



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0105107
(43) 공개일자 2017년09월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 39/12 (2006.01) *A61K 38/16* (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01) *C12N 7/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 39/12 (2013.01)
A61K 38/164 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2017-7023587

(22) 출원일자(국제) 2016년02월24일

심사청구일자 2017년08월23일

(85) 번역문제출일자 2017년08월23일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/019401

(87) 국제공개번호 WO 2016/138164

국제공개일자 2016년09월01일

(30) 우선권주장

62/121,406 2015년02월26일 미국(US)

(71) 출원인

더박스 제네티кс 백신 코포레이션, 엘티디.
중화민국, 타이완 10685, 타이페이 시티, 다-안
디스트릭트, 렌-아이 로드, 섹션 4, 넘버 25-2,
5층

(72) 발명자

우 치아-마오

중화민국 타이완 302 신주 카운티 주베이 시티 주
양정 1번 로드 넘버 88 2층

우 전-명

중화민국 타이완 302 신주 카운티 주베이 시티 주
양정 1번 로드 넘버 88 2층

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

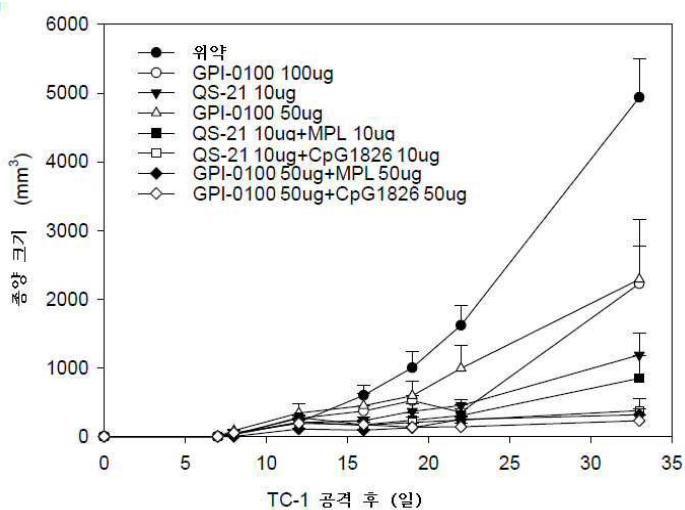
특허법인아주김장리

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 항원-특이적인 T-세포 반응을 도출하는 데 사용하기 위한 면역원성 단백질 및 조합 아주반트를 포함하는 백신 조성물

(57) 요약

증가된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응 유도가 필요한 대상체에서 증가된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응을 유도하는 데 사용하기 위한 백신 조성물이 개시된다. 조성물은 (a) 적어도 병원체의 항원을 포함하는 치료적 유효량의 면역원성 단백질; (b) GPI-0100, 웰 A, QS-21로 이루어진 군으로부터 선택된 사포닌-기재 아주반트; (c) 모노포스포릴 지질 A(MPL), 및 CpG1826으로 이루어진 군으로부터 선택된 톨-유사 수용체(TLR) 효능제 아주반트를 포함한다.

대 표 도 - 도11

(52) CPC특허분류

A61K 38/1774 (2013.01)

A61K 39/39 (2013.01)

C12N 7/00 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

A61K 2039/55511 (2013.01)

A61K 2039/55561 (2013.01)

A61K 2039/55572 (2013.01)

C12N 2710/20033 (2013.01)

C12N 2710/20034 (2013.01)

(72) 발명자

치우 이-추이

중화민국 타이완 302 신주 카운티 주베이 시티 주
양정 1번 로드 넘버 88 2층

린 인-칭

중화민국 타이완 302 신주 카운티 주베이 시티 주
양정 1번 로드 넘버 88 2층

추앙 션-카이

중화민국 타이완 302 신주 카운티 주베이 시티 주
양정 1번 로드 넘버 88 2층

시에 푸-탄

중화민국 타이완 302 신주 카운티 주베이 시티 주
양정 1번 로드 넘버 88 2층

첸 펤-밍

중화민국 타이완 302 신주 카운티 주베이 시티 주
양정 1번 로드 넘버 88 2층

명세서

청구범위

청구항 1

조성물로서,

- (a) 적어도 병원체(pathogen)의 항원을 포함하는 치료적 유효량의 면역원성 단백질(immunogenic protein);
- (b) GPI-0100, 퀼 A(Quil A), QS-21로 이루어진 군으로부터 선택된 사포닌-기재 아주반트(adjuvant); 및
- (c) 모노포스포릴 지질 A(MPL), 및 CpG1826으로 이루어진 군으로부터 선택된 톨-유사 수용체(Toll-like receptor: TLR) 효능제 아주반트를 포함하는, 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 만니톨, 수크로스, 트레할로스, 히스틴딘, 글리신, 아르기닌, 소르비톨, 폴리소르베이트(Polysorbate) 80, 글루코스, 락토스, 말토스, 말토덱스트린, 시트레이트, 트리스(Tris) 및 인산나트륨으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 첨가제를 더 포함하는, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 면역원성 단백질은,

- (a) 상기 융합 단백질의 N-말단에 위치된, 항원-제시 세포(antigen-presenting cell: APC)-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인;
- (b) 상기 APC-결합 도메인 또는 상기 CD91 수용체-결합 도메인의 C-말단에 위치된, 단백질 형질도입 도메인; 및
- (c) 상기 단백질 형질도입 도메인의 C-말단에 위치된 병원체의 항원

을 포함하는 융합 단백질이고,

상기 단백질 형질도입 도메인은,

- (i) 융합 폴리펩타이드로서,

(1) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, Xaa⁸은 I 또는 L이며; Xaa¹⁰은 V, F 또는 A이고, Xaa¹¹은 M 또는 L이며, Xaa¹⁷은 L 또는 I이고, 상기 융합 폴리펩타이드의 N-말단에 위치된, 28 내지 53개의 아미노산 잔기 길이로 이루어진 T 세포 민감성 신호-형질도입 웨타이드(T cell sensitizing signal-transducing peptide);

(2) 서열번호 3, 20 또는 4와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 34 내지 112개의 아미노산 잔기 길이로 이루어진 전좌(translocation) 웨타이드; 및

(3) 서열번호 15를 포함하는, 상기 T 세포 민감성 신호-형질도입 웨타이드와 상기 전좌 웨타이드를 연결하는 링커

를 포함하는, 상기 융합 폴리펩타이드;

(ii) 상기 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, Xaa⁸은 I 또는 L이며, Xaa¹⁰은 V, F 또는 A이고, Xaa¹¹은 M 또는 L이며, Xaa¹⁷은 L 또는 I인, 28 내지 53개의 아미노산 잔기 길이로 이루어진 T 세포-민감성 신호-형질도입 웨타이드; 및

(iii) 서열번호 3 또는 20과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 34 내지 46개의 아미노산 잔기 길이의 전좌 웨타이드

로 이루어진 군으로부터 선택되며,

상기 APC-결합 도메인 또는 상기 CD91 수용체-결합 도메인은 상기 단백질 형질도입 도메인이 (biii)에서의 34

내지 46개의 아미노산 잔기 길이의 전좌 웨타이드인 경우, 슈도모나스 엑소톡신(Pseudomonas exotoxin) A(PE) 결합 도메인 I의 아미노산 서열을 갖지 않는, 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 단백질 형질도입 도메인은 서열번호 30의 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 APC-결합 도메인 또는 상기 CD91 수용체-결합 도메인은 서열번호 5, 9, 6, 7, 및 8로 이루어진 군으로부터 선택된 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리웨타이드인, 조성물.

청구항 6

제3항에 있어서, 상기 T 세포 민감성 신호-형질도입 웨타이드는 서열번호 1 및 2로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 7

제3항에 있어서, 상기 전좌 웨타이드는 상기 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 8

제3항에 있어서, 상기 병원체는 인간 파필로마바이러스(Human Papillomavirus: HPV), 돼지 재생산 및 호흡 증후군 바이러스(Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus: PRRSV), 인간 면역-결핍 바이러스(Human Immuno-deficient Virus: HIV-1), 독감 바이러스(flu virus), 맹기 바이러스(dengue virus), C형 감염 바이러스(Hepatitis C virus: HCV), B형 감염 바이러스(Hepatitis B virus: HBV) 및 돼지 서코바이러스 2(Porcine Circovirus 2: PCV2)로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1종인, 조성물.

