 종종 사용되는 중간 기능적 기는 디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA) 또는 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)이다.

[0128] 접합체로서 사용하기 위해 고려되는 형광 표지 중에는 알렉사(Alexa) 350, 알렉사 430, AMCA, 보디피(BODIPY) 630/650, 보디피 650/665, 보디피-FL, 보디피-R6G, 보디피-TMR, 보디피-TRX, 캐스케이드 블루(Cascade Blue), Cy3, Cy5,6-FAM, 플루오레세인 이소티오시아네이트, HEX, 6-JOE, 오레곤 그린(Oregon Green) 488, 오레곤 그린 500, 오레곤 그린 514, 퍼시픽 블루(Pacific Blue), REG, 로다민 그린(Rhodamine Green), 로다민 레드(Rhodamine Red), 레노그라핀(Renographin), ROX, TAMRA, TET, 테트라메틸로다민 및/또는 텍사스 레드(Texas Red)를 포함한다.

[0129] 본 개시내용에서 고려되는 또 다른 유형의 항체 접합체는 항체가 제2 결합 리간드 및/또는 발색 기질과 접촉 시에 착색된 생성물을 생성하는 효소 (효소 태그)에 연결된, 주로 시험관내에서 사용하는 것이 의도되는 것이다. 적합한 효소의 예는 우레아제, 알칼리성 포스파타제, (양고추냉이) 수소 퍼옥시다제 또는 글루코스 옥시다제를 포함한다. 바람직한 2차 결합 리간드는 비오틴 및 아비딘 및 스트렙타비딘 화합물이다. 상기 표지의 사용은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 잘 알려져 있고, 예를 들어, 미국 특허 3,817,837, 3,850,752, 3,939,350, 3,996,345, 4,277,437, 4,275,149 및 4,366,241에 기재되어 있다.

[0130] 항체에 대한 분자의 부위-특이적 부착의 또 다른 공지된 방법은 항체와 합텐-기반 친화도 표지의 반응을 포함한다. 본질적으로, 합텐-기반 친화도 표지는 항원 결합 부위의 아미노산과 반응하여, 이러한 부위를 파괴하고 특이적 항원 반응을 차단한다. 그러나, 이것은 항체 접합체에 의한 항원 결합의 손실을 가져오기 때문에 유리하지 않을 수 있다.

[0131] 아지도 기를 함유하는 분자는 또한 저강도 자외광에 의해 생성되는 반응성 니트렌 중간체를 통해 단백질에 대한 공유 결합을 형성하는데 사용될 수 있다 (Potter and Haley, 1983). 특히, 퓨린 뉴클레오티드의 2- 및 8-아지도 유사체는 조질 세포 추출물에서 뉴클레오티드 결합 단백질을 확인하기 위한 부위-지정 포토프로브로 사용되어 왔다 (Owens & Haley, 1987; Atherton *et al.*, 1985). 2- 및 8-아지도 뉴클레오티드는 또한 정제된 단백질의 뉴클레오티드 결합 도메인을 맵핑하는데 사용되어 왔고 (Khatoon *et al.*, 1989; King *et al.*, 1989; Dholakia *et al.*, 1989), 항체 결합제로서 사용될 수 있다.

[0132] 그의 접합체 모이어티에 대한 항체의 부착 또는 접합에 대한 여러 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 일부 부착 방법은 예를 들어 유기 킬레이팅제, 예컨대 디에틸렌트리아민펜타아세트산 무수물 (DTPA); 에틸렌트리아민테트라아세트산; N-클로로-p-톨루엔술폰아미드; 및/또는 항체에 부착된 테트라클로로-3α-6α-디페닐글리코

우릴-3을 사용하는 금속 킬레이트 복합체의 사용을 수반한다 (미국 특허 4,472,509 및 4,938,948). 모노클로날 항체는 또한 글루타르알데히드 또는 과아이오데이트와 같은 커플링제의 존재 하에 효소와 반응할 수 있다. 이러한 커플링제의 존재 하에 또는 이소티오시아네이트와의 반응에 의해 플루오레세인 마커와의 접합체를 제조한다. 미국 특허 4,938,948에서, 유방 종양의 영상화는 모노클로날 항체를 사용하여 이루어지고, 검출가능한 영상화 모이어티는 링커, 예컨대 메틸-p-히드록시벤즈이미데이트 또는 N-숙신이미딜-3-(4-히드록시페닐)프로피오네이트를 사용하여 항체에 결합된다.

[0133] 다른 실시양태에서, 항체 조합 부위를 변경하지 않는 반응 조건을 사용하여 이뮤노글로불린의 Fc 영역에 술프히드릴 기를 선택적으로 도입함으로써 이뮤노글로불린을 유도체화하는 것이 고려된다. 이러한 방법에 따라 생성된 항체 접합체는 개선된 수명, 특이성 및 감도를 나타내는 것으로 개시되어 있다 (본원에 참조로 포함된 미국 특허 5,196,066). 이펙터 또는 리포터 분자가 Fc 영역의 탄수화물 잔기에 접합된 이펙터 또는 리포터 분자의 부위-특이적 부착은 또한 문헌 [O'Shannessy *et al.*, 1987]에 개시되어 있다. 이러한 접근법은 현재 임상적으로 평가되고 있는 진단적 및 치료적으로 유망한 항체를 생산하는 것으로 보고되었다.

[0134] V. 면역 검출 방법

[0135] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 치쿤군야 바이러스 및 그의 관련 항원을 결합시키고, 정제하고, 제거하고, 정량하고, 달리 검출하는 면역 검출 방법에 관한 것이다. 이러한 방법은 전통적인 의미로 적용될 수 있는 반면, 본 개시내용에 따른 항체가 바이러스 내의 H1 항원의 양 또는 일체성 (즉, 장기간 안정성)을 평가하기 위해 사용될 수 있는 백신 및 다른 바이러스 원액의 품질 제어 및 모니터링에 있어서 또 다른 용도로 사용될 것이다. 별법으로, 상기 방법은 적절한/원하는 반응성 프로파일에 대한 다양한 항체를 스크리닝하기 위해 사용될 수 있다.

[0136] 일부 면역 검출 방법에는 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA), 방사선면역검정 (RIA), 면역 방사 계측 검정, 형광 면역검정, 화학발광 검정, 생물발광 검정 및 웨스턴 블롯이 있다. 특히, 샘플에서 특정 기생충 에피토프에 대한 치쿤군야 바이러스 항체의 검출 및 정량을 위한 경쟁 검정도 제공된다. 다양한 유용한 면역 검출 방법의 단계는 학술 문헌, 예컨대 문헌 [Doolittle and Ben-Zeev (1999), Gulbis and Galand (1993), De Jager *et al.* (1993), 및 Nakamura *et al.* (1987)]에 설명되어 있다. 일반적으로, 면역결합 방법은 치쿤군야 바이러스를 함유하는 것으로 의심되는 샘플을 수득하고, 샘플을 면역복합체의 형성을 허용하기에 효과적인 조건 하에, 경우에 따라 본 개시내용에 따른 제1 항체와 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0137] 이 방법은 샘플로부터 치쿤군야 바이러스 또는 관련 항원을 정제하는 방법을 포함한다. 항체는 바람직하게는 칼럼 매트릭스 형태와 같은 고체 지지체에 연결될 것이고, 치쿤군야 바이러스 또는 항원 성분을 함유할 것으로 의심되는 샘플은 고정화된 항체에 적용될 것이다. 고정화된 항체에 면역복합체화된 치쿤군야 바이러스 항원은 남겨두면서 원하지 않는 성분을 칼럼으로부터 씻어내고, 이어서 유기체 또는 항원을 칼럼으로부터 제거하여 수집한다.

[0138] 면역결합 방법은 또한 샘플에서 치쿤군야 바이러스 또는 관련 성분의 양을 검출하고 정량하는 방법 및 결합 과정 동안 형성된 임의의 면역 복합체의 검출 및 정량 방법을 포함한다. 여기서, 치쿤군야 바이러스 또는 그의 항원을 함유하는 것으로 의심되는 샘플을 수득하고, 샘플을 치쿤군야 바이러스 또는 그의 성분에 결합하는 항체와 샘플을 접촉시킨 후, 특정 조건 하에서 형성된 면역 복합체의 양을 검출 및 정량할 것이다. 항원 검출의 관점에서, 분석되는 생물학적 샘플은 치쿤군야 바이러스 또는 치쿤군야 바이러스 항원을 함유하는 것으로 의심되는 임의의 샘플, 예컨대 조직 절편 또는 검체, 균질 조직 추출물, 혈액 및 혈청을 포함하는 생물학적 유체, 또는 대변 또는 소변과 같은 분비물일 수 있다.

[0139] 선택된 생물학적 샘플을 면역 복합체 (1차 면역 복합체)의 형성을 허용하기에 효과적인 조건 하에 및 충분한 시간 동안 항체와 접촉시키는 것은 일반적으로 샘플에 항체 조성물을 단순히 첨가하고, 항체가 면역 복합체를 형성하기에, 즉 존재하는 치쿤군야 바이러스 또는 항원에 결합하기에 충분한 시간 동안 혼합물을 인큐베이션하는 문제이다. 이후에, 조직 절편, ELISA 플레이트, 도트 블롯 또는 웨스턴 블롯과 같은 샘플-항체 조성물은 일반적으로 임의의 비특이적으로 결합된 항체 종을 제거하여 1차 면역 복합체 내에 특이적으로 결합된 항체만 검출되도록 만들 것이다.

[0140] 일반적으로, 면역복합체 형성의 검출은 관련 기술분야에 공지되어 있으며, 많은 접근법의 적용을 통해 달성될 수 있다. 이들 방법은 일반적으로 방사성, 형광, 생물학적 및 효소적 태그 중 임의의 것과 같은 표지 또는 마커의 검출에 기초한다. 이러한 표지의 사용에 관한 특허는 미국 특허 3,817,837, 3,850,752, 3,939,350,

3,996,345, 4,277,437, 4,275,149 및 4,366,241을 포함한다. 물론, 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 제2 항체 및/또는 비오틴/아비딘 리간드 결합 배열과 같은 2차 결합 리간드의 사용을 통해 부가적인 이점을 발견할 수 있다.

[0141] 검출에 사용된 항체는 그 자체가 검출가능한 표지에 연결될 수 있고, 이러한 표지를 단순히 검출함으로써 조성물 내의 1차 면역 복합체의 양을 결정할 수 한다. 별법으로, 1차 면역 복합체 내에서 결합되는 제1 항체는 항체에 대한 결합 친화도를 갖는 제2 결합 리간드에 의해 검출될 수 있다. 이러한 경우, 제2 결합 리간드는 검출가능한 표지에 연결될 수 있다. 제2 결합 리간드 자체는 종종 항체이기 때문에 "2차" 항체라고 부를 수 있다. 1차 면역 복합체는 2차 면역 복합체의 형성을 허용하기에 효과적인 조건 하에 및 충분한 시간 동안 표지된 2차 결합 리간드 또는 항체와 접촉된다. 이어서, 2차 면역 복합체는 일반적으로 세척되어 비특이적으로 결합된 표지된 2차 항체 또는 리간드를 제거하고, 2차 면역 복합체의 잔류 표지가 검출된다.

[0142] 추가의 방법은 2-단계 접근법에 의한 1차 면역 복합체의 검출을 포함한다. 항체에 대한 결합 친화도를 갖는 항체와 같은 제2 결합 리간드는 상기한 바와 같이 2차 면역 복합체를 형성하는데 사용된다. 세척 후, 2차 면역 복합체는 다시 면역 복합체(3차 면역 복합체)의 형성을 허용하기에 효과적인 조건 하에 및 충분한 시간 동안, 제2 항체에 대한 결합 친화도를 갖는 제3 결합 리간드 또는 항체와 접촉된다. 제3 리간드 또는 항체는 검출가능한 표지에 연결되어, 형성된 3차 면역 복합체의 검출을 가능하게 한다. 이러한 시스템은 원하는 경우에 신호 증폭을 제공할 수 있다.

[0143] 면역 검출의 한 방법은 2종의 상이한 항체를 사용한다. 제1 비오티닐화 항체를 사용하여 표적 항원을 검출하고, 이어서 제2 항체를 사용하여 복합체화된 비오틴에 부착된 비오틴을 검출한다. 그 방법에서, 시험되는 샘플은 먼저 제1 단계 항체를 함유하는 용액에서 인큐베이션된다. 표적 항원이 존재한다면, 항체의 일부는 항원에 결합하여 비오티닐화 항체/항원 복합체를 형성한다. 이어서, 항체/항원 복합체는 스트렙타비딘 (또는 아비딘), 비오티닐화된 DNA 및/또는 상보성 비오티닐화된 DNA의 연속적인 용액에서 인큐베이션함으로써 증폭되고, 각각의 단계는 항체/항원 복합체에 추가의 비오틴 부위를 부가한다. 증폭 단계는 적합한 수준의 증폭이 달성될 때까지 단계가 반복되고, 이때 샘플은 비오틴에 대한 제2 단계 항체를 함유하는 용액에서 인큐베이션된다. 이러한 제2 단계 항체는 예를 들어 색원체 기질을 사용하여 조직효소학에 의해 항체/항원 복합체의 존재를 검출하기 위해 사용될 수 있는 효소로 표지된다. 적합한 증폭으로, 육안으로 볼 수 있는 접합체를 제조할 수 있다.

[0144] 면역 검출의 또 다른 공지된 방법은 면역-PCR (폴리머라제 연쇄 반응) 방법을 이용한다. PCR 방법은 비오티닐화된 DNA와 함께 인큐베이션할 때까지는 칸터(Cantor) 방법과 유사하지만, 다수 라운드의 스트렙타비딘 및 비오티닐화된 DNA 인큐베이션을 사용하는 대신에, DNA/비오틴/스트렙타비딘/항체 복합체는 항체를 방출하는 낮은 pH 또는 고염 완충제로 세척된다. 이어서, 생성되는 세척액을 사용하여 적절한 제어 하에 적합한 프라이머로 PCR 반응을 수행한다. 적어도 이론상으로는, PCR의 엄청난 증폭 능력 및 특이성을 이용하여 단일 항원 분자를 검출할 수 있다.

[0145] A. ELISA

[0146] 면역검정은 그의 가장 간단하고 직접적인 의미에서 결합 검정이다. 특정 바람직한 면역검정은 관련 기술분야에 알려진 다양한 유형의 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA) 및 방사선면역검정 (RIA)이다. 조직 절편을 이용한 면역조직화학 검출 또한 특히 유용한다. 그러나, 검출은 상기 기술에 국한되지 않으며, 웨스턴 블로팅, 도트 블로팅, FACS 분석 등이 또한 사용될 수 있음을 쉽게 알 수 있을 것이다.

[0147] 하나의 예시적인 ELISA에서, 본 개시내용의 항체는 단백질 친화도를 나타내는 선택된 표면, 예컨대 폴리스티렌 미량역가 플레이트 내의 웰 상에 고정화된다. 이어서, 치쿤군야 바이러스 또는 치쿤군야 바이러스 항원을 함유할 것으로 의심되는 시험 조성물을 웰에 첨가한다. 비-특이적으로 결합된 면역 복합체를 제거하기 위해 결합 및 세척 후에, 결합된 항원이 검출될 수 있다. 검출은 검출가능한 표지에 연결된 또 다른 항-치쿤군야 바이러스 항체의 첨가에 의해 달성될 수 있다. 이러한 유형의 ELISA는 간단한 "샌드위치 ELISA"이다. 검출은 또한 제2 항-치쿤군야 바이러스 항체를 첨가한 다음, 제2 항체에 대한 결합 친화도를 갖는 제3 항체를 첨가함으로써 검출될 수 있고, 제3 항체는 검출가능한 표지에 연결된다.

[0148] 또 다른 예시적인 ELISA에서, 치쿤군야 바이러스 또는 치쿤군야 바이러스 항원을 함유하는 것으로 의심되는 샘플을 웰 표면 상에 고정화한 후, 본 개시내용의 항-치쿤군야 바이러스 항체와 접촉시킨다. 비-특이적으로 결합된 면역 복합체를 제거하기 위해 결합 및 세척 후에, 결합된 항-치쿤군야 바이러스 항체가 검출된다. 초기 항-치쿤군야 바이러스 항체가 검출가능한 표지에 연결되는 경우, 면역 복합체를 직접 검출할 수 있다. 다시, 면역

복합체는 제1 항-치쿤군야 바이러스 항체에 대한 결합 친화도를 갖는 제2 항체를 사용하여 검출될 수 있고, 제2 항체는 검출가능한 표지에 연결된다.

[0149] 사용된 포맷에 상관없이, ELISA는 코팅, 인큐베이션 및 결합, 비-특이적으로 결합된 종의 제거를 위한 세척 및 결합된 면역 복합체의 검출과 같은 공통된 특정 특징을 가지고 있다. 이들은 아래에서 설명된다.

[0150] 항원 또는 항체로 플레이트를 코팅할 때, 일반적으로 플레이트의 웰을 밤새 또는 지정된 시간 동안 항원 또는 항체의 용액과 함께 인큐베이션할 것이다. 이어서, 플레이트의 웰을 세척하여 불완전하게 흡착된 물질을 제거할 것이다. 이어서, 웰의 이용가능한 임의의 잔여 표면은 시험 항혈청에 대해 항원적으로 중성인 비특이적 단백질로 "코팅"된다. 여기에는 소 혈청 알부민 (BSA), 카제인 또는 분유 용액이 포함된다. 코팅은 고정화 표면상의 비특이적 흡착 부위를 차단함으로써 항혈청의 표면에 대한 비특이적 결합에 의해 야기되는 배경을 감소시킬 수 있다.

[0151] ELISA에서, 직접적인 절차보다는 2차 또는 3차 검출 수단을 사용하는 것이 아마도 보다 더 관례적이다. 따라서, 웰에 단백질 또는 항체를 결합시키고, 배경을 감소시키기 위해 비-반응성 물질로 코팅하고, 결합되지 않은 물질을 제거하기 위해 세척한 후, 고정화 표면은 면역 복합체 (항원/항체) 형성을 허용하는 효과적인 조건 하에 시험할 생물학적 샘플과 접촉된다. 이어서, 면역 복합체의 검출은 표지된 3차 항체 또는 3차 결합 리간드와 함께, 표지된 2차 결합 리간드 또는 항체, 및 2차 결합 리간드 또는 항체를 필요로 한다.

[0152] "면역 복합체 (항원/항체) 형성을 허용하는 조건 하에서"는 조건이 바람직하게는 BSA, 소 감마 글로불린 (BGG) 또는 인산염 완충 염수 (PBS)/트윈과 같은 용액으로 항원 및/또는 항체를 희석하는 것을 포함함을 의미한다. 이러한 첨가된 작용제는 또한 비특이적 배경의 감소를 돕는 경향이 있다.

[0153] "적합한" 조건은 또한 인큐베이션이 효과적인 결합을 허용하기에 충분한 온도에서 또는 충분한 시간 동안 실시됨을 의미한다. 인큐베이션 단계는 전형적으로 약 1 내지 2 내지 4시간 정도, 바람직하게는 25℃ 내지 27℃ 정도의 온도에서, 또는 약 4℃ 정도에서 밤새 실시될 수 있다.

[0154] ELISA에서 모든 인큐베이션 단계 후에, 복합체화되지 않은 물질을 제거하기 위해 접촉된 표면을 세척한다. 바람직한 세척 절차는 PBS/트윈 또는 보레이트 완충제와 같은 용액으로 세척하는 것을 포함한다. 시험 샘플과 원래 결합된 물질 사이의 특이적 면역 복합체의 형성 및 후속 세척 후에, 심지어 미세한 양의 면역 복합체의 발생이 결정될 수 있다.

[0155] 검출 수단을 제공하기 위해, 제2 또는 제3 항체는 검출을 가능하게 하는 회합된 표지를 가질 것이다. 바람직하게는, 표지는 적절한 발색 기질과 함께 인큐베이션할 때 발색을 일으킬 효소일 것이다. 따라서, 예를 들어, 추가의 면역 복합체 형성에 유리한 조건 하에 및 시간 동안 제1 및 제2 면역 복합체를 우레아제, 글루코스 옥시다제, 알칼리성 포스파타제 또는 수소 퍼옥시다제-접합 항체와 접촉시키거나 인큐베이션하기를 원할 것이다 (예를 들어, PBS-트윈과 같은 PBS 함유 용액에서 실온에서 2시간 배양).

[0156] 표지된 항체와 함께 인큐베이션하고, 결합되지 않은 물질을 제거하기 위해 세척한 후, 표지의 양은 예를 들어 발색 기질, 예컨대 우레아 또는 브로모크레졸 퍼플 또는 2,2'-아지노-디-(3-에틸-벤즈티아졸린-6-술폰산) (ABTS), 또는 효소 표지로서 퍼옥시다제의 경우에 H_2O_2와 함께 인큐베이션함으로써 정량된다. 이어서, 정량은 생성된 색상의 정도를, 예를 들어 가시 스펙트럼 분광광도계를 사용하여 측정함으로써 수행된다.

[0157] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 경쟁 포맷의 사용을 고려한다. 이것은 샘플에서 치쿤군야 바이러스 항체의 검출에 특히 유용하다. 경쟁 기반 검정에서, 미지량의 분석물 또는 항체는 공지된 양의 표지된 항체 또는 분석물을 대체하는 그의 능력에 의해 결정된다. 따라서, 신호의 정량가능한 손실은 샘플 내의 미지의 항체 또는 분석물의 양을 나타내는 것이다.

[0158] 여기서, 본 발명자들은 샘플에서 치쿤군야 바이러스 항체의 양을 결정하기 위해 표지된 치쿤군야 바이러스 모노클로날 항체의 사용을 제안한다. 기본 포맷은 알려진 양의 치쿤군야 바이러스 모노클로날 항체 (검출가능한 표지에 연결됨)를 치쿤군야 바이러스 항원 또는 입자와 접촉시키는 것을 포함할 것이다. 치쿤군야 바이러스 항원 또는 유기체는 바람직하게는 지지체에 부착된다. 표지된 모노클로날 항체를 지지체에 결합시킨 후, 샘플을 첨가하고, 샘플 중의 임의의 비표지된 항체가 표지된 모노클로날 항체와 경쟁하여 이를 대체할 수 있도록 하는 조건 하에 인큐베이션한다. 손실된 표지 또는 남아있는 표지를 측정함으로써 (및 이를 원래의 결합된 표지의 양으로부터 차감함으로써), 얼마나 많은 표지되지 않은 항체가 지지체에 결합되고, 따라서 얼마나 많은 항체가 샘플 내에 존재하는지 결정할 수 있다.

[0159] B. 웨스턴 블롯

[0160] 웨스턴 블롯 (또는 단백질 면역블롯)은 조직 균질액 또는 추출물의 제시된 샘플에서 특정 단백질을 검출하는데 사용되는 분석 기술이다. 이것은 폴리펩티드의 길이 (변성 조건) 또는 단백질의 3-D 구조 (천연/비-변성 조건)에 의해 천연 또는 변성된 단백질을 분리하기 위해 겔 전기영동을 사용한다. 이어서, 단백질은 막 (전형적으로 니트로셀룰로스 또는 PVDF)으로 옮겨지고, 여기서 표적 단백질에 특이적인 항체를 사용하여 프로빙 (검출)된다.

[0161] 샘플은 전체 조직 또는 세포 배양액에서 채취할 수 있다. 대부분의 경우, 고형 조직은 먼저 블렌더 (보다 큰 샘플 부피용), 균질화기 (보다 작은 부피)를 사용하여 또는 초음파 처리에 의해 기계적으로 파괴된다. 또한, 세포는 위의 기계적 방법 중 하나에 의해 파괴될 수도 있다. 그러나, 박테리아, 바이러스 또는 환경 샘플이 단백질의 공급원이 될 수 있으므로, 웨스턴 블로팅은 세포 연구에만 국한되지 않는다는 점에 유의해야 한다. 세포의 용해를 촉진하고 단백질을 가용화하기 위해 여러 가지의 세제, 염 및 완충제를 사용할 수 있다. 프로테아제 및 포스파타제 억제제는 종종 그 자체의 효소에 의한 샘플의 소화를 방지하기 위해 첨가된다. 조직 준비는 종종 단백질 변성을 피하기 위해 차가운 온도에서 수행된다.

[0162] 샘플의 단백질은 겔 전기영동을 사용하여 분리된다. 단백질의 분리는 등전점 (pI), 분자량, 전하 또는 이들 인자의 조합에 의해 이루어질 수 있다. 분리의 특성은 샘플의 처리 및 겔의 특성에 따라 결정된다. 이것은 단백질을 결정하는 매우 유용한 방법이다. 또한, 단일 샘플로부터의 단백질을 2차원으로 확산시키는 2차원 (2-D) 겔을 사용할 수도 있다. 단백질은 등전점 (단백질이 중성 순 전하를 띠는 pH)에 따라 1차원으로 분리되고, 분자량에 따라 2차원으로 분리된다.

[0163] 단백질을 항체 검출을 위해 이용가능하게 하기 위해, 이들은 겔 내로부터 니트로셀룰로스 또는 폴리비닐리덴 디플루오라이드 (PVDF)로 제조된 막 상으로 이동한다. 막을 겔 위에 올려놓고, 그 위에 여과지 스택을 놓는다. 모세관 현상에 의해 여과지 위로 이동하면서 그와 함께 단백질을 이동시키는 완충제 용액에 전체 스택을 넣는다. 단백질을 옮기기 위한 또 다른 방법은 전기블로팅이라고 하고, 전류를 사용하여 단백질을 겔로부터 PVDF 또는 니트로셀룰로스 막으로 끌어당긴다. 단백질은 그들이 겔 내에서 가지고 있던 조직을 유지하면서 겔 내에서 막으로 이동한다. 이러한 블로팅 과정의 결과로, 단백질은 검출을 위해 얇은 표면층에 노출된다 (아래 참조). 양쪽 종류의 막이 비-특이적 단백질 결합 특성 (즉, 모든 단백질에 동일하게 잘 결합함)으로 선택된다. 단백질 결합은 소수성 상호 작용 뿐만 아니라, 막과 단백질 사이의 하전된 상호작용을 기초로 한다. 니트로셀룰로스 막은 PVDF보다 저렴하지만, 훨씬 더 약해서 반복된 프로빙에 잘 견디지 못한다. 쿠마시 브릴리언트 블루 또는 폰소 S 염료로 막을 염색함으로써 단백질의 겔로부터 막으로의 전달의 균일성 및 전체적인 효과를 조사할 수 있다. 전달된 단백질은 표지된 1차 항체 또는 표지되지 않은 1차 항체를 사용하여 검출되고, 이어서 표지된 단백질 A 또는 1차 항체의 Fc 영역에 결합하는 표지된 2차 항체를 사용하여 간접적으로 검출된다.

[0164] C. 면역조직화학

[0165] 본 개시내용의 항체는 또한 면역조직화학 (IHC)에 의한 연구를 위해 제조된 양쪽 신선 동결 및/또는 포르말린 고정, 파라핀 포매 조직 블록과 함께 사용될 수 있다. 이러한 미립자 표본으로부터 조직 블록을 제조하는 방법은 다양한 예후 인자에 대한 이전의 IHC 연구에서 성공적으로 사용되어 왔고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 잘 알려져 있다 (Brown *et al.*, 1990; Abbondanzo *et al.*, 1990; Allred *et al.*, 1990).

[0166] 간단히 설명하면, 동결 절편은 작은 플라스틱 캡슐에 인산염 완충 염수 (PBS)로 실온에서 50 ng의 동결 "분쇄" 조직을 재수화하고/거나; 원심분리에 의해 입자를 펠렛화하고/거나; 이를 점성 포매 매질 (OCT)에 재현탁하고/거나; 캡슐을 뒤집고/거나 원심분리에 의해 다시 펠렛화하고/거나; -70℃ 이소펜탄에서 급속 동결하고/거나; 플라스틱 캡슐을 절단하고/거나 조직의 동결 실린더를 제거하고/거나; 저온 유지장치 동결절단기 고정구 상에 조직 실린더를 고정하고/거나; 캡슐로부터 25-50개의 연속 절편을 절단함으로써 준비할 수 있다. 별법으로, 전체 동결 조직 샘플을 연속 절편 절단을 위해 사용할 수 있다.

[0167] 영구적인 절편은 플라스틱 미세원심분리관에서 50 mg 샘플을 재수화하고/거나; 펠렛화하고/거나; 4시간 고정을 위해 10% 포르말린에서 재현탁하고/거나; 세척/펠렛화하고/거나; 따뜻한 2.5% 아가에 재현탁하고/거나; 펠렛화하고/거나; 아가를 경화시키기 위해 얼음물에서 냉각하고/거나; 상기 관으로부터 조직/아가 블록을 제거하고/거나; 파라핀에 블록을 침윤 및/또는 포매하고/거나; 최대 50개의 영구적인 연속 절편을 절단함을 수반하는 유사한 방법에 의해 준비할 수 있다. 다시, 전체 조직 샘플을 대체할 수 있다.

[0168] D. 면역 검출 키트

[0169] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 상기 설명한 면역 검출 방법과 함께 사용하기 위한 면역 검출 키트에 관한 것이다. 항체가 치쿤군야 바이러스 또는 치쿤군야 바이러스 항원을 검출하는데 사용될 수 있기 때문에, 항체가 키트에 포함될 수 있다. 따라서, 면역 검출 키트는 적합한 용기 수단에 치쿤군야 바이러스 또는 치쿤군야 바이러스 항원에 결합하는 제1 항체 및 임의로 면역 검출 시약을 포함할 것이다.

[0170] 특정 실시양태에서, 치쿤군야 바이러스 항체는 고체 지지체, 예컨대 칼럼 매트릭스 및/또는 미량역가 플레이트의 웰에 미리 결합될 수 있다. 키트의 면역 검출 시약은 주어진 항체와 회합되거나 연결된 검출가능한 표지를 포함하는 다양한 형태 중 임의의 형태를 취할 수 있다. 2차 결합 리간드와 회합되거나 부착된 검출가능한 표지도 또한 고려된다. 예시적인 2차 리간드는 1차 항체에 대한 결합 친화도를 갖는 2차 항체이다.

[0171] 본 발명의 키트에 사용하기 위한 또 다른 적합한 면역 검출 시약은 제2 항체에 대한 결합 친화도를 갖는 제3 항체와 함께 제1 항체에 대한 결합 친화도를 갖는 2차 항체를 포함하는 2-성분 시약을 포함하고, 여기서 제3 항체는 검출가능한 표지에 연결된다. 상기한 바와 같이, 다수의 예시적인 표지는 관련 기술분야에 알려져 있고, 이러한 모든 표지는 본 개시내용과 관련하여 사용될 수 있다.

[0172] 상기 키트는 검출 검정을 위한 표준 곡선을 작성하는데 사용될 수 있는, 표지되거나 또는 표지되지 않은 치쿤군야 바이러스 또는 치쿤군야 바이러스 항원의 적절하게 분취된 조성물을 추가로 포함할 수 있다. 키트는 완전히 접합된 형태, 중간체의 형태 또는 키트의 사용자에 의해 접합되는 별개의 모이어티로서 항체-표지 접합체를 함유할 수 있다. 키트의 성분은 수성 매질 또는 동결건조된 형태로 포장될 수 있다.

[0173] 키트의 용기 수단은 일반적으로 항체가 놓일 수 있는, 바람직하게는 적절하게 분취될 수 있는 적어도 하나의 바이알, 시험관, 플라스크, 병, 주사기 또는 다른 용기 수단을 포함할 것이다. 본 개시내용의 키트는 또한 전형적으로 상업적 판매를 위해 밀폐된 상태로 항체, 항원 및 임의의 다른 시약 용기를 수용하기 위한 수단을 포함할 것이다. 상기 용기는 원하는 바이알이 보유되는 사출 또는 취입 성형된 플라스틱 용기를 포함할 수 있다.

[0174] VI. 실시예

[0175] 하기 실시예는 바람직한 실시양태를 설명하기 위해 포함된다. 하기 실시예에 개시된 기술은 본 발명자들에 의해 발견된 기술이 실시양태의 실시에서 잘 기능하고, 따라서 그의 실시를 위한 바람직한 방식을 구성하는 것으로 간주될 수 있음을 통상의 기술자는 이해하여야 한다. 그러나, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 개시내용에 비추어, 개시된 구체적인 실시양태에서 많은 변화가 이루어질 수 있으며, 개시내용의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 동일하거나 유사한 결과를 계속 얻을 수 있다는 것을 이해하여야 한다.

[0176] **실시예 1 - 물질 및 방법**

[0177] **인간 mAb의 단리.** PBMC는 스리랑카에서 증상이 있는 CHKV 감염이 보고된 후 ~ 5년이 지난 인간으로부터 얻은 것이다. B 세포는 CpG 존재 하에서 EBV를 갖는 384-웰 플레이트에서 형질전환되었다. 생성된 B 세포 림프모구 세포주의 상청액을 항원으로서 생 CHIKV 백신 균주 181/25 바이러스를 사용하여 ELISA에 의해 인간 CHKV-특이적 결합 항체의 존재에 대해 스크리닝하였다. 형질전환된 B 세포를 수집하여 골수종 세포주에 융합시키고, 배양 플레이트에 분배하고, 팽창시키고, 우아바인을 함유하는 히포크산틴-아미노프테린-티미딘 배지에서 성장시켜 선택하였다. 하이브리도마는 단일-세포 분류에 의해 클로닝되었다. 무혈청 배지에서 성장한 클로닝된 하이브리도마의 상청액을 수집하고, 정제하고, 단백질 G 크로마토그래피에 의해 정화된 배지에서 농축하였다.

[0178] **중화 검정.** 정제된 IgG mAb 단백질은 CHKV 바이러스 레플리콘 입자 (VRP) 또는 다양한 유전적 및 지형적 프로파일을 나타내는 각각의 4종의 살아있는 치쿤군야 바이러스를 사용하여 중화 활성을 시험하였다. GFP를 코딩하는 CHIKV VRP는 PCR 기반 클로닝 방법을 사용하여 CHIKV 균주 SL15649 (진뱅크: GU189061.1) 게놈 서열의 전장 cDNA를 함유하는 플라스미드를 기반으로 하는 3-플라스미드 CHIKV 레플리콘 헬퍼 시스템의 개발에 의해 생성되었다. VRP를 mAb와 함께 희석하여 인큐베이션한 다음, Vero 81 세포 단일층 상에 18시간 동안 접종하고; 감염된 세포 및 총 세포 (핵 마커로 확인됨)를 형광 영상화 시스템으로 확인하였다. mAb 폭 및 중화 효능을 결정하기 위해, 본 발명자들은 3가지 유전자형 각각으로부터의 하나의 프로토타입 바이러스 및 또한 현재 카리브해 발생지의 균주를 비롯하여, 각각의 CHIKV 유전자형에서 적어도 하나의 대표자를 갖는 4개의 대표적인 살아있는 바이러스 균주를 사용하였다. 중화 활성은 병소 감소 중화 시험에서 결정되었다. 정제된 인간 mAb의 연속 희석액을 37℃에서 1시간 동안 100 병소 형성 단위의 CHIKV와 함께 인큐베이션하였다. MAb-바이러스 복합체를 96-웰 플레이트에서 Vero 세포에 첨가한 후, 면역 퍼옥시다제 검출을 사용하여 세포 고정 후 플라크를 검출하고, 이뮤노스팟(ImmunoSpot) 5.0.37 매크로분석기 (셀룰러 테크놀로지스 리미티드(Cellular Technologies Ltd))를 사용하여 정량하였다. EC_{50} 값은 항체 부재 하에 CHIKV를 접종한 웰과 비교한 후, 비선형 회귀 분석을 사용하여

계산하였다.

[0179] **E2 ELISA.** 재조합 CHIKV E2 세포외 단백질 (CHIKV-LR2006 균주에 상응함)을 이. 콜라이(*E. coli*)에서 생성시키고, 미량역가 플레이트에 흡착시켰다. 인간 mAb를 적용한 후, 결합된 CHKV-특이적 mAb를 비오틴-접합된 염소 항-인간 IgG로 검출하였다.

[0180] **경쟁 결합 검정.** 본 발명자들은 옥텟 레드(Octet Red) 바이오센서 (포르테바이오)에서 항-펜타-His 바이오센서 팁 (포르테바이오(ForteBio) #18-5077)에 부착된 폴리히스티딘-태그를 함유하는 CHIKV-LR2006 E2 엑토도메인 단백질에 결합하기 위해 항체의 쌍을 경쟁시킴으로써 동일한 주요 항원 부위에 결합하는 항체 군을 확인하였다.

[0181] **에피토프 맵핑을 위한 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발.** C-말단 V5 태그를 갖는 CHIKV 외피 단백질 발현 구축물 (균주 S27, Uniprot Reference #Q8JUX5)을 알라닌-스캐닝 돌연변이 유발에 적용하여 포괄적 돌연변이 라이브러리를 생성하였다. 프라이머는 외피 단백질의 E2, 6K 및 E1 영역 내의 각각의 잔기 (구조 폴리단백질 내의 잔기 Y326 내지 H1248)를 알라닌으로 돌연변이시키기 위해 설계되었고; 알라닌 코돈은 세린으로 돌연변이되었다. 총 910개의 CHIKV 외피 단백질 돌연변이체가 생성되었다. 각각의 구축물에 대한 mAb의 결합 상실은 고효율 유동 세포 계측기로 검출된 세포 형광을 이용하여 면역형광 결합 검정을 사용하여 시험하였다.

[0182] **중화 메카니즘.** MAb는 Vero 81 세포에 부착하기 전 또는 후에 VRP와 상호작용 한 다음, VRP 중화 검정에서 설명한 바와 같이 세포를 염색하고 영상화하고 분석하여 어느 단계에서 mAb가 항바이러스 효과를 발휘하는지 결정하였다. 검정 내의 융합 및 검정 외의 융합을 보충 실험 절차에서 상세히 설명된 바와 같이 수행하였다.

[0183] **마우스에서 생체내 보호 연구.** Ifnar$^{-/-}$ 마우스는 병원체가 없는 동물 시설에서 사육되었고, 감염 실험은 A-BSL3 시설에서 수행되었다. 발바닥 주사는 마취 하에 수행되었다. 예방 연구를 위해, 인간 mAb를 10 FFU의 CHIKV-LR를 발바닥에 피하 접종하기 1일 전에 6주된 Ifnar$^{-/-}$ 마우스에 복강 주사로 투여하였다. 치료 연구를 위해, 10 FFU의 CHIKV-LR을 특정된 용량의 인간 mAb의 개별 또는 조합물의 단일 용량의 투여 24시간, 48시간 또는 60시간 전에 전달하였다.

[0184] **인간 대상체 및 말초 혈액 세포 단리.** 그렇지 않으면 건강할 성인 대상체가 2006년 10월에 CHIKV 감염을 나타내었다. CHIKV 감염의 증상은 환자가 도시 지역 (주로 콜롬보), 및 열대 우림 및 해안 지역을 포함한 시골 환경에서 1년간 스리랑카를 방문하고 돌아옴과 동시에 발생하였다. 환자는 방문 기간 동안 여러 벌레 곤충에 물리기를 경험했지만, 체재 기간 내내 좋은 건강 상태를 유지하였다. 미국으로 돌아왔을 때, 대상체는 주치의에게 3일간의 발열 (102°F)을 설명하였다. 환자는 팔꿈치와 손가락에 양측 관절통이, 등과 복부에 돌출된 비-소양성 발진이 동시에 발생하고 일반적인 몸살과 두통이 동반된다고 보고하였다. 설명 시에, 환자는 건강하고 급성 고통이 없는 것처럼 보였다. 경미한 창백성 구진성 발진이 등, 가슴 및 복부에 걸쳐 확장되었다 (도 4 참조). 약한 결막염이 관찰되었다. 골격 검사는 홍반 또는 삼출이 없는 얼얼한 부풀어오른 손가락, 무릎 및 팔꿈치에서 집중되었다. 이환된 관절의 근력 및 이동 범위는 손상되지 않았지만, 관절 움직임은 통증을 유발하였다.

[0185] CBC, 혈청학 검사 및 말라리아 도말 검사를 위해 혈액을 채취하고, 환자를 퇴원 시켰다. 백혈구 수는 4.0 x 10^4 세포/mm^3이고, 헤마토크릿은 41%이고, 혈소판 수는 180,000/mm^3이었다. 총 림프구 수는 1.0 x 10^4 세포/mm^3이었다. 말라리아 도말 검사 및 혈청 검사 결과는 음성이었고, 환자는 원인 불명의 바이러스성 질환으로 잠정적으로 진단받았다.

[0186] 환자는 2주 후에 열은 없지만 지속적인 관절통 (손가락에서 가장 현저함)이 있어 병원에 다시 방문하였다. 환자는 통증 및 결림이 이전 방문 때보다 좋지 않거나 아마도 더 나쁜 것으로 묘사하였다. 환자는 이전 여행 지역에서 치쿤군야 발병의 일어나고 있다고 설명하였다. 혈액을 채취하여 혈청을 분리하고, PCR 및 혈청 검사를 위해 CDC로 보내 치쿤군야 감염 진단을 확인하였다.

[0187] 인덱스 감염 후 5년 반이 지난 2012년 4월에, 미국에 거주하면서 개입 기간 동안 CHIKV 또는 다른 관절염 유발 알파바이러스에 노출된 것으로 알려진 바 없는 상태로 피콜(Ficoll)에서 밀도 구배 분리에 의해 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)가 단리되었다. 세포를 냉동보존하고, 연구할 때까지 액체 질소에 저장하였다. 대상체로부터 혈액 샘플을 모으고 수집하기 위한 프로토콜은 미국 채플 힐 소재의 노스캐롤라이나 대학교 및 밴더빌트 대학 메디칼 센터의 기관 검토 위원회에 의해 승인되었다.

[0188] **인간 하이브리도마의 생성.** 냉동보존된 PBMC 샘플은 37℃에서 빠르게 해동하고, 문헌에 설명된 대로 엡스타인-바 바이러스로 형질전환되기 전에 세척되었다 (Smith *et al.*, 2012). 배양물을 5% CO_2와 함께 37℃에서 10일

동안 인큐베이션하고, VRP 중화 검정 및 ELISA를 사용하여 상청액에서 CHIKV-특이적 항체를 분비하는 세포의 존재에 대해 스크리닝하였다. 본 발명자들은 동일한 혈액 샘플의 별개의 분취액을 사용하여 2종의 독립적인 형질전환을 수행하였다.

[0189] 제1 형질전환에서, 본 발명자들은 추정된 총 약 161,000개의 개별 B 세포 콜로니에 대해, 배양당 평균 42개의 형질전환된 B 세포 콜로니를 포함하는 3,840개의 배양물 (10 x 384-웰 플레이트)을 확립하였다. 본 발명자들은 BSL2 조건 하에서 CHIKV에 대한 중화 활성을 나타내는 항체를 스크리닝하기 위해, 녹색 형광 단백질을 리포터로서 발현하는 CHIKV 레플리콘 입자 (VRP)를 사용하는 고효율 형광 감소 중화 검정을 개발하였다. VRP는 천연 바이러스 당단백질을 나타내지만 전장 바이러스 게놈이 결여되어 감염성 자손체를 생성할 수 없는 비리온이다 (Vander Veen *et al.*, 2012). 본 발명자들은 2006년 스리랑카로부터 단리된 균주 SL15649 (Morrison *et al.*, 2011)로부터 유래된 VRP를 사용하였다. SL15649는 공여자를 감염시킨 균주와 동시에 발생하고, 서열이 매우 유사하다. 이러한 실험으로부터, 본 발명자들은 90% 억제에서 중화를 매개하는 상청액을 갖는 160 B 세포 배양물을 확인하였고, 이것은 총 B 세포당 바이러스 특이적 B 세포의 빈도가 0.099%임을 나타내었다 (1,000명 중 ~ 1명). 총 60개의 이들 세포주는 > 98% 수준에서 억제하였고, 2차 스크리닝에서 60개의 세포주 중 58개에서의 상청액은 ELISA에서 면역검정 플레이트 상에 포획된 세포-배양-생산된 CHIKV (균주 181/25)에 결합한 항체를 포함하였다. 본 발명자들은 하이브리드마 융합을 위해 중화 및 결합 활성이 가장 높은 58개 세포주 중 35개 세포주를 선택하고, 융합 및 플레이팅 후 바이러스 결합 상청액을 갖는 22개의 하이브리도마를 확인하고, 추가 연구를 위해 14개의 클론을 성공적으로 단리하였다. 제2 형질전환에서, 본 발명자들은 추정된 총 약 58,000개의 개별 B 세포 콜로니에 대해, 배양당 평균 38개의 형질전환된 B 세포 콜로니를 포함하는 1,536개의 배양물 (4 x 384-웰 플레이트)을 확립하였고, 이것은 바이러스 특이적 B 세포 빈도가 0.1% (다시, 1000명 중 ~ 1명)임을 시사하였다. 이러한 실험에서, 본 발명자들은 사전 중화 시험 없이 CHIKV 균주 181/25에 결합하는 ELISA의 1차 스크린을 사용하였다. 본 발명자들은 ELISA 광학 밀도 신호가 배경 수준의 4배 초과인 60개의 세포주를 확인하고, 융합을 위해 ELISA에서 가장 높은 광학 밀도 신호를 갖는 30개의 B 세포주를 선택하고, 융합 및 플레이팅 후 바이러스 결합 상청액을 갖는 18개의 하이브리도마를 확인하고, 추가 연구를 위해 16개의 클론을 성공적으로 단리하였다.

[0190] **골수종 세포와의 융합.** CHIKV 감염성을 중화시킬 수 있는 상청액이 있는 웰로부터의 세포를 HMMA2.5 비-분비성 골수종 세포와 융합시켰다 (Smith *et al.*, 2012). 생성되는 하이브리도마는 우아바인을 함유하는 히포크산틴-아미노프테린-티미딘 (HAT) 배지에서의 성장에 의해 선택하고, FACSAria III 세포 분류기 (비디 바이오사이언시스(BD Biosciences))를 사용하여 단일-세포 FACS에 의해 생물학적으로 클로닝하고, 팽창시켰다.

[0191] **인간 mAb 생산 및 정제.** CHIKV-특이적 항체를 생산하는 하이브리도마를 함유하는 웰을 3라운드의 제한 희석에 의해 또는 제조사의 지시에 따라 클론픽스 (ClonePix) 장치 (몰레큘라 디바이시스(Molecular Devices))로 클로닝하였다. 일단 개별 클론이 수득되면, 각 하이브리도마를 75 cm^2 플라스크에서 50% 전면생장률까지 팽창시켰다. 항체 발현을 위해, 세포를 세포 스크레이퍼로 수집하고, 무혈청 배지 (인비트로겐의 깁코(GIBCO) 하이브리도마-SFM, 12045084)로 세척한 후, 250 mL의 무 혈청 배지를 함유하는 4개의 225 cm^2 플라스크 (코닝(Corning), 431082)에 동일하게 나누었다. 배지를 원심분리에 의해 맑게 하기 전에 21일 동안 세포를 인큐베이션한 후, 0.2 μm의 멸균 필터를 통과시켰다. 항체를 맑아진 배지로부터 단백질 G 크로마토그래피 (지이 라이프 사이언시스(GE Life Sciences), 단백질 G HP 칼럼)에 의해 정제하였다.