청구항 9

제3항에 있어서, 상기 병원체의 항원은 인간 파필로마바이러스(HPV) E7 단백질, B형 감염 바이러스(HBV) HBx 단백질, C형 감염 바이러스(HCV) 중심 항원, 독감 바이러스 M2 항원, 및 종양 연관 항원으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 종양 연관 항원은 SSX2, MAGE-A3, NY-ESO-1, iLRP, WT12-281, RNF43(2-116 + 696-783) 및 CEA-NE3으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 HPV E7 단백질은 서열번호 21과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 12

제3항에 있어서, 상기 융합 단백질은 상기 융합 단백질의 C-말단에 위치된 세포질 그물 보유 서열(endoplasmic reticulum retention sequence)을 더 포함하는, 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 면역원성 단백질은,

- (a) 상기 융합 단백질의 N-말단에 위치된, 항원-제시 세포(APC)-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인;
- (b) 상기 APC-결합 도메인 또는 상기 CD91 수용체-결합 도메인의 C-말단에 위치된, 서열번호 3, 4, 20, 또는 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 34 내지 112개의 아미노산 잔기 길이의 전좌 웨타이드;
- (c) 병원체의 항원;
- (d) 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 핵 외수송 신호; 및

(e) 상기 융합 단백질의 C-말단에 위치된 세포질 그물 보유 서열을 포함하는 융합 단백질이되,

상기 핵 외수송 신호는 상기 항원과 상기 세포질 그물 보유 서열 사이에, 또는 상기 전좌 펩타이드와 상기 항원 사이에 위치된, 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 면역원성 단백질은,

- (a) 상기 융합 단백질의 N-말단에 위치된, 항원-제시 세포(APC)-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인;
- (b) 상기 APC-결합 도메인 또는 상기 CD91 수용체-결합 도메인의 C-말단에 위치된, 서열번호 3, 20, 또는 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 34 내지 61개의 아미노산 잔기 길이의 전좌 펩타이드;
- (c) 병원체의 항원;
- (d) 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 핵 외수송 신호; 및

(e) 상기 융합 단백질의 C-말단에 위치된 세포질 그물 보유 서열을 포함하는 융합 단백질이되;

상기 핵 외수송 신호는 상기 항원과 상기 세포질 그물 보유 서열 사이에, 또는 상기 전좌 펩타이드와 상기 항원 사이에 위치된, 조성물.

청구항 15

병원체 항원-특이적인 T 세포-매개된 면역 반응의 도출이 필요한 대상체에서 병원체 항원-특이적인 T 세포-매개된 면역 반응을 도출하기 위한 약제의 제조에서의, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 청구된 조성물의 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일반적으로 백신 제형, 보다 특별하게는 조합 아주반트(combination adjuvant)를 갖는 백신 제형에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 아주반트는 다수의 백신의 주요 성분이다. 대부분의 기존 백신은 단일 아주반트를 함유한다. 이의 내재하는 제한으로 인해서, 어떤 단일 아주반트도 다수의 상이한 백신에 요구되는 보호성 면역 반응 모두를 유도할 수는 없다. 따라서, 백신에서 다수의 아주반트를 갖는 제형을 사용할 가능성을 탐구할 필요가 있다.

발명의 내용

[0003] 일 양상에서, 본 발명은,

[0004] (a) 적어도 병원체(pathogen)의 항원을 포함하는 치료적 유효량의 면역원성(immunogenic protein) 단백질;

[0005] (b) GPI-0100, 퀼(Quil) A, QS-21로 이루어진 군으로부터 선택된 사포닌-기재 아주반트; 및

[0006] (c) 모노포스포릴 지질 A(MPL), 및 CpG1826으로 이루어진 군으로부터 선택된 톨-유사 수용체(Toll-like receptor: TLR) 효능제 아주반트를 포함하는 백신 조성물에 관한 것이다.

[0007] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 조성물은 만니톨, 수크로스, 트레할로스, 히스틴딘, 글리신, 아르기닌, 소르비톨, 폴리소르베이트(Polysorbate) 80, 글루코스, 락토스, 말토스, 말토덱스트린, 시트레이트, 트리스(Tris) 및 인산나트륨으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 첨가제를 추가로 포함한다.

[0008] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 면역원성 단백질은 융합 단백질로서, 융합 단백질은

[0009] (a) 융합 단백질의 N-말단에 위치된, 항원-제시 세포(antigen-presenting cell: APC)-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인;

- [0010] (b) APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인의 C-말단에 위치된, 단백질 형질도입 도메인; 및
- [0011] (c) 단백질 형질도입 도메인의 C-말단에 위치된, 병원체의 항원을 포함하되,
- [0012] 단백질 형질도입 도메인은,
- [0013] (i) 융합 폴리펩타이드로서,
- [0014] (1) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, Xaa⁸은 I 또는 L이며; Xaa¹⁰은 V, F 또는 A이고, Xaa¹¹은 M 또는 L이며, Xaa¹⁷은 L 또는 I이고, 융합 폴리펩타이드의 N-말단에 위치된, 28 내지 53개의 아미노산 잔기 길이로 이루어진 T 세포 민감성 신호-형질도입 웨프타이드(T cell sensitizing signal-transducing peptide);
- [0015] (2) 서열번호 3, 20, 4 또는 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 34 내지 112개의 아미노산 잔기 길이로 이루어진 전좌(translocation) 웨프타이드; 및
- [0016] (3) 서열번호 15를 포함하는, T 세포 민감성 신호-형질도입 웨프타이드와 전좌 웨프타이드를 연결하는 링커를 포함하는, 상기 융합 폴리펩타이드;
- [0017] (ii) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, Xaa⁸은 I 또는 L이며, Xaa¹⁰은 V, F 또는 A이고, Xaa¹¹은 M 또는 L이며, Xaa¹⁷은 L 또는 I인, 28 내지 53개의 아미노산 잔기 길이로 이루어진 T 세포-민감성 신호-형질도입 웨프타이드; 및
- [0018] (iii) 서열번호 3, 20 또는 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 34 내지 61개의 아미노산 잔기 길이의 전좌 웨프타이드로 이루어진 군으로부터 선택되며,
- [0019] 여기서 APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인은 단백질 형질도입 도메인이 (biii)에서의 전좌 웨프타이드인 경우, 슈도모나스 엑소톡신(Pseudomonas exotoxin) A(PE) 결합 도메인 Ia의 아미노산 서열을 갖지 않는다.
- [0020] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 단백질 형질도입 도메인은 서열번호 30의 서열을 포함한다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인은 서열번호 5, 9, 6, 7, 및 8로 이루어진 군으로부터 선택된 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이다.
- [0022] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인은 서열번호 5, 9, 6, 7, 및 8로 이루어진 군으로부터 선택된 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0023] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인은 서열번호 5, 9, 6, 7, 및 8로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드이다.
- [0024] 대안적으로, APC-결합 도메인은 수용체-연관 단백질-1(RAP1) 도메인 III, 알파-2-마크로글로불린 수용체-연관 단백질(A2M), HIV-Tat, 및 열 충격 단백질(HSP), 및 슈도모나스 엑소톡신 A(PE) 결합 도메인 Ia로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0025] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 융합 단백질은 슈도모나스 엑소톡신 A(PE) 결합 도메인 Ia의 아미노산 서열을 갖지 않는다.
- [0026] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 융합 단백질은 융합 단백질의 C-말단에 위치된 세포질 그물 보유 서열(endoplasmic reticulum retention sequence)을 추가로 포함한다.
- [0027] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 세포질 그물(ER) 보유 서열은 Lys-Asp-Glu-Leu의 아미노산 서열(서열번호 14)을 포함한다. ER 보유 서열은 서열번호 14, 16 내지 19로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함할 수 있다. 대안적으로, ER 보유 서열은 서열번호 16 내지 19로 이루어진 군으로부터 선택된 서열로 이루어질 수 있다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 융합 단백질은, 항원이 10개 이상의 에피토프를 함유하는 경우, 이의 C-말단에서 세포질 그물 보유 서열을 갖지 않는다.
- [0029] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 단백질 형질도입 도메인은 (bi)의 융합 폴리펩타이드이다.
- [0030] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 단백질 형질도입 도메인은 (bii)의 T 세포-민감성 신호-형질도입 웨프타이드이

다.

- [0031] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 융합 단백질은 단백질 형질도입 도메인과 항원 사이에 추가 링커를 추가로 포함하고, 추가 링커는 서열번호 15를 포함한다.
- [0032] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 단백질 형질도입 도메인은 (biii)의 전좌 웨타이드이다.
- [0033] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 융합 단백질은 APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인과 전좌 웨타이드 사이에 추가 링커를 추가로 포함하고, 추가 링커는 서열번호 15를 포함한다.
- [0034] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 단백질 형질도입 도메인은 서열번호 30의 서열을 포함한다.
- [0035] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, T 세포 민감성 신호-형질도입 웨타이드는 서열번호 1 또는 2와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0036] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, T 세포 민감성 신호-형질도입 웨타이드는 서열번호 1 및 2로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0037] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 전좌 웨타이드는 서열번호 3, 20, 4, 및 41로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0038] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 전좌 웨타이드는 34 내지 61개의 아미노산 잔기 길이를 갖는다.
- [0039] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 상기에 언급된 바와 같은 융합 단백질의 단백질 형질도입 도메인은 하기 특징을 갖는다: (i) T 세포-민감성 신호-형질도입 웨타이드는 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열을 포함하고; (ii) 전좌 웨타이드는 서열번호 3과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0040] T 세포 민감성 신호-형질도입 웨타이드는 T 세포 상의 CD28 수용체의 $K^{1,2}X^{3,4}X^{5,6}Y^{7,8}P^{9,10}P$ (서열번호 32)의 아미노산 서열을 인식하고, 그것에 결합하는 항체를 도출하는 특징을 나타내고, 여기서 X^2 는 I 또는 L이고; X^4 는 V, F 또는 A이고, X^5 는 M 또는 L이다.
- [0041] 항원-제시 세포(APC)는 수지상(dendritic) 세포, 마크로파지, B-세포 및 단핵구로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 일 실시형태에서, APC의 세포 막은 CD91 수용체를 포함한다.
- [0043] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 병원체는 인간 파필로마바이러스(Human Papillomavirus: HPV), 돼지 재생산 및 호흡 증후군 바이러스(Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus: PRRSV), 인간 면역-결핍 바이러스(Human Immuno-deficient Virus: HIV-1), 독감 바이러스(flu virus), 뎅기 바이러스(dengue virus), C형 간염 바이러스(Hepatitis C virus: HCV), B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus: HBV) 및 돼지 서코바이러스 2(Porcine Circovirus 2: PCV2)로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나이다.
- [0044] 본 발명의 일 실시형태에서, 병원체의 항원은 인간 파필로마바이러스(HPV) E7 단백질, B형 간염 바이러스(HBV) HBx 단백질, C형 간염 바이러스(HCV) 중심 항원, 독감 바이러스 M2 항원, 및 종양 연관 항원으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0045] 본 발명의 일 실시형태에서, HPV E7 단백질은 서열번호 21과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0046] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 종양 연관 항원은 SSX2, MAGE-A3, NY-ESO-1, iLRP, WT12-281, RNF43(2-116 + 696-783), 및 CEA-NE3으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0047] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 항원은 서열번호 21 및 22로 이루어진 군으로부터 선택된 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 HPV E7 항원이다. 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 항원은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 HPV E7 항원이다.
- [0048] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 융합 단백질은 융합 단백질의 C-말단에 위치된 세포질 그물 보유 서열을 추가로 포함한다.
- [0049] 본 발명의 일 실시형태에서, 면역원성 단백질은 서열번호 54의 서열을 포함하는 융합 단백질이다. 예를 들어, 면역원성 단백질은 융합 단백질 PE₄₀₇-E7-K3(서열번호 54)이다.

- [0050] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 면역원성 단백질은 서열번호 55의 서열을 포함하는 융합 단백질이다. 예를 들어, 면역원성 단백질은 융합 단백질 RAP1-CD28convPE_c-E7-K3(서열번호 55)이다.
- [0051] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 면역원성 단백질은,
- [0052] (a) 융합 단백질의 N-말단에 위치된, 항원-제시 세포(APC)-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인;
- [0053] (b) APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인의 C-말단에 위치된, 서열번호 3, 4, 20, 또는 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 34 내지 112개의 아미노산 잔기 길이의 전좌 웹타이드;
- [0054] (c) 병원체의 항원;
- [0055] (d) 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 핵 외수송 신호; 및
- [0056] (e) 융합 단백질의 C-말단에 위치된 세포질 그물 보유 서열
- [0057] 을 포함하는 융합 단백질이고;
- [0058] 여기서 핵 외수송 신호는 항원과 세포질 그물 보유 서열 사이에, 또는 전좌 웹타이드와 항원 사이에 위치된다.
- [0059] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 면역원성 단백질은,
- [0060] (a) 융합 단백질의 N-말단에 위치된, 항원-제시 세포(APC)-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인;
- [0061] (b) APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인의 C-말단에 위치된, 서열번호 3, 20, 또는 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 34 내지 61개의 아미노산 잔기 길이의 전좌 웹타이드;
- [0062] (c) 병원체의 항원;
- [0063] (d) 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 핵 외수송 신호; 및
- [0064] (e) 융합 단백질의 C-말단에 위치된 세포질 그물 보유 서열
- [0065] 을 포함하는 융합 단백질이고;
- [0066] 여기서 핵 외수송 신호는 항원과 세포질 그물 보유 서열 사이에, 또는 전좌 웹타이드와 항원 사이에 위치된다.
- [0067] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 서열번호 44의 C-말단 아미노산은 알라닌이다.
- [0068] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 핵 외수송 신호는 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0069] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 세포질 그물 보유 서열은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0070] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 핵 외수송 신호 및 ER 보유 서열은 서열번호 43과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 융합 웹타이드를 형성한다.
- [0071] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 전좌 웹타이드는 34 내지 61개의 아미노산 잔기 길이를 갖는다.
- [0072] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 전좌 웹타이드는 34 내지 46개의 아미노산 잔기 길이를 갖는다.
- [0073] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인은 슈도모나스 엑소톡신 A(PE) 결합 도메인 Ia의 아미노산 서열을 갖지 않는다.
- [0074] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인은 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0075] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인의 아미노산 서열은 서열번호 9이다.
- [0076] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 항원은 병원체로부터의 2개의 항원 웹타이드의 융합 항원이다.
- [0077] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, ER 보유 서열은 4개 초과의 아미노산 잔기 길이를 갖는다.
- [0078] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 전좌 웹타이드는 서열번호 3, 4, 20, 또는 41과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0079] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, APC-결합 도메인 또는 CD91 수용체-결합 도메인은 수지상 세포, 단핵구, B-세

포 및 림프구로 이루어진 군으로부터 선택된 항원-제시 세포(APC) 상의 수용체를 인식하고, 그것에 결합하는 특징을 나타낸다.

[0080] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 병원체는 돼지 재생산 및 호흡 증후군 바이러스(PPRSV), 돼지 서코바이러스 2(PCV2), 구제역 바이러스(Foot-and-mouth disease virus: FMDV), 돼지 콜레라 바이러스(Classical Swine Fever Virus: CSFV), 뉴캐슬병 바이러스(Newcastle disease virus: NDV), 전염성 위장염 바이러스(Transmissible gastroenteritis virus: GEV), 돼지 유행성 설사병 바이러스(Porcine epidemic diarrhea virus: PEDV), 인플루엔자 바이러스(Influenza virus), 가성 광견병 바이러스(Pseudorabies virus), 파르보바이러스(Parvovirus), 가성 광견병 바이러스, 돼지 수포병 바이러스(Swine vesicular disease virus: SVDV), 수두 바이러스(Poxvirus), 로타 바이러스(Rotavirus), 마이코플라스마 폐렴(Mycoplasma pneumonia), 헤르페스 바이러스(Herpes virus), 전염성 기관지염(Infectious bronchitis) 및 전염성 F낭병 바이러스(Infectious bursal disease virus)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0081] 조성물은 비경구, 예컨대 피하 또는 근육내 주사를 위한 투여 형태일 수 있다.