[0192] **세포.** BHK-21 세포 (ATCC CCL-10)는 10% 소 태아 혈청 (FBS) 및 10% 트립토스 포스페이트 (시그마(Sigma))를 함유하도록 보충된 알파 최소 필수 배지 (αMEM, 깁코)에서 유지하였다. Vero 81 세포 (ATCC CCL-81)를 5% FBS를 함유하도록 보충된 αMEM에서 유지하였다. 모든 세포에 대한 배지는 0.29 mg/mL L- 글루타민 (깁코), 100 U/mL 페니실린 (깁코), 100 μg/mL 스트렙토마이신 (깁코) 및 500 ng/mL 암포테리신 B를 함유하도록 보충되었다. 세포는 5% CO_2의 가습 분위기에서 37℃에서 유지하였다.

[0193] **CHIKV VRP 플라스미드 구축물의 생성.** CHIKV 균주 SL15649 (진뱅크: GU189061.1) 게놈 서열의 전장 cDNA를 함유하는 플라스미드로부터 3-플라스미드 CHIKV 레플리콘 헬퍼 시스템을 PCR-기반 클로닝 방법을 사용하여 유도하였다. CHIKV 레플리콘 게놈은 다중 클로닝 부위 (MCS)로 치환된 CHIKV 전장 구조 카세트를 갖는 중간 클로닝 벡터의 생성을 포함하는 2단계 공정을 사용하여 구축되었다. 향상된 녹색 형광 단백질 (eGFP)은 pMH41 (CHIKV SL15649 eGFP 레플리콘)을 생성하기 위해 상기 플라스미드의 다중 클로닝 부위 내에 서브클로닝되었다. 2-플라스미드 헬퍼 시스템의 구축은 먼저 CHIKV 비-구조 카세트의 대다수 (6,891 nt)의 제거를 통한 전장 구조 유전자 헬퍼 플라스미드의 생성을 수반하는 다단계 클로닝 과정을 포함하였다. 전장 구조 카세트를 2개의 구축물, 즉

캡시드 유전자 서열, 이어서 특유한 AvrII 제한 부위를 포함하는 pMH38 (CHIKV SL15649 캡시드 헬퍼), 및 캡시드 RNA 결합 도메인의 인-프레임 결실, 이어서 무손상 외피 당단백질 (E3-E1) 코딩 서열을 포함하는 pMH39 (CHIKV SL15649 당단백질 헬퍼)로 추가로 세분되었다.

[0194] **재조합 CHIKV p62-E1 생산.** CHIKV p62를 함유하는 플라스미드 (즉, E3 [aa S1-R64] - E2 [aa S1-E361] - 16개 아미노산 링커 - E1 [aa Y1-Q411], 이어서 His 태그) (Voss *et al.*, 2010)를 293펙틴 시약 (인비트로겐)을 사용하여 293F 세포 내에 형질감염시켰다. 72시간 인큐베이션 후, 상청액을 제거하고, 세포를 추가로 72시간 배양하였다. 상청액을 모아서 니켈 아가로스 비드 칼럼 (골드바이오(GoldBio))에 로딩하고, 이미다졸로 용출시켰다. 단백질을 수퍼덱스(Superdex) S200 겔 여과 칼럼 (지이 라이프 사이언시스)을 사용하여 추가로 정제하였다. CHIKV p62-E1 단백질을 함유하는 분획을 모으고, 동결하고, -80℃에서 저장하였다.

[0195] **CHIKV 균주 SL15649 유래 VRP 원액의 생성.** 밴더빌트 대학 환경, 보건 및 안전과 및 밴더빌트 기관 생물안전성 위원회에 의해 승인된 프로토콜에 따라 생물학적 안전 캐비닛의 인증된 생물학적 안전 수준 3 (BSL3) 시설에서 재조합 CHIKV 플라스미드로부터 VRP 원액을 회수하였다. 3개의 SL15649 레플리콘 시스템 플라스미드를 NotI-HF 소화에 의해 선형화하고, 페놀-클로로포름 추출로 정제하고, 캡핑된 전장 RNA 전사체를 시험관내에서 생산하기 위해 mMessage mMachine SP6 전사 키트 (라이프 테크놀로지스(Life Technologies))를 사용한 전사 반응에서 주형으로 사용하였다. GenePulser 전기천공기를 사용한 전기천공에 의해 바이러스 RNA 전사체를 BHK21 세포에 도입하였다. VRP를 포함하는 배양 상청액을 전기천공 24시간 후에 수집하고; 상청액을 원심분리 855 x g에서 20분 동안 원심분리하여 맑게 하고, 분취하고, -80℃에서 보관하였다. Vero81 세포를 사용한 원액의 20% 및 계대배양 1 배양 상청액의 10%의 연속 계대배양에 의해 증식가능한 재조합 바이러스에 대해 VRP 원액을 평가하였고, 감염 72시간 후에 세포병리학적 효과 (CPE)를 조사하였다. 원액은 CPE가 최종 계대배양에서 검출되지 않을 때 이러한 안전성 시험을 통과한 것으로 간주되었다. 이어서, 원액은 BSL3 실험실에서 제거되었다.

[0196] **VRP 중화 및 GFP 리포터 검정.** 베로 81 세포 (2.25×10^3 세포/웰)를 384- 웰 플레이트의 웰에 접종하고, 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 순수 하이브리도마 상청액 또는 정제된 mAb의 연속 희석액을 바이러스 희석 완충제 (VDB; 1% FBS를 함유하도록 보충된 20 mM HEPES를 함유하는 RPMI 배지)에서 ~ 5 감염 단위/세포의 MOI로 VRP와 함께 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션한 후, 세포에 흡착시켰다. 세포를 37℃에서 18시간 동안 인큐베이션하고, 훽스트(Hoechst) 착색제로 염색하여 핵을 표지하고, 밴더빌트 고효율 스크리닝 시설에서 ImageXpress 마이크로 XL 영상화 시스템 (몰레큘라 디바이시스)을 사용하여 영상화하였다. 총 세포 및 CHIKV 감염 세포 (GFP 발현으로 표시됨)는 웰당 2개의 시야에서 MetaXpress 소프트웨어 (몰레큘라 디바이시스)를 사용하여 정량하였다. 각각의 항체에 대해, 95% 신뢰 구간에서 EC_{50} 값은 R 통계 프로그램 (R.C. Team, 2014)을 사용하여 별개의 로지스틱 성장 곡선에 맞게 비선형 회귀를 사용하여 결정하였다.

[0197] **ELISA를 위한 항원으로 준비한 바이러스 원액.** CHIKV 백신 균주 181/25 (Levitt *et al.*, 1986 및 Mainou *et al.*, 2013)에 대한 감염성 클론 플라스미드를 NotI-HF로 선형화하고, mMessage mMachine SP6 전사 키트 (라이프 테크놀로지스)를 사용하여 시험관내에서 전사하였다. 바이러스 RNA는 전기천공에 의해 BHK21 세포 내로 도입되었다. 배양 상청액을 24시간 후에 수거하고, 855 x g에서 20분 동안 원심분리 하여 맑게 하고, 분취하고, -80℃에서 보관하였다.

[0198] **하이브리도마 스크리닝을 위한 바이러스 포획 ELISA.** 바이러스 입자에 대한 항체 결합을 0.1 M Na_2CO_3 및 0.1 M $NaHCO_3$ (pH 9.3) 결합 완충제 내에 1 μg/㎖로 제조된 정제된 마우스 mAb CHK-187 (Pal *et al.*, 2013)로 검정 플레이트를 코팅함으로써 수행하고, ELISA 플레이트 (Nunc 242757)를 코팅하기 위해 사용하고, 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 플레이트를 차단 완충제 (트윈 20을 갖는 PBS [PBS-T] 중 1% 분유 및 2% 염소 혈청)로 1시간 동안 인큐베이션한 후, 플레이트를 PBS-T로 5회 세척하고, CHIKV 백신 균주 181/25로 감염된 BHK21 세포 단일층으로부터의 배양 상청액 25 μL와 함께 인큐베이션하였다. 실온에서 1시간 인큐베이션한 후, 플레이트를 PBS로 10회 세척하고, 10 μL의 B 세포 배양 상청액을 25 μL/웰의 차단 완충제 내에 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한 후, PBS-T로 5회 세척하였다. 알칼리성 포스파타제 (염소 항-인간 Fc; 메리디안 라이프 사이언스(Meridian Life Science), W99008A)에 접합된 2차 항체를 25 μL/웰의 차단 완충제 내의 1:5,000 희석액으로 가하고, 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. PBS-T로 5회 세척한 후, 포스파타제 기질 용액 (1 M 트리스 아미노메탄 [시그마, S0942] 내의 1 mg/mL 포스파타제 기질)을 25 μL/웰로 첨가하고, 플레이트를 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하여 바이오텍(Biotek) 플레이트 판독기를 사용하여 405 nm에서 광학 밀도를 측정하였다.

[0199] **CHIKV-특이적 대조군 인간 mAb.** 일부 검정에서, 이전에 설명된 2개의 인간 CHIKV-특이적 mAb, 즉 5F10 및 8B10 (Warter *et al.*, 2011)을 양성 대조군으로 사용하였다. 이들 mAb는 챙-아이 왕(Cheng-I Wang) 및 알레산드라 나르딘(Alessandra Nardin) (싱가포르 이뮤놀로지 네트워크(Singapore Immunology Network), A*STAR, 싱가포르)에 의해 제공된 서열을 기초로 하여 5F10 및 8B10 항체 가변 유전자 영역의 서열 최적화된 cDNA를 함유하는 IgG1 발현 플라스미드 (론자)로 형질감염시킨 후, 293F 세포 (인비트로겐)에서 발현시켰다.

[0200] **E2 단백질에 결합하는 mAb에 대한 ELISA.** 재조합 CHIKV E2 세포외 단백질 (CHIKV-LR2006 균주에 상응함)은 문헌 [Pal *et al.*, 2013]에 기재된 바와 같이 이. 콜라이에서 생성되고, 미량역가 플레이트 (0.1 M Na_2CO_3 및 0.1 M $NaHCO_3$ 및 0.1% NaN_3 [pH 9.3] 중 2 μg/mL E2 단백질 용액 100 μL)에 4℃에서 밤새 흡착시켰다. 플레이트를 0.05% 트윈-20을 함유하는 PBS로 3회 헹구고, 차단 완충제 (PBS, 0.05% 트윈-20 및 2% [w/v]의 BSA)로 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 1차 인간 mAb (차단 완충제 내에 10 μg/mL로 희석됨)를 실온에서 1시간 동안 웰에 첨가하였다. 플레이트를 0.05% 트윈-20을 함유하는 PBS로 3회 헹구고, 2차 항체 (차단 완충제 내에 1/20,000으로 희석된 마우스 혈청 단백질 (잭슨 이뮤노리서치 래보러토리즈(Jackson ImmunoResearch Laboratories))에 대한 교차 반응성이 최소인 비오틴-접합된 염소 항-인간 IgG (H 및 L 쇄)) 및 스트렙타비딘-접합된 양고추냉이 퍼옥시다제 (0.05% 트윈-20을 갖는 PBS 내에 희석됨; 벡터 래보러토리즈(Vector Laboratories)를 각각 실온에서 1시간 동안 순차적으로 첨가하였고, 이때 단계 사이에 플레이트를 헹구었다. PBS로 4회 헹군 후, 플레이트를 100 μL의 TMB (3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘) 발색 기질 용액 (다코(Dako))와 함께 실온에서 5분 동안 인큐베이션하고, 2 N H_2SO_4를 첨가하여 반응을 중지시켰다. 생성물 강도는 450 nm의 광학 밀도에서 ELISA 플레이트 판독기를 사용하여 결정하였다.

[0201] **표면 플라스몬 공명에 의한 친화도 측정.** 정제된 인간 mAb와 CHIKV 단백질의 상호작용은 문헌 [Austin *et al.*, 2012]에 기재된 바와 같이 비아코어(Biacore) T100 기기를 사용하여 동역학적으로 분석되었다. 가용성 CHIKV p62-E1에 대한 무손상 IgG의 경우, 항-인간 IgG 항체 (지이 라이프 사이언시스)를 시리즈S CM5 칩에 고정화하고, 항-CHIKV 또는 대조군 (hu-WNV E16) 항체를 포획하는데 사용하였다. CHIKV p62-E1을 65 μL/분으로 180초 동안 표면에 주입하고, 사이클 사이에서 3 M $MgCl_2$로 재생하기 전에 1000초 동안 해리시켰다. 일부 항체는 단량체 E1 단백질에 결합하지 않고, 따라서 본 발명자들은 VLP에 대한 그의 결합을 시험하였다. CHIKV VLP를 사용한 동역학 측정을 위해, 항-마우스 IgG 항체 (지이 라이프 사이언시스)를 고정화하여 나노몰 미만의 친화도를 갖는 마우스 항-CHIKV 항체의 세트를 포획하고, 이를 다시 CHIKV VLP를 포획하기 위해 사용하였다. 항-CHIKV IgG 또는 Fab를 칩 표면에 65 μL/분으로 180초 동안 주입하고, 사이클 사이에서 10 mM 글리신 (pH 1.7)으로 재생하기 전에 1000초 동안 해리시켰다. 모든 데이터는 비아코어 평가 소프트웨어 (버전 1.1.1) 및 곡선의 전반적인 1:1 랭뮤어 피트(Langmuir fit)를 사용하여 처리되었다. 결과는 적어도 3회의 독립적인 실험으로부터 얻어졌다.

[0202] **병소 감소 중화 시험에 사용되는 바이러스 균주.** mAb 폭 및 중화 효능을 결정하기 위해, 본 발명자들은 3가지 유전자형 각각으로부터의 하나의 프로토타입 바이러스 및 또한 현재 카리브해 발생지의 균주를 비롯하여, 각각의 CHIKV 유전자형에서 적어도 하나의 대표자를 갖는 4개의 대표적인 균주를 사용하였다. 균주 LR2006_OPY1 (LR) (CHIKV 동부/중앙/남부 아프리카 [ECSA] 유전자형)은 스티븐 힉스(Stephen Higgs) (미국 캔사스주 맨하탄)에 의해 제공되었다. 균주 NI 64 IbH 35 (서부 아프리카리카 유전자형) 및 균주 RSU1 및 99659 (아시아 유전자형; 2014년에 영국령 버진 아일랜드의 대상체에서 단리됨 (Lanciotti & Valadere, 2014))는 로버트 테쉬(Robert Tesh) (신종 바이러스 및 아르보바이러스에 대한 세계 참조 센터(World Reference Center for Emerging Viruses and Arboviruses), 미국 텍사스주 갈베스톤)에 의해 제공되었다.

[0203] **감염성 CHIKV를 사용한 병소 감소 중화 시험 (FRNT).** 정제된 인간 mAb의 연속 희석액을 100 병소 형성 단위 (FFU)의 CHIKV로 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. MAb-바이러스 복합체를 96-웰 플레이트에서 Vero 세포에 첨가하였다. 90분 인큐베이션 후, 2% FBS를 함유하도록 보충된 변형 이글 매질 (MEM)에서 1% (w/v) 메틸셀룰로스로 세포를 덮었다. 세포를 18시간 동안 인큐베이션하고, PBS 내의 1% 파라포름 알데히드로 고정화하였다. 세포를 0.1% 사포닌 및 0.1% 소 혈청 알부민 (BSA)을 함유하도록 보충된 PBS 내의 500 ng/ml의 뮤린 CHK-11 (Pal *et al.*, 2013) 및 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP)-접합된 염소 항-마우스 IgG와 연속적으로 인큐베이션하였다. CHIKV에 감염된 병소를 TrueBlue 퍼옥시다제 기질 (KPL)을 사용하여 가시화하고, 이뮤노스팟 5.0.37 매크로분석기 (셀룰러 테크놀로지스 리미티드)를 사용하여 정량하였다. EC_{50} 값은 항체 부재 하에 CHIKV를 접종한 웰과 비교한 후, 비선형 회귀 분석을 사용하여 계산하였다.

[0204] **생물층 간섭계 경쟁 결합 검정.** 폴리히스티딘-태그 (20 μg/mL)를 함유하는 CHIKV-LR2006 E2 세포외 단백질을 항-펜타-His 바이오센서 팁 (포르테바이오 #18-5077) 상에 2분 동안 고정하였다. 동역학 완충제 (KB, 1X PBS, 0.01% BSA 및 0.002% 트윈 20)에서 기준선 신호를 1분 동안 측정한 후, 바이오센서 팁을 100 μg/mL의 농도로 1차 항체가 함유된 웰에 5분 동안 침지한 후, 100 μg/mL의 농도로 경쟁 mAb를 함유하는 웰에 5분 동안 침지하였다. 제1 mAb의 존재 하의 경쟁 mAb의 퍼센트 결합은 초기 mAb 복합체 이후에 적용된 경쟁 mAb의 최대 신호를 경쟁 mAb 단독의 최대 신호와 비교함으로써 결정되었다. 항체는 경쟁 mAb의 최대 결합이 단독 시의 결합 친화도의 < 30%로 감소되는 경우, 동일한 부위에 결합하기 위해 경쟁하는 것으로 판단되었다. 항체는 경쟁 mAb의 최대 결합이 비-경쟁 결합의 > 70%인 경우에 항체는 비-경쟁인 것으로 간주되었다. 비-경쟁 결합의 30-70%의 수준이 중간 경쟁으로 간주되었다.

[0205] **돌연변이유발 에피토프 맵핑.** C-말단 V5 태그를 갖는 CHIKV 외피 단백질 발현 구축물 (균주 S27, Uniprot Reference # Q8JUX5)을 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발에 적용하여 포괄적 돌연변이 라이브러리를 생성하였다. 프라이머는 외피 단백질의 E2, 6K 및 E1 영역 내의 각각의 잔기 (구조 폴리단백질 내의 잔기 Y326 내지 H1248)를 알라닌으로 돌연변이시키기 위해 설계되었고; 알라닌 코돈은 세린으로 돌연변이되었다 (Fong *et al.*, 2014). 총 910개의 CHIKV 외피 단백질 돌연변이체가 생성되었고 (98.5% 적용 범위), 서열이 확인되었고, 384-웰 플레이트에 배열되었다. HEK-293T 세포를 384-웰 플레이트에서 CHIKV 돌연변이 라이브러리로 형질감염시키고, 22시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 PBS + 칼슘 및 마그네슘 (PBS+/+) 내의 4% 파라포름알데히드 (일렉트론 마이크로스코피 사이언시스(Electron Microscopy Sciences))에 고정하고, 0.25 내지 1.0 μg/mL의 정제된 mAb 또는 10% 정상 염소 혈청 (NGS; 시그마)으로 희석한 2.5 μg/mL의 정제된 Fab 단편으로 염색하였다. 1차 항체 농도는 신호가 선형 검출 범위 내에 있음을 확인하기 위해 야생형 CHIKV 외피 단백질에 대한 독립적인 면역 형광 적정 곡선을 사용하여 결정하였다. 항체는 10% NGS 내의 3.75 μg/mL AlexaFluor488- 접합 2차 항체 (잭슨 이뮤노리서치 래보러토리즈)를 사용하여 검출하였다. 세포를 마그네슘 및 칼슘이 없는 PBS (PBS -/-)로 2회 세척하고, 0.1% BSA (시그마)가 함유된 셀 스트리퍼(Cellstripper) (셀그로(Cellgro))에 재현탁하였다. 평균 세포 형광은 고효율 유동 세포 계측기 (HTFC, 인텔리시트(Intellicyt))를 사용하여 검출하였다. 모의 형질감염된 대조군으로부터의 신호를 빼고 야생형-형질감염된 대조군으로부터의 신호로 정규화함으로써 각각의 돌연변이체 클론에 대한 항체 반응성을 야생형 단백질 반응성에 비교하여 계산하였다. 상응하는 알라닌 돌연변이체가 시험 mAb와 반응하지 않지만 다른 CHIKV 항체와 반응하는 경우, 아미노산은 mAb 결합에 필요한 것으로 확인하였다. 이러한 역-스크린 전략은 잘못 폴딩되거나 발현 결함이 있는 돌연변이체의 배제를 용이하게 한다 (Christian *et al.*, 2013, Paes *et al.*, 2009 및 Selvarajah et al., 2013). 항체 결합에 필요한 아미노산을 PyMol 소프트웨어를 사용하여 CHIKV 외피 단백질 결정 구조 (단량체 PDB ID #3N41 및 삼량체 PDB ID #2XFB)에서 가시화하였다.

[0206] **부착 전 및 후 중화 검정.** 베로 81 세포 (ATCC CCL-81; ~ 7.5 x 10^3 세포/웰)을 96-웰 플레이트의 웰에 접종하고 ~ 24시간 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 부착 전 검정을 위해, mAb의 희석액을 4℃에서 바이러스 희석 완충제 (VDB) 내에서 준비하고, VRP와 함께 4℃에서 1시간 동안 미리 인큐베이션하였다. 항체-바이러스 복합체를 4℃에서 1시간 동안 미리 냉각된 Vero 81 세포에 첨가하였다. 비-흡착 바이러스를 VDB로 3회 세척하여 제거하고, 세포를 37℃에서 18시간 동안 완전 배지에서 인큐베이션하였다. 부착 후 검정은 유사하게 수행하되, 등가 MOI의 VRP를 Vero 81 세포에 4℃에서 1시간 동안 먼저 흡착시키고, 비결합된 VRP는 바이러스 희석 완충제로 3회 세척하여 제거하고, 세포를 4℃에서 1시간 동안 mAb의 연속 희석액을 포함하는 미리 냉각된 VDB와 함께 인큐베이션하였다. 비결합된 mAb는 VDB로 3회 세척하여 제거하고, 세포를 37℃에서 18시간 동안 완전 배지에서 인큐베이션하였다. 세포를 웰당 4개의 시야로 VRP 중화 검정에 대해 설명한 바와 같이 염색하고, 영상화하고, 분석하였고, 샘플당 GFP 발현에 대해 분석한 총 ~ 800 내지 1,000개의 세포를 얻었다.

[0207] **융합 억제 검정.** 원형질막과의 바이러스 융합은 FFWO 검정 (Edwards & Brown, 1986)을 사용하여 평가하였다. Vero 81 세포 (~ 3.75 x 10^3 세포/웰)를 96-웰 플레이트의 웰에 접종하고, ~ 24시간 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 세포를 결합 배지 (엔도솜 융합을 통한 감염을 방지하기 위해 1% FBS, 25 mM HEPES [pH 7.4] 및 20 mM NH_4Cl 함유하도록 보충된 RPMI 1640)로 1회 세척하고, 4℃에서 15분 동안 결합 배지에서 인큐베이션하였다.

VRP를 함유하는 접종물을 결합 배지로 희석하고, 4℃에서 1시간 동안 세포와 함께 인큐베이션하였다. 비결합된 VRP는 결합 배지로 2회 세척하여 제거하였다. VDB 내의 mAb의 연속 희석액을 4℃에서 1시간 동안 세포와 함께 인큐베이션하고, 비결합된 mAb를 VDB로 2회 세척하여 제거하였다. FFWO는 미리 가온된 융합 배지 (RPMI 1640, 1% FBS, 25 mM HEPES 및 30 mM 숙신산, pH 5.5)를 37℃에서 2분 동안 첨가하여 유도하였다. 평행 웰에서, 대조군 배지 (RPMI 1640, 1% FBS, 25 mM HEPES, pH 7.4)를 37℃에서 2분 동안 첨가하였다. 배지를 제거하고, 세

포를 5% FBS, 20 mM NH_4Cl (pH 의존성 원형질막 융합을 통해서만 감염이 일어나도록 보장하기 위해) 및 25 mM HEPES [pH 7.4]를 함유하도록 보충된 DMEM에서 인큐베이션하였다. 감염 18시간 후, 세포를 웰당 4개의 시야로 설명된 바와 같이 염색하고, 영상화하고, 분석하고, 샘플당 GFP 발현에 대해 분석한 총 ~ 800 - 1,000개의 세포를 얻었다.

[0208] **마우스에서 생체내 보호 연구.** 이러한 연구는 국립 보건원의 실험실 동물의 관리 및 사용 지침 (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)의 권고 사항을 엄격히 준수하여 수행되었다. 이러한 프로토콜은 워싱턴 대학교 의과 대학의 기관 동물 관리 및 사용위원회의 승인을 받았다 (보증 번호: A3381-01). *Ifnar*$^{-/-}$ 마우스를 워싱턴 대학교 의과 대학의 병원체가 없는 동물 시설에서 사육하고, 워싱턴 대학교 동물 연구 위원회의 승인을 얻어 A-BSL3 시설에서 감염 실험을 수행하였다. 발바닥 주입은 케타민 염산염 및 크실라진으로 유도되고 유지되는 마취 하에서 수행되었다. 예방 연구를 위해, 1% 열불활성화된 FBS와 함께 HBSS에 희석된 10 FFU의 CHIKV-LR로 발바닥에 피하 접종하기 1일 전에, 인간 mAb를 6주된 *Ifnar*$^{-/-}$ 마우스에게 복강내 주사로 투여하였다. 치료 연구를 위해, 10 FFU의 CHIKV-LR을 특정된 용량의 인간 mAb의 개별 또는 조합물의 단일 용량의 투여 24시간, 48시간 또는 60시간 전에 전달하였다.

[0209] **실시예 2 - 결과**

[0210] **CHIKV-특이적 인간 mAb의 단리.** 본 발명자들은 2006년에 스리랑카에서 CHIKV에 감염되고 발열, 관절통 및 발진을 나타낸 단일 개체로부터 mAb의 패널을 단리하였다 (도 4). 임상 과정 및 B 세포 형질전환 및 스크리닝 절차는 온라인 메소즈(Online Methods)에서 제공된다. 자연 감염 후 5년 반 동안 공여자로부터 채취된 단일 혈액 샘플로부터 2개의 분리된 실험에서 B 세포를 형질전환시켰다. 총 1000개의 B 세포 중 약 1개의 바이러스 특이적 B 세포 빈도를 관찰하고, 바이러스에 결합된 항체를 분비하는 B 세포주로부터 30개의 안정적인 하이브리도마를 확립하였다. mAb 패널은 24개의 IgG1, 3개의 IgG2 및 2개의 IgG3을 갖는 다수의 서브클래스의 IgG를 포함하였고; 하나는 불량한 하이브리도마 성장으로 인해 결정되지 않았다 (표 5).

[0211] **mAb 중화의 평가.** 18개의 mAb는 EC_{50} 값이 < 40 ng/mL인 아시아 CHIKV 균주 SL15649-GFP 바이러스 리포터 입자 (VRP)에 대해 중화 활성을 나타내었고, 11개는 극히 높은 억제 활성을 나타내었다 (EC_{50} 값 < 10 ng/mL로 규정됨, 표 5). 4개의 mAb는 약한 억제 활성을 가지고 있었고 (0.1 내지 5 μg/mL 범위의 EC_{50} 값), 8개의 mAb는 시험된 최고 농도에서 억제 활성을 나타내지 않았다 (EC_{50} 값 > 10 μg/mL).

[0212] **중화 활성의 폭.** 본 발명자들은 고효율 병소 감소 중화 (FRNT) (Pal *et al.*, 2013)을 사용하여 동부/중부/남부 아프리카 (ECSA) 유전자형 (LR2006 OPY1 [LR] 균주), 서부 아프리카리카 유전자형 (NI 64 IbH 35 균주), 및 아시아 유전자형 (RSU1 및 99659 [2014 카리브해] 균주)의 대표적인 감염성 CHIKV 균주에 대한 각각의 항체의 EC_{50} 값을 결정하였다. 25개의 mAb는 적어도 하나의 CHIKV 균주에 대해 중화 활성을 나타내었고 (EC_{50} 값 < 10 μg/mL), 8개의 mAb는 효능 범위에서 중화를 나타내었고 (EC_{50} 값 10 - 99 ng/mL), 13개의 mAb는 극히 높은 효능 범위에서 중화를 나타내었다 (EC_{50} 값 < 10 ng/mL) (표 5). 비교 목적으로, 본 발명자들은 이전에 보고된 인간 mAb 5F10 및 8B10을 3가지 유전자형 모두의 바이러스에 대해 시험하였고, 모든 경우에서 EC_{50} 값은 >100 ng/mL (범위 161-1337)이었다. 대부분의 경우에, 본 발명자들이 단리한 mAb는 3가지 유전자형 모두로부터의 바이러스에 대해 비교적 유사한 중화 활성을 나타냈다. 6개의 mAb (2B4, 2H1, 4J21, 4N12, 5M16 및 9D14)는 3가지 유전자형 모두로부터의 바이러스를 극히 높은 활성으로 억제하였다 (EC_{50} 값 < 10 ng/mL). 이러한 데이터는 단일 개체가 효능이 극히 높고 광범위하게 중화시키는 여러 CHIKV-특이적 항체를 개발할 수 있음을 나타낸다.

[0213] **E2 단백질에 대한 결합.** CHIKV E2 단백질은 뮤린 (Goh *et al.*, 2013; Lum *et al.*, 2013), 비인간 영장류 (Kam *et al.*, 2014), 및 인간 (Fong *et al.*, 2014; Kam *et al.*, 2012a; Kam *et al.*, 2012b; Selvarajah *et al.*, 2013) 체액성 반응의 우세한 표적이다. 본 발명자들은 이. 콜라이에서 발현된 E2 단백질의 엑토도메인의 단량체 형태에 대한 결합에 대해 인간 mAb를 시험하였다 (Pal *et al.*, 2013). 9개의 mAb는 E2 엑토도메인에 강하게 결합하고, 6개는 중등도 결합을 나타내고, 하나는 약하게 결합하고, 14개는 배경을 초과하여 결합하지 못하였다 (표 5). 시험관내에서 정제된 E2 단백질에 결합하는 능력은 중화 효능과 직접적인 상관관계가 없었다 (표 5). 포유동물 세포로부터 유래된 p62-E1 단백질에 대한 결합에 대한 표면 플라스몬 공명 검정을 사용하여 17종의 인간 mAb의 하위세트를 시험하였다 (Voss *et al.*, 2010). 모든 mAb는 nM 범위에서 결합하고, K_D 값은 0.5 내지

20 nM이었다. 결합 동역학의 차이는 항원 특이성 또는 기능적 활성과 상관관계가 없었다 (표 S1).

[0214] **경쟁-결합 연구.** 상이한 중화 mAb에 의해 인식되는 재조합 E2 단백질에서 중첩되지 않는 항원 영역을 확인하기 위해, 본 발명자들은 정량적 경쟁 결합 검정을 사용하였다. 비교를 위해, 본 발명자들은 또한 이전에 설명된 4개의 뮤린 mAb (CHK-84, CHK-88, CHK-141 및 CHK-265) (Pal *et al.*, 2013) 및 이전에 설명된 인간 mAb 5F10 (Warter *et al.*, 2011)을 평가하였다 (도 5). 경쟁 패턴은 복잡했으나, 본 발명자들이 군 1 (적색 박스), 군 2 (청색 박스) 또는 군 3 (녹색 박스)으로 지정한 3개의 주요 경쟁 군이 분명하였다. 본 발명자들은 또한 단일 인간 mAb 5F19 (오렌지색 박스)를 함유하는 군 4를 규정하였다. 이러한 경쟁 연구는 CHIKV-특이적 항체에 의해 인식되는 3개의 주요 항원 영역이 있음을 시사한다.

[0215] **알라닌 스캐닝 돌연변이 유발을 이용한 에피토프 맵핑.** 본 발명자들은 항체 결합에 필요한 CHIKV 균주 S27 (ECSA 유전자형)의 E2 및 E1 단백질 내의 아미노산을 확인하기 위해 세포-기반 발현 및 유동 세포 계측법과 연결된 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 라이브러리를 사용하였다 (Fong *et al.*, 2014) (도 6A-F). 20개의 인간 mAb의 하위세트에 대해 CHIKV 당단백질에 대한 항체 결합에 필요한 잔기가 표 6에 열거되어 있다. 이들 20개의 mAb의 결합에 영향을 미치는 돌연변이는 균주 S27 및 이러한 연구에서 사용 모든 CHIKV 유전자형을 나타내는 균주의 전장 E2 서열의 정렬에 표시된다 (도 1A). 결합에 영향을 미치는 E2 내의 아미노산은 주로 도메인 A 및 B의 용매 노출 영역 및 도메인 A와 B를 연결하는 β-리본 커넥터의 아치 1 및 2에 위치한다 (Voss *et al.*, 2010) (도 1A). 경쟁 결합 분석 (도 5)과 함께 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발을 사용하는 결합 손실 실험에 의해 확인된 항원 부위의 비교는 경쟁 군 1 및 2가 일반적으로 도메인 A 및 아치 내의 부위에 상응하는 반면, 군 3은 도메인 B 내의 영역에 상응함을 보여준다.

[0216] **항원 영역의 구조 분석.** 도메인 A 및 B 및 아치 내의 많은 다양한 수의 표면 잔기는 mAb 중 적어도 하나에 의해 접촉된다 (도 1B-C). E2 내의 2개의 주요 항원 영역이 다중 mAb의 결합을 설명하였다. 제1 영역은 아미노산 58과 80 사이에서 도메인 A에 위치하고, 추정 수용체-결합 도메인 (RBD)을 포함한다 (Sun *et al.*, 2014; Voss *et al.*, 2010). 제2 영역은 아미노산 190과 215 사이에서 도메인 B에 위치한다. 양쪽 서열 영역은 모두 바이러스 외피로부터 돌출하고 E2 삼량체 정점 근처에 위치한다 (도 6A-F 및 7).

[0217] **중화의 메카니즘.** 본 발명자들은 다양한 억제 활성을 나타내는 mAb를 사용하여 부착 전 및 후의 중화 검정을 수행하였다. 예상한 바와 같이, 5개의 모든 시험된 mAb는 VRP로 미리 인큐베이션할 때 감염을 효율적으로 중화시켰다 (도 2A). 그러나, mAb 4B8은 고농도에서도 VRP를 완전히 중화시키지는 않고, 이것은 상기 mAb에 내성인 CHIKV 비리온의 분획이 존재함을 시사하고; 이러한 패턴은 또한 3개의 별개의 CHIKV 유전자형에 상응하는 생존 가능한 CHIKV 균주를 사용하는 검정에서 관찰되었다 (데이터 미제시). 이와 대조적으로, mAb 3E23, 4J21, 5M16 및 9D14는 부착 전에 투여될 때 감염을 완전히 중화시켰다. 5개의 모든 인간 mAb는 또한 부착 후에 첨가될 때 CHIKV 감염을 중화시켰지만, 본 발명자들은 3종의 상이한 패턴의 활성을 관찰하였다 (도 2A). MAb 4B8은 부착 후 첨가될 때 완전한 중화가 불가능하였고, 내성 비리온의 분획은 부착 전 중화 후에 관찰된 것과 비교하여 더 컸다. MAb 9D14는 부착 전 또는 후에 첨가된 여부와 상관 없이 VRP를 대등한 효율로 중화시켰다. MAb 3E23, 4J21 및 5M16은 VRP의 완전한 중화를 나타냈지만, 부착 후 중화 효율은 부착 전의 효율보다 더 낮았다. mAb 2H1 및 4N12는 또한 부착 전 또는 후에 첨가될 때 VRP를 효율적으로 중화시켰다 (도 8).

[0218] 효능이 극히 높은 5개의 중화 mAb (3E23, 4B8, 4J21, 5M16, 또는 9D14)의 퓨젼-프롬-위드아웃(Fusion-from-without: FFWO) 검정 시험은 모두가 융합을 억제함을 보여주었다 ((Edwards and Brown, 1986). 예상한 바와 같이, mAb로 전처리된 비리온을 중성 pH에서 완충된 배지와 함께 연속적으로 인큐베이션할 때, 거의 또는 전혀 감염되지 않았다 (도 2B). 항체 처리가 없는 상태에서, 산성 pH 완충 배지의 짧은 펄스는 감염된 세포를 유도하였고, 이것은 바이러스 외피와 원형질막 사이의 융합을 나타내었다. 특히, 5개의 인간 mAb 모두가 원형질막 융합 및 감염을 억제하였고, mAb 9D14가 이러한 검정에서 가장 큰 효능을 나타내었다. 이들 연구는 효능이 극히 높은 중화 mAb가 CHIKV 융합을 차단함을 제안한다.

[0219] **생체내에서의 MAb 예방.** 본 발명자들은 6주된 고도 면역결핍 Ifnar$^{-/-}$ 마우스를 사용한 치사 감염 모델에서 다양한 수준의 중화 활성 (표 7)을 나타내는 mAb의 하위세트를 시험하였다. 마우스에게 치사 용량의 CHIKV-LR2006을 피하 주사하기 24시간 전에 인간 항-CHIKV mAb 또는 웨스트 나일 바이러스-특이적 이소형 대조군 mAb (WNV hE16)의 단일 50 μg 용량 (~ 3 mg/kg)으로 전처리하였다. 이소형 대조군 mAb로 처리된 모든 마우스는 접종 후 4일까지 감염되었다. mAb 4B8, 4J21 또는 5M16 전처리는 Ifnar$^{-/-}$ 마우스를 완전히 보호한 반면, mAb 3E23 또는 9D14 처리는 감염된 동물을 부분적으로 보호하였고, 생존율은 67%이었다 (도 3A). 놀랍게도, 시험관

내에서 약하게 중화된 mAb 2D12는 동물의 83%를 보호하였다.

[0220] **생체내에서 MAb 노출 후 요법.** Ifnar$^{-/-}$ 마우스에게 치사 용량의 CHIKV-LR2006을 접종하고, 바이러스 접종 24시간 후에 대표적인 mAb의 단일 50 μg (~ 3 mg/kg) 용량을 투여하였다. 이러한 mAb의 치료적 투여는 완전한 보호를 제공하는 반면, 이소형-대조군 mAb는 어떠한 보호도 제공하지 못하였다 (도 3b). 효능의 치료 범위를 더 정의하기 위해, Ifnar$^{-/-}$ 마우스에게 CHIKV-LR2006 시험접종 48시간 후에 대표적인 mAb의 단일 250 μg (~14 mg/kg) 용량을 투여하였다. 5M16, 4J21 및 4B8 처리는 각각 동물의 85%, 50% 및 12.5%를 보호하였다 (도 3C). 놀랍게도, 60시간의 보다 늦은 시점에서 4N12를 사용한 단독요법은 500 μg (~28 mg/kg)의 용량으로 사용할 때 동물을 100% 보호하였다 (도 3D). 이러한 데이터는 인간 mAb가 감염이 확립되고 훨씬 뒤에도 CHIKV로 인한 사망에 대해 보호할 수 있음을 입증한다.

[0221] 이와 유사하게, CHIKV 급성 및 만성 관절염에 대한 인간 mAb의 영향을 평가하기 위해 WT 마우스에서 연구가 수행되었다. MAb를 감염 후 제1일 또는 제3일에 투여하고, 바이러스 부담 또는 RNA를 감염 후 D3, 5 또는 28에 분석하였다. 검사된 조직 및 시간에 따라 1H12 또는 4J14가 가장 유의한 바이러스 보호를 제공한다. 4N12는 또한 이러한 검정에서 유의한 보호를 제공하였다.

[0222] **생체내에서의 조합 mAb 요법.** 단일 항-CHIKV mAb로 처리된 동물에서 생체내 내성 선택의 가능성을 고려할 때 (Pal *et al.*, 2013), 본 발명자들은 2개의 항-CHIKV 인간 mAb의 조합이 마우스를 치사 시험접종으로부터 보호할 수 있는지 시험하였다. 시험관내에서 개별 mAb의 효능에 기초하여 중화 mAb의 쌍을 선택하였다. Ifnar$^{-/-}$ 마우스에게 접종 60시간 후 가장 효과적인 mAb의 단일 조합 항체 치료 용량 (각각 250 μg, ~ 총 28 mg/kg)를 투여하였다. 일부 mAb 조합 ([4J21 + 2H1] 및 [4J21 + 5M16])은 거의 또는 전혀 보호를 제공하지 않았지만, 다른 조합 ([4J21 + 4N12])은 이러한 매우 늦은 시점에서 63%의 생존율을 나타냈다 (도 3D). 따라서, 조합 mAb 요법은 이들 동물이 발병한 후 24 내지 36시간 내에 투여된 경우에도 고도로 면역손상된 마우스에서 치명적인 CHIKV 감염으로부터 보호하였다. 이러한 상황에서, 4N12는 단독요법으로 투여했을 때보다 4J21과 조합하여 투여할 때 덜 효과적이었지만, 단독요법 실험에서 4N12의 투여량 (500 μg)은 조합 요법에서의 4N12 성분 (250 μg)의 2배였다.

[0223] **표 S1.** SPR에 의해 측정된 인간 CHIKV 항체 결합 항원의 동역학

[0224] ka, kd, KD에 대한 값은 평균 ± 표준 편차임. KD = kd/ka; $t_{1/2}$ = (In(2)/kd)/60).

CHKV MAb	리간드	ka (10^6M-1s-1)	kd (10^{-4}s-1)	KD (nM)	$t_{1/2}$ (min)
5M16	p62-E1	1.09 ± 0.02	1.13 ± 0.02	1.03 ± 0.01	102 ± 2
5M16 Fab	VLP	1.19 ± 0.01	0.84 ± 0.13	7.07 ± 1.06	137 ± 21
4J21	p62-E1	1.19 ± 0.02	0.62 ± 0.04	0.54 ± 0.31	186 ± 11
4J21 Fab	VLP	1.58 ± 0.03	14.2 ± 0.29	9.00 ± 0.03	8 ± 0.2
3E23	p62-E1	3.18 ± 2.43	2.67 ± 0.87	6.11 ± 1.41	43 ± 19
3E23 Fab	VLP	0.203 ± 0.03	3.93 ± 0.40	19.6 ± 3.16	29 ± 3
4B8	p62-E1	2.98 ± 2.98	5.06 ± 1.10	5.57 ± 1.10	23 ± 5
4B8 Fab	VLP	0.60 ± 0.04	3.33 ± 0.30	5.60 ± 0.46	35 ± 3
5N23	p62-E1	2.98 ± 0.75	2.40 ± 0.66	0.87 ± 0.37	48 ± 17
1L1	p62-E1	0.88 ± 0.44	2.73 ± 0.36	3.79 ± 2.10	42 ± 6
2C2	p62-E1	1.54 ± 0.65	6.08 ± 1.45	4.59 ± 2.32	19 ± 6
2D12	p62-E1	17.5 ± 1.64	5.41 ± 4.97	0.49 ± 0.08	13 ± 4
4N12	p62-E1	1.24 ± 0.02	1.18 ± 0.01	0.95 ± 0.02	98 ± 1
5O14	p62-E1	0.79 ± 0.02	9.11 ± 0.19	1.15 ± 0.01	13 ± 0.3
9D14	p62-E1	2.70 ± 0.90	2.82 ± 0.14	1.13 ± 0.40	41 ± 2
8G18	p62-E1	3.90 ± 0.21	1.88 ± 0.11	0.48 ± 0.02	62 ± 3
4J14	p62-E1	1.61 ± 0.47	15.3 ± 2.52	9.94 ± 2.64	8 ± 1
5F	p62-E1	2.61 ± 0.04	50.9 ± 0.75	19.5 ± 0.2	2 ± 0.03
3A2	p62-E1	2.12 ± 0.02	10.1 ± 0.12	4.78 ± 0.08	11 ± 0.1
1M9	p62-E1	1.86 ± 0.99	3.98 ± 0.26	2.48 ± 0.99	29 ± 2
3B4	p62-E1	2.91 ± 0.09	1.56 ± 0.11	0.54 ± 0.02	74 ± 5
8B	p62-E1	0.99 ± 0.03	2.74 ± 0.10	2.77 ± 0.18	42 ± 2
8E22	p62-E1	0.48 ± 0.02	2.0 ± 0.13	4.22 ± 0.42	58 ± 4

[0225]

[0226] **실시예 3 - 논의**

[0227] 본 발명자들은 단일 개체로부터 자연 발생 인간 mAb의 다양한 패널의 단리를 보고하는데, 그 대부분이 CHIKV E2 단백질을 인식하고 시험관내에서 현저한 중화 활성 및 생체내에서 치료 효능을 나타낸다. 클래스로서, 가장 억제성인 항체는 또한 카리브해에서 현재 유포되고 있는 균주를 비롯하여 3개의 모든 CHIKV 유전자형으로부터의 바이러스를 중화시키는 광범위한 활성을 보였다. 이러한 연구에서 단리된 인간 CHIKV-특이적 mAb의 대부분은 100 ng/mL 미만의 농도로 바이러스를 중화시켰고, 많은 mAb는 10 ng/mL 미만에서 억제 활성을 보였다. 이러한 활성은 본 발명자들이 H1, H2, H3 또는 H5 인플루엔자 바이러스 (Hong *et al.*, 2013; Krause *et al.*, 2012; Krause *et al.*, 2011a; Krause *et al.*, 2011b; Krause *et al.*, 2010; Thornburg *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2008), 뎅기 바이러스 (Messer *et al.*, 2014; Smith *et al.*, 2013a; Smith *et al.*, 2014; Smith *et al.*, 2013b; Smith *et al.*, 2012) 등을 비롯한 다른 병원성 인간 바이러스에 대한 인간 mAb의 이전 연구에서 관찰한 것보다 더 크다. 많은 인간 CHIKV mAb의 효능은 반복적인 부스팅 및 친화도 성숙 후에 생성된 클래스 내 최고의 뮤린 중화 CHIKV mAb와 대등하거나 그보다 우수하다 (Fong *et al.*, 2014; Fric *et al.*, 2013; Pal *et al.*, 2013; Warter *et al.*, 2011). CHIKV에 대한 대부분의 다른 중화 인간 mAb는 실질적으로 덜 강력하다 (Fong *et al.*, 2014; Selvarajah *et al.*, 2013; Warter *et al.*, 2011). 단일의 이전에 보고된 인간 CHIKV-특이적 mAb (IM-CKV063)는 여기에서 보고된 효능이 극히 높은 중화 mAb와 대등한 활성을 나타낸다 (Fong *et al.*, 2014).