[0082] 또 다른 양상에서, 본 발명은 증가된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응 유도가 필요한 대상체에서 증가된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응을 유도하기 위한 약제의 제조에서의, 상기에 언급된 바와 같은 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0083] 대안적으로, 또 다른 양상에서, 본 발명은 증가된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응 유도가 필요한 대상체에서 증가된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응을 유도하는 데 사용하기 위한 상기에 언급된 바와 같은 조성물에 관한 것이다.

[0084] 추가로 대안적으로, 본 발명은 증가된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응의 유도가 필요한 대상체에 상기에 언급된 바와 같은 치료적 유효량의 조성물을 투여하여, 이것이 필요한 대상체에서 증가된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응을 유도하는 단계를 포함하는, 증가된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응 유도가 필요한 대상체에서 증가된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응을 유도하는 방법에 관한 것이다.

[0085] 이들 및 다른 양상은 하기 도면과 함께 존재하는 바람직한 실시형태의 하기 설명으로부터 명백할 것이지만, 그내에서의 변화 및 변경이 본 개시내용의 신규 개념의 사상 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 수행될 수 있다.

[0086] 첨부 도면은 기재된 설명과 함께 본 발명의 하나 이상의 실시형태를 설명하고, 본 발명의 원리를 제공한다. 어디에서도 가능하게는, 동일한 참조 부호가 도면 전체에서 사용되어 실시형태의 동일하거나 또는 유사한 요소를 지칭한다.

도면의 간단한 설명

[0087] 도 1은 작제물의 개략도를 나타낸 도면.

도 2는 다양한 백신 조성물에 의해서 유도된 세포 매개된 면역원성을 나타낸 표.

도 3은 다양한 백신 조성물에 의해서 유도된 체액성(humoral) 면역원성을 나타낸 표.

도 4는 면역법 스케줄을 나타낸 도면.

도 5a는 면역원성 단백질 PE₄₀₇-E7-K3에 의해서 도출된 T 세포-매개된 면역 반응의 자극에 대한 사포닌-기재 아주반트 GPI-0100과 TLR 효능제 아주반트의 상호 작용을 나타낸 그래프.

도 5b는 GPI-0100(50 μ g/용량)에 정규화된 도 5a의 데이터의 그래프.

도 6은 도 5a의 동물군으로부터의 항체 역가를 나타낸 그래프.

도 7a는 면역원성 단백질 PE₄₀₇-E7-K3에 의해서 도출된 T 세포-매개된 면역 반응의 자극에 대한 사포닌-기재 아주반트 QS-21과 TLR 효능제 아주반트의 상호 작용을 나타낸 그래프.

도 7b는 QS-21(10 μ g/용량)에 정규화된 도 7a의 데이터의 그래프.

도 7c는 GPI-0100(100 μ g/용량)에 정규화된 도 7a의 데이터의 그래프.

도 8은 도 7a의 동물군으로부터의 항체 역가를 나타낸 그래프.

도 9는 제시된 바와 같은 다양한 백신 제형에 의해서 도출된 T 세포-매개된 면역 반응을 나타낸 그래프.

도 10a는 면역원성 단백질 및 1종 또는 2종의 아주반트를 포함하는 다양한 백신 제형을 나타낸 표.

도 10b는 종양 마우스 모델에서의 면역법 스케줄을 나타낸 도면.

도 11은 다양한 아주반트(n=4)와 조합된 PE₄₀₇-E7-K3으로 백신 접종된 동물군으로부터의 종양 크기 곡선을 나타낸 그래프. 위약군을 PBS(즉, 아주반트 및 PE₄₀₇-E7-K3이 없음)로 처리하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0088] 본 발명은 단지 설명으로서 의도된 하기 실시예에서 보다 특별하게 기술되는데, 그 이유는 그 내의 다수의 변형 및 변화가 관련 기술의 통상의 기술자에게 자명할 것이기 때문이다. 본 발명의 다양한 실시형태를 이제 상세하게 기술한다. 도면을 참고하여, 유사한 숫자는 도면 전체에서 유사한 성분을 나타낸다. 본 명세서의 설명 및 이어진 청구범위 전체에 걸쳐서 사용된 바와 같이, 단수의 의미는 그 문맥이 달리 명백하게 언급하지 않는 한 복수의 참조를 포함한다. 또한, 본 명세서에서 설명 및 이어진 청구범위 전체에 걸쳐서 사용된 바와 같이, "내에"는 그 문맥이 달리 명백하게 언급하지 않는 한 "내에" 그리고 "상에"를 포함한다. 또한, 제목 및 부제목은 본 발명의 범주에 영향을 주지 않고, 독자의 편의를 위해서 본 명세서에서 사용될 수 있다. 추가로, 본 명세서에서 사용된 일부 용어는 하기에 더 구체적으로 정의되어 있다.

정의

[0089] 본 명세서에서 사용된 용어는 일반적으로 본 발명의 문맥 내에서 관련 기술 분야에서 그리고 각각의 용어가 사용된 특정 문맥에서의 그들의 보통 의미를 갖는다. 본 발명을 기술하는 데 사용된 특정 용어는 본 발명의 설명에 관련된 전문가에게 추가적인 안내를 제공하기 위해서 하기 또는 어딘가에 논의되어 있다. 편의를 위해서, 특정 용어는 예를 들어, 이탈릭체 및/또는 따옴표 마크를 사용하여 강조될 수 있다. 강조의 사용은 용어의 범주 및 의미에 영향을 주지 않고; 용어의 범주 및 의미는 그것이 강조되던지 강조되지 않던지 간에 동일한 문맥에서 동일하다. 동일한 것이 하나를 초과하는 방식으로 논의될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 결론적으로, 대안 용어 및 동의어는 본 명세서에 논의된 임의의 하나 이상의 용어에 대해서 사용될 수 있고, 용어가 본 명세서에서 확대되거나 논의되던지 간에 어떠한 특별한 중요성도 갖지 않는다. 특정 용어에 대한 동의어는 제공되어 있다. 하나 이상의 동의어의 설명이 다른 동의어의 사용을 배제하는 것은 아니다. 본 명세서에서 논의된 임의의 용어의 예시를 포함하는 본 명세서의 어딘가에 있는 예의 사용은 오직 설명적이며, 어떠한 방식으로든 본 발명 및 임의의 예시된 용어의 범위 및 의미를 제한하지 않는다. 마찬가지로, 본 발명은 본 명세서에 제시된 다양한 실시형태로 제한되지 않는다.

[0090] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술적 용어 및 과학적인 용어는 본 발명이 속한 관련 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 같은 의미를 가진다. 상충되는 경우, 정의를 비롯하여 본 문서가 통제할 것이다.

[0091] 면역원성 단백질, 예컨대 항원-특이적인 T 세포 반응을 유도하기 위한 면역원성 인핸서로서 사용하기 위한 융합 단백질은 미국 특허 공개 제20140154285 A1호 및 제20140154280 A1호에 개시되어 있고, 이들 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 포함된다.

[0092] 툴 유사 수용체(TLR) 4 리간드, 특히 효능제, 예컨대 지질 A 유도체, 특히 모노포스포릴 지질 A 또는 보다 특별하게는 3 탈아세틸화 모노포스포릴 지질(deacylated monophosphoryl lipid)A(3D-MPL). 3D-MPL은 글락소스미쓰글라인 바이올로지컬스 엔.에이.(GlaxoSmithKline Biologicals N.A.)에 의해서 제품명 MPL 하에 판매되고, 본 문헌 전체에서 MPL 또는 3D-MPL이라 지칭된다.

[0093] 퀼(남아메리카 나무 퀼라자 사포나리아 몰리나(*Quillaja Saponaria Molina*)의 수피(bark)로부터 유래) 및 이의 일부는 미국 특허 제5,057,540호 및 문헌["Saponins as vaccine adjuvants", Kensil, C. R., Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 1996, 12(1-2):1-55]; 및 유럽 특허 제0 362 279 B1호에 기술되어 있다.