[0228] 본 발명자들은 시험된 상이한 중화 CHIKV mAb에 의한 E2에서의 에피토프 인식 패턴의 다양성을 관찰하였다. 알라닌 치환된 CHIKV 당단백질과의 미세 에피토프 맵핑은 E2 내의 3개의 구조적 영역의 인식이 mAb-매개 중화와 연관되어 있음을 제시하였다: 추정 RBD를 함유하는 도메인 A (Sun *et al.*, 2013; Voss *et al.*, 2010), E1 내의 융합 루프에 접촉하고 보호하는 도메인 B (Voss *et al.*, 2010) 및 산 민감성 영역을 포함하고 도메인 A와 B를 연결하는 β-리본 커넥터의 아치 1 및 2 (Voss *et al.*, 2010). E2의 에피토프에 맵핑된 항체 중에서, 대부분 (경쟁 군 1 및 2 내의 것)는 도메인 A 및 아치 1 및 2 내의 부위를 우선적으로 인식하는 반면, 보다 작은 군

(경쟁 군 3에서)은 도메인 B 내의 부위를 인식하였다. 이러한 데이터는 도메인 A 내의 표면 노출 영역 및 아치가 인간 중화 항체 반응을 유도하는 우세한 항원 부위임을 시사한다. 본 발명자들은 도메인 A 및 아치 2 내의 고도로 보존된 영역이 광범위하게 방어 면역 반응을 유도하고 에피토프 중심의 백신 설계를 위한 매력적인 후보로 기능할 수 있다고 결론지었다.

[0229] 놀랍게도, 결정적 E2 도메인 내의 표면 노출된 잔기의 거의 1/4이 단일 개체의 하나 이상의 mAb에 의해 결합되는 것으로 보인다. 주요 항원 부위에서 기능적으로 다양한 결합 방식의 존재는 다음과 같은 2가지 관측에 의해 시사된다: (a) 일부 mAb는 유사한 에피토프에 결합하지만 몇 자릿수의 상이한 억제 활성을 나타내고, (b) 중화능과 E2 단백질에 대한 결합 친화도 사이에 상관관계가 거의 존재하지 않는다. 가장 강력하게 중화시키는 7개의 인간 mAb (2H1, 3E23, 4B8, 4J21, 4N12, 5M16 및 9D14)는 부착 후 단계에서, 아마도 세포질 내로의 뉴클레오캡시드 침투를 방지하는 pH 의존성 구조 변화의 방지를 통해 CHIKV 감염을 억제하였다 (Kielian *et al.*, 2010).

[0230] 마우스의 치료 효능은 비인간 영장류에서 실험적으로 유도된 감염 및 관절염의 치료 결과를 예측하는 것으로 보이기 때문에 (Pal *et al.*, 2013; Pal *et al.*, 2014), 데이터는 여기서 CHIKV-특이적 인간 mAb를 사용한 인간의 예방이 감염을 방지할 것임을 시사한다. 단독요법 (Pal *et al.*, 2013)으로 인한 내성 변이체의 선택에 대한 우려가 제기되면, E2의 상이한 영역을 표적화하는 효능이 극히 높은 중화 항체를 사용하는 조합 요법이 바람직할 수 있다. 심각한 근본적인 의학적 상태를 갖는 환자 (예를 들어, 임신 후기 여성, 면역 손상 환자 및 노인)를 포함하는 심각한 질환의 위험이 현저히 증가한 환자 집단은 발병 동안 표적화될 수 있다. 중화 인간 mAb가 인간의 확립된 관절 질환을 예방하거나 완화할 수 있는지 결정하기 위한 추가의 임상 시험이 계획된다.

[0231] 표 1 - 항체 가변 영역에 대한 뉴클레오티드 서열

클론	가변 서열 영역	SEQ ID NO:
1H12 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG AAGGTCTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACAGCTTTACCAGCTACGGTATCAGCTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTAC AAAGGTTACACACAGTATGCACAGAACTTCCAGGGCAGAGTCACCATCACCACA GACACACCCGCGACTACAGTCTATATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGAC ACGGCCGTGTATTACTGCGCGAGAGTTCTTTCCGAGACTGGTTATTTCTACTAC TACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	2
1H12 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTC ACCATCTCCTGTACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGATTATAATGTACAC TGGTACCAGCTGCTTCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTCATCTATGGTAACACC AATCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCA GCCTCCCTGGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGC CAGTCCTATGACAGCAGCCTGAGTGCTTCGGTATTCGGCGGAGGGACCAAACTG ACCGTCCTAG	3
2B4 중쇄	caggtgcagctggtgcaatctgggtctgagttgaagaagcctgggGCCTCAGTG AAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACAGTTTCACTAGCTATTCTATCAACTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCCTGAGTGGATGGGATGGATCGACACCAAC ACTGGGAACCCAACCTATGCCCAGGACTTCGCAGGACGGTTTGTCTTCTCCTTG GACACCTCTGTCACCACGGCATATCTGCAGATCAGCAGCCTAAAGGCTGGGGAC ACTGCCGTTTATTACTGTGCAACATATTATGTTGACCTTTGGGGGAGTTATCGC CAAGACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAC	4
2B4 경쇄	cagtctgtgctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagagggtc accatCTCTTGTTCTGGAGGGAGCTCCAACATCGGGAGTAATCCTGTAAATTGG TACCAGATGGTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCCTCTATACTAATAATCAG CGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCC TCCCTGGCCATCAATGGACTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCA GTATGGGATGACAGCCTGAGTGGCCGTTGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGGTG ACCGTCCTA	5
2H1 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG AGGGTCTCCTGCAAGGCGTCTGGTTACACCTTTACCAGTTATGGTATCAGCTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTAC AATGGTGACACAAACTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCTTGACAACA GAGACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGCGCCTGAGATCTGACGAC ACGGCCGTTTACTACTGTGCGAGAGATTTTGAATTTCCCGGAGATTGTAGTGGT GGCAGCTGCTACTCCAGGTTCATCTACCAGCACAACGACATGGACGTCTGGGGC CACGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCAAGC	6
2H1 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAAGGTC ACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATCATTATGTATCCTGG TACCAGCACCTCCCGGGAACAGCCCCCAAACTCCTCATTTATGACAATTATAAG CGACCCTCAGTGATTCCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCGCGTCAGCC ACCCTGGGCATCATCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGA ACATGGGATAGCAGCCTGAGTGCTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACC GTCCTA	7
3E23 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGACACCCTG TCCCTCACCTGCAGTGTCTCAAGTGACGCCCTCCGCAGCAGGAGTTATTACTGG GGCTGGGTCCGCCAGCCCCCCGGGAAGGGATTGGAGTGGATTGGGACTGTCTCT TATAGTGGGGGCACCTACTACAACCCGTCCCTCCAGAGTCGAGTCACCGTGTCG GTGGACACGTCCAAGAACCACTTCTCCCTGAGGTTGAACTCTGTGACCGCCGCA GACGCGGCTGTTTATTACTGTGCGAGATCTTATTTCTATGATGGCAGTGGTTAC TACTACCTGAGCTACTTTGACTCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCC	8

[0232]

	TCA	
3E23 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGGAGCCCTCACTGACTGTGTCCCCAGGAGGGACAGTC ACTCTCACCTGTGCTTCCAGCACTGGAGCAGTCACCAGTGGTCACTATCCAAAC TGGTTCCAGCAGAAACCTGGACAACCACCCAGGGCCCTGATTTATAGCACAGAC AACAAGCACTCCTGGACCCCTGCCCGGTTCTCAGGCTCCCTCCTAGGGGTCAAG GCTGCCCTGACACTGTCAGATGTACAGCCTGAGGACGAGGCTGACTATTACTGC CTGCTCCATTTTGGTGGTGTCGTGGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTC CTA	9
3N23 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAGTGTCTGGATTCACCTTCAGTAACTATGCCATGCACTGG GTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGACTGGGTGGCAGTTATATGGTATGAT GGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGA GACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAGTGAACAGCCTGAGAGCCGAGGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGGTGACTACGTTCTTGACTACTGGGGCCAG GGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	10
3N23 경쇄	GACATTGTGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTCACCATCAGTTGCCGGGCCAGTCAGAGCATTCCCAGCTATTTAAATTGGTAT CAACAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGGTCCTGATCTATGCTACATCCACTTTG GAAGCTGGGGTCCCATCACGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCACCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAG AGTTACAATACGGGGATATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA	11
4J14 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTG AAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACTTCCAGCACTTATGCTATCAGCTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGCAGCATCCCTGTC TTTGCTACAGTAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGACTCACGATTACCGCG GACGAATCCACGAGCACAGTTTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGAC ACGGCCGTTTATTTCTGTGCGAGCCCCTATTGTAGTAGTATGAACTGCTATACG ACCTTTTACTACTTTGACTTCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	12
4J14 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTTTGGGTTTCCTGGACAGTCGATC ACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACTTTGGTACTTATAACTATGTCTCT TGGTACCAGCAACACCCAGGCCAAGCCCCCAAACTCATGATTTTTGATGTCAGT AATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACG GCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTTCTTATTACTGC AGCTCCTATACAAGCGGCAGCACTCTCTACGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTC CTG	13
4J21 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGTCTGAGTTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG AAGGTTTCCTGCAAGGCTTCTGGATACAGTTTCACTAGCTATTCTATCAACTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCCTGAGTGGATGGGATGGATCGACACCAAC ACTGGGAACCCAACCTATGCCCAGGACTTCGCAGGACGGTTTGTCTTCTCCTTG GACACCTCTGTCACCACGGCATATCTGCAGATCAGCAGCCTAAAGGCTGGGGAC ACTGCCGTTTATTACTGTGCAACATATTATGTTGACCTTTGGGGGAGTTATCGC CAAGACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCACGGGACCCTGGTCACCGTCTCC TCA	14
4J21 경쇄	CAGTCTGTGGTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCTGGGACCCCCGGGCAGGGGGTC ACCATCTCTTGTTCTGGAGGGAGCTCCAACATCGGGAGTAATCCTGTAAATTGG TACCAGATGGTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCCTCTATACTAATAATCAG CGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCC TCCCTGGCCATCAATGGACTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCA GTATGGGATGACAGCCTGAGTGGCCGTTGGGTGTTCggcggagggaccaagctg accgtccta	15
4N12 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG AAGGTCTCCTGCAAGGTTTCCGGATACATCCTCAGTAAATTATCCGTGCACTGG GTGCGACAGGCTCCTGGAAAAGGACTTGAATGGATGGGAGGTTCTGAACGTGAA GATGGCGAAACAGTCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAATCAGCTTGACCGAG GACACATCTATAGAGACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGTTCTGAGGAC	16

[0233]

	ACGGCCGTGTATTATTGTGCAACAGGAGGCTTCTGGAGTATGATTGGGGGAAAT GGAGTGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	
4N12 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGTCTCCATCGTCCCTGCCTGCATCTGTAGGAGACAGG GTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGACATTAGAAATAATTTAGGCTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTGAGCGCCTGATCTATGGAACCTCCAATTTG CAGAGTGGGGTCCCGTCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACT CTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAG CATAATAGTTACCCTCCCACGTTCGGCCGCGGGACCAAGGTGGAAATCAAA	17
5M16 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG AGAGTTTCCTGCAAGGCATCTGGGTACACCTTCACCAGTTACTTTATGCACTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGACTTGAGTGGATGGCGATAACTTATCCTGGT GGTGGTAGCCCATCCTACGCACCGCAGTTCCAGGGCAGACTCACCATGACCGAC GACACGTCCGCGACCACAGTCTACATGGACCTGAGTGACCTGACTTCTAAAGAC ACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGTGCCCACCGTTCCATTGGGACGACCCCC CTTGACTCGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCAAGCTTCAAG GG	18
5O14 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGACGCGTGGTCCAGGCTGGGAGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTATGTATGGCGTCCACTGG GTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGAATGAT GGATCTAAAGAATACTATGGAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGA GACAATTCCAGGAACACGTTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGTCGACGAC ACGGCAGTGTATTTTTGTGCGAGAGATGGAATTCCTGACCCTGAACGCGGTGAC TACGGGGGCTTGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	19
5O14 경쇄	CAGACTGTGGTGACTCAGTTTCCATCCTCCCCGTTTGCATCTGTAGGAGACGGA GTCACCATCACTTGCCGGGCAAGGCAGAGCATTAGCAGTTATGTTAATTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATTTACGCTACATCCAGTTTG CAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATATGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCGGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACATACTACTGTCAACAG AGTTACAGTTTTCCTCGAACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC	20
8G18 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTCAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTG AAGGTCTCCTGCAAGCCCTCTGGAGGCACCTTCAACAACAATGGGATCAGTTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGCATCGTCCCGAAC TTTGGAACCCCAACCTATGGACAAGACTTCCAGGGCAGAGTCACGATCACCGCG GACGAATCTACGAGCACAGTCTTCTTGGAGCTGACCAGACTGAGATCTGACGAC ACGGCCGTTTATTTCTGTGCGCGAGGTCGCACGGCGGTGACTCCGATGCAATTG GGTTTACAGTTCTACTTTGACTTCTGGGGCCGGGGAACCCTGGTCACCGTCTCC TCA	21
8G18 경쇄	cagactgtggtgactCAGGAGCCCTCACTGACTGTGTCCCCAGGAGGGACAGTC ACTCTCACCTGTTCTGCCAACAGTGGAGCAGTCACCAGTGATTACTATCCAAAC TGGTTCCAGCAGAAACCTGGACAAGCACCCAGGGCACTGATTTATAGTGCAAGC AACAAATTCTCCTGGACGCCTGCCCGGTTCTCAGGCTCCCTCCTTGGGGGCAAA GCTGCCCTGACACTGTCAGGTGCGCAGCCTGAGGACGAGGCTGAGTATTACTGC CTGGTCTACTCTGGTGATGGTGTGGTTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTC C	22
1I9 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCCGGGGCCTCAGTG AAGGTCTCCTGCAAGACTTCTGGATATACGTTCACCGACAACTCTGTACACTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGTTTGAGTGGATGGGACGGATCAACCCTAAC ACTGGTGTCTCAACTTCTGCCCAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGG GACACGTCCATCAGCACAACCTACATGGAGCTGAGCAGTTTGAGATCTGACGAC ACGGCCGTCTATTACTGTGCGAGAGAGGAGAACGATAGTAGTGGGTATTACCTT TGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	23
1I9 경쇄	CAGATTGTGGTGACTCAGTCTCCATCCTCCCTGTTTGCATCTGTAGGAGACAGA GTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCACCTATTTAAATTGGTAT CAGCAAAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTG GAGAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCGGTGGCAGTAGATCTGGGACAGATTTCACT	24

[0234]

	CTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAG AGTTACAGGACCCCGTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGACATCAAA	
1L1 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGTCCTACGCTGGTGAAACCCACACAGACCCTC ACGCTGACCTGCACCTTCTCTGGGTTCTCACTCAGTATTAGTGGAGTGGGTGTG GGCTGGATCCGTCAGCCCCCAGGAAAGGCCCTGGAGTGGCTTGCACTCATTTAT TGGGATGATGATAAGCGCTACAGCCCATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCACC AAGGACACCTCCGAAAACCAGGTGGTCCTTACAATGACCAACATGGACCCTGTG GACACAGCCACATATTACTGTGCACACAGTATGACTAAAGGCGGGGCTATCTAT GGTCAGGCCTACTTTGAATACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTC	25
1L1 경쇄	CCATCTCCTGCACTGGAACCAGACAGTGACGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCC TGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAACTCATCATTTATGATGTCACT GATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGCCTCCAAGTCTGCCAACACG GCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGC AGCTCATATACAAGCAGCAGCACTCTGGTTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACC GTCCTA	26
1M9 중쇄	caggtccagctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggGGCCTCAGTG AAGGTCTCCTGCAAGGTTTCCGGATACACCCTCACTGAATTATCCATGCACTGG GTGCGACAGGCTCCTGGAAAAGGCCTAGAGTGGATGGGAGGTTTTGAGCCTGAA GATGGTGAAACAATCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCGAG GACACATCTAGAGACACAGCCTACATGGAGCTGAGTAGCCTGAGATCTGAGGAC ACGGCCGTCTATTACTGTACAACAGATCAGGTCTACTATCGTTCGGGGAGTTAT TCTGGATATGTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTC	27
1O5 중쇄	caggtccagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctgggtCCTCAGTG AAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGACGCACCTTCAGCAGCTATGTTATCAGCTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTCTG TTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAAATTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCG GACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGACGAC ACGGCCGTCTATTACTGTGCGAGGGGCGCCCAGCTATATTACAATGATGGTAGT GGTTACATTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAGCCCTGGTC	28
1O6 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGCCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGACCTCAGTG AAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATTCAGCTTTATTAGCTCTGCTGTGCAGTGG GTGCGACAGGCTCGTGGACAACGCCTTGAGTGGATAGGATGGATCGTCGTTGCC AGTGCTAACACAAACTACGCACAGAAGTTCCGGGAAAGAGTCACCATTACTAGG GACATGTCCACAAACACAGCCTATATGGAACTGACCAGCCTGAGATCCGAGGAC ACGGCCGTTTATTACTGTGCGGCAGAGCACCGGTCCCCTTGTAGTGGTGGTGAT AGCTGCTACAGTCTCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCCTGGTC ACCGTCTCCTCA	29
2A2 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTTCCGCCTGGGGGGTCCCTG AGACTGTCCTGTACAGCCTCTGGATTCACCGTTAGTAACTATGGCATGAGCTGG GTCCGCCAGACTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAACTATTAGTACTAGT AGTGGTAGAACATTCTACGCAGACTCCGTGGAGGGCCGGTTCACCATCTCCGGA GACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGTCGAAGAC ACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGCCCGTTCGGGGGCGACTTTGACTACTGG GGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	30
2A2 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTGCCATCTACTTAGCCTGGTAT CAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGG GCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAG CGTGGCAACTGGCAGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAACTGGAGATCAAA	31
2C2 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCCTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTG ACACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGTTTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCTTGGAGTGGGTCGCAGGTATTAGTTGGAAT	32

[0235]

	AGTGGTAGCGTAGGCTATGCGGACTCTATGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGA GACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATTAACAGTCTGAGAGCTGAGGAC ACGGCCTTATATTACTGTGCAAAAGCATTCTGGTTCGGGGAGTTATCGGGTTAC GGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	
2C2 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGCCTCCCTCCGCGTCCGGGTTTCCTGGACAGTCAGTC ACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTAGTTATAACTATGTCTCC TGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCCAAACTCATAATTTATGCGGTCACT AGGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGAGCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACG GCCTCCCTGACCGTCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGC ACCTCATATGCAGGCAACAACAAGGATGTCTTCGGAACTGGGACCAAGGTCACC GTCCTA	33
2D12 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG AAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACAGCTTTAACATCTATGGTATCAGCTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTAC AATGGTAACACAAACTATGCACAGAAACTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACA GACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAACTGAGGAGCCTGAGATCTGACGAC ACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGACCACTTTGGGGGGAATTTTACTATGATATC TGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	34
2D12 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGTCTCCAGGCACCCTGTCCTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCGGGTACTCAGCCTGG TACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAAA AGGGCCGCTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTC ACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CTGTTTGCTACCTCACCTCCGCCCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA	35
3A2 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAATTATGTTATGGAGTGG GTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGAT GGAAGCAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGA GACAATTCCAAGAACACGTTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGATCAGAGTGGGAGTCTTCCTATGGTTCGGGG AATTATTATACAGATTACTTCTACTACTACGCTATGGACGTCTGGGGCCCAGGG ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	36
3A2 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCG GCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAATCAGAGCCTCCTGCGTGGTATTAGATACAAC TATTTGGATTGGTACCTGCAGAAACCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTAT TTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCA GCCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTT TATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTACCACCTTCGGCCAAGGGACACGA CTGGAGATTAAA	37
3B4 중쇄	CAGGTGCAGCTGGAGGAGTCTGGTCCTACGCTGGTGAAACCCACACAGACCCTC ACGCTGACCTGTTCCTTCTCTGGGTTCTCACTCACCACTACTGGAGTGACTGTG GGCTGGATCCGTCAGCCCCCAGGAAAGGCCTTGGAGTGGCTTGCACTCATTTAT TGGGATGATGATAAGCGCTACAGCCCATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCACC AAGGACACCTCCAAAAACCAGGTGGTCCTTACCATGACCAACATGGACCCTGTG GACACTGCCACATATTACTGTGCGCACTCCACCGGCTACTATGATAGTAGTGGC TATCGAGGGGCCCTTGATGCTTTTGCTGTCTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACC GTCTCCTCA	38
3B4 경쇄	CAGATTGTGGTGACTCAGTTTCCAGACTCCCCGGCTGTGTCTTTGGGCGAGAGG GCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACCACTCCAACAATAAA AACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAACCTGCTCATT TACTGGGCATCTGCCCGACAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGG TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCA GTTTATTACTGTCAGCAATATTATAGTACTCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACC	39

[0236]

	AAGCTGGAGATCAAA	
3E23 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGACACCCTG TCCCTCACCTGCAGTGTCTCAAGTGACGCCCTCCGCAGCAGGAGTTATTACTGG GGCTGGGTCCGCCAGCCCCCCGGGAAGGGATTGGAGTGGATTGGGACTGTCTCT TATAGTGGGGGCACCTACTACAACCCGTCCCTCCAGAGTCGAGTCACCGTGTCG GTGGACACGTCCAAGAACCACTTCTCCCTGAGGTTGAACTCTGTGACCGCCGCA GACGCGGCTGTTTATTACTGTGCGAGATCTTATTTCTATGATGGCAGTGGTTAC TACTACCTGAGCTACTTTGACTCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCC TCA	40
3E23 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGGAGCCCTCACTGACTGTGTCCCCAGGAGGGACAGTC ACTCTCACCTGTGCTTCCAGCACTGGAGCAGTCACCAGTGGTCACTATCCAAAC TGGTTCCAGCAGAAACCTGGACAACCACCCAGGGCCCTGATTTATAGCACAGAC AACAAGCACTCCTGGACCCCTGCCCGGTTCTCAGGCTCCCTCCTAGGGGTCAAG GCTGCCCTGACACTGTCAGATGTACAGCCTGAGGACGAGGCTGACTATTACTGC CTGCTCCATTTTGGTGGTGTCGTGGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTC CTA	41
3H5 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTG AGACTCTCCTGTTCAACGTCTGGATTCACCTTCAGGATGTATGGCATGCACTGG GTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCGTTATTTTTAACGAT GGAGTTAAGAAATATTATGGAGACGCCGTGAAGGGCCGATTCACCGTCTCCAGA GACAATTCCAGGAACACCCTGTATCTGGAAATGAAAAGCCTGAGAGTCGACGAC ACGGCTGCCTACTACTGTGCGAGAGACGGGATTCCTGACCCCGAACGCGGTGAC TACGGGGGCTTGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	42
3H5 경쇄	CAGACTGTGGTGACTCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACACA GTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTACCAGTTATTTAAACTGGTAT CAGCAGAAACCAGGAAAAGCCCCAAAGCTCCTCATCTATGCTACATCCAGTTTG CAAAGTGGGCTCCCCTCAAGGTTCAGTGGCAGTGGCTATGGGACAGAATTCACT CTCACCATCAGTGGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACATACTACTGTCAACAG AGTTACAGTTTTCCTCGAACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATGGATA	43
3I21 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTCATCTTTGATGATTATGCCATGTACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGGAAT AGTGGAAACATAGCCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGA GACAACGCCAAGAACTCCCTGTATTTGGAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGTAAAAGATCTTTACGGGTACGATATTTTGACTGGT AATGGATATGATTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	44
3I21 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGTCTTCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCG GCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCAAAGTAATGGATACAAC TATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTAT TTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCA GGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTT TATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAG GTGGAAATCAAAA	45
3K11 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTG AAGGTCCCCTGCAAGGCTTCTGGAGACACCCTCAGTTACTACGGAATCACTTGG GTGCGACGGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGACAGATCATCCCTTTC TTTGCTACAACAATCTCCGCACAGAAGTTCCAGGGCAGACTCACCATGACCGCG GAAGAATCCACGAGCACTGGCTACATGGAGCGCACATTTTACATGGACTTGAGT AGCCTTAGACCTGAGGACACGGCCGTATACTACTGTGCGGGGGGCTACTATGGT TCGGGGAGTTCGGGCGACTACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCCTGGTC ACCGTCTCCTCA	46
3K11 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTC ACCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTAAAC TGGTACCAGCAGCTTCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTCATCTATGGTAACAAC	47

[0237]

	AATCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCA GCCTCCCTGGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGC CAGTCCTATGACAGCAGCCTGAGTGGTTCGGGAGTCTTCGGAACTGGGACCGAG GTCACCGTCCTA	
4B8 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTG TCCCTGACGTGCGCTGTTTCTGGTGACTCCATCGGCAGTAGAAGTTTCTACTGG GGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAAGTATCTAT TATAATGGGACCACCTACTACAAGCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCC CTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAGGCTGAGCTCTCTGACCGCCACA GACACGGGTGTCTATTACTGTGCGCGGGCGCCAACCTACTGTAGTCCTTCCAGC TGCGCAGTTCACTGGTACTTCAATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACCGTC TCCTCA	48
4B10 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGCTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG AAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACATATTTACCAAATATGGTATCAGTTGG CTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGGTGGGATGGATCAGCGCTTAC AATGAAAACACAAACTATGCAGAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCTTGACCACA GATGCATCCACGAGCACGGCCTACATGGAGCTGAGGAACCTGAGATCTGACGAC ACGGCCGTATACTTCTGTGCGAGAGAAGTCTGGTTCGCGGAGTATATTTACTGG GGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	49
8E22 경쇄	CAGGCTGTGGTGACTCAGGAGCCCTCACTGACTGTGTCCCCAGGAGGGACAGTC ACTCTCACCTGTTCTGCCAACAGTGGAGCAGTCACCAGTGATTACTATCCAAAC TGGTTCCAGCAGAAACCTGGACAAGCACCCAGGGCACTGATTTATAGTGCAAGC AACAAATTCTCCTGGACGCCTGCCCGGTTCTCAGGCTCCCTCCTTGGGGGCAAA GCTGCCCTGACACTGTCAGGTGCGCAGCCTGAGGACGAGGCTGAGTATTACTGC CTGGTCTACTCTGGTGATGGTGTGGTTTTC GGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAA	50
9A11 경쇄	CAGTCTGTGGTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATC ACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGCTTATAACTATGTCTCC TGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAACTCGTGATTTATGATGTCGCT AATCGGCCCTCAGGGATTTCTGACCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACG GCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGC GGCTCATATACCAGCGACGTCTCGCCGGTTTTCAGCGGGGGGACCAAGCTGACC GTCCTCA	51
9D14 중쇄	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGTCTGAGTTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG AAGCTTTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACAAGTCATCCTATGAATTGG GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACACCAAG ACTGGGAACCTAACTTATGCCCAGGGCTTCACAGGACGGTTTGTCTTCTCCTTG GACACCTCTGTCAGGACGGCGTATCTGCAGATCAGCGGCCTAAAGGCTGAGGAC ACTGCCATTTATTACTGTGCGAGAGATGAGTATAGTGGCTACGATTCGGTAGGG GTGTTCCGTGGTTCTTTTGACGACTTCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	52

[0238]

[0239] 표 2 - 항체 가변 영역에 대한 단백질 서열

클론	가변 서열	SEQ ID NO:
1H12 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYGISWVRQAPGQGLEWMG WISTYKGYTQYAQNFQGRVTITTDTPATTVYMELRSLRSDDTAVYYCAR VLSETGYFYYYYYGMDVWGQGTLVTVSS	53
1H12 경쇄	QAVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGADYNVHWYQLLPGTAPKLL IYGNTNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLS ASVFGGGTKLTVL	54
2B4 중쇄	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYSFTSYSINWVRQAPGQGPEWMG WIDTNTGNPTYAQDFAGRFVFSLDTSVTTAYLQISSLKAGDTAVYYCAT YYVDLWGSYRQDYYGMDVWGH	55
2B4 경쇄	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGGSSNIGSNPVNWYQMVPGTAPKLLL YTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAINGLQSEDEADYYCAVWDDSLSG RWVFGGGTKVTVL	56
2H1 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMG WISTYNGDTNYAQKFQGRVTLTTETSTSTAYMELRRLRSDDTAVYYCAR DFEFPGDCSGGSCYSRFIYQHNDMDVWGHGTLVTVSSAS	57
2H1 경쇄	QAVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNHYVSWYQHLPGTAPKLLI YDNYKRPSVIPDRFSASKSGASATLGIIGLQTGDEADYYCGTWDSSLSA VVFGGGTKLTVL	58
3E23 중쇄	QVQLVQSGPGLVKPSDTLSLTCSVSSDALRSRSYYWGWVRQPPGKGLEW IGTVSYSGGTYYNPSLQSRVTVSVDTSKNHFSLRLNSVTAADAAVYYCA RSYFYDGSGYYYLSYFDSWGQGTLVTVSS	59
3E23 경쇄	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGHYPNWFQQKPGQPPRAL IYSTDNKHSWTPARFSGSLLGVKAALTLSDVQPEDEADYYCLLHFGGVV VFGGGTKLTVL	60
3N23 중쇄	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFTFSNYAMHWVRQAPGKGLDWVA VIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQVNSLRAEDTAVYYCAR GDYVLDYWGQGTLVTVSS	61
3N23 경쇄	DIVMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQSIPSYLNWYQQKPGKAPKVLIY ATSTLEAGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPEDFATYYCQQSYNTGIFT FGPGTKVDIK	62
4J14 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTSSTYAISWVRQAPGQGLEWMG GSIPVFATVNYAQKFQGRLTITADESTSTVYMELSSLRSEDTAVYFCAS PYCSSMNCYTTFYYFDFWGQGTLVTVSS	63
4J14 경쇄	QAVVTQPASVFGFPGQSITISCTGTSSDFGTYNYVSWYQQHPGQAPKLM IFDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEASYYCSSYTSGST LYGGGTKLTVL	64
4J21 중쇄	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYSFTSYSINWVRQAPGQGPEWMG WIDTNTGNPTYAQDFAGRFVFSLDTSVTTAYLQISSLKAGDTAVYYCAT YYVDLWGSYRQDYYGMDVWGHGTLVTVSS	65
4J21 경쇄	QSVVTQPPSVSGTPGQGVTISCSGGSSNIGSNPVNWYQMVPGTAPKLLL YTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAINGLQSEDEADYYCAVWDDSLSG RWVFGGGTKLTVL	66
4N12 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYILSKLSVHWVRQAPGKGLEWMG GSEREDGETVYAQKFQGRISLTEDTSIETAYMELSSLSSEDTAVYYCAT	67

[0240]

	GGFWSMIGGNGVDYWGQGTLVTVSS	
4N12 경쇄	QAVVTQSPSSLPASVGDRVTITCRASQDIRNNLGWYQQKPGKAPERLIY GTSNLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPPTF GRGTKVEIK	68
5M16 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYTFTSYFMHWVRQAPGQGLEWMA ITYPGGGSPSYAPQFQGRLTMTDDTSATTVYMDLSDLTSKDTAVYYCAR GAHRSIGTTPLDSWGQGTLVTVSSASFK	69
5O14 중쇄	QVQLVQSGGRVVQAGRSLRLSCAASGFTFSMYGVHWVRQAPGKGLEWVA VIWNDGSKEYYGDSVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRVDDTAVYFCAR DGIPDPERGDYGGLDYWGQGTLVTVSS	70
5O14 경쇄	QTVVTQFPSSPFASVGDGVTITCRARQSISSYVNWYQQKPGKAPKLLIY ATSSLQSGVPSRFSGSGYGTDFTLTISGLQPEDFATYYCQQSYSFPRTF GQGTKVEIK	71
8G18 중쇄	QVQLVQSGAQVKKPGSSVKVSCKPSGGTFNNNGISWVRQAPGQGLEWMG GIVPNFGTPTYGQDFQGRVTITADESTSTVFLELTRLRSDDTAVYFCAR GRTAVTPMQLGLQFYFDFWGRGTLVTVSS	72
8G18 경쇄	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSANSGAVTSDYYPNWFQQKPGQAPRAL IYSASNKFSWTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCLVYSGDGV VFGGGTKLTV	73
1I9 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDNSVHWVRQAPGQGFEWMG RINPNTGVSTSAQKFQGRVTMTRDTSISTTYMELSSLRSDDTAVYYCAR EENDSSGYYLWGQGTLVTVSS	74
1I9 경쇄	QIVVTQSPSSLFASVGDRVTITCRASQSISTYLNWYQQKPGKAPKLLIY AASSLESGVPSRFGGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRTPWTF GQGTKVDIK	75
1L1 중쇄	QVQLVQSGP.TLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSISGVGVGWIRQPPGKALE WLALIYWDDDKRYSPSLKSRLTITKDTSENQVVLTMTNMDPVDTATYYC AHSMTKGGAIYGQAYFEYWGQGTLV	76
1L1 경쇄	PSPALEPDSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLIIYDVTDRPSGVSNRFSAS KSANTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSST	77
1M9 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMG GFEPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSRDTAYMELSSLRSEDTAVYYCTT DQVYYRSGSYSGYVDYWGQGTLV	78
1O5 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGRTFSSYVISWVRQAPGQGLEWMG GIIPLFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSDDTAVYYCAR GAQLYYNDGSGYIF DYWGQGALV	79
1O6 중쇄	QVQLVQSGPEVKKPGTSVKVSCKASGFSFISSAVQWVRQARGQRLEWIG WIVVASANTNYAQKFRERVTITRDMSTNTAYMELTSLRSEDTAVYYCAA EHRSPCSGGDSCYSLYYGMDVWGQGTLVTVSS	80
2A2 중쇄	QVQLVQSGGGLVPPGGSLRLSCTASGFTVSNYGMSWVRQTPGKGLEWVS TISTSSGRTFYADSVEGRFTISGDNSKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYCAK GPFGGDFDYWGQGTLVTVSS	81
2A2 경쇄	QAVVTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVAIYLAWYQQKPGQAPRLLIY DASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGNWQYTF GQGTKLEIK	82
2C2 중쇄	QVQLVQSGGGLVQPGRSLTLSCAASGFTFDVYAMHWVRQAPGKGLEWVA GISWNSGSVGYADSMKGRFTISRDNAKNSLYLQINSLRAEDTALYYCAK AFWFGELSGYGMDVWGQGTLVTVSS	83
2C2	QAVVTQPPS.ASGFPGQSVTISCTGTSSDVGSYNYVSWYQQHPGKAPKL	84

[0241]

경쇄	IIYAVTRRPSGVPERFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCTSYAGNNKDVFGTGTKVTVL	
2D12 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFNIYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARPLWGEFYYDIWGQGTLVTVSS	85
2D12 경쇄	QAVVTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSGYSAWYQQKPGQAPRLLIYGASKRAAGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQLFATSPPPFGQGTRLEIK	86
3A2 중쇄	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYVMEWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVK.GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSEWESSYGSGNYYTDYFYYYAMDVWGPGTLVTVSS	87
3A2 경쇄	QAVVTQSPLSLPVTPGEPASISCRSNQSLLRGIRYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSATDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPTTFGQGTRLEIK	88
3B4 중쇄	QVQLEESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFSLTTTGVTVGWIRQPPGKALEWLALIYWDDDKRYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAHSTGYYDSSGYRGALDAFAVWGQGTLVTVSS	89
3B4 경쇄	QIVVTQFPDSPAVSLGERATINCKSSQSVLYHSNNKNYLAWYQQKPGQPPNLLIYWASARQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLEIK	90
3E23 중쇄	QVQLVQSGPGLVKPSDTLSLTCSVSSDALRSRSYYWGWVRQPPGKGLEWIGTVSYSGGTYYNPSLQSRVTVSVDTSKNHFSLRLNSVTAADAAVYYCARSYFYDGSGYYYLSYFDSWGQGTLVTVSS	91
3E23 경쇄	QAVVTQEPS.LTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGHYPNWFQQKPGQPPRALIYSTDNKHSWTPARFSGSLLGVKAALTLSDVQPEDEADYYCLLHFGGVVVFGGGTKLTVL	92
3H5 중쇄	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCSTSGFTFRMYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIFNDGVKKYYGDAVKGRFTVSRDNSRNTLYLEMKSLRVDDTAAYYCARDGIPDPERGDYGGLDYWGQGTLVTVSS	93
3H5 경쇄	QTVVTQSPSSLSASVGDTVTITCRASQSITSYLNWYQQKPGKAPKLLIYATSSLQSGLPSRFSGSGYGTEFTLTISGLQPEDFATYYCQQSYSFPRTFGQGTKVEMD	94
3I21 중쇄	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCATSGFIFDDYAMYWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGNIAYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLEMNSLRAEDTALYYCVKDLYGYDILTGNGYDYWGQGTLVTVSS	95
3I21 경쇄	QAVVTQSSLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLQSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPTFGQGTKVEIK	96
3K11 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVPCKASGDTLSYYGITWVRRAPGQGLEWMGQIIPFFATTISAQKFQGRLTMTAEESTSTGYMERTFYMDLSSLRPEDTAVYYCAGGYYGSGSSGDYGLDVWGQGTLVTVSS	97
3K11 경쇄	QAVVTQPPS.VSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVNWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGSGVFGTGTEVTVL	98
4B8 중쇄	QVQLVQSGPGLVKPSETLSLTCAVSGDSIGSRSFYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYNGTTYYKPSLKSRVTISLDTSKNQFSLRLSSLTATDTGVYYCARAPTYCSPSSCAVHWYFNLWGRGTLVTVSS	99
4B10 중쇄	QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCKASGYIFTKYGISWLRQAPGQGLEWVGWISAYNENTNYAEKFQGRVTLTTDASTSTAYMELRNLRSDDTAVYFCAR	100

[0242]

	EVWFAEYIYWGQGTLVTVSS	
9A11 경쇄	QSVVTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGAYNYVSWYQQHPGKAPKLVIYDVANRPSGISDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSDVSPVFSGGTKLTVL	101
9D14 중쇄	QVQLVQSGSELKKPGASVKLSCKASGYTFTSHPMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGNLTYAQGFTGRFVFSLDTSVRTAYLQISGLKAEDTAIYYCARDEYSGYDSVGVFRGSFDDFYGMDVWGQGTLVTVSS	102

[0243]

[0244] 표 3 - CDR 중쇄 서열

항체	CDRH1 (SEQ ID NO:)	CDRH2 (SEQID NO:)	CDRH3 (SEQ ID NO:)
1H12	GYSFTSYG (103)	ISTYKGYT (104)	ARVLSETGYFYYYYGMDV (105)
2B4	GYSFTSYS (106)	IDTNTGNP (107)	ATYYVDLWGSYRQDYYGMDV (108)
2H1	GYTFTSYG (109)	ISTYNGDT (110)	ARDFEFPGDCSGGSCYSRFIYQHNDMDV (111)
3E23	SDALRSRSYY (112)	VSYSGGT (113)	ARSYFYDGSGYYYLSYFDS (114)
3N23	GFTFSNYA (115)	IWYDGSNK (116)	ARGDYVLDY (117)
4J14	GGTSSTYA (118)	SIPVFATV (119)	ASPYCSSMNCYTTFYYFDF (120)
4J21	GYSFTSYS (121)	IDTNTGNP (122)	ATYYVDLWGSYRQDYYGMDV (123)
4N12	GYILSKLS (124)	SEREDGET (125)	ATGGFWSMIGGNGVDY (126)
5M16	GYTFTSYF (127)	TYPGGGSP (128)	ARGAHRSIGTTPLDS (129)
5O14	GFTFSMYG (130)	IWNDGSKE (131)	ARDGIPDPERGDYGGLDY (132)
8G18	GGTFNNNG (133)	IVPNFGTP (134)	ARGRTAVTPMQLGLQFYFDF (135)
1I9	GYTFTDNS (136)	INPNTGVS (137)	AREENDSSGYYL (138)
1L1	GFSLSISGVG (139)	IYWDDDK (140)	AHSMTKGGAIYGQAYFEY (141)
1M9	GYTLTELS (142)	FEPEDGET (143)	TTDQVYYRSGSYSGYVDY (144)
1O5	GRTFSSYV (145)	IIPLFGTA (146)	ARGAQLYYNDGSGYIFDY (147)
1O6	GFSFISSA (148)	IVVASANT (149)	AAEHRSPCSGGDSCYSLYYGMDV (150)
2A2	GFTVSNYG (151)	ISTSSGRT (152)	AKGPFGGDFDY (153)
2C2	GFTFDVYA (154)	ISWNSGSV (155)	AKAFWFGELSGYGMDV (156)

[0245]

2D12	GYSFNIYG (157)	ISAYNGNT (158)	ARPLWGEFYYDI (159)
3A2	GFTFSNYV (160)	ISYDGSNK (161)	ARSEWESSYGSGNYYTDYFYYYAMDV (162)
3B4	GFSLTTTGVT (163)	IYWDDDK (164)	AHSTGYYDSSGYRGALDAFAV (165)
3E23	SDALRSRSYY (166)	VSYSGGT (167)	ARSYFYDGSGYYYLSYFDS (168)
3H5	GFTFRMYG (169)	IFNDGVKK (170)	ARDGIPDPERGDYGGLDY (171)
3I21	GFIFDDYA (172)	ISWNSGNI (173)	VKDLYGYDILTGNGYDY (174)
3K11	GDTLSYYG (175)	IIPFFATT (176)	TAVYYCAGGYYGSGSSGDYGLDV (177)
4B8	GDSIGSRSFY (178)	IYYNGTT (179)	ARAPTYCSPSSCAVHWYFNL (180)
4B10	GYIFTKYG (181)	ISAYNENT (182)	AREVWFAEYIY (183)
9D14	GYTFTSHP (184)	INTKTGNL (185)	ARDEYSGYDSVGVFRGSFDDFYGMDV (186)

[0246]

[0247] 표 4 - CDR 경쇄 서열

항체	CDRL1(SEQ ID NO:)	CDRL2(SEQID NO:)	CDRL3(SEQ ID NO:)
1H12	SSNIGADYN (187)	GNT (188)	QSYDSSLSASV (189)
2B4	SSNIGSNP (190)	TNN (191)	AVWDDSLSGRWV (192)
2H1	SSNIGNHY (193)	DNY (194)	GTWDSSLSAVV (195)
3E23	TGAVTSGHY (196)	STD (197)	LLHFGGVVV (198)
3N23	QSIPSY (199)	ATS (200)	QQSYNTGIFT (201)
4J14	SSDFGTYNY (202)	DVS (203)	SSYTSGSTLYGGG (204)
4J21	SSNIGSNP (205)	TNN (206)	AVWDDSLSGRWV (207)
4N12	QDIRNN (208)	GTS (209)	LQHNSYPPT (210)
5O14	QSISSY (211)	ATS (212)	QQSYSFPRT (213)
8G18	SGAVTSDYY (214)	SAS (215)	LVYSGDGVV (216)
1I9	QSISTY (217)	AAS (218)	QQSYRTPWT (219)
1L1	DSDVGGYNY (220)	DVT (221)	SSYTSSSTLV (222)
2A2	QSVAIY (223)	DAS (224)	QQRGNWQYT (225)
2C2	SSDVGSYNY (226)	AVT (227)	TSYAGNNKDV (228)
2D12	QSVSSGY (229)	GAS (230)	QLFATSPPP (231)
3A2	QSLLRGIRYNY (232)	LGS (233)	MQALQTPTT (234)
3B4	QSVLYHSNNKNY (235)	WAS (236)	QQYYSTPYT (237)
3E23	TGAVTSGHY (238)	STD (239)	LLHFGGVVV (240)
3H5	QSITSY (241)	ATS (242)	QQSYSFPRT (243)
3I21	QSLLQSNGYNY (244)	LGS (245)	MQALQTPPT (246)
3K11	SSNIGAGYD (247)	GNN (248)	QSYDSSLSGSGV (249)
9A11	SSDVGAYNY (250)	DVA (251)	GSYTSDVSPV (252)

[0248]

[0249] 표 5 - 치쿤군야 바이러스-특이적 인간 모노클로날 항체의 특징

mAb[1]	IgG 서브-클래스[2]	λ/κ 경쇄[2]	E2 엑토도메인에 대한 ELISA 결합 (10 μg/mL)[3]	CHIKV VRP (균주 SL15649)[4]에 대한 중화 EC_{50} (ng/mL)[5] [95% 신뢰 구간]
2H1	IgG2	λ	++	8 [6 - 10]
4N12	IgG2	κ	-	8 [7 - 10]
2B4	IgG1	λ	++	14 [11 - 17]
4J21	IgG1	λ	++	5 [4 - 6]
5M16	IgG1	κ	+++	5 [4 - 6]
9D14	IgG1	λ	+++	6 [5 - 7]
1H12	IgG1	λ	+++	17 [14 - 20]
8E22	IgG1	λ	++	17 [14 - 19]
8G18	IgG1	λ	++	17 [14 - 19]
10N24	IgG1	κ	-	21 [17 - 26]
8I4	IgG1	κ	+++	8 [5 - 14]
3N23	IgG1	κ	-	25 [21 - 30]
5O14	IgG1	κ	+++	38 [30 - 47]
4J14	IgG1	λ	++	23 [20 - 26]
3E23	IgG2	λ	-	11 [9 - 13]
1L1	IgG1	λ	+/-	18 [15 - 22]
3B4	IgG3	κ	-	>
4B8	IgG1	λ	+++	0.6 [0.4 - 0.8]
4G20	IgG1	λ	-	95 [60 - 160]
1O5	IgG1	λ	-	138 [110 - 170]
1O6	IgG3	λ	-	5,200 [4,100 - 6,600]
2L5	NT	NT	-	4,600 [2,400 - 9,500]
3A2	IgG1	κ	+++	1,300 [830 - 1,900]
5F19	IgG1	λ	+++	>
1M9	IgG1	κ	-	>
1I9	IgG1	κ	-	>
4B10	IgG1	κ	-	>
2C2	IgG1	λ	-	>
2D12	IgG1	κ	-	>
5N23	IgG1	λ	+++	>
뮤린 CHK-152	IgG2c	κ	-	3 [2 - 4]

[0250]

[0251] [1]항체의 순서는 다양한 유전자형의 임상 CHIKV 단리물에 대한 중화 검정에서 항체의 효능 정도 및 폭의 수준을 반영한다.

[0252] [2]이뮤노글로불린 이소형, 아형 및 경쇄 사용은 ELISA에 의해 결정되었다. NT는 B 세포주의 성장이 좋지 않아 시험하지 않았음을 나타낸다.

[0253] [3](-)는 검출할 수 없는 결합을 나타내고 [OD <0.1]; (+/-)는 약한 결합을 나타내고 [OD 0.31-0.499]; (++)는 중간 정도의 결합을 나타내며 [OD 0.5-0.99]; (+++)는 강한 결합을 나타낸다 [OD >1.0].

[0254] [4]제시된 값은 2회 이상의 독립적인 실험의 조합된 데이터를 나타낸다.