[0094] QS-21은 퀼라자 사포나리아 몰리나의 수피로부터 유래된 천연 사포닌이다. QS-21은 퀼 A의 HPLC 정제된 비독성 부분이고, 그것은 미국 특허 제5,057,540호에 개시되어 있다.

[0095] 용어 "항원-제시 세포(APC) 또는 악세사리(accessory) 세포"는 표면 상에서 주요 조직적합성 복합체(major histocompatibility complex: MHC)와 복합체를 이루는 외부 항원을 나타내는 세포를 지칭한다. T-세포는 이들

의 T-세포 수용체(TCR)를 사용하여 이들 복합체를 인식할 수 있다. 이들 세포는 항원을 처리하여 이들을 T-세포에 제시한다. 중요 유형의 전문적인 항원-제시 세포는 수지상 세포(DC), 마크로파지, 단핵구 및 특정 B-세포이다.

- [0097] 용어 "항원-제시 세포(APC)-결합 도메인"은 항원-제시 세포(APC)에 결합할 수 있는 도메인을 지칭한다. APC-결합 도메인은 서열번호 5, 6, 7, 8, 및 9로 이루어진 군으로부터 선택된 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드일 수 있다. APC-결합 도메인은 APC 상의 수용체를 인식하고, 그것에 결합하는 리간드이다.
- [0098] 분화 클러스터(cluster of differentiation) 91(CD91)는 세포의 막에서 수용체를 형성하고, 수용체-매개된 세포내섭취(endocytosis)에 관여하는 단백질이다.
- [0099] 용어 "단백질 형질도입 도메인"은 T-세포를 민감하게 하여 항원-특이적인 T 세포 반응을 증가시키고/시키거나 항원을 항원 제시의 제I형 주요 조직적합성 복합체(MHC-I) 경로(즉, 세포독성 T 세포 경로)를 향해서(즉 그것으로의 표적으로) 안내 또는 지향하게 하는 기능을 갖는 폴리펩타이드 또는 융합 폴리펩타이드를 지칭한다.
- [0100] 용어 "T 세포를 민감하게 하여"는 일반적으로 CD8+ 및 CD4+ T 세포가 민감해지고, 그 결과 항원 공격에 대한 CD8+(CTL) 및 CD4+ T 세포 반응이 증가된 것을 의미한다. 항원-특이적인 세포 매개된 면역 반응은 항원에 대한 반응에서 항원-특이적으로 유도된 γ-인터페론의 생산을 정량화함으로써 측정된다. 예를 들어, 민감화 신호가 없는 경우(즉, 단백질 형질도입 도메인이 없는 경우), 항원 단독은 세포 매개된 면역 반응을 약하게 유도하거나 전혀 유도하지 않을 수 있고, 즉 CD8+ 및 CD4+ T 세포로부터 항원-특이적인 γ-인터페론의 생산이 약하거나 없는 반면, 민감화 신호(단백질 형질도입 도메인)의 존재하에서, 항원은 증가된 세포 매개된 면역 반응을 유도할 수 있다. 따라서, 민감화 신호(단백질 형질도입 도메인)의 기능은 숙주 내에서 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 민감하게 하여, 이후에 숙주가 항원에 의해 공격되었을 때, 항원이 이전의 CD4+ 및 CD8+ T 세포 민감화로 인해서 증가된 항원-특이적인 세포 매개의 면역 반응을 유도할 수 있다.
- [0101] 단백질 형질도입 도메인은 "융합 폴리펩타이드"일 수 있고, 여기서 융합 폴리펩타이드는 T 세포 민감성 신호-형질도입 웨타이드, 링커, 및 전좌 웨타이드를 포함한다. 예를 들어, 융합 폴리펩타이드는 폴리펩타이드 "CD28convPE_t"일 수 있다.
- [0102] 용어 "CD28conv"는 "T 세포 민감성 신호-형질도입 웨타이드"인, CD28 보존된 영역(conserved region)을 지칭한다. 이것은 CD28 효능제 항체를 유도하기 위한 에피토프이다.
- [0103] 용어 "PE_t" 또는 "PE_t중심"은 34개의 아미노산 잔기 길이를 갖는 PE 전좌 도메인 중심를 지칭한다.
- [0104] 링커는 "CD28conv"와 "PE_t" 사이에 존재한다. 융합 폴리펩타이드 "CD28convPE_t"의 배향 또는 배열은 "CD28conv"(또는 T 세포 민감성 신호-형질도입 웨타이드)가 PE_t(또는 전좌 웨타이드)의 상류에 존재해야 하고, 즉 PE_t는 증가된 T-세포 반응을 수득하기 위해서 "CD28conv"의 C-말단에 존재해야 한다는 점에서 중요하다. "CD28convPE_t"는 역배향 융합 웨타이드 PE_tCD28conv보다 CD28conv에 대해서 특이적인 훨씬 더 높은 IgG 역가(CD28-특이적인 효능제 항체라 지칭됨)를 상승시킬 수 있다. CD28-특이적인 효능제 항체는 CD4+ 및 CD8+ T 세포 둘 모두를 민감하게 할 수 있다. 올바른 배향 융합 폴리펩타이드 CD28convPE_t는 CD28conv와 PE_t 도메인 사이에 링커($R^1 X^2 R^3 X^4 K^5 R^6$)를 함유한다. 링커는 항원 제시 세포(APC)-특이적인 프로테아제(카텝신 L) 절단 부위 Lys-Arg(KR)를 함유한다. 따라서, 융합 단백질 RAP1-CD28convPE_t-항원-K3은 하기의 두 개의 단편으로 절단될 수 있다: RAP1-CD28conv 및 PE_t-항원-K3. RAP1-CD28conv 단편은 리소좀에서 더 절단될 수 있고, 이어서, CD28conv의 에피토프는 MHC II 경로를 통해서 APC 세포 표면에 제시되는데, 이것이 결국 CD28 효능제 항체를 생산하는 체액성 면역 반응을 도출한다. 따라서, CD28 효능제 항체는 B 세포에 의해서 생산된다. 이러한 CD28 효능제 항체는 T 세포 표면 상의 CD28에 결합하여, T 세포(CD4+ 및 CD8+ T 세포)를 전-활성화(pre-activate)시킬 수 있다.
- [0105] "T 세포-민감성 신호-형질도입 웨타이드"는 28 내지 53개의 아미노산 잔기 길이를 갖고, 서열번호 31과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 X⁸은 I 또는 L이고; X¹⁰은 V, F 또는 A이고, X¹¹은 M 또는 L이고, X¹⁷은 L 또는 I이다.
- [0106] T 세포-민감성 신호-형질도입 웨타이드는 중요 영역 K¹X²E³X⁴Y⁵P⁶P⁷P⁸P⁹Y¹⁰(서열번호 32)을 포함하고, 여기서 X²는

I 또는 L이고; X⁴는 V, F 또는 A이고, X⁵는 M 또는 L이다.

[0107] 마우스에 대해서 특이적인 T 세포 민감성 신호-형질도입 펩타이드(TDIYFCKIEFMYPPPYLDNEKSNGTIIH; 서열번호 31, 여기서, X⁸은 I이고, X¹⁰은 F이고, X¹¹은 M이고, X¹⁷은 L임)는 미국 특허 제20140154285 A1호에 설명되어 있다.

[0108] PE 전좌 펩타이드는 서열번호 3, 4, 20 또는 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, PE 전좌 펩타이드의 아미노산 서열은 전장 PE(서열번호 10)의 a.a. 280 내지 a.a. 313(서열번호 3), a.a. 268 내지 a.a. 313(서열번호 20), a.a. 253 내지 a.a. 313(서열번호 41), 또는 a.a. 253 내지 a.a. 364(서열번호 4)일 수 있다. 즉, PE 전좌 펩타이드의 아미노산 서열은, 그것이 a.a. 280 내지 a.a. 313(서열번호 3) 필수 단편을 포함하는 한, PE 도메인 II(a.a. 253 내지 a.a. 364; 서열번호 4)의 임의의 영역을 함유할 수 있다.

[0109] 항원은 병원체에 의해서 야기된 질병에 책임이 있거나, 병원체에 의해서 감염된 숙주 내에서 면역적인 반응을 유도할 수 있는 병원체 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드, 또는 종양 세포에서 특이적으로 발현되는 폴리펩타이드인 종양-연관 항원(TAA)일 수 있다. 항원은 인간 파필로마바이러스(HPV), 돼지 재생산 및 호흡 증후군 바이러스(PRRSV), 인간 면역결핍-1(HIV-1), 독감 바이러스, 땅기 바이러스, C형 감염 바이러스(HCV), B형 감염 바이러스(HBV), 돼지 셔코바이러스 2(PCV2), 돼지 콜레라 바이러스(CSFV), 구제역 바이러스(FMDV), 뉴캐슬병 바이러스(ndv), 전염성 위장염 바이러스(TGEV), 돼지 유행성 설사병 바이러스(PEDV), 인플루엔자 바이러스, 가성 광견병 바이러스, 파르보바이러스, 가성 광견병 바이러스, 돼지 수포병 바이러스(SVDV), 수두 바이러스, 로타 바이러스, 마이코플라스마 폐렴, 헤르페스 바이러스, 전염성 기관지염, 또는 전염성 F낭병 바이러스, 비-소세포 폐암, 유방 암종, 흑색종, 럼프종, 결장 암종, 간세포 암종 및 이들의 임의 조합을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 병원체 또는 암 세포로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, HPV E7 단백질(E7), HCV 중심 단백질(HCV 중심), HBV X 단백질(HBx)은 백신 발생을 위한 항원으로서 선택될 수 있다. 항원은 하나 이상의 병원체 단백질로부터 선택된 2개 이상의 항원의 융합으로부터의 융합 항원, 예를 들어, PRRSV ORF6 및 ORF5 단편의 융합 항원 또는 PRRSV 및 PCV2 병원체로부터의 항원 단백질의 융합일 수 있다.

[0110] 세포질 그물 보유 서열의 기능은 항원이 세포내이입(endocytotic) 구획으로부터 ER로 전좌하는 것을 돋고, 그것을 내강에 유지시킨다. 그것은 서열 Lys Asp Glu Leu(KDEL) 또는 RDEL을 포함한다. ER 보유 서열은 KKDLRDELKDEL(서열번호 16), KKDELRLDELKDEL(서열번호 17), KKDELVELKDEL(서열번호 18), 또는 KDELKDELKDEL(서열번호 19)의 서열을 포함하거나, 그것으로 본질적으로 이루어지거나, 그것으로 이루어질 수 있다.

[0111] 39kDa의 분자량을 갖는 수용체-연관 단백질(RAP1)은 ER 상주 단백질(resident protein) 및 LDL 수용체-관련 단백질을 위한 분자 샤프론(molecular chaperone)이다. 그것은 CD91에 대해서 높은 결합 친화도(Kd 약 3nM)를 갖고, 3개의 기능 유사 도메인에 의해서 구성된다.

[0112] PE₄₀₇(서열번호 40)은 선행 특허(미국 특허 제7,335,361 B2호)에서 PE(III)로서 기술되어 있다.

[0113] 핵 외수송 신호(NES)는 단백질 내의 4개의 소수성 잔기의 짧은 아미노산 서열을 지칭하며, 4개의 소수성 잔기의 짧은 아미노산 서열은 핵 수송을 사용하여 세포 핵으로부터 핵막공 복합체를 통해서 세포질로의 외수송을 위해서 그것을 표적화한다. NES는 엑스포틴(exportin)에 의해서 인식되고, 그것에 의해서 결합된다. 소수성 잔기의 가장 일반적인 간격은 L¹X²X³K⁴L⁵X⁶L⁷X⁸L⁹X¹⁰X¹¹(서열번호 44)이고, 여기서 "L"은 루신이고, "K"는 라이신이고, "X^{2,3,6,7,9,11}"은 임의의 자연 발생 아미노산이다. 예를 들어, 인공 NES는 서열 LeuGlnLysLysLeuGluGluLeuGluLeuAla(LQKKLEELAKDEL; 서열번호 45)을 포함할 수 있다.

[0114] 용어 "NESK"는 NES 및 ER 보유 신호의 융합 펩타이드(즉, ER 보유 신호에 융합된 NES)를 지칭한다. 그것은 핵 외수송 신호(NES) 및 ER 보유 서열의 기능을 보유하는 인공 펩타이드이다. 따라서, 그것은 항원을 세포 핵으로부터 핵막공 복합체를 통해서 세포질로 외수송하고, 항원이 세포질로부터 ER로 전좌하는 것을 도와서, ER의 내강에 항원을 유지시킬 수 있다. 예를 들어, NESK의 아미노산 서열은 LQKKLEELAKDEL(서열번호 43)일 수 있다.

[0115] 용어 "대상체"는 인간 또는 비-인간 동물을 지칭한다.

[0116] 용어 "치료하는(treating)" 또는 "치료(treatment)"는 암 또는 감염을 갖거나, 이러한 질병에 대한 증상 또는 소인(predisposition)을 갖고 있는, 유효량의 융합 단백질의 투여가 필요한 대상체에게 질환, 그것의 증상, 또는 그것에 대한 소인을 치유, 완화, 안정, 치료, 개선 또는 예방하려는 목적으로 유효량의 융합 단백질을 투여하는 것을 지칭한다. 이러한 대상체는 임의의 적합한 진단 방법으로부터의 결과에 기초하여 건강 관리 전문가에 의해 식별될 수 있다.

[0117] 용어 "유효량"은 치료된 대상체에서 치료적인 효과를 부여하는 데 필요한 활성 화합물의 양을 지칭한다. 유효 용량은 투여 경로, 부형제 사용, 및 다른 치료요법 치료와의 공동 사용 가능성에 따라서 관련 기술 분야의 통상의 기술자에 의해서 인식되는 바와 같이 달라질 것이다.

[0118] 약어: CD 28, 분화 클러스터 28.

실시예

[0120] 본 발명의 범주를 제한할 의도 없이, 본 발명의 실시형태에 따른 예시적인 장비, 장치, 방법 및 이의 관련된 결과가 하기에 제공되어 있다. 제목 또는 부제목은 독자의 편의를 위해서 실시예에서 사용될 수 있고, 이것은 어떤 방식으로도 본 발명의 범주를 제한하지 않는 것을 주목해야 한다. 또한, 특정 이론이 본 명세서에 제안 및 개시되어 있지만; 그것이 옳고 그름에 관계없이, 본 발명이 임의의 특정 이론 또는 작용 도식에 대한 관심 없이 본 발명에 따라서 실시되는 한, 그것은 어떤 방식으로든 본 발명의 범주를 제한하지 않아야 한다.

면역원성 단백질 제조:

[0122] 면역원성 단백질을 대장균 발현체에서 발현시켰다. 이것은 단지 항원 자체, 또는 PE₄₀₇-(항원)-K3 융합 단백질을 생성하기 위해서 슈도모나스 엑소톡신 A 도메인 I 및 II의 C-말단(즉, PE₄₀₇)에 융합된 항원 및 ER 보유 신호(K3), 또는 RAP1-CD28convPE_t-(항원)-K3 융합 단백질을 생성하기 위해서 RAP1-CD28convPE_t 융합 단백질의 C-말단에 융합된 항원 및 ER 보유 신호일 수 있다(도 1). 본 명세서에서 사용된 항원은 E7 항원이었고, 생산된 2개의 융합 단백질 PE₄₀₇-E7-K3(서열번호 54) 및 RAP1-CD28convPE_t-E7-K3(서열번호 55)을 하기 실험에서 사용하였다.