[0255] [5]바이러스의 50%가 중화된 농도 (ng/mL) (EC_{50}). (>)는 EC_{50} 값이 시험된 가장 높은 mAb 농도 (10 μg/ml)보다 높음을 나타낸다. N.D. = 수행되지 않음.

[0256] 표 6 - 치쿤군야 바이러스-특이적 인간 모노클로날 항체의 주요 항원 부위

mAb[1]	정제된 E2 단백질에 대한 경쟁 결합 군[2]	돌연변이유발 맵핑	
		E2 도메인[3]	알라닌으로 변경될 때 감소된 결합이 관찰된 E2 잔기
2H1	저 결합	E2-DA	R80, T116
4N12	NT	아치	D250
2B4	저 결합	NoReduct ##	-
4J21	저 결합	NoReduct	-
5M16	2	아치	G253
9D14	2	NoReduct	-
1H12	1/2	DA/B, 아치	T58, D59, D60, R68, D71, I74, D77, T191, N193, K234
8E22	저 결합	DA, 아치	H62, W64, R68, H99, D117, I255
8G18	저 결합	DA	H62, W64, D117
10N24	NT	DA,B	W64, D71, R80, T116, D117, I121, N187, I190
8I4	NSF Ab	DB, 아치	M171, Q184, I190, N193, V197, R198, Y199, G209, L210, K215, K234, V242, I255
3N23	NT	DA, 아치	D60, R68, G98, H170, M171, K233, K234
5O14	2	NoReduct	-
4J14	저 결합	DA/B	D63, W64, T65, R80, I121, A162, N193
3E23	NT	DA	W64
1L1	저 결합	Arch	G253
3B4	NT	DB	V192, Q195
4B8	2	NoReduct	-
4G20	NT	DB	D174, R198, Y199, K215
1O5	NT	DA	W64, T65
1O6	2	DA	R80
2L5	NT	NoReduct	-
3A2	3	DB	I190, R198, Y199, G209, L210, T212
5F19	4	DA	H18
1M9	NT	DA, 아치	R36, H62, R80, Q146, E165, E166, N231, D250, H256

[0257]

1I9	NT	E2	비결정적
4B10	NT	NoReduct	-
2C2	NT	NoReduct	비결정적
2D12	NT	E2	비결정적
5N23	1	DA, 아치	E24, D117, I121
뮤린 CHK-152	NT	E2-DA, E2-DB	D59, W235, A11, M74, G194, N193, T212, H232[4]

[0258]

[0259] [1]항체의 순서는 다양한 유전자형의 임상 CHIKV 단리물에 대한 중화 검정에서 항체의 효능 정도 및 폭의 수준을 반영한다.

[0260] [2]제시된 값은 2회 이상의 독립적인 실험의 조합된 데이터를 나타낸다. 저 결합은 경쟁 평가를 위한 바이오센서 상의 E2에 대한 불완전한 mAb의 결합을 나타낸다. Ab는 ELISA에서 E2 엑토도메인에 결합하지 않았기 때문에 NT는 시험되지 않았음을 나타내고; NSF Ab는 mAb의 공급이 충분하지 않다는 것을 나타낸다.

[0261] [3]NotReact는 mAb가 야생형 외피 단백질에 대해 반응하지 않아 이러한 시스템에서 시험될 수 없었음을 나타낸다. NoReduct는 mAb가 야생형 E 단백질에 결합하였지만, 감소가 임의의 돌연변이체에 대해서는 재현가능하게 검출되지 않았음을 나타낸다. DA는 도메인 A를 나타내고; DB는 도메인 B를 나타내고; 아치는 아치 1, 아치 2 또는 둘 다를 나타낸다.

[0262] [4]이전의 냉동-EM 재구성에서 mAb와의 접촉에 의해 확인된 잔기.

[0263] 표 7 - 치쿤군야 바이러스-특이적 인간 모노클로날 항체의 시험관내 중화 효능 및 폭

mAb[1]	**나타낸 유전자형 및 균주에 대한 CHKV의 중화*** **EC_{50}, ng/mL**[2] (95% 신뢰 구간)			
	서부 아프리카 유전자형	**ECSA** 유전자형	아시아 유전자형	
	NI 64 IbH 35 균주	**LR2006 OPY1 (LR)** 균주	**RSUI** 균주	**2014** 카리브해 **99659** 균주
2H1	3.7 (3.3-4.3)	5.6 (4.9-6.3)	5.9 (5.3-6.7)	5.5 (4.7-6.5)
4N12	2.5 (2.0-3.1)	4.0 (3.3-5.0)	6.5 (5.7-7.3)	7.3 (5.9-9.2)
2B4	3.2 (2.8-3.7)	5.6 (4.6-6.7)	6.5 (5.6-7.7)	7.0 (6.0-8.2)
4J21	5.2 (4.3-6.4)	7.4 (6.6-8.3)	7.7 (7.0-8.6)	7.2 (5.3-9.8)
5M16	6. 0 (5.5-6.6)	5.9 (5.0-6.8)	8.4 (6.7-10.4)	11.7 (9.7-14.1)
9D14	2.1 (1.6-2.7)	2.9 (2.3-3.7)	6.3 (4.7-8.4)	86.0 (31.5-235)
1H12	3.0 (2.5-3.5)	7.5 (6.7-8.4)	11.7 (9.3-14.8)	11.6 (8.2-16.2)
8E22	8.2 (7.0-9.7)	7.2 (6.4-8.3)	42.5 (30.8-58.5)	138.9 (64.7-298)
8G18	4.7 (4.1-5.3)	7.3 (6.3-8.4)	34.9 (24.9-48.9)	52.4 (24.1-114)
10N24	7.9 (6.9-9.0)	9.5 (8.2-11.0)	15.9 (13.2-19.2)	23.6 (18.3-30.5)
8I4	6.9 (3.8-12.3)	6.2 (4.5-8.4)	153 (78-299)	>
3N23	6.0 (5.0-7.2)	10.1 (8.9-11.5)	14.1 (11.6-17.1)	8.7 (7.0-10.9)
5O14	6.7 (5.5-8.3)	12.1 (10.9-13.5)	17.3 (14.2-21.1)	6.2 (5.3-7.2)
4J14	12.9 (11.2-15.0)	17.7 (16.1-19.4)	23.1 (20-27)	23.0 (18.5-28.4)
3E23	19.4 (15.2-25.0)	18.7 (16.3-21.5)	36.0 (30.3-42.9)	38.0 (30.3-47.5)
1L1	18.6 (15.5-22.4)	24.2 (21.3-27.5)	34.3 (29-40.7)	N.D.
3B4	18.7 (10.7-32.8)	29.6 (18.7-46.8)	271 (144-511)	N.D.
4B8	22.8 (12.4-41.8)	28.1 (19.8-39.9)	234 (142-386)	N.D.
4G20	22.3 (17.3-29.0)	34.9 (28.2-43.8)	131.4 (88.5-195)	N.D.
1O5	30.1 (22.6-35.3)	37.6 (32.6-43.4)	48.9 (37.8-63.2)	N.D.
1O6	61.7 (50.8-74.8)	57.5 (48.8-68.1)	N.D.	N.D.
2L5	1,076 (748-1,548)	2,361 (1,460-3,819)	5,632 (3,904-8,128)	N.D.
3A2	1,566 (1,111-2,207)	1,396 (952-2,046)	>	N.D.
5F19	>	9,064 (2,911-28,249)	>	N.D.
1M9	>	>	6,187 (2,795-13,709)	N.D.
1I9	>	>	>	N.D.
4B10	>	>	>	N.D.
2C2	>	>	>	N.D.
2D12	>	>	>	N.D.
5N23	>	>	>	N.D.
뮤린 CHK-152				

[0264]

[0265] [1]항체의 순서는 다양한 유전자형의 임상 CHIKV 단리물에 대한 중화 검정에서 항체의 효능 정도 및 폭의 수준을

반영한다.

[0266] [2]바이러스의 50%가 중화된 농도 (ng/mL) (EC_{50}). (>)는 EC_{50} 값이 시험된 가장 높은 mAb 농도 (10 μg/ml)보다 높음을 나타낸다. N.D. = 수행되지 않음.

[0267] 본원에 개시되고 특허청구된 모든 조성물 및 방법은 본 개시내용에 비추어 과도한 실험을 수행하지 않으면서 제조되고 실행될 수 있다. 본 개시내용의 조성물 및 방법이 바람직한 실시양태의 측면에서 설명되었지만, 통상의 기술자에게는 본 개시내용의 개념, 정신 및 범위로부터 벗어남이 없이 본원에서 설명된 조성물 및 방법, 단계 또는 단계의 순서에 변형이 적용될 수 있음이 명백할 것이다. 보다 구체적으로, 화학적으로 및 생리학적으로 양쪽으로 관련 있는 특정 작용제가 동일하거나 유사한 결과를 달성하면서 본원에서 설명된 작용제를 대체할 수 있다는 것이 명백할 것이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백한 이러한 모든 유사한 대체 및 변형은 첨부된 청구범위에 의해 규정되는 바와 같은 본 개시내용의 정신, 범위 및 개념 내에 포함되는 것으로 간주된다.

[0268] VII. 참고문헌

[0269] 다음의 참고문헌은 본원에 제시된 것들을 보충하는 예시적인 절차 또는 다른 세부 사항을 제공하는 정도로 본원에 참조로 구체적으로 포함된다.

[0270] "Antibodies: A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY, 1988.

[0271] Abbondanzo *et al.*, *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 12(4), 480-489, 1990.

[0272] Allred *et al.*, *Arch. Surg.*, 125(1), 107-113, 1990.

[0273] Atherton *et al.*, *Biol. of Reproduction*, 32, 155-171, 1985.

[0274] Austin *et al.*, PLoS Pathog 8, e1002930, 2012.

[0275] Brehin, *et al.*, Virology 371:185-195, 2008.

[0276] Brown *et al.*, *J. Immunol. Meth.*, 12;130(1), :111-121, 1990.

[0277] Campbell, *In*: *Monoclonal Antibody Technology, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 13, Burden and Von Knippenberg, Eds. pp. 75-83, Amsterdam, Elsevier, 1984.

[0278] Capaldi *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 74(2):425-433, 1977.

[0279] CDC, Chikungunya in the Americas. (Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services). world-wide-web at cdc.gov/chikungunya/geo/americas.html, 2014.

[0280] CDC, Chikungunya virus (Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services). world-wide-web at cdc.gov/media/releases/2013/p1218-chikungunyas.html, 2013.

[0281] Christian *et al.*, Proc Natl Acad Sci U S A, 110:18662-18667, 2013.

[0282] Chu *et al.*, Deciphering the protective role of adaptive immunity to CHIKV/IRES a novel candidate vaccine against Chikungunya in the A129 mouse model. Vaccine 31:3353-3360, 2013.

[0283] Couderc *et al.*, J. Infect. Dis. 200, 516-523, 2009.

[0284] De Jager *et al.*, *Semin. Nucl. Med.* 23(2), 165-179, 1993.

[0285] Dholakia *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 264, 20638-20642, 1989.

[0286] Doolittle and Ben-Zeev, *Methods Mol. Biol.*, 109, :215-237, 1999.

[0287] Edwards & Brown, J. Gen. Virol. 67 (Pt 2), 377-380, 1986.

[0288] Edwards *et al.*, J. Gen. Virol. 67 (Pt 2), 377-380, 1986.

[0289] Fong *et al.*, J. Virol. 88:14364-14379, 2014.

[0290] Fric *et al.*, J. Infect. Dis. 207:319-322, 2013.

[0291] Gefter *et al.*, *Somatic Cell Genet.*, 3:231-236, 1977.

[0292] Goh *et al.*, Clin. Immunol. 149:487-497, 2013.

[0293] Gulbis and Galand, *Hum. Pathol.* 24(12), 1271-1285, 1993.

[0294] Guo *et al.*, *Sci. Transl. Med.* 3:99 ra85, 2001.

[0295] Hallengard, *et al.*, J. Virol. 88:13333-13343, 2014.

[0296] Hawman *et al.*, J. Virol. 87, 13878-13888, 2013.

[0297] Hong *et al.*, J. Virol. 87:12471-12480, 2013.

[0298] Kam *et al.*, EMBO Mol. Med. 4, 330-343, 2012b.

[0299] Kam *et al.*, J. Virol. 86, 13005-13015, 2012a.

[0300] Kam *et al.*, PLoS One 9, e95647, 2014.

[0301] Khatoon *et al.*, *Ann. of Neurology*, 26, 210-219, 1989.

[0302] Kielian *et al.*, Viruses 2:796-825, 2010.

[0303] King *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 269, 10210-10218, 1989.

[0304] Kohler and Milstein, *Eur. J. Immunol.*, 6, 511-519, 1976.

[0305] Kohler and Milstein, *Nature*, 256, 495-497, 1975.

[0306] Krause *et al.*, J. Immunol. 187:3704-3711, 2011b.

[0307] Krause *et al.*, J. Virol. 84:3127-3130, 2010.

[0308] Krause *et al.*, J. Virol. 85:10905-10908, 2011a.

[0309] Krause *et al.*, J. Virol. 86:6334-6340, 2012.

[0310] Kyte and Doolittle, *J. Mol. Biol.*, 157(1):105-132, 1982.

[0311] Lanciotti & Valadere, Emerg Infect Dis 20, 2014.

[0312] Lee *et al.*, PLoS Pathog. 7:e1002390, 2011.

[0313] Levitt *et al.*, Vaccine 4, 157-162, 1986.

[0314] Lum *et al.*, J. Immunol. 190:6295-6302, 2013.

[0315] Mainou *et al.*, MBio 4, 2013.

[0316] Masrinoul *et al.*, Virology 464-465, 111-117, 2014.

[0317] Messer *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 111:1939-1944, 2014.

[0318] Morrison *et al.*, Am J Pathol, 178:32-40, 2011.

[0319] Nakamura *et al.*, *In: Enzyme Immunoassays: Heterogeneous and Homogeneous Systems*, Chapter 27, 1987.

[0320] O'Shannessy *et al.*, *J. Immun. Meth.*, 99, 153-161, 1987.

[0321] Paes *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 131:6952-6954, 2009.

[0322] Pal *et al.*, J. Virol. 88:8213-8226, 2014.

[0323] Pal *et al.*, PLoS Pathog 9, e1003312, 2013.

[0324] Persic *et al.*, *Gene* 187:1, 1997

[0325] Potter and Haley, *Meth. Enzymol.*, 91, 613-633, 1983.

[0326] Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., 3:624-652, 1990.

[0327] R.C. Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014.

[0328] Schilte *et al.,* PLoS Negl. Trop. Dis. 7:e2137, 2013.

[0329] Selvarajah *et al.,* PLoS Negl. Trop. Dis. 7:e2423, 2013.

[0330] Sissoko *et al.,* PLoS Negl. Trop. Dis. 3:e389, 2009.

[0331] Smith *et al.,* J. Virol. 86, 2665-2675, 2012.

[0332] Smith *et al.,* J. Virol. 88, 12233-12241, 2014.

[0333] Smith *et al.,* J. Virol., 86:2665-2675, 2012.

[0334] Smith et al., MBio 4, e00873-00813, 2013a.

[0335] Smith *et al.,*, J. Infect. Dis. 207, 1898-1908, 2013b.

[0336] Staples *et al.,* Clin. Infect. Dis., 49, 942-948, 2009.

[0337] Sun *et al.,* Elife, 2:e00435, 2013.

[0338] Sun *et al., J. Steroid Biochem.*, 26(1):83-92, 1987.

[0339] Sun *et al.,* J. Virol., 88:2035-2046, 2014.

[0340] Tang *et al., J. Biol. Chem.,* 271:28324-28330, 1996.

[0341] Thornburg *et al.,* J. Clin. Invest., 123:4405-4409, 2013.

[0342] 미국 특허 3,817,837

[0343] 미국 특허 3,850,752

[0344] 미국 특허 3,939,350

[0345] 미국 특허 3,996,345

[0346] 미국 특허 4,196,265

[0347] 미국 특허 4,275,149

[0348] 미국 특허 4,277,437

[0349] 미국 특허 4,366,241

[0350] 미국 특허 4,472,509

[0351] 미국 특허 4,554,101

[0352] 미국 특허 4,680,338

[0353] 미국 특허 4,816,567

[0354] 미국 특허 4,867,973

[0355] 미국 특허 4,938,948

[0356] 미국 특허 5,021,236

[0357] 미국 특허 5,141,648

[0358] 미국 특허 5,196,066

[0359] 미국 특허 5,563,250

[0360] 미국 특허 5,565,332

[0361] 미국 특허 5,856,456

[0362] 미국 특허 5,880,270

[0363] Vander Veen *et al.*, Anim Health Res Rev, 13:1-9, 2012.

[0364] Voss *et al.*, Nature, 468:709-712, 2010.

[0366] *Voss *et al.*, Nature, 468:709-712, 2010.

[0367] Warter *et al.*, J. Immunol., 186:3258-3264, 2011.

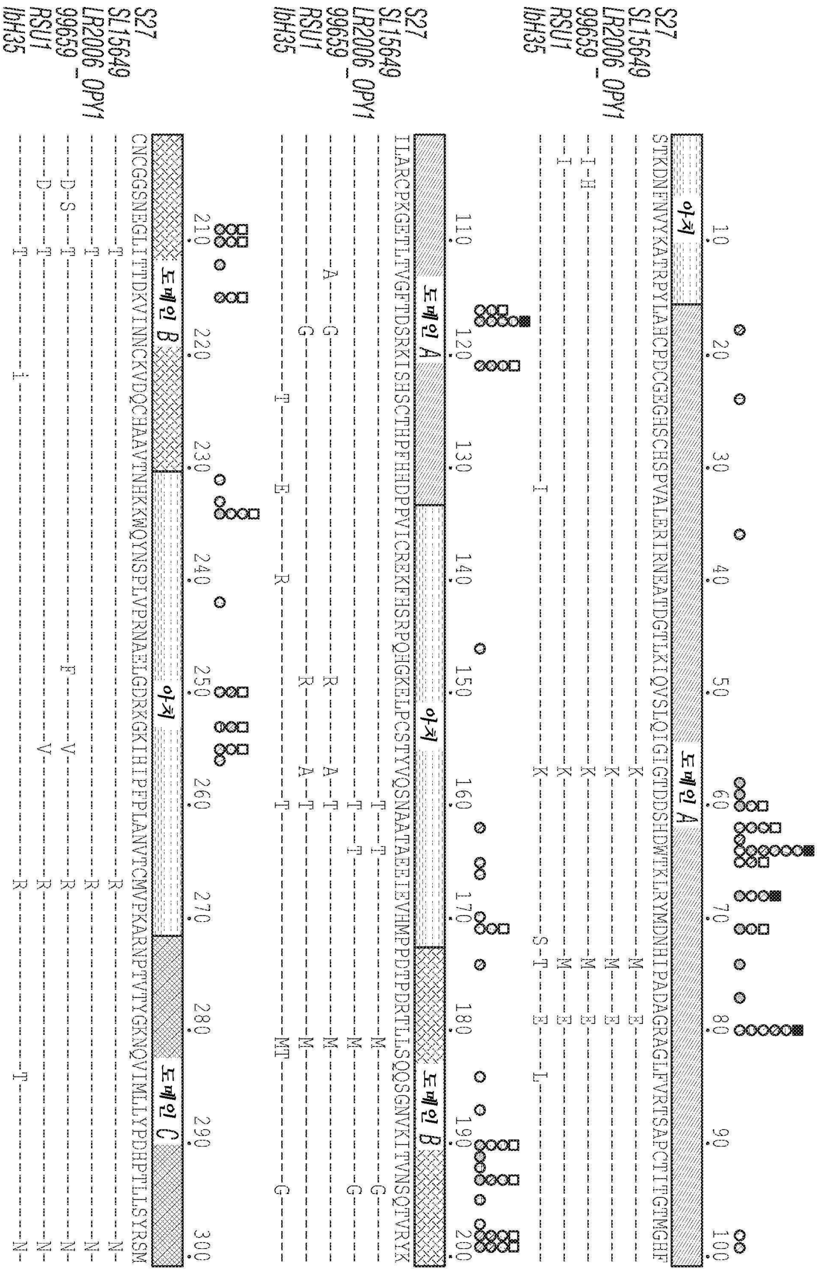
[0368] Warter *et al.*, J. Immunol., 186:3258-3264, 2011.

[0369] Wawrzynczak & Thorpe, In: *Immunoconjugates, Antibody Conuugates In Radioimaging And Therapy Of Cancer*, Vogel (Ed.), NY, Oxford University Press, 28, 1987.

[0370] Yu *et al.*, Nature 455:532-536, 2008.

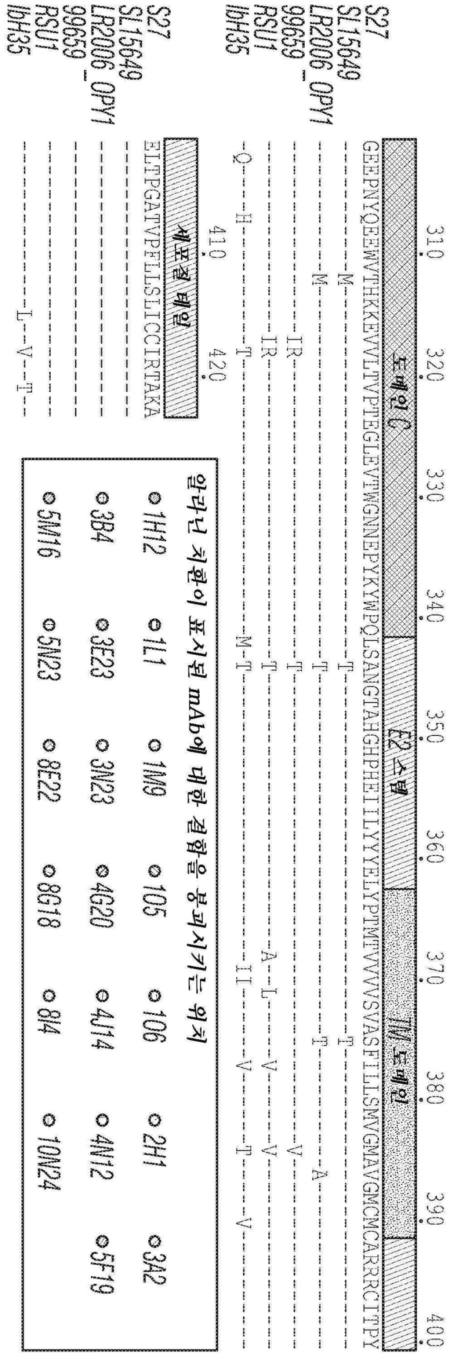
도면

도면1i



도 1A

도면1ii



310 320 330 340 350 360 370 380 390 400
도메인 C
E2 스템
TM 도메인
S27 GEEPNYQEEWVTHKKEVVLTVPTEGLEVTWGNNEPYKYWPQLSANGTAHGHPHEIILYYYELYPTMTVVVVSVASFILLSMVGMAVGMCMCARRRCITPY
SL15649
LR2006_OPY1
99659
RSU1
IbH35
410 420
세포질 테일
S27 ELTPGATVPFLLSLICCIRTAKA
SL15649
LR2006_OPY1
99659
RSU1
IbH35
알라닌 치환이 표시된 mAb에 대한 결합을 붕괴시키는 위치
1H12 1L1 1M9 105 106 2H1 3A2
3B4 3E23 3N23 4G20 4J14 4N12 5F19
5M16 5N23 8E22 8G18 8I4 10N24

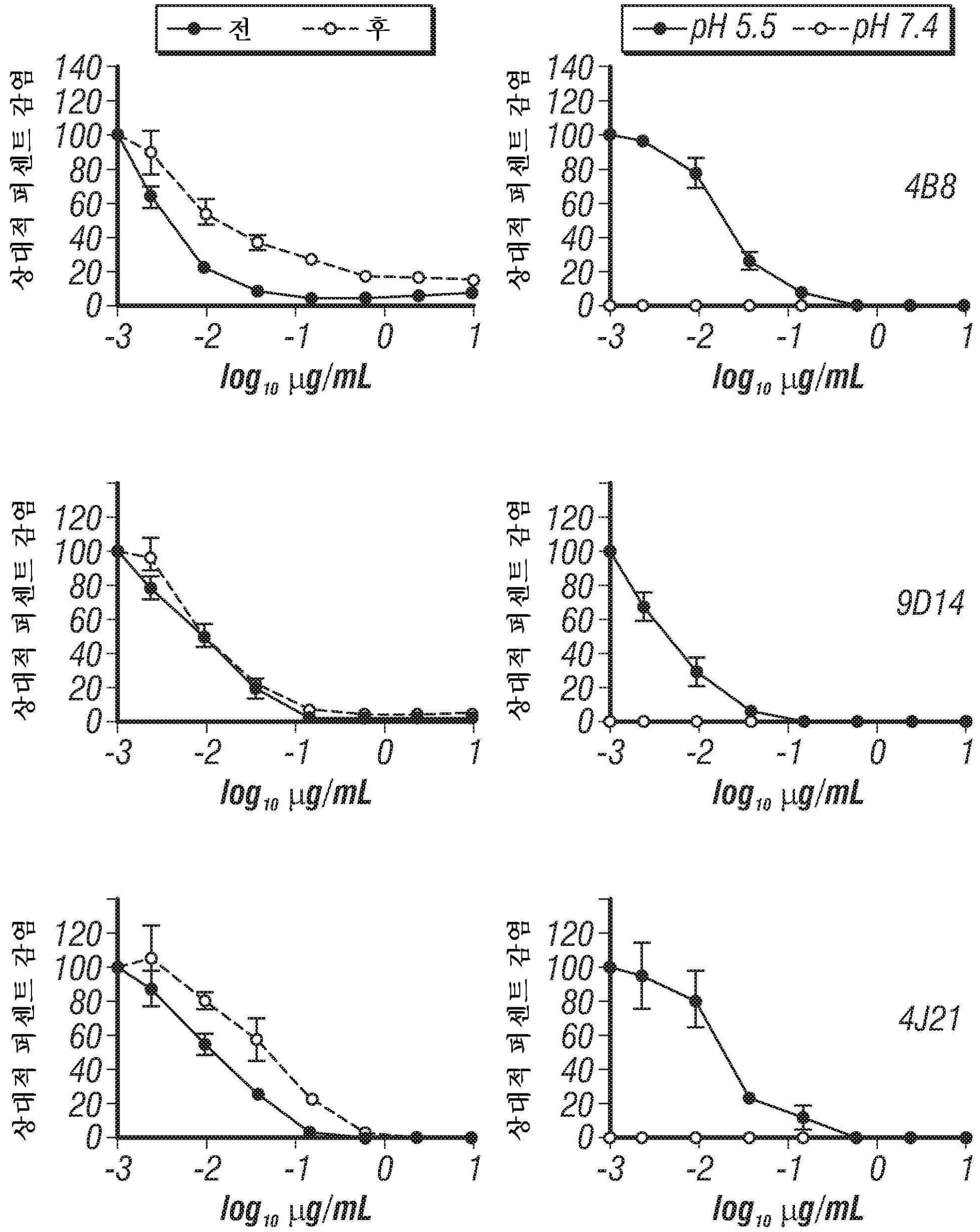
도 1A

도면1iii

도 1B

도 1C

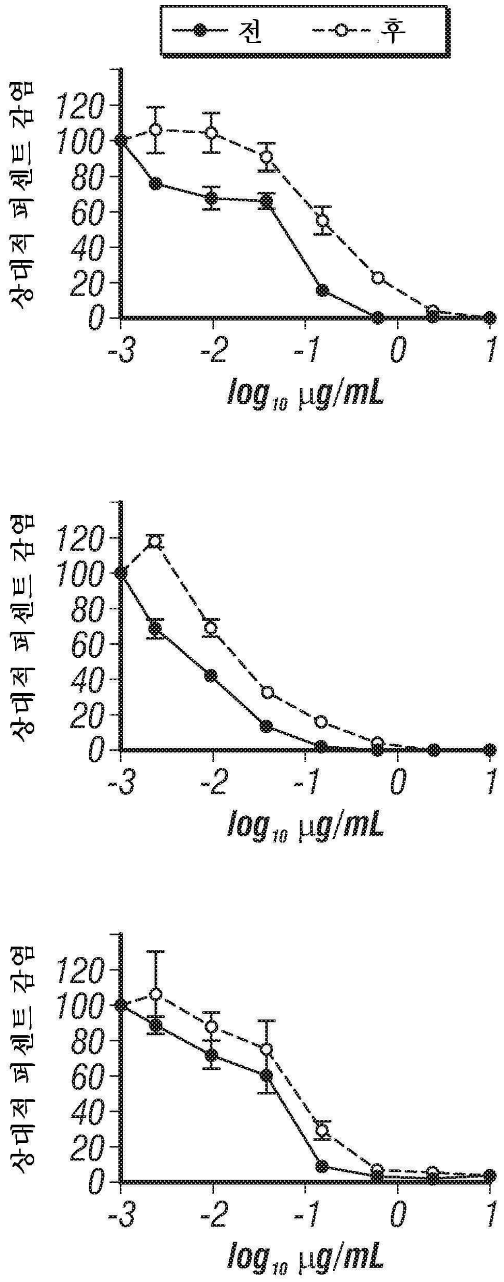
도면2i


전
후
pH 5.5
pH 7.4
상대적 퍼센트 감염
140
120
100
80
60
40
20
0
-3
-2
-1
0
1
log10 μg/mL
4B8
9D14
4J21

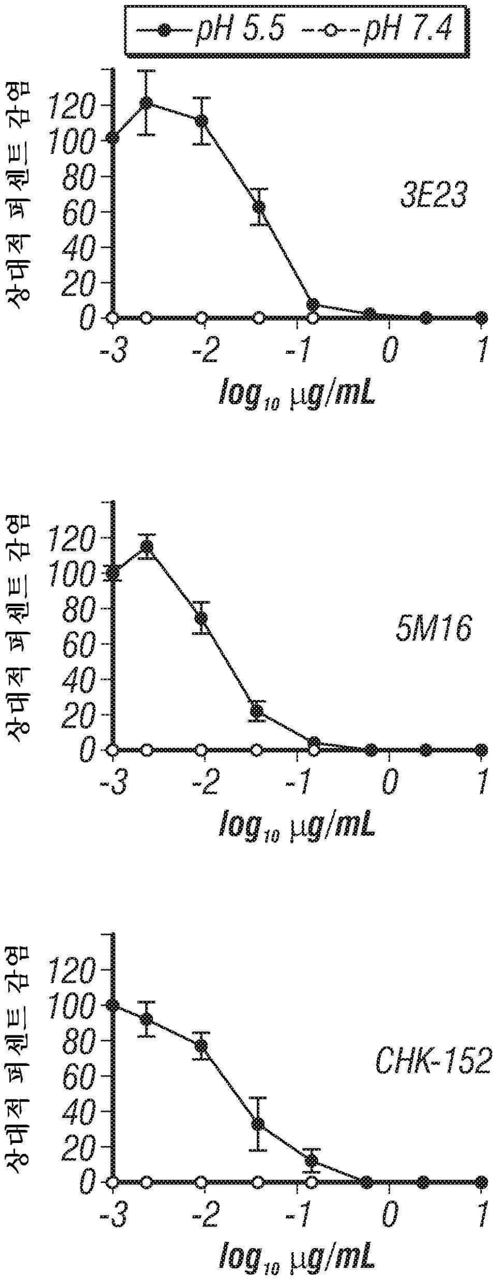
도 2A

도 2B

도면2ii

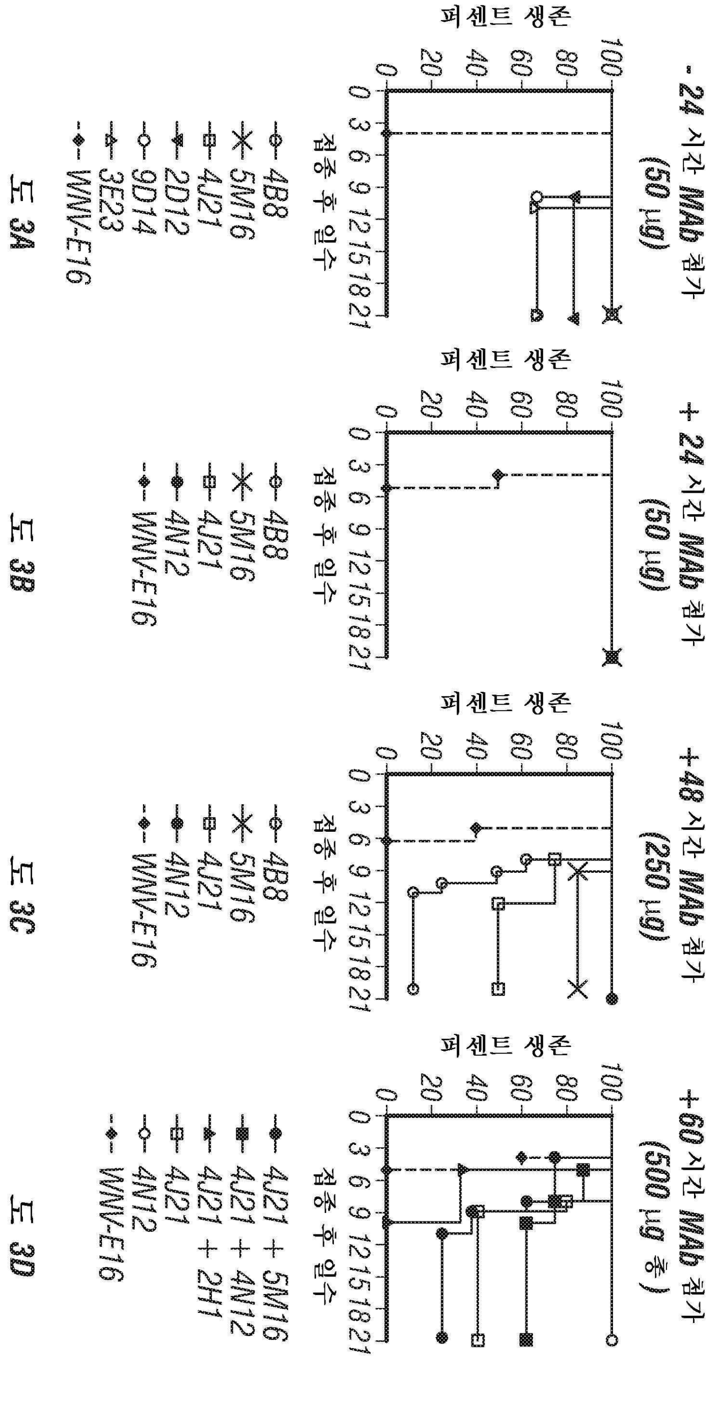


도 2A



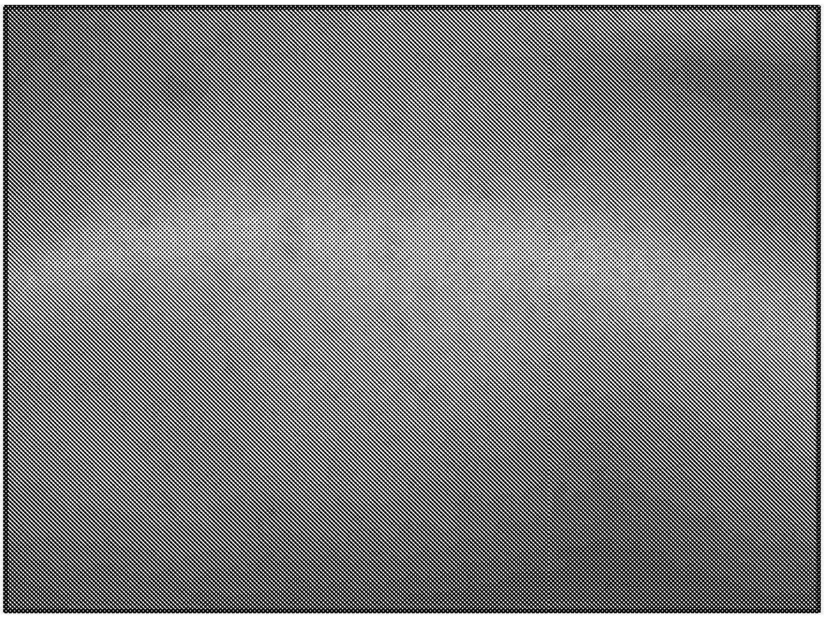
도 2B

도면3



- 24 시간 MAb 첨가 (50 μg)
+ 24 시간 MAb 첨가 (50 μg)
+48 시간 MAb 첨가 (250 μg)
+60 시간 MAb 첨가 (500 μg 총)
퍼센트 생존
접종 후 일수
0 3 6 9 12 15 18 21
0 20 40 60 80 100
4B8
5M16
4J21
2D12
9D14
3E23
4N12
WNV-E16
4J21 + 5M16
4J21 + 4N12
4J21 + 2H1
도 3A
도 3B
도 3C
도 3D

도면4



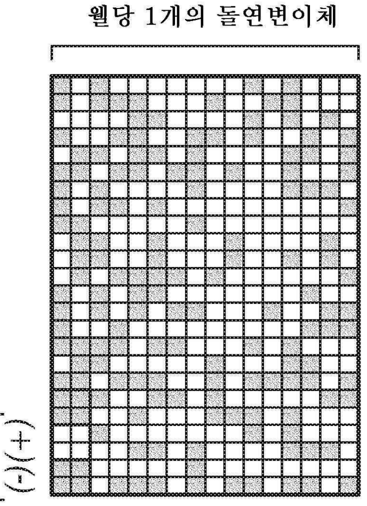
도면5

경쟁 항체

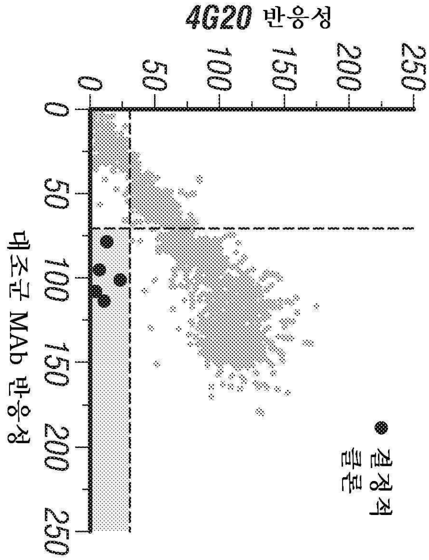
1차 항체

mAb	5N23	CHK-84	CHK-141	5O14	5M16	106	9D14	4B8	1H12	5F10	CHK-265	CHK-88	3A2	5F19	돌연변이유발 연구에 의해 확인된 도메인(들)
5N23	0	-1	-3	82	92	111	79	96	-2	103	98	96	108	96	DA, 아치
CHK-84	5	2	4	5	-2	48	103	102	-4	100	92	90	99	81	DA
CHK-141	5	5	-1	-9	38	65	97	101	30	96	86	85	92	80	DA
5O14	77	47	49	-1	27	15	44	33	1	89	85	89	15	91	NR
5M16	93	21	34	-10	5	-3	20	18	-2	96	84	87	64	88	DA
106	89	68	79	-20	-12	-7	34	3	-4	82	85	110	86	87	DA
9D14	98	105	98	26	25	30	23	27	24	118	105	116	114	94	NotR
4B8	92	88	94	-1	6	4	4	6	4	96	92	91	112	103	NR
1H12	31	38	54	5	26	19	48	36	-10	52	52	49	56	91	DA/DB 아치
5F10	92	94	101	86	95	97	84	90	45	-3	-3	5	93	99	
CHK-265	100	94	100	77	90	79	80	88	45	2	2	10	101	96	DB
CHK-88	97	85	101	77	91	108	89	91	38	3	3	8	53	97	DB
3A2	92	95	94	37	72	89	71	92	44	88	95	44	3	103	DB