상이한 면역원성 조성물을 면역원성 분석:

[0124] E7 면역원성 단백질, E7 항원, PE₄₀₇-E7-K3 융합 단백질, 또는 RAP1-CD28convPE_t-E7-K3 융합 단백질을 상이한 아주반트, 예컨대 백반(alum), GPI-0100 또는 QS-21과 배합하고, 이들의 면역원성을 마우스에서 시험하였다. 모든 면역원성 단백질은 백반, GPI-0100 또는 QS-21과 배합되는 경우 중간에서 강한 E7 항원 특이적인 체액성 면역 반응을 하는 배지를 도출할 수 있었다. E7 항원 특이적인 세포 매개 면역 반응의 경우, E7 항원 또는 PE₄₀₇-E7-K3 융합 단백질이 GPI-0100 또는 QS-21과 배합되는 경우 약한 반응에서 강한 반응이 도출되었다. 다른 한편, RAP1-CD28convPE_t-E7-K3 융합 단백질은 백반, GPI-0100 및 QS-21과 배합되는 경우 중간에서 강한 세포 매개된 면역 반응을 도출할 수 있었다. 이러한 결과는 GPI-0100 및 QS-21이 체액성 면역 반응 및 세포 매개 면역 둘 모두를 자극하는 더 양호한 아주반트였음을 보여주었다. 추가로, PE₄₀₇-E7-K3 또는 RAP1-CD28convPE_t-E7-K3 융합 단백질은 사포닌 기재 아주반트, 예컨대 GPI-0100 또는 QS-21과 배합되는 경우에만 E7 항원보다 더 강한 반응을 도출할 수 있었다.

T 세포-매개된 면역 반응에 대한 동물 연구

[0126] 5주령의 암컷 마우스 C57BL/6을 바이오拉斯코 타이완 코., 엘티디.(BioLASCO Taiwan Co., Ltd.)로부터 구입하였다. 5마리 마우스/케이지, 12시간 낮/12시간 밤의 광 사이클. 음식 및 물에 자유롭게 접근하게 하면서, 실험 전에 마우스를 1주 동안 가둬놓고, 표준 조건하에서 유지시켰다. 설명을 위해서 사용된 면역원성 단백질은 더박스 제네티스 백신 코., 엘티디.(TheVax Genetics Vaccine Co., Ltd.)에 의해서 제조된 동결 건조된 PE₄₀₇-E7-K3(서열번호 54)이었고, 각각의 바이알은 0.6mg 단백질을 함유하였다. 아주반트: GPI-0100(하와이 바이오텍(Hawaii Biotech)); MPL(카탈로그 번호 699800P, 아반티(Avant i)); 폴리(Poly) I:C(카탈로그 번호 t1rl-pic-5, 인비보젠(InvivoGen)); R837(카탈로그 번호 t1rl-imqs, 인비보젠); R848(카탈로그 번호 t1rl-r848, 인비보젠); CpG1826(카탈로그 번호 t1rl-1826, 인비보젠); 및 실험실 등급 QS-21(더박스).

[0127] 면역법 스케줄이 도 4에 도시되어 있다. 마우스를 표 1 및 도 5a 내지 B, 7a 내지 c에서 나타내어진 바와 같이 3주 동안 주 1회 백신 제형으로 백신 접종하였다. 모든 마우스를 마지막 면역법 7일 후에 희생시키고, 비장을 수집하였다. 비장세포를 단리하였다.

아주반트 제형

[0129] 면역원성 조성물을 위한 최상의 면역 반응을 연구하기 위해서, 표 1에 열거된 아주반트 제형을 평가하였다.

표 1

제형 번호	군 I		군 II				
	(A포닌-기재 아주반트)		(TLR 효능제 아주반트)				
	QS-21	GPI-0100	풀리 I : C (TLR3 효능제)	MPL (TLR4 효능제)	R837 (TLR7 효능제)	R848 (TLR7/8 효능제)	CpG1826 (TLR9 효능제)
A	위약						
B		100 μg					
C		50 μg					
D			50 μg				
E				50 μg			
F					50 μg		
G						50 μg	
H							50 μg
I		50 μg	50 μg				
J		50 μg		50 μg			
K		50 μg			50 μg		
L		50 μg				50 μg	
M		50 μg					50 μg
N	10 μg						
O			10 μg				
P				10 μg			
Q					10 μg		
R						10 μg	
S							10 μg
T	10 μg		10 μg				
U	10 μg			10 μg			
V	10 μg				10 μg		
W	10 μg					10 μg	
X	10 μg						10 μg

[0130]

[0131] CD8⁺ 세포의 세포내-사이토카인 염색

비장 세포(2×10^7)를 6-웰 편평 바닥 조직 배양 플레이트에 도말하고, 1μg/ml HPV₁₆-E7 웹타이드(전장 PE의 아미노산 49 내지 57), 브레펠딘(Brefeldin) A 및 모넨신(Monensin)과 함께 또는 그들 없이 2시간 동안 37°C에서 인큐베이션시켰고, 세포에서의 사이토카인의 증가된 측적은 사이토카인-생산 세포의 검출성을 증가시킨다. 인큐베이션 후에, 세포를 5분 동안 300xg에서 시험 튜브에 옮겼다. 상청액을 제거하고, 플레이트를 간단히 보텍싱(vortexing)하였고, 세포를 플루오레세인 아이소라이오시아네이트-컨주케이팅된 항-마우스 CD8(클론 53-6.7, 이 바이오사이언스(eBioscience)), 및 항-마우스 CD3(클론 17A2, 바이오레전드(BioLegend)) 0.2mg/샘플에서 30분 동안 표면 마커를 대해서 염색하였다. 1ml의 침투 세척 완충제(바이오레전드) 중에 재현탁시킨 후 암실에서 30분 동안 열음 상에서 인큐베이션시킴으로써 세포를 1ml의 형광-활성화 세포 분류기(FACS) 완충제(PBS 중의 1% FBS) 및 IC 고정 용액(Fixation solution)(이바이오사이언스(eBioscience))으로 세척하였다. 세포를 펌워시(Permwash)(비디 파민젠(BD Pharmingen)) 중에서 2회 세척하고, 이어서 암실에서 열음 상에서 30분 동안 침투 세척 완충제 중에 희석된 샘플 당 0.2 mg에서, 알로피코시아닌-컨주케이팅된 항-마우스 IFN-γ(클론 XMG1.2, 이 바이오사이언스)로 세포내 IFN-γ에 대해서 염색하였다. 세포를 1ml FACS 완충제 중에 재현탁시키고, 이어서 FACS 칼리부어 유동 세포측정기(Chalibur flow cytometer) 상에서 분석하였다.

[0133]

면역원성 검정법에서, 비장 세포에서 CD3+/CD8+/IFN-γ+ T 세포의 수를 측정함으로써 다양한 백신 제형에 의해서 유도된 항원-특이적인 T 세포-매개 면역 반응을 평가하였다. 도 5a는 다양한 백신 제형으로 치료된 동물군으로부터의 2×10^7 비장 세포 당 CD3+ T 세포에서의 E7-특이적인 CD8+/IFN-γ+ 이중 양성의 백분율을 나타낸다. 각각의 군으로부터의 데이터를 PE₄₀₇-E7-K3와 50μg/용량의 GPI-0100의 조합물로 처리된 동물군의 데이터와 비교하였

다(도 5b). 데이터는 MPL 또는 CpG1826과 조합된 GPI-0100이 면역원성 단백질에 의해서 도출된 T 세포-매개된 면역 반응을 2 내지 3배 증가시킬 수 있다는 것을 나타낸다.

[0134] 도 7a는 다양한 백신 제형으로 치료된 동물군으로부터의 2×10^7 비장 세포 당 CD3+ T 세포에서의 E7-특이적인 CD8+/IFN γ + 이중 활성의 백분율을 나타낸다. 각각의 군으로부터의 데이터를 PE₄₀₇-E7-K3와 QS-21(10 μ g/용량; 도 7b) 또는 GPI-0100(100 μ g/용량; 도 7c)의 조합물로 치료된 동물군의 데이터와 비교하였다. 데이터는 MPL(10 μ g/용량) 또는 CpG1826(10 μ g/용량)과 조합된 QS-21이 아주반트, QS-21(10 μ g/용량) 만을 포함하는 백신 조성물과 비교할 때 면역원성 단백질 PE₄₀₇-E7-K3에 의해서 도출된 T 세포-매개된 면역 반응을 3 내지 4배 증가시킬 수 있다 는 것을 나타내었다(도 7b). 또한, 조합 아주반트, QS-21과 MPL, 또는 QS-21과 CpG1826을 포함하는 백신 제형에 의해서 도출된 T 세포-매개된 면역 반응은 단일 아주반트, GPI-0100(100 μ g/용량) 만을 포함하는 백신 제형으로 치료된 동물군의 8배였다(도 7c).