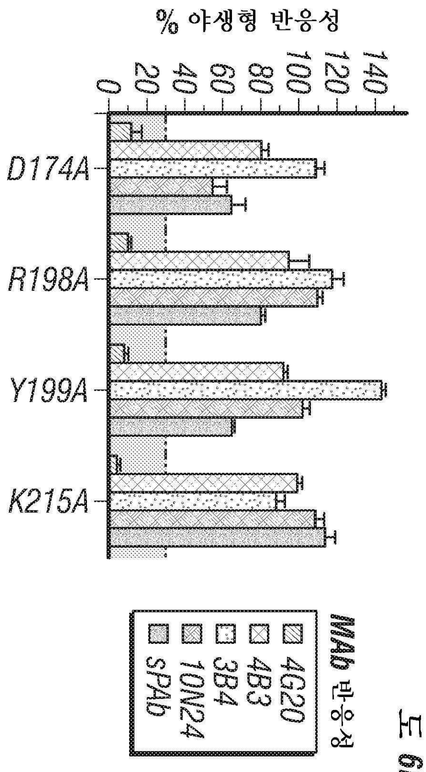
도면6i



도 6A

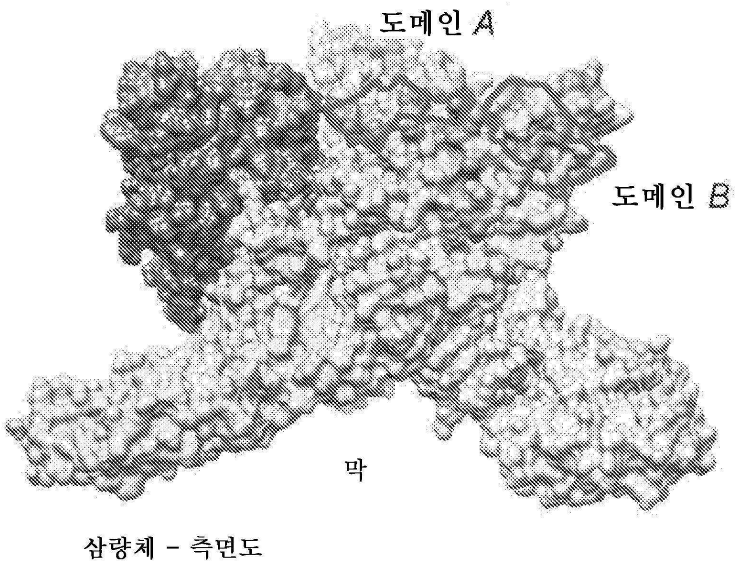


도 6B

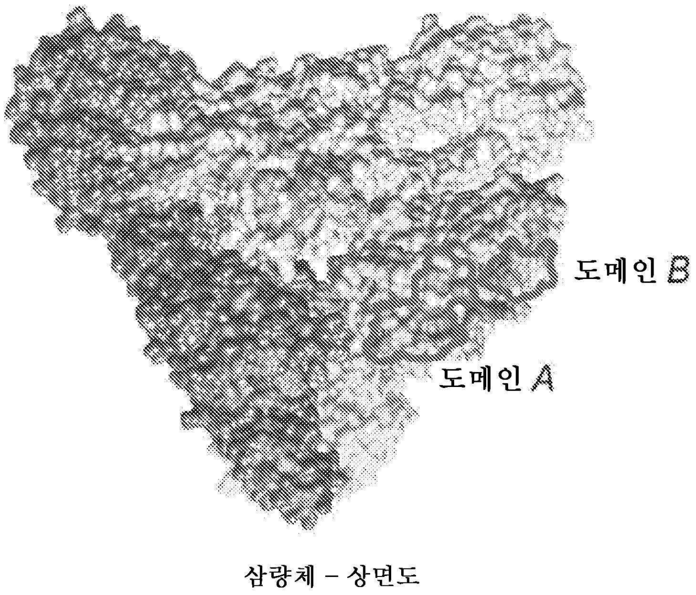


도 6C

도면6ii

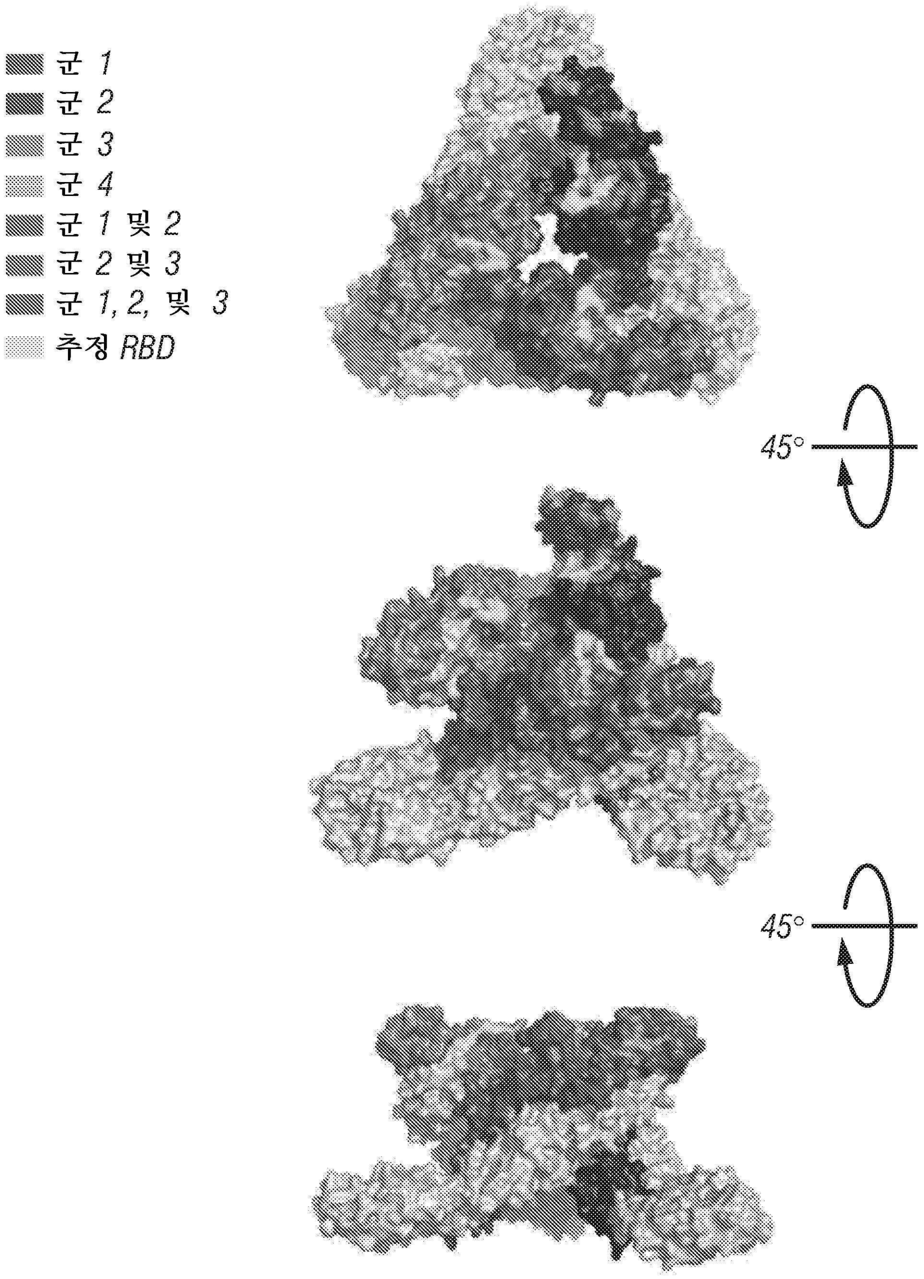


도 6E

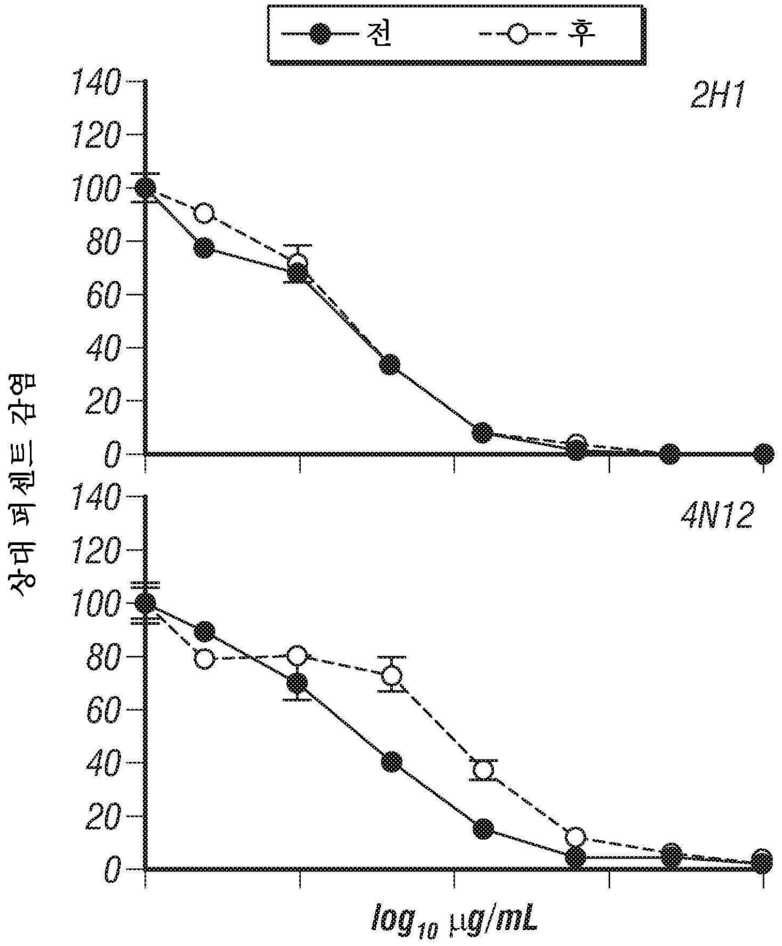


도 6F

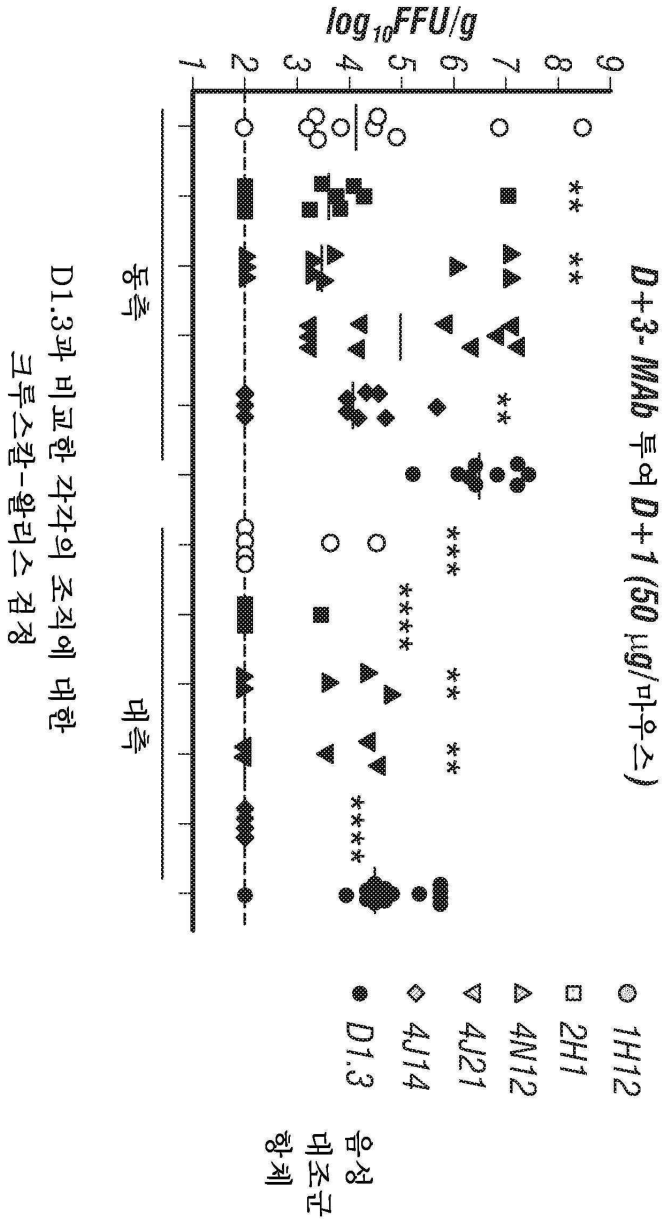
도면7



도면8

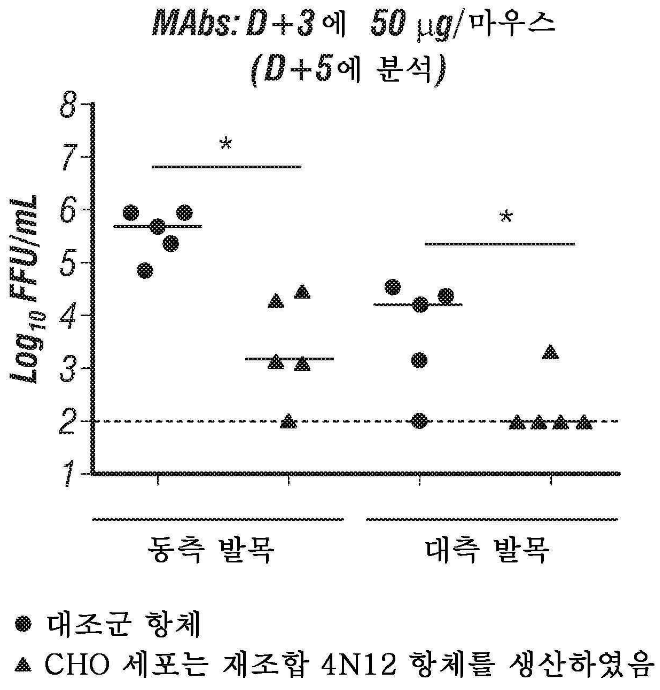


도면9

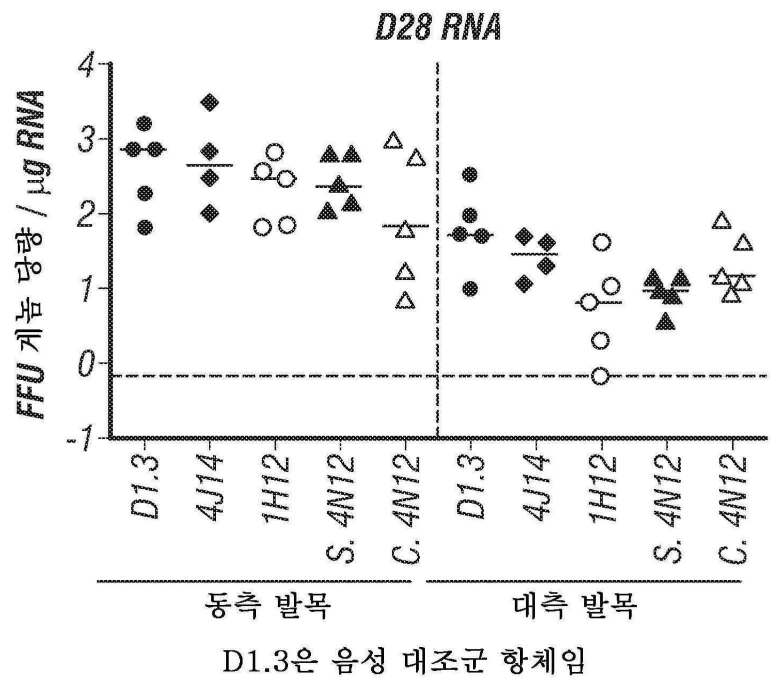


D+3- MAb 투여 D+1 (50 μg/마우스)
log10FFU/g
동측
대측
1H12
2H1
4N12
4J21
4J14
D1.3
음성 대조군 항체
D1.3과 비교한 각각의 조직에 대한 크루스칼-왈리스 검정

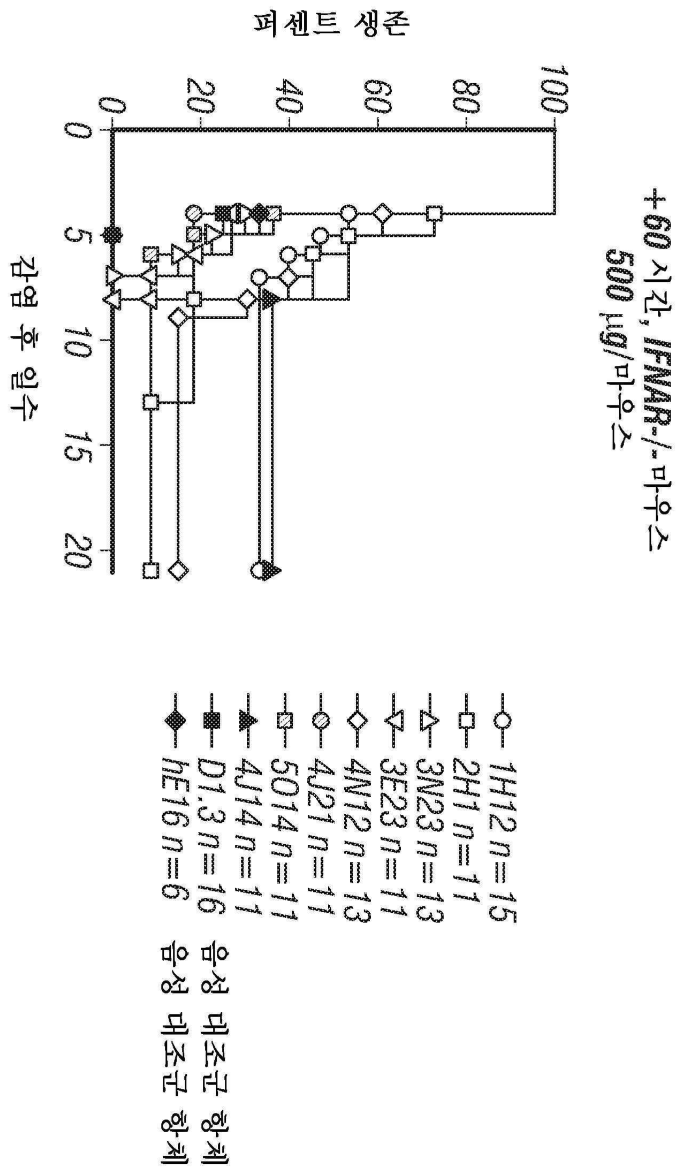
도면10


MAbs: D+3에 50 μg/마우스
(D+5에 분석)
Log10 FFU/mL
8
7
6
5
4
3
2
1
*
*
동측 발목
대측 발목
● 대조군 항체
▲ CHO 세포는 재조합 4N12 항체를 생산하였음

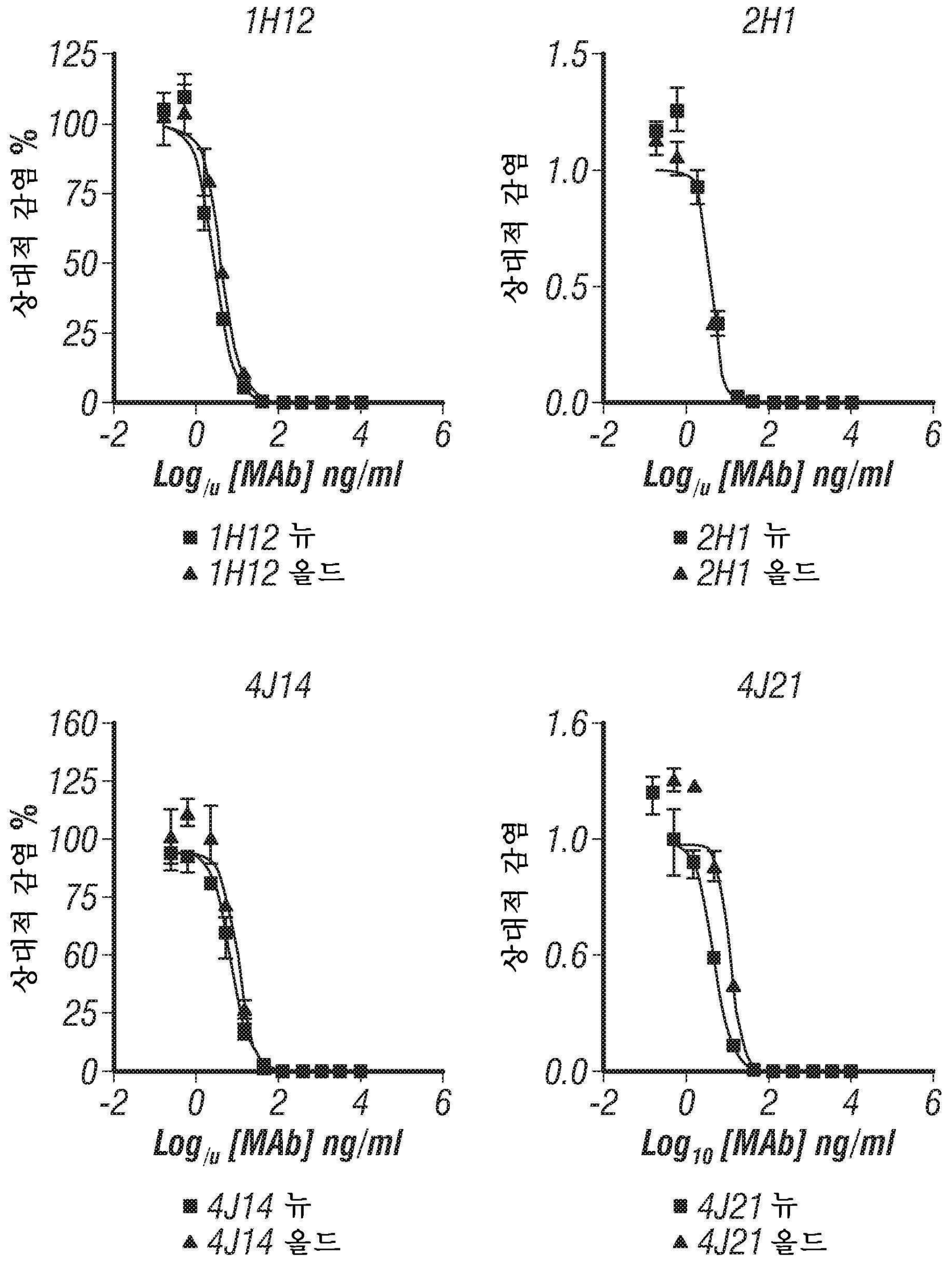
도면11


D28 RNA
FFU 게놈 당량 / μg RNA
4
3
2
1
0
-1
D1.3
4J14
1H12
S. 4N12
C. 4N12
D1.3
4J14
1H12
S. 4N12
C. 4N12
동측 발목
대측 발목
D1.3은 음성 대조군 항체임

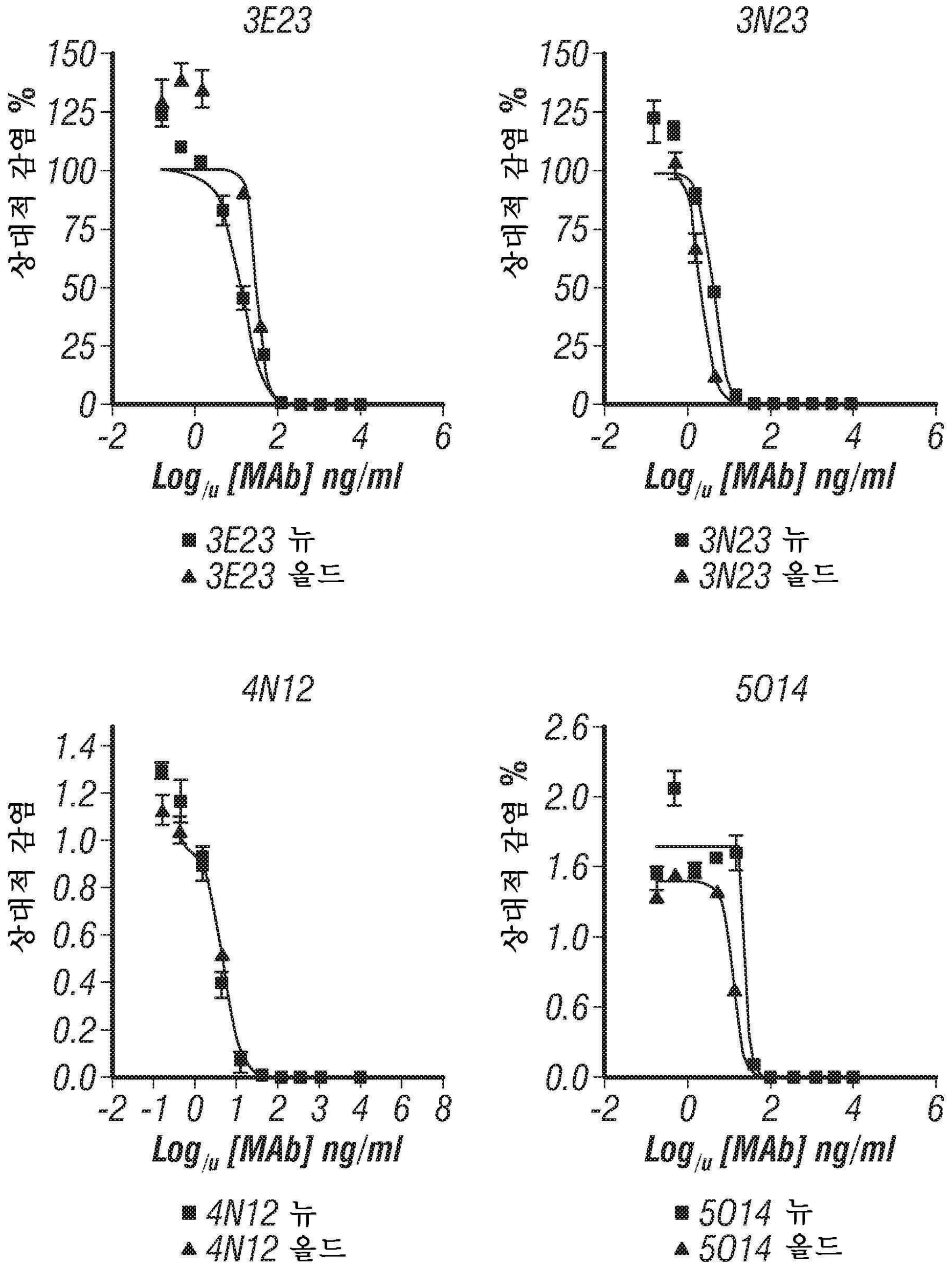
도면12


+60 시간, IFNAR-/- 마우스
500 μg/마우스
퍼센트 생존
0
20
40
60
80
100
0
5
10
15
20
감염 후 일수
1H12 n=15
2H1 n=11
3N23 n=13
3E23 n=11
4N12 n=13
4J21 n=11
5O14 n=11
4J14 n=11
D1.3 n=16 음성 대조군 항체
hE16 n=6 음성 대조군 항체

도면13i


1H12
상대적 감염 %
125
100
75
50
25
0
-2
0
2
4
6
Log/u [MAb] ng/ml
1H12 뉴
1H12 올드
2H1
상대적 감염
1.5
1.0
0.5
0.0
Log/u [MAb] ng/ml
2H1 뉴
2H1 올드
4J14
상대적 감염 %
160
125
100
75
60
25
0
Log/u [MAb] ng/ml
4J14 뉴
4J14 올드
4J21
상대적 감염
1.6
1.0
0.6
0.0
Log10 [MAb] ng/ml
4J21 뉴
4J21 올드

도면13ii


3E23
상대적 감염 %
150
125
100
75
50
25
0
-2 0 2 4 6
Log/u [MAb] ng/ml
3E23 뉴
3E23 올드
3N23
상대적 감염 %
150
125
100
75
50
25
0
-2 0 2 4 6
Log/u [MAb] ng/ml
3N23 뉴
3N23 올드
4N12
상대적 감염
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-2 -1 0 1 2 3 4 6 8
Log/u [MAb] ng/ml
4N12 뉴
4N12 올드
5014
상대적 감염 %
2.6
2.0
1.6
1.0
0.6
0.0
-2 0 2 4 6
Log/u [MAb] ng/ml
5014 뉴
5014 올드

도면14

클론	하이브리도마-생산된 mAb ('올드')	재조합 CHO 세포-생산된 mAb ('뉴')
1H12	4.2	2.7
2H1	4	3.8
(3E)23	34	13.8
3N23	2.1	4.5
4J14	8.6	5.7
4J21	11.4	4.8
4N12	4.8	5
5M16	5.9	1,094
5(O)14	14.3	34.8

도면15a

치쿤군야 바이러스 E1/E2 정렬:

ECSA 유전자형:	*LR2006* *S27* *SL15649*
아시아 유전자형:	*181/25* *99659*
서부 아프리카 유전자형:	*IbH35*

정렬된 서열은 *Protein_Strain_Genbank* 수탁 번호로 제시됨

도면15b

클러스탈 O(1.2.1) 다중 서열 정렬

```
E1_S27_NC004162.2          TACGAACACGTAACAGTGATCCCGAACACGGTGGGAGTACCGTATAAGACTCTAGTCAAC
E1_SL15649_GU189061.1      TACGAACACGTAACAGTGATCCCGAACACGGTGGGAGTACCGTATAAGACTCTAGTCAAT
E1_LR2006_KT449801.1       TACGAACACGTAACAGTGATCCCGAACACGGTGGGAGTACCGTATAAGACTCTAGTCAAT
E1_181/25_L37661.3         TACGAACACGTAACAGTGATCCCGAACACGGTGGGAGTACCGTATAAGACTCTAGTCAAC
E1_99659_KJ451624.1        TACGAACACGTAACAGTGATCCCGAACACGGTGGGAGTACCGTATAAGACTCTAGTCAAC
E1_IbH35_HM045786.1        TACGAACACGTAACAGTGATCCCGAACACGGTGGGAGTACCGTATAAGACTCTTGTCAAC
                           ******************************************************:*****

E1_S27_NC004162.2          AGACCGGGCTACAGCCCCATGGTACTGGAGATGGAGCTACTGTCAGTCACTTTGGAGCCA
E1_SL15649_GU189061.1      AGACCTGGCTACAGCCCCATGGTATTGGAGATGGAACTACTGTCAGTCACTTTGGAGCCA
E1_LR2006_KT449801.1       AGACCTGGCTACAGCCCCATGGTATTGGAGATGGAACTACTGTCAGTCACTTTGGAGCCA
E1_181/25_L37661.3         AGACCGGGCTACAGCCCCATGGTACTGGAGATGGAGCTTCTGTCAGTCACTTTGGAGCCA
E1_99659_KJ451624.1        AGACCGGGCTACAGCCCCATGGTATTGGAGATGGAGCTTCTGTCTGTCACCTTGGAACCA
E1_IbH35_HM045786.1        AGACCGGGTTACAGCCCCATGGTATTGGAGATGGAGCTACAATCGGTCACCTTGGAACCA
                           ***** ** ************** ********** .**:*:.** ***** *****.***

E1_S27_NC004162.2          ACGCTATCGCTTGATTACATCACGTGCGAATACAAAACCGTCATCCCGTCTCCGTACGTG
E1_SL15649_GU189061.1      ACACTATCGCTTGATTACATCACGTGCGAGTACAAAACCGTCATCCCGTCTCCGTACGTG
E1_LR2006_KT449801.1       ACACTATCGCTTGATTACATCACGTGCGAGTACAAAACCGTCATCCCGTCTCCGTACGTG
E1_181/25_L37661.3         ACGCTATCGCTTGATTACATCACGTGCGAGTATAAAACCGTCATCCCGTCTCCGTACGTG
E1_99659_KJ451624.1        ACGCTATCGCTTGATTACATCACGTGCGAGTATAAAACCGTTATCCCGTCTCCGTACGTG
E1_IbH35_HM045786.1        ACACTGTCACTTGACTACATCACGTGCGAGTACAAAACTGTCATCCCGTCCCCGTACGTG
                           **.**.**.***** **************.** ***** ** ***** ** *********

E1_S27_NC004162.2          AAATGCTGCGGTACAGCAGAGTGCAAGGACAAAAACCTACCTGACTACAGCTGTAAGGTC
E1_SL15649_GU189061.1      AAGTGCTGCGGTACAGCAGAGTGCAAGGACAAAAACCTACCTGACTACAGCTGTAAGGTC
E1_LR2006_KT449801.1       AAGTGCTGCGGTACAGCAGAGTGCAAGGACAAAAACCTACCTGACTACAGCTGTAAGGTC
E1_181/25_L37661.3         AAATGCTGCGGTACAGCAGAGTGCAAGGACAAGAGCCTACCTGATTACAGCTGTAAGGTC
E1_99659_KJ451624.1        AAATGCTGCGGTACAGCAGAGTGTAAGGACAAGAGCCTACCTGATTACAGCTGTAAGGTC
E1_IbH35_HM045786.1        AAGTGCTGTGGTACAGCAGAGTGCAAGGACAAGAGCCTACCAGACTACAGCTGCAAGGTC
                           **.***** ************** ********.*.******:** ******** ******
```

도면15c

```
E1_S27_NC004162.2          TTCACCGGCGTCTACCCATTTATGTGGGGCGGCGCCTACTGCTTCTGCGACGCTGAAAAC
E1_SL15649_GU189061.1      TTCACCGGCGTCTACCCATTTATGTGGGGCGGCGCCTACTGCTTCTGCGACGCTGAAAAC
E1_LR2006_KT449801.1       TTCACCGGCGTCTACCCATTTATGTGGGGCGGCGCCTACTGCTTCTGCGACGCTGAAAAC
E1_181/25_L37661.3         TTCACCGGCGTCTACCCATTCATGTGGGGCGGCGCCTACTGCTTCTGCGACACTGAAAAT
E1_99659_KJ451624.1        TTCACCGGCGTCTACCCATTCATGTGGGGCGGCGCCTACTGCTTCTGCGACACCGAAAAT
E1_IbH35_HM045786.1        TTTACTGGAGTCTACCCATTTATGTGGGGCGGCGCCTACTGCTTTTGCGACGCCGAAAAT
                           ** ** **.*********** ********************** ******.* *****

E1_S27_NC004162.2          ACGCAATTGAGCGAAGCACATGTGGAGAAGTCCGAATCATGCAAAACAGAATTTGCATCA
E1_SL15649_GU189061.1      ACGCAGTTGAGCGAAGCACATGTGGAGAAGTCCGAATCATGCAAAACAGAATTTGCATCA
E1_LR2006_KT449801.1       ACGCAGTTGAGCGAAGCACACGTGGAGAAGTCCGAATCATGCAAAACAGAATTTGCATCA
E1_181/25_L37661.3         ACGCAATTGAGCGAAGCACATGTGGAGAAGTCCGAATCATGCAAAACAGAATTTGCATCA
E1_99659_KJ451624.1        ACGCAATTGAGCGAAGCACATGTGGAGAAGTCCGAATCATGCAAAACAGAATTTGCATCA
E1_IbH35_HM045786.1        ACGCAATTGAGCGAGGCACATGTAGAGAAATCTGAATCTTGCAAAACAGAGTTTGCATCG
                           *****.********.***** **.*****.** *****:***********.********.

E1_S27_NC004162.2          GCATACAGGGCTCATACCGCATCCGCATCAGCTAAGCTCCGCGTCCTTTACCAAGGAAAT
E1_SL15649_GU189061.1      GCATACAGGGCTCATACCGCATCTGCATCAGCTAAGCTCCGCGTCCTTTACCAAGGAAAT
E1_LR2006_KT449801.1       GCATACAGGGCTCATACCGCATCTGCATCAGCTAAGCTCCGCGTCCTTTACCAAGGAAAT
E1_181/25_L37661.3         GCATATAGGGCTCATACCGCATCCGCATCAGCTAAGCTCCGCGTCCTTTACCAAGGAAAT
E1_99659_KJ451624.1        GCATACAGGGCTCATACCGCATCCGCATCAGCTAAGCTCCGCGTCCTTTACCAAGGAAAT
E1_IbH35_HM045786.1        GCCTACAGAGCCCACACCGCATCCGCGTCGGCGAAGCTCCGCGTCCTTTACCAAGGAAAC
                           **.** **.** ** ******** **.**.** **************************

E1_S27_NC004162.2          AACATCACTGTAACTGCCTATGCAAACGGCGACCATGCCGTCACAGTTAAGGACGCCAAA
```

도면15d

```
E1_SL15649_GU189061.1      AACATCACTGTAACTGCCTATGCAAACGGCGACCATGCCGTCACAGTTAAGGACGCCAAA
E1_LR2006_KT449801.1       AACATCACTGTAACTGCCTATGCAAACGGCGACCATGCCGTCACAGTTAAGGACGCCAAA
E1_181/25_L37661.3         AATGTTACTGTATCTGCTTATGCAAACGGCGATCATGCCGTCACAGTTAAGGACGCTAAA
E1_99659_KJ451624.1        AATATCACTGTGGCTGCTTATGCAAACGGCGACCATGCCGTCACAGTTAAGGACGCTAAA
E1_IbH35_HM045786.1        AACATTACTGTAGCTGCCTACGCTAACGGCGACCATGCCGTCACAGTAAAGGACGCCAAG
                           **  .* *****. **** ** **:******** **************:******** **.

E1_S27_NC004162.2          TTCATTGTGGGGCCAATGTCTTCAGCCTGGACACCTTTTGACAACAAAATCGTGGTGTAC
E1_SL15649_GU189061.1      TTCATTGTGGGGCCAATGTCTTCAGCCTGGACACCTTTCGACAACAAAATTGTGGTGTAC
E1_LR2006_KT449801.1       TTCATTGTGGGGCCAATGTCTTCAGCCTGGACACCTTTCGACAACAAAATTGTGGTGTAC
E1_181/25_L37661.3         TTCATTGTGGGGCCAATGTCTTCAGCCTGGACACCTTTTGACAATAAAATCGTGGTGTAC
E1_99659_KJ451624.1        TTCATAGTGGGGCCAATGTCTTCAGCCTGGACACCTTTCGACAATAAAATCGTGGTGTAC
E1_IbH35_HM045786.1        TTTGTCGTGGGACCAATGTCCTCCGCCTGGACACCTTTTGACAACAAAATCGTGGTGTAC
                           **  .* *****.******** **.************** ***** ***** *********

E1_S27_NC004162.2          AAAGGTGACGTTTACAACATGGACTACCCGCCCTTTGGCGCAGGAAGACCAGGACAATTT
E1_SL15649_GU189061.1      AAAGGTGACGTCTATAACATGGACTACCCGCCCTTTGGCGCAGGAAGACCAGGACAATTT
E1_LR2006_KT449801.1       AAAGGTGACGTCTATAACATGGACTACCCGCCCTTTGGCGCAGGAAGACCAGGACAATTT
E1_181/25_L37661.3         AAAGGCGACGTCTACAACATGGACTACCCGCCCTTCGGCGCAGGAAGACCAGGACAATTT
E1_99659_KJ451624.1        AAAGGCGACGTCTACAACATGGACTACCCGCCCTTCGGCGCAGGAAGACCAGGACAATTT
E1_IbH35_HM045786.1        AAAGGCGACGTCTACAACATGGACTACCCACCTTTTGGCGCAGGAAGACCAGGACAATTT
                           ***** ***** ** **************.** ** ************************

E1_S27_NC004162.2          GGCGATATCCAAAGTCGCACGCCTGAGAGCAAAGACGTCTATGCTAACACACAACTGGTA
E1_SL15649_GU189061.1      GGCGATATCCAAAGTCGCACACCTGAGAGTAAAGACGTCTATGCTAATACACAACTGGTA
E1_LR2006_KT449801.1       GGCGATATCCAAAGTCGCACACCTGAGAGTAAAGACGTCTATGCTAATACACAACTGGTA
E1_181/25_L37661.3         GGCGACATCCAAAGTCGCACGCCTGAGAGCGAAGACGTCTATGCTAACACACAACTGGTA
E1_99659_KJ451624.1        GGCGACATCCAAAGTCGCACGCCTGAGAGCGAAGACGTCTATGCTAATACACAACTGGTA
E1_IbH35_HM045786.1        GGTGACATTCAAAGTCGTACACCGGAAAGTAAAGACGTTTATGCCAACACTCAGTTGGTA
                           ** ** ** ******** **.** **.** .******* ***** ** **:**. *****
```

도면15e

```
E1_S27_NC004162.2         CTGCAGAGACCGGCTGCGGGTACGGTACACGTGCCATACTCTCAGGCACCATCTGGCTTT
E1_SL15649_GU189061.1     CTGCAGAGACCGGCTGCGGGTACGGTACACGTGCCATACTCTCAGGCACCATCTGGCTTT
E1_LR2006_KT449801.1      CTGCAGAGACCGGCTGTGGGTACGGTACACGTGCCATACTCTCAGGCACCATCTGGCTTT
E1_181/25_L37661.3        CTGCAGAGACCGTCCGCGGGTACGGTGCACGTGCCGTACTCTCAGGCACCATCTGGCTTC
E1_99659_KJ451624.1       CTGCAGAGACCGTCCGCGGGTACGGTGCACGTGCCGTACTCTCAGGCACCATCTGGCTTC
E1_IbH35_HM045786.1       CTACAGAGGCCAGCAGCAGGCACGGTACATGTACCATACTCTCAGGCACCATCTGGCTTC
                          **.*****.**.  *  *  .**  *****.**  **.**.**********************

E1_S27_NC004162.2         AAGTATTGGTTAAAAGAACGAGGGGCGTCGCTACAGCACACAGCACCATTTGGCTGCCAA
E1_SL15649_GU189061.1     AAGTATTGGCTAAAAGAACGCGGGGCGTCACTGCAGCACACAGCACCATTTGGCTGCCAA
E1_LR2006_KT449801.1      AAGTATTGGCTAAAAGAACGCGGGGCGTCGCTGCAGCACACAGCACCATTTGGCTGCCAA
E1_181/25_L37661.3        AAGTATTGGCTAAAAGAACGAGGGGCGTCGCTGCAGCACACAGCACCATTTGGCTGTCAA
E1_99659_KJ451624.1       AAGTATTGGCTAAAAGAACGAGGGGCGTCGCTGCAGCACACAGCACCATTTGGCTGTCAA
E1_IbH35_HM045786.1       AAGTATTGGCTGAAGGAACGAGGAGCATCGCTACAGCACACGGCACCGTTCGGTTGCCAG
                          ********* *.**.*****.**.**.**.**.********.*****.**  **  **.

E1_S27_NC004162.2         ATAGCAACAAACCCGGTAAGAGCGATGAACTGCGCCGTAGGGAACATGCCCATCTCCATC
E1_SL15649_GU189061.1     ATAGCAACAAACCCGGTAAGAGCGGTGAACTGCGCCGTAGGGAACATGCCCATCTCCATC
E1_LR2006_KT449801.1      ATAGCAACAAACCCGGTAAGAGCGGTGAACTGCGCCGTAGGGAACATGCCCATCTCCATC
E1_181/25_L37661.3        ATAGCAACAAACCCGGTAAGAGCGATGAACTGCGCCGTAGGGAACATGCCTATCTCCATC
E1_99659_KJ451624.1       ATAGCAACAAACCCGGTAAGAGCGATGAACTGCGCCGTAGGGAACATGCCTATCTCCATC
E1_IbH35_HM045786.1       ATTGCGACAAACCCGGTAAGAGCTGTAAATTGCGCTGTGGGGAACATACCAATTTCCATC
                          **:**.*****************  .*.**  *****  **.*********.**  **  ******

E1_S27_NC004162.2         GACATACCGGATGCGGCCTTCACTAGGGTCGTCGACGCGCCCTCTTTAACGGACATGTCA
E1_SL15649_GU189061.1     GACATACCGGAAGCGGCCTTCACTAGGGTCGTCGACGCGCCCTCTTTAACGGACATGTCG
E1_LR2006_KT449801.1      GACATACCGGAAGCGGCCTTCACTAGGGTCGTCGACGCGCCCTCTTTAACGGACATGTCG
E1_181/25_L37661.3        GACATACCGGACGCGGCCTTCACTAGGGTCGTCGACGCGCCATCTTTAACGGACATGTCG
E1_99659_KJ451624.1       GACATACCGGACGCGGCCTTTACCAGGGTCGTCGACGCGCCATCTTTAACGGACATGTCG
E1_IbH35_HM045786.1       GACATACCGGATGCGGCCTTTACTAGGGTTGTCGATGCACCCTCTGTAACGGACATGTCA
                          *********** ******** ** ***** ***** **.**.*** *************.
```

도면15f

```
E1_S27_NC004162.2          TGCGAGGTACCAGCCTGCACCCATTCCTCAGACTTTGGGGGCGTCGCCATTATTAAATAT
E1_SL15649_GU189061.1      TGCGAGGTACTAGCCTGCACCCATTCCTCAGACTTTGGGGGCGTCGCCATTATTAAATAT
E1_LR2006_KT449801.1       TGCGAGGTACCAGCCTGCACCCATTCCTCAGACTTTGGGGGCGTCGCCATTATTAAATAT
E1_181/25_L37661.3         TGTGAGGTACCAGCCTGCACCCACTCCTCAGACTTTGGGGGCGTAGCCATCATTAAATAT
E1_99659_KJ451624.1        TGTGAGGTATCAGCCTGCACCCATTCCTCAGACTTTGGGGGCGTAGCCATCATTAAATAT
E1_IbH35_HM045786.1        TGCGAAGTACCAGCCTGCACTCACTCCTCCGACTTTGGGGGCGTCGCCATCATCAAATAT
                           ** **.***  ********* ** *****.**************.***** ** ******

E1_S27_NC004162.2          GCAGTCAGCAAGAAAGGCAAGTGTGCGGTGCATTCGATGACCAACGCCGTCACTATCCGG
E1_SL15649_GU189061.1      GCAGCCAGCAAGAAAGGCAAGTGTGCGGTGCATTCGATGACTAACGCCGTCACTATTCGG
E1_LR2006_KT449801.1       GCAGCCAGCAAGAAAGGCAAGTGTGCGGTGCATTCGATGACTAACGCCGTCACTATTCGG
E1_181/25_L37661.3         GCAGCCAGCAAGAAAGGCAAGTGTGCGGTGCATTCGATGACTAACGCCGTCACTATTCGG
E1_99659_KJ451624.1        GCAGCCAGTAAGAAAGGCAAGTGTGCAGTGCACTCGATGACTAACGCCGTCACTATTCGG
E1_IbH35_HM045786.1        ACAGCTAGCAAGAAAGGTAAATGTGCAGTACATTCGATGACCAACGCCGTTACCATTCGA
                           .***  ** ******** **.*****.**.** ******** ******** ** ** **.

E1_S27_NC004162.2          GAAGCTGAGATAGAAGTTGAAGGGAATTCTCAGCTGCAAATCTCTTTCTCGACGGCCTTG
E1_SL15649_GU189061.1      GAAGCTGAGATAGAAGTTGAAGGGAATTCTCAGCTGCAAATCTCTTTCTCGACGGCCTTA
E1_LR2006_KT449801.1       GAAGCTGAGATAGAAGTTGAAGGGAATTCTCAGCTGCAAATCTCTTTCTCGACGGCCTTA
E1_181/25_L37661.3         GAAGCTGAAATAGAAGTAGAAGGGAACTCTCAGTTGCAAATCTCTTTTTCGACGGCCCTA
E1_99659_KJ451624.1        GAAGCTGAAATAGAAGTAGAAGGGAACTCTCAGTTGCAAATCTCTTTTTCGACGGCCCTA
E1_IbH35_HM045786.1        GAAGCCGACGTAGAAGTAGAGGGGAATTCCCAGCTGCAAATATCCTTCTCAACAGCCTTG
                           ***** **  .*******:**.***** ** *** *******.** ** **.**.*** *.

E1_S27_NC004162.2          GCCAGCGCCGAATTCCGCGTACAAGTCTGTTCTACACAAGTACACTGTGCAGCCGAGTGC
E1_SL15649_GU189061.1      GCCAGCGCCGAATTCCGCGTACAAGTCTGTTCTACACAAGTACACTGTGCAGCTGAGTGC
E1_LR2006_KT449801.1       GCCAGCGCCGAATTCCGCGTACAAGTCTGTTCTACACAAGTACACTGTGCAGCCGAGTGC
E1_181/25_L37661.3         GCCAGCGCCGAATTCCGCGTACAAGTCTGTTCTACACAAGTACACTGTGCAGCCGAGTGC
E1_99659_KJ451624.1        GCCAGCGCCGAATTTCGCGTACAAGTCTGTTCTACACAAGTACACTGTGCAGCCGAGTGC
E1_IbH35_HM045786.1        GCAAGCGCCGAGTTTCGCGTGCAAGTGTGCTCCACACAAGTACACTGCGCAGCCGCATGC
                           **.********.** *****.***** ** ** ************** ***** *..***
```

도면15g

```
E1_S27_NC004162.2         CACCCTCCGAAGGACCACATAGTCAACTACCCGGCGTCACATACCACCCTCGGGGTCCAG
E1_SL15649_GU189061.1     CACCCCCCGAAGGACCACATAGTCAACTACCCGGCGTCACATACCACCCTCGGGGTCCAG
E1_LR2006_KT449801.1      CACCCCCCGAAGGACCACATAGTCAACTACCCGGCGTCACATACCACCCTCGGGGTCCAG
E1_181/25_L37661.3        CATCCACCGAAAGACCATATAGTCAATTACCCGGCGTCACACACCACCCTCGGGGTCCAA
E1_99659_KJ451624.1       CATCCACCGAAAGACCATATAGTCAATTACCCGGCGTCACACACCACCCTCGGGGTCCAA
E1_IbH35_HM045786.1       CACCCTCCAAAGGACCACATAGTCAATTACCCAGCATCACACACCACCCTTGGGGTCCAG
                          ** ** **.**.***** ******** *****.**.***** ******** ********.

E1_S27_NC004162.2         GACATTTCCGCTACGGCGATGTCATGGGTGCAGAAGATCACGGGAGGTGTGGGACTGGTT
E1_SL15649_GU189061.1     GACATCTCCGCTACGGCGATGTCATGGGTGCAGAAGATCACGGGAGGTGTGGGACTGGTT
E1_LR2006_KT449801.1      GACATCTCCGCTACGGCGATGTCATGGGTGCAGAAGATCACGGGAGGTGTGGGACTGGTT
E1_181/25_L37661.3        GACATTTCCGTTACGGCGATGTCATGGGTGCAGAAGATCACGGGAGGTGTGGGACTGGTT
E1_99659_KJ451624.1       GACATTTCCGCTACGGCGATGTCATGGGTGCAGAAGATCACGGGAGGTGTGGGACTGGTT
E1_IbH35_HM045786.1       GATATATCCACAACGGCAATGTCTTGGGTGCAGAAGATTACGGGAGGAGTAGGATTAATT
                          ** ** ***. :*****.*****:************** ********:**.*** *..**

E1_S27_NC004162.2         GTCGCTGTTGCAGCACTGATTCTAATCGTGGTGCTATGCGTGTCGTTCAGCAGGCAC
E1_SL15649_GU189061.1     GTTGCTGTTGCCGCACTGATTCTAATCGTGGTGCTATGCGTGTCGTTCAGCAGGCAC
E1_LR2006_KT449801.1      GTTGCTGTTGCCGCACTGATTCTAATCGTGGTGCTATGCGTGTCGTTCAGCAGGCAC
E1_181/25_L37661.3        GTCGCTGTTGCAGCACTGATCCTAATCGTGGTGCTATGCGTGTCGTTTAGCAGGCAC
E1_99659_KJ451624.1       GTCGCTGTTGCAGCACTGATCCTAATCGTGGTGCTATGCGTGTCGTTTAGCAGGCAC
E1_IbH35_HM045786.1       GTTGCTGTTGCTGCCTTAATTTTAATTGTGGTGCTATGCGTGTCGTTTAGCAGGCAC
                          ** ******** **. *.**  **** ******************** *********
```

도면15h

클러스탈 O(1.2.1) 다중 서열 정렬

```
E1_IbH35_HM045786.1          YEHVTVIPNTVGVPYKTLVNRPGYSPMVLEMELQSVTLEPTLSLDYITCEYKTVIPSPYV
E1_S27_NC004162.2            YEHVTVIPNTVGVPYKTLVNRPGYSPMVLEMELLSVTLEPTLSLDYITCEYKTVIPSPYV
E1_SL15649_GUI89061.1        YEHVTVIPNTVGVPYKTLVNRPGYSPMVLEMELLSVTLEPTLSLDYITCEYKTVIPSPYV
E1_LR2006_KT449801.1         YEHVTVIPNTVGVPYKTLVNRPGYSPMVLEMELLSVTLEPTLSLDYITCEYKTVIPSPYV
E1_99659_KJ451624.1          YEHVTVIPNTVGVPYKTLVNRPGYSPMVLEMELLSVTLEPTLSLDYITCEYKTVIPSPYV
E1_181/25_L37661.3           YEHVTVIPNTVGVPYKTLVNRPGYSPMVLEMELLSVTLEPTLSLDYITCEYKTVIPSPYV
                             ********************************* **************************

E1_IbH35_HM045786.1          KCCGTAECKDKSLPDYSCKVFTGVYPFMWGGAYCFCDAENTQLSEAHVEKSESCKTEFAS
E1_S27_NC004162.2            KCCGTAECKDKNLPDYSCKVFTGVYPFMWGGAYCFCDAENTQLSEAHVEKSESCKTEFAS
E1_SL15649_GUI89061.1        KCCGTAECKDKNLPDYSCKVFTGVYPFMWGGAYCFCDAENTQLSEAHVEKSESCKTEFAS
E1_LR2006_KT449801.1         KCCGTAECKDKNLPDYSCKVFTGVYPFMWGGAYCFCDAENTQLSEAHVEKSESCKTEFAS
E1_99659_KJ451624.1          KCCGTAECKDKSLPDYSCKVFTGVYPFMWGGAYCFCDTENTQLSEAHVEKSESCKTEFAS
E1_181/25_L37661.3           KCCGTAECKDKSLPDYSCKVFTGVYPFMWGGAYCFCDTENTQLSEAHVEKSESCKTEFAS
                             ***********.*************************:**********************

E1_IbH35_HM045786.1          AYRAHTASASAKLRVLYQGNNITVAAYANGDHAVTVKDAKFVVGPMSSAWTPFDNKIVVY
E1_S27_NC004162.2            AYRAHTASASAKLRVLYQGNNITVTAYANGDHAVTVKDAKFIVGPMSSAWTPFDNKIVVY
E1_SL15649_GUI89061.1        AYRAHTASASAKLRVLYQGNNITVTAYANGDHAVTVKDAKFIVGPMSSAWTPFDNKIVVY
E1_LR2006_KT449801.1         AYRAHTASASAKLRVLYQGNNITVTAYANGDHAVTVKDAKFIVGPMSSAWTPFDNKIVVY
E1_99659_KJ451624.1          AYRAHTASASAKLRVLYQGNNITVAAYANGDHAVTVKDAKFIVGPMSSAWTPFDNKIVVY
E1_181/25_L37661.3           AYRAHTASASAKLRVLYQGNNVTVSAYANGDHAVTVKDAKFIVGPMSSAWTPFDNKIVVY
                             *********************:**:****************:******************

E1_IbH35_HM045786.1          KGDVYNMDYPPFGAGRPGQFGDIQSRTPESKDVYANTQLVLQRPAAGTVHVPYSQAPSGF
E1_S27_NC004162.2            KGDVYNMDYPPFGAGRPGQFGDIQSRTPESKDVYANTQLVLQRPAAGTVHVPYSQAPSGF
E1_SL15649_GUI89061.1        KGDVYNMDYPPFGAGRPGQFGDIQSRTPESKDVYANTQLVLQRPAAGTVHVPYSQAPSGF
E1_LR2006_KT449801.1         KGDVYNMDYPPFGAGRPGQFGDIQSRTPESKDVYANTQLVLQRPAVGTVHVPYSQAPSGF
E1_99659_KJ451624.1          KGDVYNMDYPPFGAGRPGQFGDIQSRTPESEDVYANTQLVLQRPSAGTVHVPYSQAPSGF
E1_181/25_L37661.3           KGDVYNMDYPPFGAGRPGQFGDIQSRTPESEDVYANTQLVLQRPSAGTVHVPYSQAPSGF
                             ******************************:*************:.**************
```

도면15i

```
E1_IbH35_HM045786.1        KYWLKERGASLQHTAPFGCQIATNPVRAVNCAVGNIPISIDIPDAAFTRVVDAPSVTDMS
E1_S27_NC004162.2          KYWLKERGASLQHTAPFGCQIATNPVRAMNCAVGNMPISIDIPDAAFTRVVDAPSLTDMS
E1_SL15649_GUI89061.1      KYWLKERGASLQHTAPFGCQIATNPVRAVNCAVGNMPISIDIPEAAFTRVVDAPSLTDMS
E1_LR2006_KT449801.1       KYWLKERGASLQHTAPFGCQIATNPVRAVNCAVGNMPISIDIPEAAFTRVVDAPSLTDMS
E1_99659_KJ451624.1        KYWLKERGASLQHTAPFGCQIATNPVRAMNCAVGNMPISIDIPDAAFTRVVDAPSLTDMS
E1_181/25_L37661.3         KYWLKERGASLQHTAPFGCQIATNPVRAMNCAVGNMPISIDIPDAAFTRVVDAPSLTDMS
                           ****************************:******:*******:***********:****

E1_IbH35_HM045786.1        CEVPACTHSSDFGGVAIIKYTASKKGKCAVHSMTNAVTIREADVEVEGNSQLQISFSTAL
E1_S27_NC004162.2          CEVPACTHSSDFGGVAIIKYAVSKKGKCAVHSMTNAVTIREAEIEVEGNSQLQISFSTAL
E1_SL15649_GUI89061.1      CEVLACTHSSDFGGVAIIKYAASKKGKCAVHSMTNAVTIREAEIEVEGNSQLQISFSTAL
E1_LR2006_KT449801.1       CEVPACTHSSDFGGVAIIKYAASKKGKCAVHSMTNAVTIREAEIEVEGNSQLQISFSTAL
E1_99659_KJ451624.1        CEVSACTHSSDFGGVAIIKYAASKKGKCAVHSMTNAVTIREAEIEVEGNSQLQISFSTAL
E1_181/25_L37661.3         CEVPACTHSSDFGGVAIIKYAASKKGKCAVHSMTNAVTIREAEIEVEGNSQLQISFSTAL
                           *** ****************:.********************::****************

E1_IbH35_HM045786.1        ASAEFRVQVCSTQVHCAAACHPPKDHIVNYPASHTTLGVQDISTTAMSWVQKITGGVGLI
E1_S27_NC004162.2          ASAEFRVQVCSTQVHCAAECHPPKDHIVNYPASHTTLGVQDISATAMSWVQKITGGVGLV
E1_SL15649_GUI89061.1      ASAEFRVQVCSTQVHCAAECHPPKDHIVNYPASHTTLGVQDISATAMSWVQKITGGVGLV
E1_LR2006_KT449801.1       ASAEFRVQVCSTQVHCAAECHPPKDHIVNYPASHTTLGVQDISATAMSWVQKITGGVGLV
E1_99659_KJ451624.1        ASAEFRVQVCSTQVHCAAECHPPKDHIVNYPASHTTLGVQDISATAMSWVQKITGGVGLV
E1_181/25_L37661.3         ASAEFRVQVCSTQVHCAAECHPPKDHIVNYPASHTTLGVQDISVTAMSWVQKITGGVGLV
                           ****************** ************************.***************:

E1_IbH35_HM045786.1        VAVAALILIVVLCVSFSRH
E1_S27_NC004162.2          VAVAALILIVVLCVSFSRH
E1_SL15649_GUI89061.1      VAVAALILIVVLCVSFSRH
E1_LR2006_KT449801.1       VAVAALILIVVLCVSFSRH
E1_99659_KJ451624.1        VAVAALILIVVLCVSFSRH
E1_181/25_L37661.3         VAVAALILIVVLCVSFSRH
                           *******************
```

도면15j

클러스탈 O(1.2.1) 다중 서열 정렬

```
E2_181/25_L37661.3          AGTATTAAGGACAACTTCAATGTCTATAAAGCCATAAGACCGTACCTAGCTCACTGTCCC
E2_IbH35_HM045786.1         AGTACTAAGGACAATTTTAATGTCTATAAAGCTACAAGACCATATCTAGCTCATTGTCCT
E2_LR2006_KT449801.1        AGCACCAAGGACAACTTCAATGTCTATAAAGCCACAAGACCATACTTAGCTCACTGTCCC
E2_SL15649_GU189061.1       AGCACCAAGGACAACTTCAATGTCTATAAAGCCACAAGACCATACTTAGCTCACTGTCCC
E2_S27_NC004162.2           AGCACCAAGGACAACTTCAATGTCTATAAAGCCACAAGACCATACCTAGCTCACTGTCCC
E2_99659_KJ451624.1         AGTATTAAGGACCACTTCAATGTCTATAAAGCCACAAGACCGTACCTAGCTCACTGTCCC
                            ** *  ******.* ** ************** * ******.**  ******* *****

E2_181/25_L37661.3          GACTGTGGAGAAGGGCACTCGTGCCATAGTCCCGTAGCGCTAGAACGCATCAGAAACGAA
E2_IbH35_HM045786.1         GACTGCGGAGAAGGGCATTCGTGCCACAGCCCTATCGCATTGGAGCGCATCAGAAATGAA
E2_LR2006_KT449801.1        GACTGTGGAGAAGGGCACTCGTGCCATAGTCCCGTAGCACTAGAACGCATCAGAAATGAA
E2_SL15649_GU189061.1       GACTGTGGAGAAGGGCACTCGTGCCATAGTCCCGTAGCACTAGAACGCATCAGAAATGAA
E2_S27_NC004162.2           GACTGTGGAGAAGGGCACTCGTGCCATAGTCCCGTAGCACTAGAACGCATCAGAAATGAA
E2_99659_KJ451624.1         GACTGTGGAGAAGGGCACTCGTGCCATAGTCCCGTAGCGCTAGAACGCATCAGAAACGAA
                            ***** *********** ******** ** **  .*.**. *.**.*********** ***

E2_181/25_L37661.3          GCGACAGACGGGACGCTGAAAATCCAGGTTTCCTTGCAAATCGGAATAAAGACGGATGAT
E2_IbH35_HM045786.1         GCAACGGACGGAACGCTGAAAATCCAGGTCTCTTTGCAGATCGGGATAAAGACAGATGAC
E2_LR2006_KT449801.1        GCGACAGACGGGACGCTGAAAATCCAGGTCTCCTTGCAAATCGGAATAAAGACGGATGAC
E2_SL15649_GU189061.1       GCGACAGACGGGACGCTGAAAATCCAGGTCTCCTTGCAAATCGGAATAAAGACGGACGAC
E2_S27_NC004162.2           GCGACAGACGGGACGCTGAAAATCCAGGTCTCCTTGCAAATTGGAATAGGGACGGATGAT
E2_99659_KJ451624.1         GCGACAGACGGGACGTTGAAAATCCAGGTTTCCTTGCAAATCGGAATAAAGACGGATGAT
                            **.**.*****.***  ************* ** *****.** **.***..***.** **

E2_181/25_L37661.3          AGCCATGATTGGACCAAGCTGCGTTACATGGACAATCATATGCCAGCAGACGCAGAGAGG
E2_IbH35_HM045786.1         AGCCACGATTGGACCAAGCTGCGCTATATGGATAGCCATACGCCAGCGGACGCGGAGCGA
E2_LR2006_KT449801.1        AGCCACGATTGGACCAAGCTGCGTTATATGGACAACCACATGCCAGCAGACGCAGAGAGG
E2_SL15649_GU189061.1       AGCCACGATTGGACCAAGCTGCGTTATATGGACAACCACATGCCAGCAGACGCAGAGAGG
E2_S27_NC004162.2           AGCCATGATTGGACCAAGCTGCGTTACATGGACAATCACATACCAGCAGACGCAGGGAGG
E2_99659_KJ451624.1         AGCCATGATTGGACCAAGCTGCGTTATATGGACAATCACATGCCAGCAGACGCAGAGCGG
                            ***** ***************** ** ***** *. ** *  .*****.*****.*.*.*.
```

도면15k

```
E2_181/25_L37661.3        GCCAGGCTATTTGTAAGAACGTCAGCACCGTGCACGATTACTGGAACAATGGGACACTTC
E2_IbH35_HM045786.1       GCCGGATTGCTTGTAAGGACTTCAGCACCGTGCACGATCACCGGGACCATGGGACACTTT
E2_LR2006_KT449801.1      GCCGGGCTATTTGTAAGAACATCAGCACCGTGTACGATTACTGGAACAATGGGACACTTC
E2_SL15649_GU189061.1     GCCGGGCTATTTGTAAGAACATCAGCACCGTGTACGATTACTGGAACAATGGGACACTTC
E2_S27_NC004162.2         GCCGGGCTATTTGTAAGAACATCAGCACCATGCACGATTACTGGAACAATGGGACACTTC
E2_99659_KJ451624.1       GCCGGGCTATTTGTAAGAACGTCAGCACCGTGCACGATTACTGGAACAATGGGACACTTC
                          ** .*. *. *******.** ********.** ***** ** **.**.***********

E2_181/25_L37661.3        ATCCTGGCCCGATGTCCGAAAGGAGAAACTCTGACGGTGGGATTCACTGACGGTAGGAAG
E2_IbH35_HM045786.1       ATTCTGGCCCGATGCCCGAAAGGAGAGACGCTGACAGTGGGATTTACGGACAGCAGAAAG
E2_LR2006_KT449801.1      ATCCTGGCCCGATGTCCAAAAGGGGAAACTCTGACGGTGGGATTCACTGACAGTAGGAAG
E2_SL15649_GU189061.1     ATCCTGGCCCGATGTCCAAAAGGGGAAACTCTGACGGTGGGATTCACTGACAGTAGGAAG
E2_S27_NC004162.2         ATCCTGGCCCGATGTCCGAAAGGAGAAACTCTGACGGTGGGATTCACTGACAGTAGGAAG
E2_99659_KJ451624.1       ATTCTGGCCCGATGTCCGAAAGGAGAAACTCTGACGGCGGGGTTCACTGACGGTAGGAAG
                          ** ** ******** **.*****.**.** *****.* ***.** ** ***.* **.***

E2_181/25_L37661.3        ATCAGTCACTCATGTACGCACCCATTTCACCACGACCCTCCTGTGATAGGCCGGGAAAAA
E2_IbH35_HM045786.1       ATCAGCCACACATGCACACACCCGTTCCATCATGAACCACCTGTGATAGGTAGGGAGAGG
E2_LR2006_KT449801.1      ATTAGTCACTCATGTACGCACCCATTTCACCACGACCCTCCTGTGATAGGTCGGGAAAAA
E2_SL15649_GU189061.1     ATTAGTCATTCATGTACGCACCCATTTCACCACGACCCTCCTGTGATAGGTCGGGAAAAA
E2_S27_NC004162.2         ATTAGTCACTCATGTACGCACCCATTTCACCACGACCCTCCTGTGATAGGCCGGGAAAAA
E2_99659_KJ451624.1       ATCAGTCACTCATGTACGCACCCATTTCACCATGACCCTCCTGTGATAGGCCGGGAAAAA
                          ** ** ** :**** **.*****.** ** ** **.**:*********** .****.*..

E2_181/25_L37661.3        TTTCATTCCCGACCGCAGCACGGTAGAGAACTACCTTGCAGCACGTACGCGCAGAGCACC
E2_IbH35_HM045786.1       TTCCACTCTCGACCACAACATGGTAAAGAGTTACCTTGCAGCACGTACGTGCAGAGCACC
E2_LR2006_KT449801.1      TTCCATTCCCGACCGCAGCACGGTAAAGAGCTACCTTGCAGCACGTACGTGCAGAGCACC
E2_SL15649_GU189061.1     TTCCATTCCCGACCGCAGCACGGTAAAGAGCTACCTTGCAGCACGTACGTGCAGAGCACC
E2_S27_NC004162.2         TTCCATTCCCGACCGCAGCACGGTAAAGAGCTACCTTGCAGCACGTACGTGCAGAGCAAC
E2_99659_KJ451624.1       TTCCATTCCCGACCGCAGCACGGTAGGGAACTACCTTGCAGCACGTACGCGCAGAGCACC
                          ** ** ** *****.**.** ****..**. ****************** ********.*
```

도면151

```
E2_181/25_L37661.3        GCTGCAACTGCCGAGGAGATAGAGGTACATATGCCCCCAGACACCCCAGATCGCACATTG
E2_IbH35_HM045786.1       GCTGCCACTGCCGAGGAGATAGAGGTGCATATGCCCCCAGATACTCCTGACCGCACGCTG
E2_LR2006_KT449801.1      GCCGCAACTACCGAGGAGATAGAGGTACACATGCCCCCAGACACCCCTGATCGCACATTA
E2_SL15649_GU189061.1     GCCGCAACTACCGAGGAGATAGAGGTACACATGCCCCCAGACACCCCTGATCGCACATTA
E2_S27_NC004162.2         GCCGCAACTGCCGAGGAGATAGAGGTACACATGCCCCCAGACACCCCTGATCGCACATTG
E2_99659_KJ451624.1       GCTGCAACTGCCGAGGAGATAGAGGTACACATGCCCCCAGACACCCCAGATCGCACATTA
                          ** **.***.****************.** *********** ** **:** *****. *.

E2_181/25_L37661.3        ATGTCACAACAGTCCGGTAATGTAAAGATCACAGTCAATAGTCAGACGGTGCGGTACAAG
E2_IbH35_HM045786.1       ATGACGCAGCAGTCTGGCAACGTGAAGATCACAGTTAATGGGCAGACGGTGCGGTACAAG
E2_LR2006_KT449801.1      ATGTCACAACAGTCCGGCAACGTAAAGATCACAGTCAATGGCCAGACGGTGCGGTACAAG
E2_SL15649_GU189061.1     ATGTCACAACAGTCCGGCAACGTAAAGATCACAGTCAATGGCCAGACGGTGCGGTACAAG
E2_S27_NC004162.2         CTGTCACAACAGTCCGGCAACGTAAAGATCACAGTCAATAGTCAGACGGTGCGGTATAAG
E2_99659_KJ451624.1       ATGTCACAACAGTCCGGCAATGTAAAGATCACAGTCAATAGTCAGACGGTGCGGTACAAG
                          .**:*.**.***** ** ** **.*********** ***.* ************** ***

E2_181/25_L37661.3        TGTAATTGCGGTGACTCAAATGAAGGACTAACCACTACAGACAAAGTGATTAATAACTGC
E2_IbH35_HM045786.1       TGCAACTGCGGCGGCTCAAACGAGGGACTGACAACCACAGACAAAGTGATCAATAACTGC
E2_LR2006_KT449801.1      TGTAATTGCGGTGGCTCAAATGAAGGACTAACAACTACAGACAAAGTGATTAATAACTGC
E2_SL15649_GU189061.1     TGTAATTGCGGTGGCTCAAATGAAGGACTAACAACTACAGACAAAGTGATTAATAACTGC
E2_S27_NC004162.2         TGTAATTGCGGTGGCTCAAATGAAGGACTAATAACTACAGATAAAGTGATTAATAACTGC
E2_99659_KJ451624.1       TGCAATTGTGGTGACTCAAGTGAAGGATTAACCACTACAGATAAAGTGATTAATAACTGC
                          ** ** ** ** *.*****. **.*** *.* .** ***** ******** *********

E2_181/25_L37661.3        AAGGTTGATCAATGCCATGCCGCGGTCACCAATCACAAAAAATGGCAGTATAATTCCCCT
E2_IbH35_HM045786.1       AAAATTGATCAGTGCCATGCTGCAGTCACTAATCACAAGAAGTGGCAATACAACTCCCCT
E2_LR2006_KT449801.1      AAGGTTGATCAATGTCATGCCGCGGTCACCAATCACAAAAAGTGGCAGTATAACTCCCCT
E2_SL15649_GU189061.1     AAGGTTGATCAATGTCATGCCGCGGTCACCAATCACAAAAAGTGGCAGTATAACTCCCCT
E2_S27_NC004162.2         AAGGTTGATCAATGTCATGCCGCGGTCACCAATCACAAAAAGTGGCAGTATAACTCCCCT
E2_99659_KJ451624.1       AAGGTCGATCAATGCCATGCCGCGGTCACCAATCACAAAAAATGGCAGTATAATTCCCCT
                          **..* *****.** ***** **.***** ********.**.*****.** ** ******
```

도면15m

```
E2_181/25_L37661.3        CTGGTCCCGCGTAATGCTGAACTCGGGGACCGAAAAGGAAAAGTTCACATTCCGTTTCCT
E2_IbH35_HM045786.1       TTAGTCCCGCGTAACGCTGAACTCGGGGACCGTAAAGGAAAGATTCACATCCCATTCCCA
E2_LR2006_KT449801.1      CTGGTCCCGCGTAATGCTGAACTTGGGGACCGAAAAGGAAAAATTCACATCCCGTTTCCG
E2_SL15649_GU189061.1     CTGGTCCCGCGTAATGCTGAACTTGGGGACCGAAAAGGAAAAATTCACATCCCGTTTCCG
E2_S27_NC004162.2         CTGGTCCCGCGTAACGCTGAACTCGGGGACCGAAAAGGAAAAATTCACATCCCGTTTCCG
E2_99659_KJ451624.1       CTGGTCCCGCGTAATGCTGAATTCGGGGACCGGAAAGGAAAAGTTCACATTCCATTTCCT
                           *.*********** ****** * ******** ********..******* **.** ** 

E2_181/25_L37661.3        CTGGCAAATGTGACATGCAGGGTGCCTAAGGCAAGGAACCCCACCGTGACGTACGGAAAA
E2_IbH35_HM045786.1       TTGGCAAACGTGACTTGCAGAGTGCCAAAAGCAAGAAACCCCACAGTAACGTACGGAAAA
E2_LR2006_KT449801.1      CTGGCAAATGTAACATGCAGGGTGCCTAAAGCAAGGAACCCCACCGTGACGTACGGGAAA
E2_SL15649_GU189061.1     CTGGCAAATGTAACATGCAGGGTGCCTAAAGCAAGGAACCCCACCGTGACGTACGGGAAA
E2_S27_NC004162.2         CTGGCAAATGTAACATGCATGGTGCCTAAAGCAAGGAACCCCACCGTGACGTACGGGAAA
E2_99659_KJ451624.1       CTGGCAAATGTGACATGCAGGGTGCCTAAAGCAAGAAACCCCACCGTGACGTACGGAAAA
                           ******* **.**:**** .*****:**.*****.********.**.********.***

E2_181/25_L37661.3        AACCAAGTCATCATGCTGCTGTATCCTGACCACCCAACGCTCCTGTCCTACCGGAATATG
E2_IbH35_HM045786.1       AACCAAGTCACCATGCTGCTGTATCCTGACCATCCGACACTCTTGTCTTATCGTAACATG
E2_LR2006_KT449801.1      AACCAAGTCATCATGCTACTGTATCCTGACCACCCAACACTCCTGTCCTACCGGAATATG
E2_SL15649_GU189061.1     AACCAAGTCATCATGCTACTGTATCCTGACCACCCAACACTCCTGTCCTACCGGAATATG
E2_S27_NC004162.2         AACCAAGTCATCATGCTACTGTATCCTGACCACCCAACACTCCTGTCCTACCGGAGTATG
E2_99659_KJ451624.1       AACCAAGTCATCATGTTGCTGTATCCTGACCACCCAACGCTCCTGTCCTACAGGAATATG
                          ********** **** *.************** **.**.*** **** ** .* *. ***

E2_181/25_L37661.3        GGAGAAGAACCAAACTATCAAGAAGAGTGGGTGACGCATAAGAAGGAGATCAGGTTAACC
E2_IbH35_HM045786.1       GGACAGGAACCAAATTACCACGAGGAGTGGGTGACACACAAGAAGGAGGTTACCTTGACC
E2_LR2006_KT449801.1      GGAGAAGAACCAAACTATCAAGAAGAGTGGGTGATGCATAAGAAGGAAGTCGTGCTAACC
E2_SL15649_GU189061.1     GGAGAAGAACCAAACTATCAAGAAGAGTGGGTGATGCATAAGAAGGAAGTCGTGCTAACC
E2_S27_NC004162.2         GGAGAAGAACCAAACTATCAAGAAGAGTGGGTGACGCACAAGAAGGAGGTCGTGCTAACC
E2_99659_KJ451624.1       GGAGAAGAACCAAACTATCAAGAAGAGTGGGTGACGCATAAGAAGGAGATCAGGTTAACC
                          *** *.******** ** **.**.********** .** ********..* .   *.***
```

도면15n

```
E2_181/25_L37661.3        GTGCCGACTGAAGGGCTCGAGGTCACGTGGGGCAACAACGAGCCGTACAAGTATTGGCCG
E2_IbH35_HM045786.1       GTGCCTACTGAGGGTCTCGAGGTCACTTGGGGCAACAACGAACCATACAAGTACTGGCCG
E2_LR2006_KT449801.1      GTGCCGACTGAAGGGCTCGAGGTCACGTGGGGCAACAACGAGCCGTATAAGTATTGGCCG
E2_SL15649_GU189061.1     GTGCCGACTGAAGGGCTCGAGGTCACGTGGGGCAACAACGAGCCGTATAAGTATTGGCCG
E2_S27_NC004162.2         GTGCCGACTGAAGGGCTCGAGGTTACGTGGGGCAACAACGAGCCGTATAAGTATTGGCCG
E2_99659_KJ451624.1       GTGCCGACTGAGGGGCTCGAGGTCACGTGGGGTAACAATGAGCCGTACAAGTATTGGCCG
                          ***** *****.** ** ***** ** ***** ***** **.**.** ***** ******

E2_181/25_L37661.3        CAGTTATCCACAAACGGTACAGCCCACGGCCACCCGCATGAGATAATTTTGTATTATTAT
E2_IbH35_HM045786.1       CAGATGTCTACGAACGGTACTGCTCATGGTCACCCACATGAGATAATCTTGTACTATTAT
E2_LR2006_KT449801.1      CAGTTATCTACAAACGGTACAGCCCATGGCCACCCGCATGAGATAATTCTGTATTATTAT
E2_SL15649_GU189061.1     CAGTTATCTACAAACGGTACAGCCCATGGCCACCCGCATGAGATAATTCTGTATTATTAT
E2_S27_NC004162.2         CAGTTATCTGCAAACGGTACAGCCCACGGCCACCCGCATGAGATAATCTTGTACTATTAT
E2_99659_KJ451624.1       CAGTTATCCACAAACGGTACAGCCCACGGCCACCCGCATGAGATAATTCTGTATTATTAT
                          ***:*.** .*.********:** ** ** *****.***********  **** ******

E2_181/25_L37661.3        GAGCTGTACCCTACTATGACTGTGGTAGTTGTGTCAGTGGCCTCGTTCGTACTCCTGTCG
E2_IbH35_HM045786.1       GAGCTGTACCCCACTATGACTGTAATCATTGTGTCGGTGGCCTCGTTCGTGCTTCTGTCG
E2_LR2006_KT449801.1      GAGCTGTACCCCACTATGACTGTAGTAGTTGTGTCAGTGGCCACGTTCATACTCCTGTCG
E2_SL15649_GU189061.1     GAGCTGTACCCTACTATGACTGTAGTAGTTGTGTCAGTGGCCACGTTCATACTCCTGTCG
E2_S27_NC004162.2         GAGCTGTACCCTACTATGACTGTAGTAGTTGTGTCAGTGGCCTCGTTCATACTCCTGTCG
E2_99659_KJ451624.1       GAGCTGTACCCAACTATGACTGCGGTAGTTTTGTCAGTGGCCTCGTTCATACTCCTGTCG
                          *********** ********** ..*..** ****.******:*****.*.** ******

E2_181/25_L37661.3        ATGGTGGGTGTGGCAGTGGGGATGTGCATGTGTGCACGACGCAGATGCATTACACCGTAC
E2_IbH35_HM045786.1       ATGGTGGGCACAGCAGTGGGGATGTGTGTGTGCGCACGGCGCAGATGCATTACACCATAT
E2_LR2006_KT449801.1      ATGGTGGGTATGGCAGCGGGGATGTGCATGTGTGCACGACGCAGATGCATCACACCGTAT
E2_SL15649_GU189061.1     ATGGTGGGTATGGCAGTGGGGATGTGCATGTGTGCACGACGCAGATGCATCACACCGTAT
E2_S27_NC004162.2         ATGGTGGGTATGGCAGTGGGGATGTGCATGTGTGCACGACGCAGATGCATCACACCATAC
E2_99659_KJ451624.1       ATGGTGGGTGTGGCAGTGGGGATGTGCATGTGTGCACGACGCAGATGCATTACACCGTAC
                          ******** . .**** ********* .**** *****.*********** *****.**
```

도면15o

```
E2_181/25_L37661.3        GAACTGACACCAGGAGCTACCGTCCCTTTCCTGCTTAGCCTAATATGCTGCATTAGAACA
E2_IbH35_HM045786.1       GAATTAACACCAGGAGCCACCGTTCCCTTTCTGCTCAGCCTGCTATGTTGCGTCAGAACG
E2_LR2006_KT449801.1      GAACTGACACCAGGAGCTACCGTCCCTTTCCTGCTTAGCCTAATATGCTGCATCAGAACA
E2_SL15649_GU189061.1     GAACTGACACCAGGAGCTACCGTCCCTTTCCTGCTTAGCCTAATATGCTGCATCAGAACA
E2_S27_NC004162.2         GAACTGACACCAGGAGCTACCGTCCCTTTCCTGCTTAGCCTAATATGCTGCATCAGAACA
E2_99659_KJ451624.1       GAACTGACACCAGGAGCTACCGTCCCTTTCCTGCTTAGCCTAATATGCTGCATTAGAACA
                          *** *.*********** ***** ** ** ***** *****..**** ***.* *****.

E2_181/25_L37661.3        GCTAAAGCG
E2_IbH35_HM045786.1       ACCAAGGCG
E2_LR2006_KT449801.1      GCTAAAGCG
E2_SL15649_GU189061.1     GCTAAAGCG
E2_S27_NC004162.2         GCTAAAGCG
E2_99659_KJ451624.1       GCTAAAGCG
                          .* **.***
```

도면15p

클러스탈 O(1.2.1) 다중 서열 정렬

```
E2_IbH35_HM045786.1        STKDNFNVYKATRPYLAHCPDCGEGHSCHSPIALERIRNEATDGTLKIQVSLQIGIKTDD
E2_99659_KJ451624.1        SIKDHFNVYKATRPYLAHCPDCGEGHSCHSPVALERIRNEATDGTLKIQVSLQIGIKTDD
E2_181/25_L37661.3         SIKDNFNVYKAIRPYLAHCPDCGEGHSCHSPVALERIRNEATDGTLKIQVSLQIGIKTDD
E2_S27_NC004162.2          STKDNFNVYKATRPYLAHCPDCGEGHSCHSPVALERIRNEATDGTLKIQVSLQIGIGTDD
E2_SL15649_GU189061.1      STKDNFNVYKATRPYLAHCPDCGEGHSCHSPVALERIRNEATDGTLKIQVSLQIGIKTDD
E2_LR2006_KT449801.1       STKDNFNVYKATRPYLAHCPDCGEGHSCHSPVALERIRNEATDGTLKIQVSLQIGIKTDD
                           * **.****** *******************:************************ ***

E2_IbH35_HM045786.1        SHDWTKLRYMDSHTPADAERAGLLVRTSAPCTITGTMGHFILARCPKGETLTVGFTDSRK
E2_99659_KJ451624.1        SHDWTKLRYMDNHMPADAERAGLFVRTSAPCTITGTMGHFILARCPKGETLTAGFTDGRK
E2_181/25_L37661.3         SHDWTKLRYMDNHMPADAERARLFVRTSAPCTITGTMGHFILARCPKGETLTVGFTDGRK
E2_S27_NC004162.2          SHDWTKLRYMDNHIPADAGRAGLFVRTSAPCTITGTMGHFILARCPKGETLTVGFTDSRK
E2_SL15649_GU189061.1      SHDWTKLRYMDNHMPADAERAGLFVRTSAPCTITGTMGHFILARCPKGETLTVGFTDSRK
E2_LR2006_KT449801.1       SHDWTKLRYMDNHMPADAERAGLFVRTSAPCTITGTMGHFILARCPKGETLTVGFTDSRK
                           ***********.* **** ** *:****************************.****.**

E2_IbH35_HM045786.1        ISHTCTHPFHHEPPVIGRERFHSRPQHGKELPCSTYVQSTAATAEEIEVHMPPDTPDRTL
E2_99659_KJ451624.1        ISHSCTHPFHHDPPVIGREKFHSRPQHGRELPCSTYAQSTAATAEEIEVHMPPDTPDRTL
E2_181/25_L37661.3         ISHSCTHPFHHDPPVIGREKFHSRPQHGRELPCSTYAQSTAATAEEIEVHMPPDTPDRTL
E2_S27_NC004162.2          ISHSCTHPFHHDPPVIGREKFHSRPQHGRELPCSTYVQSNAATAEEIEVHMPPDTPDRTL
E2_SL15649_GU189061.1      ISHSCTHPFHHDPPVIGREKFHSRPQHGRELPCSTYVQSTAATTEEIEVHMPPDTPDRTL
E2_LR2006_KT449801.1       ISHSCTHPFHHDPPVIGREKFHSRPQHGKELPCSTYVQSTAATTEEIEVHMPPDTPDRTL
                           ***:*******:*******:********:*******.**.***:****************

E2_IbH35_HM045786.1        MTQQSGNVKITVNGQTVRYKCNCGGSNEGLTTTDKVINNCKIDQCHAAVTNHKKWQYNSP
E2_99659_KJ451624.1        MSQQSGNVKITVNSQTVRYKCNCGGSSEGLTTTDKVINNCKVDQCHAAVTNHKKWQYNSP
E2_181/25_L37661.3         MSQQSGNVKITVNSQTVRYKCNCGDSNEGLTTTDKVINNCKVDQCHAAVTNHKKWQYNSP
E2_S27_NC004162.2          LSQQSGNVKITVNSQTVRYKCNCGGSNEGLTTTDKVINNCKVDQCHAAVTNHKKWQYNSP
E2_SL15649_GU189061.1      MSQQSGNVKITVNGQTVRYKCNCGGSNEGLTTTDKVINNCKVDQCHAAVTNHKKWQYNSP
E2_LR2006_KT449801.1       MSQQSGNVKITVNGQTVRYKCNCGGSNEGLTTTDKVINNCKVDQCHAAVTNHKKWQYNSP
                           ::***********.********** *.*** **********:******************
```

도면15q

```
E2_IbH35_HM045786.1        LVPRNAELGDRKGKIHIPFPLANVTCRVPKARNPTVTYGKNQVTMLLYPDHPTLLSYRNM
E2_99659_KJ451624.1        LVPRNAEFGDRKGKVHIPFPLANVTCRVPKARNPTVTYGKNQVIMLLYPDHPTLLSYRNM
E2_181/25_L37661.3         LVPRNAELGDRKGKVHIPFPLANVTCRVPKARNPTVTYGKNQVTMLLYPDHPTLLSYRNM
E2_S27_NC004162.2          LVPRNAELGDRKGKIHIPFPLANVTCMVPKARNPTVTYGKNQVTMLLYPDHPTLLSYRSM
E2_SL15649_GU189061.1      LVPRNAELGDRKGKIHIPFPLANVTCRVPKARNPTVTYGKNQVTMLLYPDHPTLLSYRNM
E2_LR2006_KT449801.1       LVPRNAELGDRKGKIHIPFPLANVTCRVPKARNPTVTYGKNQVTMLLYPDHPTLLSYRNM
                           *******:******:*********** **************** **************.*

E2_IbH35_HM045786.1        GQEPNYHEEWVTHKKEVTLTVPTEGLEVTWGNNEPYKYWPQMSTNGTAHGHPHEIILYYY
E2_99659_KJ451624.1        GEEPNYQEEWVTHKKEIRLTVPTEGLEVTWGNNEPYKYWPQLSTNGTAHGHPHEIILYYY
E2_181/25_L37661.3         GEEPNYQEEWVTHKKEIRLTVPTEGLEVTWGNNEPYKYWPQLSTNGTAHGHPHEIILYYY
E2_S27_NC004162.2          GEEPNYQEEWVTHKKEVVLTVPTEGLEVTWGNNEPYKYWPQLSANGTAHGHPHEIILYYY
E2_SL15649_GU189061.1      GEEPNYQEEWVMHKKEVVLTVPTEGLEVTWGNNEPYKYWPQLSTNGTAHGHPHEIILYYY
E2_LR2006_KT449801.1       GEEPNYQEEWVMHKKEVVLTVPTEGLEVTWGNNEPYKYWPQLSTNGTAHGHPHEIILYYY
                           *:****:**** ****: ***********************:*:****************

E2_IbH35_HM045786.1        ELYPTMTVIIVSVASFVLLSMVGTAVGMCVCARRRCITPYELTPGATVPFLLSLLCCVRT
E2_99659_KJ451624.1        ELYPTMTAVVLSVASFILLSMVGVAVGMCMCARRRCITPYELTPGATVPFLLSLICCIRT
E2_181/25_L37661.3         ELYPTMTVVVVSVASFVLLSMVGVAVGMCMCARRRCITPYELTPGATVPFLLSLICCIRT
E2_S27_NC004162.2          ELYPTMTVVVVSVASFILLSMVGMAVGMCMCARRRCITPYELTPGATVPFLLSLICCIRT
E2_SL15649_GU189061.1      ELYPTMTVVVVSVATFILLSMVGMAVGMCMCARRRCITPYELTPGATVPFLLSLICCIRT
E2_LR2006_KT449801.1       ELYPTMTVVVVSVATFILLSMVGMAAGMCMCARRRCITPYELTPGATVPFLLSLICCIRT
                           *******.:::***:*:****** *.***:************************:**:**

E2_IbH35_HM045786.1        TKA
E2_99659_KJ451624.1        AKA
E2_181/25_L37661.3         AKA
E2_S27_NC004162.2          AKA
E2_SL15649_GU189061.1      AKA
E2_LR2006_KT449801.1       AKA
                           :**
```

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Vanderbilt University

<120> ANTIBODY-MEDIATED NEUTRALIZATION OF CHIKUNGUNYA VIRUS

<130> VBLT.P0246WO

<150> US 62/147,354

<151> 2015-04-14

<160> 276

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 423

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 1

Ser Thr Lys Asp Asn Phe Asn Val Tyr Lys Ala Thr Arg Pro Tyr Leu
1 5 10 15

Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Val
20 25 30

Ala Leu Glu Arg Ile Arg Asn Glu Ala Thr Asp Gly Thr Leu Lys Ile
35 40 45

Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Gly Thr Asp Asp Ser His Asp Trp
50 55 60

Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Asn His Ile Pro Ala Asp Ala Gly Arg
65 70 75 80

Ala Gly Leu Phe Val Arg Thr Ser Ala Pro Cys Thr Ile Thr Gly Thr
85 90 95

Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys Gly Glu Thr Leu Thr
100 105 110

Val Gly Phe Thr Asp Ser Arg Lys Ile Ser His Ser Cys Thr His Pro
115 120 125

Phe His His Asp Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu Lys Phe His Ser Arg
130 135 140

Pro Gln His Gly Lys Glu Leu Pro Cys Ser Thr Tyr Val Gln Ser Asn
145 150 155 160

Ala Ala Thr Ala Glu Glu Ile Glu Val His Met Pro Pro Asp Thr Pro
165 170 175

Asp Arg Thr Leu Leu Ser Gln Gln Ser Gly Asn Val Lys Ile Thr Val
180 185 190

Asn Ser Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys Gly Gly Ser Asn Glu

195 200 205

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

210 215 220

Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Lys Trp Gln Tyr Asn Ser Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Met Val Pro Lys Ala Arg

260 265 270

Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val Ile Met Leu Leu Tyr

275 280 285

Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Ser Met Gly Glu Glu Pro

290 295 300

Asn Tyr Gln Glu Glu Trp Val Thr His Lys Lys Glu Val Val Leu Thr

305 310 315 320

Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly Asn Asn Glu Pro Tyr

325 330 335

Lys Tyr Trp Pro Gln Leu Ser Ala Asn Gly Thr Ala His Gly His Pro

340 345 350

His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr Pro Thr Met Thr Val

355 360 365

Val Val Val Ser Val Ala Ser Phe Ile Leu Leu Ser Met Val Gly Met

370 375 380

Ala Val Gly Met Cys Met Cys Ala Arg Arg Arg Cys Ile Thr Pro Tyr

385 390 395 400

Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ile Cys

405 410 415

Cys Ile Arg Thr Ala Lys Ala

420

<210> 2

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 2

caggtgcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctctggtta cagctttacc agctacggta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcactt acaaaggtta cacacagtat 180

gcacagaact tccagggcag agtcaccatc accacagaca cacccgcgac tacagtctat 240

atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgcgc gagagttctt 300

tccgagactg gttatttcta ctactactac tacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360

ctggtcaccg tctcctca 378

<210> 3

<211> 334

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 3

caggctgtgg tgactcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60

tcctgtactg ggagcagctc caacatcggg gcagattata atgtacactg gtaccagctg 120

cttccaggaa cagcccccaa actcctcatc tatggtaaca ccaatcggcc ctcaggggtc 180

cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240

caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgcttcg 300

gtattcggcg gagggaccaa actgaccgtc ctag 334

<210> 4

<211> 312

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 4

gcctcagtga aggtctcctg caaggcttct ggatacagtt tcactagcta ttctatcaac 60

tgggtgcgac aggcccctgg acaagggcct gagtggatgg gatggatcga caccaacact 120

gggaacccaa cctatgccca ggacttcgca ggacggtttg tcttctcctt ggacacctct 180

gtcaccacgg catatctgca gatcagcagc ctaaaggctg gggacactgc cgtttattac 240

tgtgcaacat attatgttga cctttggggg agttatcgcc aagactacta cggtatggac 300

gtctggggcc ac 312

<210> 5

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 5

cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60

tcttgttctg gagggagctc caacatcggg agtaatcctg taaattggta ccagatggtc 120

ccaggaacgg cccccaaact cctcctctat actaataatc agcggccctc aggggtccct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcaa tggactccag 240

tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gtatgggatg acagcctgag tggccgttgg 300

gtgttcggcg gagggaccaa ggtgaccgtc cta 333

<210> 6

<211> 411

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 6

caggtgcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgagggtc 60

tcctgcaagg cgtctggtta cacctttacc agttatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcactt acaatggtga cacaaactat 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccttg acaacagaga catccacgag cacagcctac 240

atggagctga ggcgcctgag atctgacgac acggccgttt actactgtgc gagagatttt 300

gaatttcccg gagattgtag tggtggcagc tgctactcca ggttcatcta ccagcacaac 360

gacatggacg tctggggcca cgggaccctg gtcaccgtct cctcagcaag c 411

<210> 7

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 7

caggctgtgg tgactcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aatcattatg tatcctggta ccagcacctc 120

ccgggaacag cccccaaact cctcatttat gacaattata agcgaccctc agtgattcct 180

gaccgattct ctgcctccaa gtctggcgcg tcagccaccc tgggcatcat cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tgctgtggta 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 8

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 8

caggtgcagc tggtgcagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggacac cctgtccctc 60

acctgcagtg tctcaagtga cgccctccgc agcaggagtt attactgggg ctgggtccgc 120

cagcccccg ggaagggatt ggagtggatt gggactgtct cttatagtgg gggcacctac 180

tacaacccgt ccctccagag tcgagtcacc gtgtcggtgg acacgtccaa gaaccacttc 240

tccctgaggt tgaactctgt gaccgccgca gacgcggctg tttattactg tgcgagatct 300

tatttctatg atggcagtgg ttactactac ctgagctact ttgactcctg gggccaggga 360

accctggtca ccgtctcctc a 381

<210> 9

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 9

caggctgtgg tgactcagga gccctcactg actgtgtccc caggagggac agtcactctc 60

acctgtgctt ccagcactgg agcagtcacc agtggtcact atccaaactg gttccagcag 120

aaacctggac aaccacccag ggccctgatt tatagcacag acaacaagca ctcctggacc 180

cctgcccggt tctcaggctc cctcctaggg gtcaaggctg ccctgacact gtcagatgta 240

cagcctgagg acgaggctga ctattactgc ctgctccatt ttggtggtgt cgtggtcttc 300

ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 10

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 10

caggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag tgtctggatt caccttcagt aactatgcca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggactg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaagtga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggtgac 300

tacgttcttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 11

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 11

gacattgtga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcagttgcc gggccagtca gagcattccc agctatttaa attggtatca acagaaacca 120

gggaaagccc ctaaggtcct gatctatgct acatccactt tggaagctgg ggtcccatca 180

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaccag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacaata cggggatatt cactttcggc 300

cctgggacca aagtggatat caaa 324

<210> 12

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 12

caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggagg cacttccagc acttatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggc agcatccctg tctttgctac agtaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag actcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagtttac 240

atggaactga gcagcctgag atctgaggac acggccgttt atttctgtgc gagcccctat 300

tgtagtagta tgaactgcta tacgaccttt tactactttg acttctgggg ccagggaacc 360

ctggtcaccg tctcctca 378

<210> 13

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 13

caggctgtgg tgactcagcc tgcctccgtg tttgggtttc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcctgcactg gaaccagcag tgactttggt acttataact atgtctcttg gtaccagcaa 120

cacccaggcc aagcccccaa actcatgatt tttgatgtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180

tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggcttc ttattactgc agctcctata caagcggcag cactctctac 300

ggcggaggga ccaagctgac cgtcctg 327

<210> 14

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 14

caggtgcagc tggtgcagtc tgggtctgag ttgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg cttctggata cagtttcact agctattcta tcaactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcctgagtg gatgggatgg atcgacacca acactgggaa cccaacctat 180

gcccaggact tcgcaggacg gtttgtcttc tccttggaca cctctgtcac cacggcatat 240

ctgcagatca gcagcctaaa ggctggggac actgccgttt attactgtgc aacatattat 300

gttgaccttt gggggagtta tcgccaagac tactacggta tggacgtctg gggccacggg 360

accctggtca ccgtctcctc a 381

<210> 15

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 15

cagtctgtgg tgactcagcc accctcagtg tctgggaccc ccgggcaggg ggtcaccatc 60

tcttgttctg gagggagctc caacatcggg agtaatcctg taaattggta ccagatggtc 120

ccaggaacgg cccccaaact cctcctctat actaataatc agcggccctc aggggtccct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcaa tggactccag 240

tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gtatgggatg acagcctgag tggccgttgg 300

gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 16

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 16

caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg tttccggata catcctcagt aaattatccg tgcactgggt gcgacaggct 120

cctggaaaag gacttgaatg gatgggaggt tctgaacgtg aagatggcga aacagtctac 180

gcacagaagt tccagggcag aatcagcttg accgaggaca catctataga gacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag ttctgaggac acggccgtgt attattgtgc aacaggaggc 300

ttctggagta tgattggggg aaatggagtg gactactggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctcctca 369

<210> 17

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 17

caggctgtgg tgactcagtc tccatcgtcc ctgcctgcat ctgtaggaga cagggtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aataatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctgagcgcct gatctatgga acctccaatt tgcagagtgg ggtcccgtca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt accctcccac gttcggccgc 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 18

<211> 380

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 18

caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgagagtt 60

tcctgcaagg catctgggta caccttcacc agttacttta tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag gacttgagtg gatggcgata acttatcctg gtggtggtag cccatcctac 180

gcaccgcagt tccagggcag actcaccatg accgacgaca cgtccgcgac cacagtctac 240

atggacctga gtgacctgac ttctaaagac acggccgtgt attactgtgc gagaggtgcc 300

caccgttcca ttgggacgac ccccccttgac tcgtggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360

tcctcagcaa gcttcaaggg 380

<210> 19

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 19

caggtgcagc tggtgcagtc tgggggacgc gtggtccagg ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt atgtatggcg tccactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggaatg atggatctaa agaatactat 180

ggagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaggaa cacgttgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agtcgacgac acggcagtgt atttttgtgc gagagatgga 300

attcctgacc ctgaacgcgg tgactacggg ggcttggact actggggcca gggaaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 20

<211> 322

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 20

cagactgtgg tgactcagtt tccatcctcc ccgtttgcat ctgtaggaga cggagtcacc 60

atcacttgcc gggcaaggca gagcattagc agttatgtta attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatttacgct acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggata tgggacagat ttcactctca ccatcagcgg tctgcaacct 240

gaagattttg caacatacta ctgtcaacag agttacagtt ttcctcgaac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

<210> 21

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 21

caggtgcagc tggtgcagtc tggggctcag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagc cctctggagg caccttcaac aacaatggga tcagttgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggc atcgtcccga actttggaac ccaacctat 180

ggacaagact tccagggcag agtcacgatc accgcggacg aatctacgag cacagtcttc 240

ttggagctga ccagactgag atctgacgac acggccgttt atttctgtgc gcgaggtcgc 300

acggcggtga ctccgatgca attgggttta cagttctact ttgacttctg gggccgggga 360

accctggtca ccgtctcctc a 381

<210> 22

<211> 325

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 22

cagactgtgg tgactcagga gccctcactg actgtgtccc caggagggac agtcactctc 60

acctgttctg ccaacagtgg agcagtcacc agtgattact atccaaactg gttccagcag 120

aaacctggac aagcacccag ggcactgatt tatagtgcaa gcaacaaatt ctcctggacg 180

cctgcccggt tctcaggctc cctccttggg ggcaaagctg ccctgacact gtcaggtgcg 240

cagcctgagg acgaggctga gtattactgc ctggtctact ctggtgatgg tgtggttttc 300

ggcggaggga ccaagctgac cgtcc 325

<210> 23

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 23

caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ccggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaaga cttctggata tacgttcacc gacaactctg tacactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggtttgagtg gatgggacgg atcaacccta acactggtgt ctcaacttct 180

gcccagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacaacctac 240

atggagctga gcagtttgag atctgacgac acggccgtct attactgtgc gagagaggag 300

aacgatagta gtgggtatta cctttggggt cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 24

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 24

cagattgtgg tgactcagtc tccatcctcc ctgtttgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc acctatttaa attggtatca gcaaaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tggagagtgg ggtcccatca 180

aggttcggtg gcagtagatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagga ccccgtggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggacatcaa a 321

<210> 25

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 25

caggtgcagc tggtgcagtc tggtcctacg ctggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60

acctgcacct tctctgggtt ctcactcagt attagtggag tgggtgtggg ctggatccgt 120

cagcccccag gaaaggccct ggagtggctt gcactcattt attgggatga tgataagcgc 180

tacagcccat ctctgaagag caggctcacc atcaccaagg acacctccga aaaccaggtg 240

gtccttacaa tgaccaacat ggaccctgtg gacacagcca catattactg tgcacacagt 300

atgactaaag gcggggctat ctatggtcag gcctactttg aatactgggg ccagggaacc 360

ctggtc 366

<210> 26

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 26

ccatctcctg cactggaacc agacagtgac gttggtggtt ataactatgt ctcctggtac 60

caacaacacc caggcaaagc ccccaaactc atcatttatg atgtcactga tcggccctca 120

ggggtttcta atcgcttctc tgcctccaag tctgccaaca cggcctccct gaccatctct 180

gggctccagg ctgaggacga ggctgattat tactgcagct catatacaag cagcagcact 240

ctggttttcg gcggagggac caagctgacc gtccta 276

<210> 27

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 27

caggtccagc tggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg tttccggata caccctcact gaattatcca tgcactgggt gcgacaggct 120

cctggaaaag gcctagagtg gatgggaggt tttgagcctg aagatggtga aacaatctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctagaga cacagcctac 240

atggagctga gtagcctgag atctgaggac acggccgtct attactgtac aacagatcag 300

gtctactatc gttcggggag ttattctgga tatgttgact actggggcca gggaaccctg 360

gtc 363

<210> 28

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 28

caggtccagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggacg caccttcagc agctatgtta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctc tgtttggtac agcaaactac 180

gcacagaaat tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgacgac acggccgtct attactgtgc gaggggcgcc 300

cagctatatt acaatgatgg tagtggttac atttttgact actggggcca gggagccctg 360

gtc 363

<210> 29

<211> 390

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 29

caggtgcagc tggtgcagtc tgggcctgag gtgaagaagc ctgggacctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggatt cagctttatt agctctgctg tgcagtgggt gcgacaggct 120

cgtggacaac gccttgagtg gataggatgg atcgtcgttg ccagtgctaa cacaaactac 180

gcacagaagt tccgggaaag agtcaccatt actagggaca tgtccacaaa cacagcctat 240

atggaactga ccagcctgag atccgaggac acggccgttt attactgtgc ggcagagcac 300

cggtcccctt gtagtggtgg tgatagctgc tacagtctct actacggtat ggacgtctgg 360

ggccaaggga ccctggtcac cgtctcctca 390

<210> 30

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 30

caggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc ttggttccgc ctgggggtc cctgagactg 60

tcctgtacag cctctggatt caccgttagt aactatggca tgagctgggt ccgccagact 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagtacta gtagtggtag aacattctac 180

gcagactccg tggagggccg gttcaccatc tccggagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agtcgaagac acggccgtat attactgtgc gaaaggcccg 300

ttcgggggcg actttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 31

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 31

caggctgtgg tgactcagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttgcc atctacttag cctggtatca acagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtggcaact ggcagtacac ttttggccag 300

gggaccaaac tggagatcaa a 321

<210> 32

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 32

caggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc ctggtacagc ctggcaggtc cctgacactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gtttatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120

ccagggaagg gcttggagtg ggtcgcaggt attagttgga atagtggtag cgtaggctat 180

gcggactcta tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ctgcaaatta acagtctgag agctgaggac acggccttat attactgtgc aaaagcattc 300

tggttcgggg agttatcggg ttacggtatg gacgtctggg gccaagggac cctggtcacc 360

gtctcctca 369

<210> 33

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 33

caggctgtgg tgactcagcc tccctccgcg tccgggtttc ctggacagtc agtcaccatc 60

tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt agttataact atgtctcctg gtaccaacag 120

cacccaggca aagcccccaa actcataatt tatgcggtca ctaggcggcc ctcaggggtc 180

cctgagcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccgt ctctgggctc 240

caggctgagg atgaggctga ttattactgc acctcatatg caggcaacaa caaggatgtc 300

ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta 330

<210> 34

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 34

caggtgcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggtta cagctttaac atctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180

gcacagaaac tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240

atggaactga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaccactt 300

tggggggaat tttactatga tatctggggc caagggaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 35

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 35

caggctgtgg tgactcagtc tccaggcacc ctgtccttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcgggtact cagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca aaagggccgc tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag ctgtttgcta cctcacctcc gcccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 36

<211> 399

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 36

caggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt aattatgtta tggagtgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagcaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgttgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatcagag 300

tgggagtctt cctatggttc ggggaattat tatacagatt acttctacta ctacgctatg 360

gacgtctggg gcccagggac cctggtcacc gtctcctca 399

<210> 37

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 37

caggctgtgg tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctaatca gagcctcctg cgtggtatta gatacaacta tttggattgg 120

tacctgcaga aaccagggca gtctccacag ctcctgatct atttgggttc taatcgggcc 180

tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcagcca cagattttac actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300

accaccttcg gccaagggac acgactggag attaaa 336

<210> 38

<211> 387

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 38

caggtgcagc tggaggagtc tggtcctacg ctggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60

acctgttcct tctctgggtt ctcactcacc actactggag tgactgtggg ctggatccgt 120

cagcccccag gaaaggcctt ggagtggctt gcactcattt attgggatga tgataagcgc 180

tacagcccat ctctgaagag caggctcacc atcaccaagg acacctccaa aaaccaggtg 240

gtccttacca tgaccaacat ggaccctgtg gacactgcca catattactg tgcgcactcc 300

accggctact atgatagtag tggctatcga ggggcccttg atgcttttgc tgtctggggc 360

caagggaccc tggtcaccgt ctcctca 387

<210> 39

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 39

cagattgtgg tgactcagtt tccagactcc ccggctgtgt ctttgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta taccactcca acaataaaaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aacctgctca tttactgggc atctgcccga 180

caatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 300

ccgtacactt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaa 339

<210> 40

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 40

caggtgcagc tggtgcagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggacac cctgtccctc 60

acctgcagtg tctcaagtga cgccctccgc agcaggagtt attactgggg ctgggtccgc 120

cagccccccg ggaagggatt ggagtggatt gggactgtct cttatagtgg gggcacctac 180

tacaacccgt ccctccagag tcgagtcacc gtgtcggtgg acacgtccaa gaaccacttc 240

tccctgaggt tgaactctgt gaccgccgca gacgcggctg tttattactg tgcgagatct 300

tatttctatg atggcagtgg ttactactac ctgagctact ttgactcctg gggccaggga 360

accctggtca ccgtctcctc a 381

<210> 41

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 41

caggctgtgg tgactcagga gccctcactg actgtgtccc caggagggac agtcactctc 60

acctgtgctt ccagcactgg agcagtcacc agtggtcact atccaaactg gttccagcag 120

aaacctggac aaccacccag ggccctgatt tatagcacag acaacaagca ctcctggacc 180

cctgcccggt tctcaggctc cctcctaggg gtcaaggctg ccctgacact gtcagatgta 240

cagcctgagg acgaggctga ctattactgc ctgctccatt ttggtggtgt cgtggtcttc 300

ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 42

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 42

caggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgttcaa cgtctggatt caccttcagg atgtatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggccgtt atttttaacg atggagttaa gaaatattat 180

ggagacgccg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca attccaggaa caccctgtat 240

ctggaaatga aaagcctgag agtcgacgac acggctgcct actactgtgc gagagacggg 300

attcctgacc ccgaacgcgg tgactacggg ggcttggact actggggcca gggaaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 43

<211> 322

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 43

cagactgtgg tgactcagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cacagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattacc agttatttaa actggtatca gcagaaacca 120

ggaaaagccc caaagctcct catctatgct acatccagtt tgcaaagtgg gctcccctca 180

aggttcagtg gcagtggcta tgggacagaa ttcactctca ccatcagtgg tctgcaacct 240

gaagattttg caacatacta ctgtcaacag agttacagtt ttcctcgaac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatgga ta 322

<210> 44

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 44

caggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcaa cctctggatt catctttgat gattatgcca tgtactgggt ccggcaagct 120

ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggaaa catagcctat 180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ttggaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgt aaaagatctt 300

tacgggtacg atattttgac tggtaatgga tatgattact ggggccaggg aaccctggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 45

<211> 337

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 45

caggctgtgg tgactcagtc ttcactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg caaagtaatg gatacaacta tttggattgg 120

tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctcctgatct atttgggttc taatcgggcc 180

tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300

ccgacgttcg gccaagggac caaggtggaa atcaaaa 337

<210> 46

<211> 390

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 46

caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

ccctgcaagg cttctggaga caccctcagt tactacggaa tcacttgggt gcgacgggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggacag atcatccctt tctttgctac aacaatctcc 180

gcacagaagt tccagggcag actcaccatg accgcggaag aatccacgag cactggctac 240

atggagcgca cattttacat ggacttgagt agccttagac ctgaggacac ggccgtatac 300

tactgtgcgg ggggctacta tggttcgggg agttcgggcg actacggttt ggacgtctgg 360

ggccaaggga ccctggtcac cgtctcctca 390

<210> 47

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 47

caggctgtgg tgactcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60

tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttatg atgtaaactg gtaccagcag 120

cttccaggaa cagcccccaa actcctcatc tatggtaaca acaatcggcc ctcaggggtc 180

cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240

caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtggttcg 300

ggagtcttcg gaactgggac cgaggtcacc gtccta 336

<210> 48

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 48

caggtgcagc tggtgcagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctg 60

acgtgcgctg tttctggtga ctccatcggc agtagaagtt tctactgggg ctggatccgc 120

cagcccccag ggaaggggct ggagtggatt ggaagtatct attataatgg gaccacctac 180

tacaagccgt ccctcaagag tcgagtcacc atatccctag acacgtccaa gaaccagttc 240

tccctgaggc tgagctctct gaccgccaca gacacgggtg tctattactg tgcgcgggcg 300

ccaacctact gtagtccttc cagctgcgca gttcactggt acttcaatct ctggggccgt 360

ggcaccctgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 49

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 49

caggtgcagc tggtgcagtc tggagctgag ctgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggtta catatttacc aaatatggta tcagttggct gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg ggtgggatgg atcagcgctt acaatgaaaa cacaaactat 180

gcagagaagt tccagggcag agtcaccttg accacagatg catccacgag cacggcctac 240

atggagctga ggaacctgag atctgacgac acggccgtat acttctgtgc gagagaagtc 300

tggttcgcgg agtatattta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 50

<211> 300

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 50

caggctgtgg tgactcagga gccctcactg actgtgtccc caggagggac agtcactctc 60

acctgttctg ccaacagtgg agcagtcacc agtgattact atccaaactg gttccagcag 120

aaacctggac aagcacccag ggcactgatt tatagtgcaa gcaacaaatt ctcctggacg 180

cctgcccggt tctcaggctc cctccttggg ggcaaagctg ccctgacact gtcaggtgcg 240

cagcctgagg acgaggctga gtattactgc ctggtctact ctggtgatgg tgtggttttc 300

<210> 51

<211> 331

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 51

cagtctgtgg tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt gcttataact atgtctcctg gtaccaacaa 120

cacccaggca aagcccccaa actcgtgatt tatgatgtcg ctaatcggcc ctcagggatt 180

tctgaccgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc ggctcatata ccagcgacgt ctcgccggtt 300

ttcagcgggg ggaccaagct gaccgtcctc a 331

<210> 52

<211> 399

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 52

caggtgcagc tggtgcagtc tgggtctgag ttgaagaagc ctggggcctc agtgaagctt 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcaca agtcatccta tgaattgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacacca agactgggaa cctaacttat 180

gcccagggct tcacaggacg gtttgtcttc tccttggaca cctctgtcag gacggcgtat 240

ctgcagatca gcggcctaaa ggctgaggac actgccattt attactgtgc gagagatgag 300

tatagtggct acgattcggt aggggtgttc cgtggttctt ttgacgactt ctacggtatg 360

gacgtctggg gccaagggac cctggtcacc gtctcctca 399

<210> 53

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 53

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1   5   10   15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
            20   25   30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35   40   45

Gly Trp Ile Ser Thr Tyr Lys Gly Tyr Thr Gln Tyr Ala Gln Asn Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Thr Asp Thr Pro Ala Thr Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 54

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 54

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Asp

20 25 30

Tyr Asn Val His Trp Tyr Gln Leu Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

<210> 55

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Asp Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly His

115

<210> 56

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 56

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Pro Val Asn Trp Tyr Gln Met Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Leu Tyr Thr Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Val Trp Asp Asp Ser Leu

85 90 95

Ser Gly Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

100 105 110

<210> 57

<211> 137

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 57

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Thr Glu Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Phe Glu Phe Pro Gly Asp Cys Ser Gly Gly Ser Cys Tyr

100 105 110

Ser Arg Phe Ile Tyr Gln His Asn Asp Met Asp Val Trp Gly His Gly

115 120 125

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

130 135

<210> 58

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 58

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

1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn His

20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu

85 90 95

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

100 105 110

<210> 59

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 59

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Asp

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Ser Asp Ala Leu Arg Ser Arg

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Thr Val Ser Tyr Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Gln Ser Arg Val Thr Val Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn His Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Ser Tyr Phe Tyr Asp Gly Ser Gly Tyr Tyr Tyr Leu Ser

100 105 110

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

115 120 125

<210> 60

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 60

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Tyr Pro Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Arg Ala

35 40 45

Leu Ile Tyr Ser Thr Asp Asn Lys His Ser Trp Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Leu His Phe Gly Gly

85 90 95

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

100 105

<210> 61

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 61

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Val Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 62

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 62

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Pro Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Gly Ile

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 63

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 63

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ser Ile Pro Val Phe Ala Thr Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Leu Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Pro Tyr Cys Ser Ser Met Asn Cys Tyr Thr Thr Phe Tyr Tyr

100 105 110

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

115 120 125

<210> 64

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 64

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Phe Gly Thr Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Phe Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Thr Leu Tyr Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 65

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Asp Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly His Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 66

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 66

Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln

1 5 10 15

Gly Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Pro Val Asn Trp Tyr Gln Met Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Leu Tyr Thr Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Val Trp Asp Asp Ser Leu

85 90 95

Ser Gly Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 67

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 67

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Ile Leu Ser Lys Leu
20 25 30

Ser Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ser Glu Arg Glu Asp Gly Glu Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Ile Ser Leu Thr Glu Asp Thr Ser Ile Glu Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Ser Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Gly Gly Phe Trp Ser Met Ile Gly Gly Asn Gly Val Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 68

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 68

Gln Ala Val Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Pro Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asn
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Arg Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 69

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 69

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Ala Ile Thr Tyr Pro Gly Gly Gly Ser Pro Ser Tyr Ala Pro Gln Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Ala His Arg Ser Ile Gly Thr Thr Pro Leu Asp Ser Trp

100 105 110

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

115 120 125

<210> 70

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 70

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Arg Val Val Gln Ala Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Tyr
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Asn Asp Gly Ser Lys Glu Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Ile Pro Asp Pro Glu Arg Gly Asp Tyr Gly Gly Leu
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 71

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 71

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

1 5 10 15

Asp Gly Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Arg Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Val Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Phe Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 72

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 72

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Val Pro Asn Phe Gly Thr Pro Thr Tyr Gly Gln Asp Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Val Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Arg Thr Ala Val Thr Pro Met Gln Leu Gly Leu Gln Phe

100 105 110

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

115 120 125

<210> 73

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 73

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Ser Ala Asn Ser Gly Ala Val Thr Ser Asp

20 25 30

Tyr Tyr Pro Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Ala

35 40 45

Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Asn Lys Phe Ser Trp Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Leu Val Tyr Ser Gly Asp

85 90 95

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

100 105

<210> 74

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 74

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn

20 25 30

Ser Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Phe Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Asn Thr Gly Val Ser Thr Ser Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Thr Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Glu Asn Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Leu Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 75

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 75

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Gly Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Thr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 76

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 76

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ile Ser

20 25 30

Gly Val Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Glu Asn Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala His Ser Met Thr Lys Gly Gly Ala Ile Tyr Gly Gln Ala Tyr

100 105 110

Phe Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

115 120

<210> 77

<211> 80

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 77

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Asp Val Thr Asp Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Ala

35 40 45

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

50 55 60

Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr

65 70 75 80

<210> 78

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 78

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Phe Glu Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

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

Thr Thr Asp Gln Val Tyr Tyr Arg Ser Gly Ser Tyr Ser Gly Tyr Val
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
115 120

<210> 79

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 79

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Leu Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Ala Gln Leu Tyr Tyr Asn Asp Gly Ser Gly Tyr Ile Phe

100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val

115 120

<210> 80

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 80

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ile Ser Ser

20 25 30

Ala Val Gln Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Val Val Ala Ser Ala Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Met Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Glu His Arg Ser Pro Cys Ser Gly Gly Asp Ser Cys Tyr Ser

100 105 110

Leu Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 81

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 81

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Pro Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Gly Pro Phe Gly Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 82

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 82

Gln Ala Val Val Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Ile Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Gly Asn Trp Gln Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 83

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 83

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

85 90 95

Ala Lys Ala Phe Trp Phe Gly Glu Leu Ser Gly Tyr Gly Met Asp Val

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 84

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Ala Gly Asn

85 90 95

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

100 105 110

<210> 85

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 85

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Asn Ile Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Pro Leu Trp Gly Glu Phe Tyr Tyr Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 86

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 86

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ser Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Leu Phe Ala Thr Ser Pro

85 90 95

Pro Pro Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 87

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 87

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Glu Trp Glu Ser Ser Tyr Gly Ser Gly Asn Tyr Tyr Thr

100 105 110

Asp Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Pro Gly Thr Leu

115 120 125

Val Thr Val Ser Ser

130

<210

> 88

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 88

Gln Ala Val Val Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Asn Gln Ser Leu Leu Arg Gly
20 25 30

Ile Arg Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Thr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 89

<211> 129

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 89

Gln Val Gln Leu Glu Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Thr
20 25 30

Gly Val Thr Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala His Ser Thr Gly Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Arg Gly Ala

100 105 110

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

115 120 125

Ser

<210> 90

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 90

Gln Ile Val Val Thr Gln Phe Pro Asp Ser Pro Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr His

20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 91

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 91

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Asp

1   5   10   15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Ser Asp Ala Leu Arg Ser Arg

            20   25   30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

        35   40   45

Trp Ile Gly Thr Val Ser Tyr Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

    50   55   60

Leu Gln Ser Arg Val Thr Val Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn His Phe

65   70   75   80

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

                85   90   95

Cys Ala Arg Ser Tyr Phe Tyr Asp Gly Ser Gly Tyr Tyr Tyr Leu Ser

            100   105   110

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

        115   120   125

<210> 92

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 92

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

1   5   10   15

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

            20   25   30

His Tyr Pro Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Arg Ala

        35   40   45

Leu Ile Tyr Ser Thr Asp Asn Lys His Ser Trp Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Leu His Phe Gly Gly

85 90 95

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

100 105

<210> 93

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 93

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Thr Ser Gly Phe Thr Phe Arg Met Tyr

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Phe Asn Asp Gly Val Lys Lys Tyr Tyr Gly Asp Ala Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Glu Met Lys Ser Leu Arg Val Asp Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Gly Ile Pro Asp Pro Glu Arg Gly Asp Tyr Gly Gly Leu

100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 94

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 94

Gln Thr Val Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Thr Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Leu Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Phe Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Met Asp
100 105

<210> 95

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 95

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Asn Ile Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 96

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Leu Gln Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 97

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 97

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Thr Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gln Ile Ile Pro Phe Phe Ala Thr Thr Ile Ser Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Leu Thr Met Thr Ala Glu Glu Ser Thr Ser Thr Gly Tyr

65 70 75 80

Met Glu Arg Thr Phe Tyr Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp

85 90 95

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Ser

100 105 110

Gly Asp Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 98

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Asp Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser

85 90 95

Leu Ser Gly Ser Gly Val Phe Gly Thr Gly Thr Glu Val Thr Val Leu

100 105 110

<210> 99

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 99

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Asp Ser Ile Gly Ser Arg

20 25 30

Ser Phe Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Asn Gly Thr Thr Tyr Tyr Lys Pro Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Arg Leu Ser Ser Leu Thr Ala Thr Asp Thr Gly Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Ala Pro Thr Tyr Cys Ser Pro Ser Ser Cys Ala Val His

100 105 110

Trp Tyr Phe Asn Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 100

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 100

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Lys Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Glu Asn Thr Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Val Trp Phe Ala Glu Tyr Ile Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 101

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 101

Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 102

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Asn Leu Thr Tyr Ala Gln Gly Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Glu Tyr Ser Gly Tyr Asp Ser Val Gly Val Phe Arg Gly

100 105 110

Ser Phe Asp Asp Phe Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu

115 120 125

Val Thr Val Ser Ser

130

<210> 103

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 103

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Gly

1 5

<210> 104

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 104

Ile Ser Thr Tyr Lys Gly Tyr Thr

1 5

<210> 105

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 105

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

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 106

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 106

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Ser

1 5

<210> 107

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 107

Ile Asp Thr Asn Thr Gly Asn Pro

1 5

<210> 108

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 108

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

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 109

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 109

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly

1 5

<210> 110

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 110

Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Asp Thr

1 5

<210> 111

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 111

Ala Arg Asp Phe Glu Phe Pro Gly Asp Cys Ser Gly Gly Ser Cys Tyr

1 5 10 15

Ser Arg Phe Ile Tyr Gln His Asn Asp Met Asp Val

20 25

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 112

Ser Asp Ala Leu Arg Ser Arg Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 113

Val Ser Tyr Ser Gly Gly Thr

1 5

<210> 114

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 114

Ala Arg Ser Tyr Phe Tyr Asp Gly Ser Gly Tyr Tyr Tyr Leu Ser Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Ser

<210> 115

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 115

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1 5

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 116

Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 117

Ala Arg Gly Asp Tyr Val Leu Asp Tyr

1 5

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 118

Gly Gly Thr Ser Ser Thr Tyr Ala

1 5

<210> 119

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 119

Ser Ile Pro Val Phe Ala Thr Val

1 5

<210> 120

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 120

Ala Ser Pro Tyr Cys Ser Ser Met Asn Cys Tyr Thr Thr Phe Tyr Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 121

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 121

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Ser

1 5

<210> 122

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 122

Ile Asp Thr Asn Thr Gly Asn Pro

1 5

<210> 123

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 123

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

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 124

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 124

Gly Tyr Ile Leu Ser Lys Leu Ser

1 5

<210> 125

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 125

Ser Glu Arg Glu Asp Gly Glu Thr

1 5

<210> 126

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 126

Ala Thr Gly Gly Phe Trp Ser Met Ile Gly Gly Asn Gly Val Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 127

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 127

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Phe

1 5

<210> 128

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 128

Thr Tyr Pro Gly Gly Gly Ser Pro

1 5

<210> 129

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 129

Ala Arg Gly Ala His Arg Ser Ile Gly Thr Thr Pro Leu Asp Ser

1 5 10 15

<210> 130

<

211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 130

Gly Phe Thr Phe Ser Met Tyr Gly

1 5

<210> 131

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 131

Ile Trp Asn Asp Gly Ser Lys Glu

1 5

<210> 132

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 132

Ala Arg Asp Gly Ile Pro Asp Pro Glu Arg Gly Asp Tyr Gly Gly Leu

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 133

Gly Gly Thr Phe Asn Asn Asn Gly

1 5

<210> 134

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 134

Ile Val Pro Asn Phe Gly Thr Pro

1 5

<210> 135

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 135

Ala Arg Gly Arg Thr Ala Val Thr Pro Met Gln Leu Gly Leu Gln Phe

1 5 10 15

Tyr Phe Asp Phe

20

<210> 136

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 136

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn Ser

1 5

<210> 137

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 137

Ile Asn Pro Asn Thr Gly Val Ser

1 5

<210> 138

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 138

Ala Arg Glu Glu Asn Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Leu

1 5 10

<210> 139

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 139

Gly Phe Ser Leu Ser Ile Ser Gly Val Gly

1 5 10

<210> 140

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220

><223> Synthetic peptide

<400> 140

Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 141

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 141

Ala His Ser Met Thr Lys Gly Gly Ala Ile Tyr Gly Gln Ala Tyr Phe

1 5 10 15

Glu Tyr

<210> 142

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 142

Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu Ser

1 5

<210> 143

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 143

Phe Glu Pro Glu Asp Gly Glu Thr

1 5

<210> 144

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 144

Thr Thr Asp Gln Val Tyr Tyr Arg Ser Gly Ser Tyr Ser Gly Tyr Val

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 145

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 145

Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Val

1 5

<210> 146

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 146

Ile Ile Pro Leu Phe Gly Thr Ala

1 5

<210> 147

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 147

Ala Arg Gly Ala Gln Leu Tyr Tyr Asn Asp Gly Ser Gly Tyr Ile Phe

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 148

Gly Phe Ser Phe Ile Ser Ser Ala

1 5

<210> 149

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 149

Ile Val Val Ala Ser Ala Asn Thr

1 5

<210> 150

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 150

Ala Ala Glu His Arg Ser Pro Cys Ser Gly Gly Asp Ser Cys Tyr Ser

1 5 10 15

Leu Tyr Tyr Gly Met Asp Val

20

<210> 151

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 151

Gly Phe Thr Val Ser Asn Tyr Gly

1 5

<210> 152

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 152

Ile Ser Thr Ser Ser Gly Arg Thr

1 5

<210> 153

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 153

Ala Lys Gly Pro Phe Gly Gly Asp Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 154

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 154

Gly Phe Thr Phe Asp Val Tyr Ala

1 5

<210> 155

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 155

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Val

1 5

<210> 156

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 156

Ala Lys Ala Phe Trp Phe Gly Glu Leu Ser Gly Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 157

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 157

Gly Tyr Ser Phe Asn Ile Tyr Gly

1 5

<210> 158

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 158

Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr

1 5

<210> 159

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 159

Ala Arg Pro Leu Trp Gly Glu Phe Tyr Tyr Asp Ile

1 5 10

<210> 160

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 160

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Val

1 5

<210> 161

<211> 8

<212> PRT

<

213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 161

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 162

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 162

Ala Arg Ser Glu Trp Glu Ser Ser Tyr Gly Ser Gly Asn Tyr Tyr Thr

1 5 10 15

Asp Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Val

20 25

<210> 163

<211> 10

<212> PRT

<213

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 163

Gly Phe Ser Leu Thr Thr Thr Gly Val Thr

1 5 10

<210> 164

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 164

Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 165

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 165

Ala His Ser Thr Gly Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Arg Gly Ala Leu

1 5 10 15

Asp Ala Phe Ala Val

20

<210> 166

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 166

Ser Asp Ala Leu Arg Ser Arg Ser Tyr Tyr

1   5   10

<210> 167

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 167

Val Ser Tyr Ser Gly Gly Thr

1   5

<210> 168

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 168

Ala Arg Ser Tyr Phe Tyr Asp Gly Ser Gly Tyr Tyr Tyr Leu Ser Tyr

1   5   10   15

Phe Asp Ser

<210> 169

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 169

Gly Phe Thr Phe Arg Met Tyr Gly

1   5

<210> 170

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 170

Ile Phe Asn Asp Gly Val Lys Lys

1   5

<210> 171

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 171

Ala Arg Asp Gly Ile Pro Asp Pro Glu Arg Gly Asp Tyr Gly Gly Leu

1   5   10   15

Asp Tyr

<210> 172

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 172

Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr Ala

1   5

<210> 173

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<

220><223> Synthetic peptide

<400> 173

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Asn Ile

1   5

<210> 174

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 174

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

1 5 10 15

Tyr

<210> 175

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 175

Gly Asp Thr Leu Ser Tyr Tyr Gly

1 5

<210> 176

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 176

Ile Ile Pro Phe Phe Ala Thr Thr

1 5

<210> 177

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 177

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Ser

1 5 10 15

Gly Asp Tyr Gly Leu Asp Val

20

<210> 178

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 178

Gly Asp Ser Ile Gly Ser Arg Ser Phe Tyr

1 5 10

<210> 179

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 179

Ile Tyr Tyr Asn Gly Thr Thr

1 5

<210> 180

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 180

Ala Arg Ala Pro Thr Tyr Cys Ser Pro Ser Ser Cys Ala Val His Trp

1 5 10 15

Tyr Phe Asn Leu

20

<210> 181

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 181

Gly Tyr Ile Phe Thr Lys Tyr Gly

1 5

<210> 182

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 182

Ile Ser Ala Tyr Asn Glu Asn Thr

1 5

<210> 183

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 183

Ala Arg Glu Val Trp Phe Ala Glu Tyr Ile Tyr

1 5 10

<210> 184

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 184

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser His Pro

1 5

<210> 185

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 185

Ile Asn Thr Lys Thr Gly Asn Leu

1 5

<210> 186

<211

> 26

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 186

Ala Arg Asp Glu Tyr Ser Gly Tyr Asp Ser Val Gly Val Phe Arg Gly

1 5 10 15

Ser Phe Asp Asp Phe Tyr Gly Met Asp Val

20 25

<210> 187

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 187

Ser Ser Asn Ile Gly Ala Asp Tyr Asn

1 5

<210> 188

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 188

Gly Asn Thr

1

<210> 189

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 189

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val

1 5 10

<210> 190

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 190

Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Pro

1 5

<

210> 191

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 191

Thr Asn Asn

1

<210> 192

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 192

Ala Val Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Arg Trp Val

1 5 10

<210> 193

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 193

Ser Ser Asn Ile Gly Asn His Tyr

1 5

<210> 194

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 194

Asp Asn Tyr

1

<210> 195

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 195

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Val Val

1 5 10

<210> 196

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 196

Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly His Tyr

1 5

<210> 197

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 197

Ser Thr Asp

1

<210> 198

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 198

Leu Leu His Phe Gly Gly Val Val Val

1   5

<210> 199

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 199

Gln Ser Ile Pro Ser Tyr

1   5

<210> 200

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 200

Ala Thr Ser

1

<210> 201

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 201

Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Gly Ile Phe Thr

1   5   10

<210> 202

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 202

Ser Ser Asp Phe Gly Thr Tyr Asn Tyr

1 5

<210> 203

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 203

Asp Val Ser

1

<210> 204

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 204

Ser Ser Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Leu Tyr Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 205

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 205

Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Pro

1 5

<210> 206

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 206

Thr Asn Asn

1

<210> 207

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 207

Ala Val Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Arg Trp Val

1   5   10

<210> 208

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 208

Gln Asp Ile Arg Asn Asn

1   5

<210> 209

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 209

Gly Thr Ser

1

<210> 210

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 210

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Pro Thr

1   5

<210> 211

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 211

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 212

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 212

Ala Thr Ser

1

<210> 213

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 213

Gln Gln Ser Tyr Ser Phe Pro Arg Thr

1 5

<210> 214

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 214

Ser Gly Ala Val Thr Ser Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 215

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 215

Ser Ala Ser

1

<210> 216

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 216

Leu Val Tyr Ser Gly Asp Gly Val Val

1 5

<210> 217

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 217

Gln Ser Ile Ser Thr Tyr

1 5

<210> 218

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 218

Ala Ala Ser

1

<210> 219

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 219

Gln Gln Ser Tyr Arg Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 220

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 220

Asp Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr

1 5

<210> 221

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 221

Asp Val Thr

1

<210> 222

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 222

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Val

1 5 10

<210> 223

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 223

Gln Ser Val Ala Ile Tyr

1 5

<210> 224

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 224

Asp Ala Ser

1

<210> 225

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 225

Gln Gln Arg Gly Asn Trp Gln Tyr Thr

1 5

<210> 226

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 226

Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr

1 5

<210> 227

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 227

Ala Val Thr

1

<210> 228

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 228

Thr Ser Tyr Ala Gly Asn Asn Lys Asp Val

1 5 10

<210> 229

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 229

Gln Ser Val Ser Ser Gly Tyr

1 5

<210> 230

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400

> 230

Gly Ala Ser

1

<210> 231

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 231

Gln Leu Phe Ala Thr Ser Pro Pro Pro

1 5

<210> 232

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 232

Gln Ser Leu Leu Arg Gly Ile Arg Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 233

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 233

Leu Gly Ser

1

<210> 234

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 234

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Thr Thr

1 5

<210> 235

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 235

Gln Ser Val Leu Tyr His Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 236

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220

><223> Synthetic peptide

<400> 236

Trp Ala Ser

1

<210> 237

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 237

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 238

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 238

Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly His Tyr

1 5

<210> 239

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<

220><223> Synthetic peptide

<400> 239

Ser Thr Asp

1

<210> 240

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 240

Leu Leu His Phe Gly Gly Val Val Val

1   5

<210> 241

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 241

Gln Ser Ile Thr Ser Tyr

1   5

<210> 242

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 242

Ala Thr Ser

1

<210> 243

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 243

Gln Gln Ser Tyr Ser Phe Pro Arg Thr

1   5

<210> 244

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 244

Gln Ser Leu Leu Gln Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 245

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 245

Leu Gly Ser

1

<210> 246

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 246

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 247

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 247

Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp

1 5

<210> 248

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 248

Gly Asn Asn

1

<210> 249

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 249

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Gly Val

1   5   10

<210> 250

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 250

Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Tyr

1   5

<210> 251

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220

><223> Synthetic peptide

<400> 251

Asp Val Ala

1

<210> 252

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 252

Gly Ser Tyr Thr Ser Asp Val Ser Pro Val

1   5   10

<210> 253

<211> 1317

<212> DNA

<213> Chikungunya virus

<400> 253

tacgaacacg taacagtgat cccgaacacg gtgggagtac cgtataagac tctagtcaac 60

agaccgggct acagccccat ggtactggag atggagctac tgtcagtcac tttggagcca 120

acgctatcgc ttgattacat cacgtgcgaa tacaaaaccg tcatcccgtc tccgtacgtg 180

aaatgctgcg gtacagcaga gtgcaaggac aaaaacctac ctgactacag ctgtaaggtc 240

ttcaccggcg tctacccatt tatgtggggc ggcgcctact gcttctgcga cgctgaaaac 300

acgcaattga gcgaagcaca tgtggagaag tccgaatcat gcaaaacaga atttgcatca 360

gcatacaggg ctcataccgc atccgcatca gctaagctcc gcgtccttta ccaaggaaat 420

aacatcactg taactgccta tgcaaacggc gaccatgccg tcacagttaa ggacgccaaa 480

ttcattgtgg ggccaatgtc ttcagcctgg acaccttttg acaacaaaat cgtggtgtac 540

aaaggtgacg tttacaacat ggactacccg ccctttggcg caggaagacc aggacaattt 600

ggcgatatcc aaagtcgcac gcctgagagc aaagacgtct atgctaacac acaactggta 660

ctgcagagac cggctgcggg tacggtacac gtgccatact ctcaggcacc atctggcttt 720

aagtattggt taaaagaacg aggggcgtcg ctacagcaca cagcaccatt tggctgccaa 780

atagcaacaa acccggtaag agcgatgaac tgcgccgtag ggaacatgcc catctccatc 840

gacataccgg atgcggcctt cactagggtc gtcgacgcgc cctctttaac ggacatgtca 900

tgcgaggtac cagcctgcac ccattcctca gactttgggg gcgtcgccat tattaaatat 960

gcagtcagca agaaaggcaa gtgtgcggtg cattcgatga ccaacgccgt cactatccgg 1020

gaagctgaga tagaagttga agggaattct cagctgcaaa tctctttctc gacggccttg 1080

gccagcgccg aattccgcgt acaagtctgt tctacacaag tacactgtgc agccgagtgc 1140

caccctccga aggaccacat agtcaactac ccggcgtcac ataccaccct cggggtccag 1200

gacatttccg ctacggcgat gtcatgggtg cagaagatca cgggaggtgt gggactggtt 1260

gtcgctgttg cagcactgat tctaatcgtg gtgctatgcg tgtcgttcag caggcac 1317

<210> 254

<211> 1317

<212> DNA

<213> Chikungunya virus

<400> 254

tacgaacacg taacagtgat cccgaacacg gtgggagtac cgtataagac tctagtcaat 60

agacctggct acagccccat ggtattggag atggaactac tgtcagtcac tttggagcca 120
acactatcgc ttgattacat cacgtgcgag tacaaaaccg tcatcccgtc tccgtacgtg 180
aagtgctgcg gtacagcaga gtgcaaggac aaaaacctac ctgactacag ctgtaaggtc 240
ttcaccggcg tctacccatt tatgtggggc ggcgcctact gcttctgcga cgctgaaaac 300
acgcagttga gcgaagcaca tgtggagaag tccgaatcat gcaaaacaga atttgcatca 360
gcatacaggg ctcataccgc atctgcatca gctaagctcc gcgtccttta ccaaggaaat 420
aacatcactg taactgccta tgcaaacggc gaccatgccg tcacagttaa ggacgccaaa 480

ttcattgtgg ggccaatgtc ttcagcctgg acacctttcg acaacaaaat tgtggtgtac 540
aaaggtgacg tctataacat ggactacccg ccctttggcg caggaagacc aggacaattt 600
ggcgatatcc aaagtcgcac acctgagagt aaagacgtct atgctaatac acaactggta 660
ctgcagagac cggctgcggg tacggtacac gtgccatact ctcaggcacc atctggcttt 720
aagtattggc taaaagaacg cggggcgtca ctgcagcaca cagcaccatt tggctgccaa 780
atagcaacaa acccggtaag agcggtgaac tgcgccgtag ggaacatgcc catctccatc 840
gacataccgg aagcggcctt cactagggtc gtcgacgcgc cctctttaac ggacatgtcg 900

tgcgaggtac tagcctgcac ccattcctca gactttgggg gcgtcgccat tattaaatat 960
gcagccagca agaaaggcaa gtgtgcggtg cattcgatga ctaacgccgt cactattcgg 1020
gaagctgaga tagaagttga agggaattct cagctgcaaa tctctttctc gacggcctta 1080
gccagcgccg aattccgcgt acaagtctgt tctacacaag tacactgtgc agctgagtgc 1140
caccccccga aggaccacat agtcaactac ccggcgtcac ataccaccct cggggtccag 1200
gacatctccg ctacggcgat gtcatgggtg cagaagatca cgggaggtgt gggactggtt 1260
gttgctgttg ccgcactgat tctaatcgtg gtgctatgcg tgtcgttcag caggcac 1317

<210> 255
<211> 1317
<212> DNA
<213> Chikungunya virus
<400> 255
tacgaacacg taacagtgat cccgaacacg gtgggagtac cgtataagac tctagtcaat 60
agacctggct acagccccat ggtattggag atggaactac tgtcagtcac tttggagcca 120
acactatcgc ttgattacat cacgtgcgag tacaaaaccg tcatcccgtc tccgtacgtg 180
aagtgctgcg gtacagcaga gtgcaaggac aaaaacctac ctgactacag ctgtaaggtc 240

ttcaccggcg tctacccatt tatgtggggc ggcgcctact gcttctgcga cgctgaaaac 300

acgcagttga gcgaagcaca cgtggagaag tccgaatcat gcaaaacaga atttgcatca 360

gcatacaggg ctcataccgc atctgcatca gctaagctcc gcgtccttta ccaaggaaat 420

aacatcactg taactgccta tgcaaacggc gaccatgccg tcacagttaa ggacgccaaa 480

ttcattgtgg ggccaatgtc ttcagcctgg acacctttcg acaacaaaat tgtggtgtac 540

aaaggtgacg tctataacat ggactacccg ccctttggcg caggaagacc aggacaattt 600

ggcgatatcc aaagtcgcac acctgagagt aaagacgtct atgctaatac acaactggta 660

ctgcagagac cggctgtggg tacggtacac gtgccatact ctcaggcacc atctggcttt 720

aagtattggc taaaagaacg cggggcgtcg ctgcagcaca cagcaccatt tggctgccaa 780

atagcaacaa acccggtaag agcggtgaac tgcgccgtag ggaacatgcc catctccatc 840

gacataccgg aagcggcctt cactagggtc gtcgacgcgc cctctttaac ggacatgtcg 900

tgcgaggtac cagcctgcac ccattcctca gactttgggg gcgtcgccat tattaaatat 960

gcagccagca agaaaggcaa gtgtgcggtg cattcgatga ctaacgccgt cactattcgg 1020

gaagctgaga tagaagttga agggaattct cagctgcaaa tctctttctc gacggcctta 1080

gccagcgccg aattccgcgt acaagtctgt tctacacaag tacactgtgc agccgagtgc 1140

caccccccga aggaccacat agtcaactac ccggcgtcac ataccaccct cggggtccag 1200

gacatctccg ctacggcgat gtcatgggtg cagaagatca cgggaggtgt gggactggtt 1260

gttgctgttg ccgcactgat tctaatcgtg gtgctatgcg tgtcgttcag caggcac 1317

<210> 256

<211> 1317

<212> DNA

<213> Chikungunya virus

<400> 256

tacgaacacg taacagtgat cccgaacacg gtgggagtac cgtataagac tctagtcaac 60

agaccgggct acagccccat ggtactggag atggagcttc tgtcagtcac tttggagcca 120

acgctatcgc ttgattacat cacgtgcgag tataaaaccg tcatcccgtc tccgtacgtg 180

aaatgctgcg gtacagcaga gtgcaaggac aagagcctac ctgattacag ctgtaaggtc 240

ttcaccggcg tctacccatt catgtggggc ggcgcctact gcttctgcga cactgaaaat 300

acgcaattga gcgaagcaca tgtggagaag tccgaatcat gcaaaacaga atttgcatca 360

gcatataggg ctcataccgc atccgcatca gctaagctcc gcgtccttta ccaaggaaat 420

aatgttactg tatctgctta tgcaaacggc gatcatgccg tcacagttaa ggacgctaaa 480

ttcattgtgg ggccaatgtc ttcagcctgg acaccttttg acaataaaat cgtggtgtac 540
aaaggcgacg tctacaacat ggactacccg cccttcggcg caggaagacc aggacaattt 600
ggcgacatcc aaagtcgcac gcctgagagc gaagacgtct atgctaacac acaactggta 660

ctgcagagac cgtccgcggg tacggtgcac gtgccgtact ctcaggcacc atctggcttc 720
aagtattggc taaaagaacg aggggcgtcg ctgcagcaca cagcaccatt tggctgtcaa 780
atagcaacaa acccggtaag agcgatgaac tgcgccgtag ggaacatgcc tatctccatc 840
gacataccgg acgcggcctt cactagggtc gtcgacgcgc catctttaac ggacatgtcg 900
tgtgaggtac cagcctgcac ccactcctca gactttgggg gcgtagccat cattaaatat 960
gcagccagca agaaaggcaa gtgtgcggtg cattcgatga ctaacgccgt cactattcgg 1020
gaagctgaaa tagaagtaga agggaactct cagttgcaaa tctctttttc gacggcccta 1080

gccagcgccg aattccgcgt acaagtctgt tctacacaag tacactgtgc agccgagtgc 1140
catccaccga aagaccatat agtcaattac ccggcgtcac acaccaccct cggggtccaa 1200
gacatttccg ttacggcgat gtcatgggtg cagaagatca cgggaggtgt gggactggtt 1260
gtcgctgttg cagcactgat cctaatcgtg gtgctatgcg tgtcgtttag caggcac 1317

<210> 257

<211> 1317

<212> DNA

<213> Chikungunya virus

<400> 257

tacgaacacg taacagtgat cccgaacacg gtgggagtac cgtataagac tctagtcaac 60
agaccgggct acagccccat ggtattggag atggagcttc tgtctgtcac cttggaacca 120

acgctatcgc ttgattacat cacgtgcgag tataaaaccg ttatcccgtc tccgtacgtg 180
aaatgctgcg gtacagcaga gtgtaaggac aagagcctac ctgattacag ctgtaaggtc 240
ttcaccggcg tctacccatt catgtggggc ggcgcctact gcttctgcga caccgaaaat 300
acgcaattga gcgaagcaca tgtggagaag tccgaatcat gcaaaacaga atttgcatca 360
gcatacaggg ctcataccgc atccgcatca gctaagctcc gcgtccttta ccaaggaaat 420
aatatcactg tggctgctta tgcaaacggc gaccatgccg tcacagttaa ggacgctaaa 480
ttcatagtgg ggccaatgtc ttcagcctgg acacctttcg acaataaaat cgtggtgtac 540

aaaggcgacg tctacaacat ggactacccg cccttcggcg caggaagacc aggacaattt 600
ggcgacatcc aaagtcgcac gcctgagagc gaagacgtct atgctaatac acaactggta 660
ctgcagagac cgtccgcggg tacggtgcac gtgccgtact ctcaggcacc atctggcttc 720

aagtattggc taaaagaacg aggggcgtcg ctgcagcaca cagcaccatt tggctgtcaa 780

atagcaacaa acccggtaag agcgatgaac tgcgccgtag ggaacatgcc tatctccatc 840

gacataccgg acgcggcctt taccagggtc gtcgacgcgc catctttaac ggacatgtcg 900

tgtgaggtat cagcctgcac ccattcctca gactttgggg gcgtagccat cattaaatat 960

gcagccagta agaaaggcaa gtgtgcagtg cactcgatga ctaacgccgt cactattcgg 1020

gaagctgaaa tagaagtaga agggaactct cagttgcaaa tctctttttc gacggcccta 1080

gccagcgccg aatttcgcgt acaagtctgt tctacacaag tacactgtgc agccgagtgc 1140

catccaccga aagaccatat agtcaattac ccggcgtcac acaccaccct cggggtccaa 1200

gacatttccg ctacggcgat gtcatgggtg cagaagatca cgggaggtgt gggactggtt 1260

gtcgctgttg cagcactgat cctaatcgtg gtgctatgcg tgtcgtttag caggcac 1317

<210> 258

<211> 1317

<212> DNA

<213> Chikungunya virus

<400> 258

tacgaacacg taacagtgat cccgaacacg gtgggagtac cgtataagac tcttgtcaac 60

agaccgggtt acagccccat ggtattggag atggagctac aatcggtcac cttggaacca 120

acactgtcac ttgactacat cacgtgcgag tacaaaactg tcatcccctc cccgtacgtg 180

aagtgctgtg gtacagcaga gtgcaaggac aagagcctac cagactacag ctgcaaggtc 240

tttactggag tctacccatt tatgtggggc ggcgcctact gcttttgcga cgccgaaaat 300

acgcaattga gcgaggcaca tgtagagaaa tctgaatctt gcaaaacaga gtttgcatcg 360

gcctacagag cccacaccgc atcggcgtcg gcgaagctcc gcgtccttta ccaaggaaac 420

aacattactg tagctgccta cgctaacggc gaccatgccg tcacagtaaa ggacgccaag 480

tttgtcgtgg gaccaatgtc ctccgcctgg acaccttttg acaacaaaat cgtggtgtac 540

aaaggcgacg tctacaacat ggactaccca ccttttggcg caggaagacc aggacaattt 600

ggtgacattc aaagtcgtac accggaaagt aaagacgttt atgccaacac tcagttggta 660

ctacagaggc cagcagcagg cacggtacat gtaccatact ctcaggcacc atctggcttc 720

aagtattggc tgaaggaacg aggagcatcg ctacagcaca cggcaccgtt cggttgccag 780

attgcgacaa acccggtaag agctgtaaat tgcgctgtgg ggaacatacc aatttccatc 840

gacataccgg atgcggcctt tactagggtt gtcgatgcac cctctgtaac ggacatgtca 900

tgcgaagtac cagcctgcac tcactcctcc gactttgggg gcgtcgccat catcaaatat 960

acagctagca agaaaggtaa atgtgcagta cattcgatga ccaacgccgt taccattcga 1020

gaagccgacg tagaagtaga ggggaattcc cagctgcaaa tatccttctc aacagccttg 1080

gcaagcgccg agtttcgcgt gcaagtgtgc tccacacaag tacactgcgc agccgcatgc 1140

caccctccaa aggaccacat agtcaattac ccagcatcac acaccaccct tggggtccag 1200

gatatatcca caacggcaat gtcttgggtg cagaagatta cgggaggagt aggattaatt 1260

gttgctgttg ctgccttaat tttaattgtg gtgctatgcg tgtcgtttag caggcac 1317

<210> 259

<211> 439

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 259

Tyr Glu His Val Thr Val Ile Pro Asn Thr Val Gly Val Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Thr Leu Val Asn Arg Pro Gly Tyr Ser Pro Met Val Leu Glu Met Glu
20 25 30

Leu Gln Ser Val Thr Leu Glu Pro Thr Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Thr
35 40 45

Cys Glu Tyr Lys Thr Val Ile Pro Ser Pro Tyr Val Lys Cys Cys Gly
50 55 60

Thr Ala Glu Cys Lys Asp Lys Ser Leu Pro Asp Tyr Ser Cys Lys Val
65 70 75 80

Phe Thr Gly Val Tyr Pro Phe Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys
85 90 95

Asp Ala Glu Asn Thr Gln Leu Ser Glu Ala His Val Glu Lys Ser Glu
100 105 110

Ser Cys Lys Thr Glu Phe Ala Ser Ala Tyr Arg Ala His Thr Ala Ser
115 120 125

Ala Ser Ala Lys Leu Arg Val Leu Tyr Gln Gly Asn Asn Ile Thr Val
130 135 140

Ala Ala Tyr Ala Asn Gly Asp His Ala Val Thr Val Lys Asp Ala Lys
145 150 155 160

Phe Val Val Gly Pro Met Ser Ser Ala Trp Thr Pro Phe Asp Asn Lys

165 170 175

Ile Val Val Tyr Lys Gly Asp Val Tyr Asn Met Asp Tyr Pro Pro Phe
180 185 190

Gly Ala Gly Arg Pro Gly Gln Phe Gly Asp Ile Gln Ser Arg Thr Pro
195 200 205

Glu Ser Lys Asp Val Tyr Ala Asn Thr Gln Leu Val Leu Gln Arg Pro
210 215 220

Ala Ala Gly Thr Val His Val Pro Tyr Ser Gln Ala Pro Ser Gly Phe
225 230 235 240

Lys Tyr Trp Leu Lys Glu Arg Gly Ala Ser Leu Gln His Thr Ala Pro
245 250 255

Phe Gly Cys Gln Ile Ala Thr Asn Pro Val Arg Ala Val Asn Cys Ala
260 265 270

Val Gly Asn Ile Pro Ile Ser Ile Asp Ile Pro Asp Ala Ala Phe Thr
275 280 285

Arg Val Val Asp Ala Pro Ser Val Thr Asp Met Ser Cys Glu Val Pro
290 295 300

Ala Cys Thr His Ser Ser Asp Phe Gly Gly Val Ala Ile Ile Lys Tyr
305 310 315 320

Thr Ala Ser Lys Lys Gly Lys Cys Ala Val His Ser Met Thr Asn Ala
325 330 335

Val Thr Ile Arg Glu Ala Asp Val Glu Val Glu Gly Asn Ser Gln Leu
340 345 350

Gln Ile Ser Phe Ser Thr Ala Leu Ala Ser Ala Glu Phe Arg Val Gln
355 360 365

Val Cys Ser Thr Gln Val His Cys Ala Ala Ala Cys His Pro Pro Lys
370 375 380

Asp His Ile Val Asn Tyr Pro Ala Ser His Thr Thr Leu Gly Val Gln
385 390 395 400

Asp Ile Ser Thr Thr Ala Met Ser Trp Val Gln Lys Ile Thr Gly Gly
405 410 415

Val Gly Leu Ile Val Ala Val Ala Ala Leu Ile Leu Ile Val Val Leu
420 425 430

Cys Val Ser Phe Ser Arg His
435

<210> 260
<211> 439
<212> PRT
<213> Chikungunya virus
<400> 260

Tyr Glu His Val Thr Val Ile Pro Asn Thr Val Gly Val Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Thr Leu Val Asn Arg Pro Gly Tyr Ser Pro Met Val Leu Glu Met Glu
20 25 30

Leu Leu Ser Val Thr Leu Glu Pro Thr Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Thr
35 40 45

Cys Glu Tyr Lys Thr Val Ile Pro Ser Pro Tyr Val Lys Cys Cys Gly
50 55 60

Thr Ala Glu Cys Lys Asp Lys Asn Leu Pro Asp Tyr Ser Cys Lys Val
65 70 75 80

Phe Thr Gly Val Tyr Pro Phe Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys
85 90 95

Asp Ala Glu Asn Thr Gln Leu Ser Glu Ala His Val Glu Lys Ser Glu
100 105 110

Ser Cys Lys Thr Glu Phe Ala Ser Ala Tyr Arg Ala His Thr Ala Ser
115 120 125

Ala Ser Ala Lys Leu Arg Val Leu Tyr Gln Gly Asn Asn Ile Thr Val
130 135 140

Thr Ala Tyr Ala Asn Gly Asp His Ala Val Thr Val Lys Asp Ala Lys
145 150 155 160

Phe Ile Val Gly Pro Met Ser Ser Ala Trp Thr Pro Phe Asp Asn Lys
165 170 175

Ile Val Val Tyr Lys Gly Asp Val Tyr Asn Met Asp Tyr Pro Pro Phe

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Tyr Trp Leu Lys Glu Arg Gly Ala Ser Leu Gln His Thr Ala Pro

245 250 255

Phe Gly Cys Gln Ile Ala Thr Asn Pro Val Arg Ala Met Asn Cys Ala

260 265 270

Val Gly Asn Met Pro Ile Ser Ile Asp Ile Pro Asp Ala Ala Phe Thr

275 280 285

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

290 295 300

Ala Cys Thr His Ser Ser Asp Phe Gly Gly Val Ala Ile Ile Lys Tyr

305 310 315 320

Ala Val Ser Lys Lys Gly Lys Cys Ala Val His Ser Met Thr Asn Ala

325 330 335

Val Thr Ile Arg Glu Ala Glu Ile Glu Val Glu Gly Asn Ser Gln Leu

340 345 350

Gln Ile Ser Phe Ser Thr Ala Leu Ala Ser Ala Glu Phe Arg Val Gln

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Asp Ile Ser Ala Thr Ala Met Ser Trp Val Gln Lys Ile Thr Gly Gly

405 410 415

Val Gly Leu Val Val Ala Val Ala Ala Leu Ile Leu Ile Val Val Leu

420 425 430

Cys Val Ser Phe Ser Arg His

435

<210> 261

<211> 439

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 261

Tyr Glu His Val Thr Val Ile Pro Asn Thr Val Gly Val Pro Tyr Lys

1 5 10 15

Thr Leu Val Asn Arg Pro Gly Tyr Ser Pro Met Val Leu Glu Met Glu

20 25 30

Leu Leu Ser Val Thr Leu Glu Pro Thr Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Thr

35 40 45

Cys Glu Tyr Lys Thr Val Ile Pro Ser Pro Tyr Val Lys Cys Cys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Phe Thr Gly Val Tyr Pro Phe Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys

85 90 95

Asp Ala Glu Asn Thr Gln Leu Ser Glu Ala His Val Glu Lys Ser Glu

100 105 110

Ser Cys Lys Thr Glu Phe Ala Ser Ala Tyr Arg Ala His Thr Ala Ser

115 120 125

Ala Ser Ala Lys Leu Arg Val Leu Tyr Gln Gly Asn Asn Ile Thr Val

130 135 140

Thr Ala Tyr Ala Asn Gly Asp His Ala Val Thr Val Lys Asp Ala Lys

145 150 155 160

Phe Ile Val Gly Pro Met Ser Ser Ala Trp Thr Pro Phe Asp Asn Lys

165 170 175

Ile Val Val Tyr Lys Gly Asp Val Tyr Asn Met Asp Tyr Pro Pro Phe

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Tyr Trp Leu Lys Glu Arg Gly Ala Ser Leu Gln His Thr Ala Pro

245 250 255

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

260 265 270

Val Gly Asn Met Pro Ile Ser Ile Asp Ile Pro Glu Ala Ala Phe Thr

275 280 285

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

290 295 300

Ala Cys Thr His Ser Ser Asp Phe Gly Gly Val Ala Ile Ile Lys Tyr

305 310 315 320

Ala Ala Ser Lys Lys Gly Lys Cys Ala Val His Ser Met Thr Asn Ala

325 330 335

Val Thr Ile Arg Glu Ala Glu Ile Glu Val Glu Gly Asn Ser Gln Leu

340 345 350

Gln Ile Ser Phe Ser Thr Ala Leu Ala Ser Ala Glu Phe Arg Val Gln

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Asp Ile Ser Ala Thr Ala Met Ser Trp Val Gln Lys Ile Thr Gly Gly

405 410 415

Val Gly Leu Val Val Ala Val Ala Ala Leu Ile Leu Ile Val Val Leu

420 425 430

Cys Val Ser Phe Ser Arg His

435

<210> 262

<211> 439

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 262

Tyr Glu His Val Thr Val Ile Pro Asn Thr Val Gly Val Pro Tyr Lys

1 5 10 15

Thr Leu Val Asn Arg Pro Gly Tyr Ser Pro Met Val Leu Glu Met Glu

20 25 30

Leu Leu Ser Val Thr Leu Glu Pro Thr Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Thr

35 40 45

Cys Glu Tyr Lys Thr Val Ile Pro Ser Pro Tyr Val Lys Cys Cys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Phe Thr Gly Val Tyr Pro Phe Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys

85 90 95

Asp Ala Glu Asn Thr Gln Leu Ser Glu Ala His Val Glu Lys Ser Glu

100 105 110

Ser Cys Lys Thr Glu Phe Ala Ser Ala Tyr Arg Ala His Thr Ala Ser

115 120 125

Ala Ser Ala Lys Leu Arg Val Leu Tyr Gln Gly Asn Asn Ile Thr Val

130 135 140

Thr Ala Tyr Ala Asn Gly Asp His Ala Val Thr Val Lys Asp Ala Lys

145 150 155 160

Phe Ile Val Gly Pro Met Ser Ser Ala Trp Thr Pro Phe Asp Asn Lys

165 170 175

Ile Val Val Tyr Lys Gly Asp Val Tyr Asn Met Asp Tyr Pro Pro Phe

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Tyr Trp Leu Lys Glu Arg Gly Ala Ser Leu Gln His Thr Ala Pro

245 250 255

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

260 265 270

Val Gly Asn Met Pro Ile Ser Ile Asp Ile Pro Glu Ala Ala Phe Thr

275 280 285

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

290 295 300

Ala Cys Thr His Ser Ser Asp Phe Gly Gly Val Ala Ile Ile Lys Tyr

305 310 315 320

Ala Ala Ser Lys Lys Gly Lys Cys Ala Val His Ser Met Thr Asn Ala

325 330 335

Val Thr Ile Arg Glu Ala Glu Ile Glu Val Glu Gly Asn Ser Gln Leu

340 345 350

Gln Ile Ser Phe Ser Thr Ala Leu Ala Ser Ala Glu Phe Arg Val Gln

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Asp Ile Ser Ala Thr Ala Met Ser Trp Val Gln Lys Ile Thr Gly Gly

405 410 415

Val Gly Leu Val Val Ala Val Ala Ala Leu Ile Leu Ile Val Val Leu

420 425 430

Cys Val Ser Phe Ser Arg His

435

<210> 263

<211> 439

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 263

Tyr Glu His Val Thr Val Ile Pro Asn Thr Val Gly Val Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Thr Leu Val Asn Arg Pro Gly Tyr Ser Pro Met Val Leu Glu Met Glu
20 25 30

Leu Leu Ser Val Thr Leu Glu Pro Thr Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Thr
35 40 45

Cys Glu Tyr Lys Thr Val Ile Pro Ser Pro Tyr Val Lys Cys Cys Gly
50 55 60

Thr Ala Glu Cys Lys Asp Lys Ser Leu Pro Asp Tyr Ser Cys Lys Val
65 70 75 80

Phe Thr Gly Val Tyr Pro Phe Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys
85 90 95

Asp Thr Glu Asn Thr Gln Leu Ser Glu Ala His Val Glu Lys Ser Glu
100 105 110

Ser Cys Lys Thr Glu Phe Ala Ser Ala Tyr Arg Ala His Thr Ala Ser
115 120 125

Ala Ser Ala Lys Leu Arg Val Leu Tyr Gln Gly Asn Asn Ile Thr Val
130 135 140

Ala Ala Tyr Ala Asn Gly Asp His Ala Val Thr Val Lys Asp Ala Lys
145 150 155 160

Phe Ile Val Gly Pro Met Ser Ser Ala Trp Thr Pro Phe Asp Asn Lys
165 170 175

Ile Val Val Tyr Lys Gly Asp Val Tyr Asn Met Asp Tyr Pro Pro Phe
180 185 190

Gly Ala Gly Arg Pro Gly Gln Phe Gly Asp Ile Gln Ser Arg Thr Pro
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Tyr Trp Leu Lys Glu Arg Gly Ala Ser Leu Gln His Thr Ala Pro

245 250 255

Phe Gly Cys Gln Ile Ala Thr Asn Pro Val Arg Ala Met Asn Cys Ala

260 265 270

Val Gly Asn Met Pro Ile Ser Ile Asp Ile Pro Asp Ala Ala Phe Thr

275 280 285

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

290 295 300

Ala Cys Thr His Ser Ser Asp Phe Gly Gly Val Ala Ile Ile Lys Tyr

305 310 315 320

Ala Ala Ser Lys Lys Gly Lys Cys Ala Val His Ser Met Thr Asn Ala

325 330 335

Val Thr Ile Arg Glu Ala Glu Ile Glu Val Glu Gly Asn Ser Gln Leu

340 345 350

Gln Ile Ser Phe Ser Thr Ala Leu Ala Ser Ala Glu Phe Arg Val Gln

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Asp Ile Ser Ala Thr Ala Met Ser Trp Val Gln Lys Ile Thr Gly Gly

405 410 415

Val Gly Leu Val Val Ala Val Ala Ala Leu Ile Leu Ile Val Val Leu

420 425 430

Cys Val Ser Phe Ser Arg His

435

<210> 264

<211> 439

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 264

Tyr Glu His Val Thr Val Ile Pro Asn Thr Val Gly Val Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Thr Leu Val Asn Arg Pro Gly Tyr Ser Pro Met Val Leu Glu Met Glu
20 25 30

Leu Leu Ser Val Thr Leu Glu Pro Thr Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Thr
35 40 45

Cys Glu Tyr Lys Thr Val Ile Pro Ser Pro Tyr Val Lys Cys Cys Gly
50 55 60

Thr Ala Glu Cys Lys Asp Lys Ser Leu Pro Asp Tyr Ser Cys Lys Val
65 70 75 80

Phe Thr Gly Val Tyr Pro Phe Met Trp Gly Gly Ala Tyr Cys Phe Cys
85 90 95

Asp Thr Glu Asn Thr Gln Leu Ser Glu Ala His Val Glu Lys Ser Glu
100 105 110

Ser Cys Lys Thr Glu Phe Ala Ser Ala Tyr Arg Ala His Thr Ala Ser
115 120 125

Ala Ser Ala Lys Leu Arg Val Leu Tyr Gln Gly Asn Asn Val Thr Val
130 135 140

Ser Ala Tyr Ala Asn Gly Asp His Ala Val Thr Val Lys Asp Ala Lys
145 150 155 160

Phe Ile Val Gly Pro Met Ser Ser Ala Trp Thr Pro Phe Asp Asn Lys
165 170 175

Ile Val Val Tyr Lys Gly Asp Val Tyr Asn Met Asp Tyr Pro Pro Phe
180 185 190

Gly Ala Gly Arg Pro Gly Gln Phe Gly Asp Ile Gln Ser Arg Thr Pro
195 200 205

Glu Ser Glu Asp Val Tyr Ala Asn Thr Gln Leu Val Leu Gln Arg Pro
210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Tyr Trp Leu Lys Glu Arg Gly Ala Ser Leu Gln His Thr Ala Pro

245 250 255

Phe Gly Cys Gln Ile Ala Thr Asn Pro Val Arg Ala Met Asn Cys Ala

260 265 270

Val Gly Asn Met Pro Ile Ser Ile Asp Ile Pro Asp Ala Ala Phe Thr

275 280 285

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

290 295 300

Ala Cys Thr His Ser Ser Asp Phe Gly Gly Val Ala Ile Ile Lys Tyr

305 310 315 320

Ala Ala Ser Lys Lys Gly Lys Cys Ala Val His Ser Met Thr Asn Ala

325 330 335

Val Thr Ile Arg Glu Ala Glu Ile Glu Val Glu Gly Asn Ser Gln Leu

340 345 350

Gln Ile Ser Phe Ser Thr Ala Leu Ala Ser Ala Glu Phe Arg Val Gln

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Asp Ile Ser Val Thr Ala Met Ser Trp Val Gln Lys Ile Thr Gly Gly

405 410 415

Val Gly Leu Val Val Ala Val Ala Ala Leu Ile Leu Ile Val Val Leu

420 425 430

Cys Val Ser Phe Ser Arg His

435

<210> 265

<211> 1269

<212> DNA

<213> Chikungunya virus

<400> 265

agtattaagg acaacttcaa tgtctataaa gccataagac cgtacctagc tcactgtccc 60

gactgtggag aagggcactc gtgccatagt cccgtagcgc tagaacgcat cagaaacgaa 120

gcgacagacg ggacgctgaa aatccaggtt tccttgcaaa tcggaataaa gacggatgat 180

agccatgatt ggaccaagct gcgttacatg gacaatcata tgccagcaga cgcagagagg 240

gccaggctat ttgtaagaac gtcagcaccg tgcacgatta ctggaacaat gggacacttc 300

atcctggccc gatgtccgaa aggagaaact ctgacggtgg gattcactga cggtaggaag 360

atcagtcact catgtacgca cccatttcac cacgaccctc ctgtgatagg ccgggaaaaa 420

tttcattccc gaccgcagca cggtagagaa ctaccttgca gcacgtacgc gcagagcacc 480

gctgcaactg ccgaggagat agaggtacat atgccccag acaccccaga tcgcacattg 540

atgtcacaac agtccggtaa tgtaaagatc acagtcaata gtcagacggt gcggtacaag 600

tgtaattgcg gtgactcaaa tgaaggacta accactacag acaaagtgat taataactgc 660

aaggttgatc aatgccatgc cgcggtcacc aatcacaaaa aatggcagta taattcccct 720

ctggtcccgc gtaatgctga actcggggac cgaaaaggaa aagttcacat tccgtttcct 780

ctggcaaatg tgacatgcag ggtgcctaag gcaaggaacc ccaccgtgac gtacggaaaa 840

aaccaagtca tcatgctgct gtatcctgac cacccaacgc tcctgtccta ccggaatatg 900

ggagaagaac caaactatca agaagagtgg gtgacgcata agaaggagat caggttaacc 960

gtgccgactg aagggctcga ggtcacgtgg ggcaacaacg agccgtacaa gtattggccg 1020

cagttatcca caaacggtac agcccacggc cacccgcatg agataatttt gtattattat 1080

gagctgtacc ctactatgac tgtggtagtt gtgtcagtgg cctcgttcgt actcctgtcg 1140

atggtgggtg tggcagtggg gatgtgcatg tgtgcacgac gcagatgcat tacaccgtac 1200

gaactgacac caggagctac cgtccctttc ctgcttagcc taatatgctg cattagaaca 1260

gctaaagcg 1269

<210> 266

<211> 1269

<212> DNA

<213> Chikungunya virus

<400> 266

agtactaagg acaattttaa tgtctataaa gctacaagac catatctagc tcattgtcct 60

gactgcggag aagggcattc gtgccacagc cctatcgcat tggagcgcat cagaaatgaa 120

gcaacggacg gaacgctgaa aatccaggtc tctttgcaga tcgggataaa gacagatgac 180

agccacgatt ggaccaagct gcgctatatg gatagccata cgccagcgga cgcggagcga 240
gccggattgc ttgtaaggac ttcagcaccg tgcacgatca ccgggaccat gggacacttt 300
attctcgccc gatgcccgaa aggagagacg ctgacagtgg gatttacgga cagcagaaag 360
atcagccaca catgcacaca cccgttccat catgaaccac ctgtgatagg tagggagagg 420
ttccactctc gaccacaaca tggtaaagag ttaccttgca gcacgtacgt gcagagcacc 480
gctgccactg ccgaggagat agaggtgcat atgcccccag atactcctga ccgcacgctg 540
atgacgcagc agtctggcaa cgtgaagatc acagttaatg ggcagacggt gcggtacaag 600

tgcaactgcg gcggctcaaa cgagggactg acaaccacag acaaagtgat caataactgc 660
aaaattgatc agtgccatgc tgcagtcact aatcacaaga agtggcaata caactcccct 720
ttagtcccgc gtaacgctga actcggggac cgtaaaggaa agattcacat cccattccca 780
ttggcaaacg tgacttgcag agtgccaaaa gcaagaaacc ccacagtaac gtacggaaaa 840
aaccaagtca ccatgctgct gtatcctgac catccgacac tcttgtctta tcgtaacatg 900
ggacaggaac caaattacca cgaggagtgg gtgacacaca agaaggaggt taccttgacc 960
gtgcctactg agggtctgga ggtcacttgg ggcaacaacg aaccatacaa gtactggccg 1020

cagatgtcta cgaacggtac tgctcatggt cacccacatg agataatctt gtactattat 1080
gagctgtacc ccactatgac tgtaatcatt gtgtcggtgg cctcgttcgt gcttctgtcg 1140
atggtgggca cagcagtggg gatgtgtgtg tgcgcacggc gcagatgcat tacaccatat 1200
gaattaacac caggagccac cgttcccttt ctgctcagcc tgctatgttg cgtcagaacg 1260
accaaggcg 1269

<210> 267

<211> 1269

<212> DNA

<213> Chikungunya virus

<400> 267

agcaccaagg acaacttcaa tgtctataaa gccacaagac catacttagc tcactgtccc 60

gactgtggag aagggcactc gtgccatagt cccgtagcac tagaacgcat cagaaatgaa 120
gcgacagacg ggacgctgaa aatccaggtc tccttgcaaa tcggaataaa gacggatgac 180
agccacgatt ggaccaagct gcgttatatg gacaaccaca tgccagcaga cgcagagagg 240
gcggggctat ttgtaagaac atcagcaccg tgtacgatta ctggaacaat gggacacttc 300
atcctggccc gatgtccaaa aggggaaact ctgacggtgg gattcactga cagtaggaag 360
attagtcact catgtacgca cccatttcac cacgaccctc ctgtgatagg tcgggaaaaa 420

ttccattccc gaccgcagca cggtaaagag ctaccttgca gcacgtacgt gcagagcacc 480

gccgcaacta ccgaggagat agaggtacac atgcccccag acacccctga tcgcacatta 540
atgtcacaac agtccggcaa cgtaaagatc acagtcaatg gccagacggt gcggtacaag 600
tgtaattgcg gtggctcaaa tgaaggacta acaactacag acaaagtgat taataactgc 660
aaggttgatc aatgtcatgc cgcggtcacc aatcacaaaa agtggcagta taactcccct 720
ctggtcccgc gtaatgctga acttggggac cgaaaaggaa aaattcacat cccgtttccg 780
ctggcaaatg taacatgcag ggtgcctaaa gcaaggaacc ccaccgtgac gtacgggaaa 840
aaccaagtca tcatgctact gtatcctgac cacccaacac tcctgtccta ccggaatatg 900

ggagaagaac caaactatca agaagagtgg gtgatgcata agaaggaagt cgtgctaacc 960
gtgccgactg aagggctcga ggtcacgtgg ggcaacaacg agccgtataa gtattggccg 1020
cagttatcta caaacggtac agcccatggc cacccgcatg agataattct gtattattat 1080
gagctgtacc ccactatgac tgtagtagtt gtgtcagtgg ccacgttcat actcctgtcg 1140
atggtgggta tggcagcggg gatgtgcatg tgtgcacgac gcagatgcat cacaccgtat 1200
gaactgacac caggagctac cgtccctttc ctgcttagcc taatatgctg catcagaaca 1260
gctaaagcg 1269

<210> 268
<211> 1269
<212> DNA
<213> Chikungunya virus
<400> 268
agcaccaagg acaacttcaa tgtctataaa gccacaagac catacttagc tcactgtccc 60
gactgtggag aagggcactc gtgccatagt cccgtagcac tagaacgcat cagaaatgaa 120
gcgacagacg ggacgctgaa aatccaggtc tccttgcaaa tcggaataaa gacggacgac 180
agccacgatt ggaccaagct gcgttatatg gacaaccaca tgccagcaga cgcagagagg 240
gcggggctat ttgtaagaac atcagcaccg tgtacgatta ctggaacaat gggacacttc 300
atcctggccc gatgtccaaa aggggaaact ctgacggtgg gattcactga cagtaggaag 360

attagtcatt catgtacgca cccatttcac cacgaccctc ctgtgatagg tcgggaaaaa 420
ttccattccc gaccgcagca cggtaaagag ctaccttgca gcacgtacgt gcagagcacc 480
gccgcaacta ccgaggagat agaggtacac atgcccccag acacccctga tcgcacatta 540
atgtcacaac agtccggcaa cgtaaagatc acagtcaatg gccagacggt gcggtacaag 600
tgtaattgcg gtggctcaaa tgaaggacta acaactacag acaaagtgat taataactgc 660

aaggttgatc aatgtcatgc cgcggtcacc aatcacaaaa agtggcagta taactcccct 720

ctggtcccgc gtaatgctga acttggggac cgaaaaggaa aaattcacat cccgtttccg 780

ctggcaaatg taacatgcag ggtgcctaaa gcaaggaacc ccaccgtgac gtacgggaaa 840

aaccaagtca tcatgctact gtatcctgac cacccaacac tcctgtccta ccggaatatg 900

ggagaagaac caaactatca agaagagtgg gtgatgcata agaaggaagt cgtgctaacc 960

gtgccgactg aagggctcga ggtcacgtgg ggcaacaacg agccgtataa gtattggccg 1020

cagttatcta caaacggtac agcccatggc cacccgcatg agataattct gtattattat 1080

gagctgtacc ctactatgac tgtagtagtt gtgtcagtgg ccacgttcat actcctgtcg 1140

atggtgggta tggcagtggg gatgtgcatg tgtgcacgac gcagatgcat cacaccgtat 1200

gaactgacac caggagctac cgtccctttc ctgcttagcc taatatgctg catcagaaca 1260

gctaaagcg 1269

<210> 269

<211> 1269

<212> DNA

<213> Chikungunya virus

<400> 269

agcaccaagg acaacttcaa tgtctataaa gccacaagac catacctagc tcactgtccc 60

gactgtggag aagggcactc gtgccatagt cccgtagcac tagaacgcat cagaaatgaa 120

gcgacagacg ggacgctgaa aatccaggtc tccttgcaaa ttggaatagg gacggatgat 180

agccatgatt ggaccaagct gcgttacatg gacaatcaca taccagcaga cgcagggagg 240

gccgggctat ttgtaagaac atcagcacca tgcacgatta ctggaacaat gggacacttc 300

atcctggccc gatgtccgaa aggagaaact ctgacggtgg gattcactga cagtaggaag 360

attagtcact catgtacgca cccatttcac cacgaccctc ctgtgatagg ccgggaaaaa 420

ttccattccc gaccgcagca cggtaaagag ctaccttgca gcacgtacgt gcagagcaac 480

gccgcaactg ccgaggagat agaggtacac atgccccccag acacccctga tcgcacattg 540

ctgtcacaac agtccggcaa cgtaaagatc acagtcaata gtcagacggt gcggtataag 600

tgtaattgcg gtggctcaaa tgaaggacta ataactacag ataaagtgat taataactgc 660

aaggttgatc aatgtcatgc cgcggtcacc aatcacaaaa agtggcagta taactcccct 720

ctggtcccgc gtaacgctga actcggggac cgaaaaggaa aaattcacat cccgtttccg 780

ctggcaaatg taacatgcat ggtgcctaaa gcaaggaacc ccaccgtgac gtacgggaaa 840

aaccaagtca tcatgctact gtatcctgac cacccaacac tcctgtccta ccggagtatg 900

ggagaagaac caaactatca agaagagtgg gtgacgcaca agaaggaggt cgtgctaacc 960
gtgccgactg aagggctcga ggttacgtgg ggcaacaacg agccgtataa gtattggccg 1020
cagttatctg caaacggtac agcccacggc cacccgcatg agataatctt gtactattat 1080

gagctgtacc ctactatgac tgtagtagtt gtgtcagtgg cctcgttcat actcctgtcg 1140
atggtgggta tggcagtggg gatgtgcatg tgtgcacgac gcagatgcat cacaccatac 1200
gaactgacac caggagctac cgtccctttc ctgcttagcc taatatgctg catcagaaca 1260
gctaaagcg 1269

<210> 270
<211> 1269
<212> DNA
<213> Chikungunya virus
<400> 270

agtattaagg accacttcaa tgtctataaa gccacaagac cgtacctagc tcactgtccc 60
gactgtggag aagggcactc gtgccatagt cccgtagcgc tagaacgcat cagaaacgaa 120

gcgacagacg ggacgttgaa aatccaggtt tccttgcaaa tcggaataaa gacggatgat 180
agccatgatt ggaccaagct gcgttatatg gacaatcaca tgccagcaga cgcagagcgg 240
gccgggctat ttgtaagaac gtcagcaccg tgcacgatta ctggaacaat gggacacttc 300
attctggccc gatgtccgaa aggagaaact ctgacggcgg ggttcactga cggtaggaag 360
atcagtcact catgtacgca cccatttcac catgaccctc ctgtgatagg ccgggaaaaa 420
ttccattccc gaccgcagca cggtagggaa ctaccttgca gcacgtacgc gcagagcacc 480
gctgcaactg ccgaggagat agaggtacac atgcccccag acaccccaga tcgcacatta 540

atgtcacaac agtccggcaa tgtaaagatc acagtcaata gtcagacggt gcggtacaag 600
tgcaattgtg gtgactcaag tgaaggatta accactacag ataaagtgat taataactgc 660
aaggtcgatc aatgccatgc cgcggtcacc aatcacaaaa aatggcagta taattcccct 720
ctggtcccgc gtaatgctga attcggggac cggaaaggaa aagttcacat tccatttcct 780
ctggcaaatg tgacatgcag ggtgcctaaa gcaagaaacc ccaccgtgac gtacggaaaa 840
aaccaagtca tcatgttgct gtatcctgac cacccaacgc tcctgtccta caggaatatg 900
ggagaagaac caaactatca agaagagtgg gtgacgcata agaaggagat caggttaacc 960

gtgccgactg aggggctcga ggtcacgtgg ggtaacaatg agccgtacaa gtattggccg 1020
cagttatcca caaacggtac agcccacggc cacccgcatg agataattct gtattattat 1080
gagctgtacc caactatgac tgcggtagtt ttgtcagtgg cctcgttcat actcctgtcg 1140

atggtgggtg tggcagtggg gatgtgcatg tgtgcacgac gcagatgcat tacaccgtac 1200

gaactgacac caggagctac cgtccctttc ctgcttagcc taatatgctg cattagaaca 1260

gctaaagcg 1269

<210> 271

<211> 423

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 271

Ser Thr Lys Asp Asn Phe Asn Val Tyr Lys Ala Thr Arg Pro Tyr Leu
1 5 10 15

Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Ile
20 25 30

Ala Leu Glu Arg Ile Arg Asn Glu Ala Thr Asp Gly Thr Leu Lys Ile
35 40 45

Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Lys Thr Asp Asp Ser His Asp Trp
50 55 60

Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Ser His Thr Pro Ala Asp Ala Glu Arg
65 70 75 80

Ala Gly Leu Leu Val Arg Thr Ser Ala Pro Cys Thr Ile Thr Gly Thr
85 90 95

Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys Gly Glu Thr Leu Thr
100 105 110

Val Gly Phe Thr Asp Ser Arg Lys Ile Ser His Thr Cys Thr His Pro
115 120 125

Phe His His Glu Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu Arg Phe His Ser Arg
130 135 140

Pro Gln His Gly Lys Glu Leu Pro Cys Ser Thr Tyr Val Gln Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Thr Ala Glu Glu Ile Glu Val His Met Pro Pro Asp Thr Pro
165 170 175

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

180 185 190

Asn Gly Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys Gly Gly Ser Asn Glu
195 200 205

Gly Leu Thr Thr Thr Asp Lys Val Ile Asn Asn Cys Lys Ile Asp Gln
210 215 220

Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Lys Trp Gln Tyr Asn Ser Pro
225 230 235 240

Leu Val Pro Arg Asn Ala Glu Leu Gly Asp Arg Lys Gly Lys Ile His
245 250 255

Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Arg Val Pro Lys Ala Arg
260 265 270

Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val Thr Met Leu Leu Tyr
275 280 285

Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Asn Met Gly Gln Glu Pro
290 295 300

Asn Tyr His Glu Glu Trp Val Thr His Lys Lys Glu Val Thr Leu Thr
305 310 315 320

Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly Asn Asn Glu Pro Tyr
325 330 335

Lys Tyr Trp Pro Gln Met Ser Thr Asn Gly Thr Ala His Gly His Pro
340 345 350

His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr Pro Thr Met Thr Val
355 360 365

Ile Ile Val Ser Val Ala Ser Phe Val Leu Leu Ser Met Val Gly Thr
370 375 380

Ala Val Gly Met Cys Val Cys Ala Arg Arg Arg Cys Ile Thr Pro Tyr
385 390 395 400

Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu Leu Ser Leu Leu Cys
405 410 415

Cys Val Arg Thr Thr Lys Ala
420

<210> 272

<211> 423

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 272

Ser Ile Lys Asp His Phe Asn Val Tyr Lys Ala Thr Arg Pro Tyr Leu
1 5 10 15

Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Val
20 25 30

Ala Leu Glu Arg Ile Arg Asn Glu Ala Thr Asp Gly Thr Leu Lys Ile
35 40 45

Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Lys Thr Asp Asp Ser His Asp Trp
50 55 60

Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Asn His Met Pro Ala Asp Ala Glu Arg
65 70 75 80

Ala Gly Leu Phe Val Arg Thr Ser Ala Pro Cys Thr Ile Thr Gly Thr
85 90 95

Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys Gly Glu Thr Leu Thr
100 105 110

Ala Gly Phe Thr Asp Gly Arg Lys Ile Ser His Ser Cys Thr His Pro
115 120 125

Phe His His Asp Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu Lys Phe His Ser Arg
130 135 140

Pro Gln His Gly Arg Glu Leu Pro Cys Ser Thr Tyr Ala Gln Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Thr Ala Glu Glu Ile Glu Val His Met Pro Pro Asp Thr Pro
165 170 175

Asp Arg Thr Leu Met Ser Gln Gln Ser Gly Asn Val Lys Ile Thr Val
180 185 190

Asn Ser Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys Gly Asp Ser Ser Glu
195 200 205

Gly Leu Thr Thr Thr Asp Lys Val Ile Asn Asn Cys Lys Val Asp Gln
210 215 220

Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Lys Trp Gln Tyr Asn Ser Pro
225 230 235 240

Leu Val Pro Arg Asn Ala Glu Phe Gly Asp Arg Lys Gly Lys Val His
245 250 255

Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Arg Val Pro Lys Ala Arg
260 265 270

Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val Ile Met Leu Leu Tyr
275 280 285

Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Asn Met Gly Glu Glu Pro
290 295 300

Asn Tyr Gln Glu Glu Trp Val Thr His Lys Lys Glu Ile Arg Leu Thr
305 310 315 320

Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly Asn Asn Glu Pro Tyr
325 330 335

Lys Tyr Trp Pro Gln Leu Ser Thr Asn Gly Thr Ala His Gly His Pro
340 345 350

His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr Pro Thr Met Thr Ala
355 360 365

Val Val Leu Ser Val Ala Ser Phe Ile Leu Leu Ser Met Val Gly Val
370 375 380

Ala Val Gly Met Cys Met Cys Ala Arg Arg Arg Cys Ile Thr Pro Tyr
385 390 395 400

Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ile Cys
405 410 415

Cys Ile Arg Thr Ala Lys Ala
420

<210> 273

<211> 423

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 273

Ser Ile Lys Asp Asn Phe Asn Val Tyr Lys Ala Ile Arg Pro Tyr Leu
1 5 10 15
Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Val
20 25 30

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

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

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

Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Lys Trp Gln Tyr Asn Ser Pro
225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Arg Val Pro Lys Ala Arg

260 265 270

Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val Ile Met Leu Leu Tyr

275 280 285

Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Asn Met Gly Glu Glu Pro

290 295 300

Asn Tyr Gln Glu Glu Trp Val Thr His Lys Lys Glu Ile Arg Leu Thr

305 310 315 320

Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly Asn Asn Glu Pro Tyr

325 330 335

Lys Tyr Trp Pro Gln Leu Ser Thr Asn Gly Thr Ala His Gly His Pro

340 345 350

His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr Pro Thr Met Thr Val

355 360 365

Val Val Val Ser Val Ala Ser Phe Val Leu Leu Ser Met Val Gly Val

370 375 380

Ala Val Gly Met Cys Met Cys Ala Arg Arg Arg Cys Ile Thr Pro Tyr

385 390 395 400

Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ile Cys

405 410 415

Cys Ile Arg Thr Ala Lys Ala

420

<210> 274

<211> 423

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 274

Ser Thr Lys Asp Asn Phe Asn Val Tyr Lys Ala Thr Arg Pro Tyr Leu

1 5 10 15

Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Val

20 25 30

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

35 40 45

Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Gly Thr Asp Asp Ser His Asp Trp

50 55 60

Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Asn His Ile Pro Ala Asp Ala Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys Gly Glu Thr Leu Thr

100 105 110

Val Gly Phe Thr Asp Ser Arg Lys Ile Ser His Ser Cys Thr His Pro

115 120 125

Phe His His Asp Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu Lys Phe His Ser Arg

130 135 140

Pro Gln His Gly Lys Glu Leu Pro Cys Ser Thr Tyr Val Gln Ser Asn

145 150 155 160

Ala Ala Thr Ala Glu Glu Ile Glu Val His Met Pro Pro Asp Thr Pro

165 170 175

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

180 185 190

Asn Ser Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys Gly Gly Ser Asn Glu

195 200 205

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

210 215 220

Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Lys Trp Gln Tyr Asn Ser Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Met Val Pro Lys Ala Arg

260 265 270

Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val Ile Met Leu Leu Tyr
275 280 285

Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Ser Met Gly Glu Glu Pro
290 295 300

Asn Tyr Gln Glu Glu Trp Val Thr His Lys Lys Glu Val Val Leu Thr
305 310 315 320

Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly Asn Asn Glu Pro Tyr
325 330 335

Lys Tyr Trp Pro Gln Leu Ser Ala Asn Gly Thr Ala His Gly His Pro
340 345 350

His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr Pro Thr Met Thr Val
355 360 365

Val Val Val Ser Val Ala Ser Phe Ile Leu Leu Ser Met Val Gly Met
370 375 380

Ala Val Gly Met Cys Met Cys Ala Arg Arg Arg Cys Ile Thr Pro Tyr
385 390 395 400

Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ile Cys
405 410 415

Cys Ile Arg Thr Ala Lys Ala
420

<210> 275

<211> 423

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 275

Ser Thr Lys Asp Asn Phe Asn Val Tyr Lys Ala Thr Arg Pro Tyr Leu
1 5 10 15

Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Val
20 25 30

Ala Leu Glu Arg Ile Arg Asn Glu Ala Thr Asp Gly Thr Leu Lys Ile
35 40 45

Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Lys Thr Asp Asp Ser His Asp Trp

50 55 60

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

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

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

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

Asn Tyr Gln Glu Glu Trp Val Met His Lys Lys Glu Val Val Leu Thr
305 310 315 320

Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly Asn Asn Glu Pro Tyr
325 330 335

Lys Tyr Trp Pro Gln Leu Ser Thr Asn Gly Thr Ala His Gly His Pro
340 345 350

His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr Pro Thr Met Thr Val
355 360 365

Val Val Val Ser Val Ala Thr Phe Ile Leu Leu Ser Met Val Gly Met
370 375 380

Ala Val Gly Met Cys Met Cys Ala Arg Arg Arg Cys Ile Thr Pro Tyr
385 390 395 400

Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ile Cys
405 410 415

Cys Ile Arg Thr Ala Lys Ala
420

<210> 276

<211> 423

<212> PRT

<213> Chikungunya virus

<400> 276

Ser Thr Lys Asp Asn Phe Asn Val Tyr Lys Ala Thr Arg Pro Tyr Leu
1 5 10 15

Ala His Cys Pro Asp Cys Gly Glu Gly His Ser Cys His Ser Pro Val
20 25 30

Ala Leu Glu Arg Ile Arg Asn Glu Ala Thr Asp Gly Thr Leu Lys Ile
35 40 45

Gln Val Ser Leu Gln Ile Gly Ile Lys Thr Asp Asp Ser His Asp Trp
50 55 60

Thr Lys Leu Arg Tyr Met Asp Asn His Met Pro Ala Asp Ala Glu Arg
65 70 75 80

Ala Gly Leu Phe Val Arg Thr Ser Ala Pro Cys Thr Ile Thr Gly Thr
85 90 95

Met Gly His Phe Ile Leu Ala Arg Cys Pro Lys Gly Glu Thr Leu Thr
100 105 110

Val Gly Phe Thr Asp Ser Arg Lys Ile Ser His Ser Cys Thr His Pro
115 120 125

Phe His His Asp Pro Pro Val Ile Gly Arg Glu Lys Phe His Ser Arg
130 135 140

Pro Gln His Gly Lys Glu Leu Pro Cys Ser Thr Tyr Val Gln Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Thr Thr Glu Glu Ile Glu Val His Met Pro Pro Asp Thr Pro
165 170 175

Asp Arg Thr Leu Met Ser Gln Gln Ser Gly Asn Val Lys Ile Thr Val
180 185 190

Asn Gly Gln Thr Val Arg Tyr Lys Cys Asn Cys Gly Gly Ser Asn Glu
195 200 205

Gly Leu Thr Thr Thr Asp Lys Val Ile Asn Asn Cys Lys Val Asp Gln
210 215 220

Cys His Ala Ala Val Thr Asn His Lys Lys Trp Gln Tyr Asn Ser Pro
225 230 235 240

Leu Val Pro Arg Asn Ala Glu Leu Gly Asp Arg Lys Gly Lys Ile His
245 250 255

Ile Pro Phe Pro Leu Ala Asn Val Thr Cys Arg Val Pro Lys Ala Arg
260 265 270

Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Lys Asn Gln Val Ile Met Leu Leu Tyr
275 280 285

Pro Asp His Pro Thr Leu Leu Ser Tyr Arg Asn Met Gly Glu Glu Pro
290 295 300

Asn Tyr Gln Glu Glu Trp Val Met His Lys Lys Glu Val Val Leu Thr
305 310 315 320

Val Pro Thr Glu Gly Leu Glu Val Thr Trp Gly Asn Asn Glu Pro Tyr

325 330 335

Lys Tyr Trp Pro Gln Leu Ser Thr Asn Gly Thr Ala His Gly His Pro

340 345 350

His Glu Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr Glu Leu Tyr Pro Thr Met Thr Val

355 360 365

Val Val Val Ser Val Ala Thr Phe Ile Leu Leu Ser Met Val Gly Met

370 375 380

Ala Ala Gly Met Cys Met Cys Ala Arg Arg Arg Cys Ile Thr Pro Tyr

385 390 395 400

Glu Leu Thr Pro Gly Ala Thr Val Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ile Cys

405 410 415

Cys Ile Arg Thr Ala Lys Ala

420