체액성 면역 연구

[0135] 동물을 백신 접종시키고, 혈청 샘플을 상기에 기술된 바와 같이 수집하였다. 각각의 동물로부터의 그리고 각각의 수집 시간 지점에서의 혈청 샘플을 블로킹 완충제 중에서 10000배를 위해서 희석시켰다. HPV16 E7 특이적인 IgG의 수준을 ELISA 방법에 의해서 측정하였다(코팅 E7 pet32a 1 μ g/웰).

[0136] [0137] 도 6은 단일 TLR 효능제 아주반트가 백신 조성물에서 사용되는 경우에는, 단지 소량의 항체가 유도되지만, TLR 효능제 아주반트가 사포닌-기재 아주반트 GPI-0100(50 μ g/용량)과 함께 사용되는 경우에는, 제3 면역법 후에 다량의 항체가 마우스에서 도출되었다는 것을 나타낸다.

[0138] 도 8은 단일 TLR 효능제 아주반트가 백신 조성물에서 사용되는 경우에는, 단지 소량의 항체가 유도되었지만, TLR 효능제 아주반트가 사포닌-기재 아주반트 QS-21(10 μ g/용량)과 함께 사용되는 경우에는, 2종의 아주반트 QS-21+MPL 또는 QS-21+CpG1826을 포함하는 제형으로 치료된 동물군이 제2 면역법 후에 다량의 항체를 생산하였음을 나타낸다(데이터는 도시되지 않음). 모든 TLR 효능제 아주반트와 조합된 QS-21은 제3 면역법 후에 다량의 항체를 생산하였다. 데이터는 QS-21과 폴리 I:C의 조합물 또는 GPI-0100과 폴리 I:C의 조합물이 QS-21 또는 GPI-0100의 효과를 증가시키지 않음을 나타낸다. 이는 GPI-100 또는 QS-21이 TLR3-관련 기전을 통해서 작용할 수 있음을 제안한다. 이미다졸렐린 아주반트(R837, R848)는 CpG1826과 동일한 경로를 통해서 작용하지만, 완전히 상이한 T 세포-매개된 면역성을 나타낸다. 이미다졸렐린이 K 세포 및/또는 마크로파지 세포를 통해서 작용하는지의 여부를 연구할 여지가 있다.

상이한 플랫폼의 융합 단백질에 의해서 도출된 T 세포-매개된 면역원성 반응

[0139] [0140] 본 발명자들은 상기에 기술된 바와 같이 발견된 아주반트의 최상의 조합물을 사용하여 상이한 면역원성 단백질 PE₄₀₇-E7-K3 및 RAP1-CD28convPE_t-E7-K3에 의해서 도출된 T 세포-매개된 면역원성 반응을 추가로 관찰하였고, 도 5a에 기술된 바와 같은 동일한 면역원성 검정법을 수행하였다. 5주령의 마우스 57BL/6을 바이오라스코 타이완 코., 엘티디.로부터 구입하였다. 면역법 스케줄은 도 4에서와 동일하다. 표 2는 연구에서 사용된 백신 제형을 나타낸다.

[0141] 도 9는 융합 단백질 RAP1-CD28convPE_t-E7-K3이 융합 단백질 PE₄₀₇-E7-K3보다 더 강한 T 세포-매개된 면역 반응을 도출하였음을 나타낸다. 그러나, 어느 유형의 아주반트의 조합물이 사용되더라도, 두 플랫폼은 유사한 패턴의 T 세포-매개된 면역 반응을 도출하였다.

표 2

제형 번호	단백질	QS-21	GPI-0100	MPL	CpG1826
A	위약				
B	PE ₄₀₇ -E7-K3	10 μg	50 μg		
C			50 μg		
D			50 μg	50 μg	
E			50 μg		50 μg
F		10 μg			
G		10 μg		10 μg	
H		10 μg			10 μg
I	RAP1-CD28convPE _r -E7-K3	10 μg	50 μg		
J			50 μg		
K			50 μg	50 μg	
L			50 μg		50 μg
M		10 μg			
N		10 μg		10 μg	
O		10 μg			10 μg

[0142]

TC-1 종양 동물 모델에 대한 연구

백신: 100μg의 PE₄₀₇-E7-K3을 상이한 아주반트 또는 이의 조합물과 제형화한다.

[0145] 백신 제형을 도 10a에 나타내었다. TC-1 세포주(5×10^4 세포/마우스, s.c.)로 공격받게 하고 7일 후에서, 마우스를 총 3회 동안 7일마다 면역화시켰다(도 10b). 결과는, 단일 아주반트 GPI-0100(100μg/용량) 단독과 비교할 때, 조합 아주반트 QS-21(10μg/용량)과 MPL(10μg/용량), QS-21(10μg/용량)과 CpG1826(10μg/용량), GPI-0100(50μg/용량)과 MPL(50μg/용량), 또는 GPI-0100(50μg/용량)과 CpG1826(50μg/용량)이 TC-1 종양 세포의 성장을 효과적으로 억제할 수 있음을 나타낸다(도 11).

표 3은 다양한 융합 단백질의 성분의 서열번호를 나타낸다.

표 4는 동물에서 T 세포-매개 면역 반응에 대한 효과에 대해서 시험된 융합 단백질 및 항원의 서열을 나타낸다.

표 3

성분	서열번호	길이 (잔기)
hCD28 중심 TDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIH	1	28
hCD28 최대 NCDGKLGNEESVTFYQLQNLVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNE KSNGTIIHVKG	2	53
PE _t 중심 (PE 전화 도메인 중심; PE의 a.a. 280 내지 a.a. 313)	3	34
PE _t 최대 (전화 도메인 최대, PE의 a.a. 253 내지 a.a. 364)	4	112
RAP1 최대 (RAP1의 도메인 III)	5	104
A2M 최대	6	153
HIV-Tat 최대	7	24
HSPs 최대, 열 충격 70 kDa 단백질 (HSP; 호모 사파엔스)	8	641
최소 슈도모나스 엑소톡신 A (PE) 결합 도메인 Ia (APC-결합 도메인, PE의 a.a. 1 내지 a.a. 252)	9	252
링커 R ¹ X ² R ³ X ⁴ K ⁵ R ⁶ , 여기서, “X ^{2,4} ”는 임의의 아미노산 잔기임.	15	6
전장 PE(엑소톡신 A 성숙 형태, 슈도모나스 애루지노사(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>))	10	613
전장 RAP1(호모 사파엔스 저밀도 지질단백질 수용체-관련 단백질 연관된 단백질 1, LRPAP1); 도메인 1: a.a. 1 내지 a.a. 112; 도메인 2: a.a. 113 내지 a.a. 218; 도메인 3: a.a. 219 내지 a.a. 323.	11	323
전장 A2M(호모 사파엔스 알파-2-마크로글로불리 수용체- 연관된 단백질 연구체)	12	357
HIV-Tat(인간 면역결핍 바이러스 1)	13	101

[0148]

KDEL (세포질 그물 보유 서열)	14	4
KKDLRDELKDEL (K3)	16	12
KKDELRDELKDEL (K3)	17	13
KKDELVELKDEL (K3)	18	13
KDELKDELKDEL (K3)	19	12
PE ₂₆₈₋₃₁₃ (전장 PE 의 a.a. 268 대지 a.a. 313)	20	46
PLETFTRHRQPRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLAARLSWNQV DQVIR		
CD28convPE _t T ¹ D ² I ³ Y ⁴ F ⁵ C ⁶ K ⁷ X ⁸ E ⁹ X ¹⁰ X ¹¹ Y ¹² P ¹³ P ¹⁴ P ¹⁵ Y ¹⁶ X ¹⁷ D ¹⁸ N ¹⁹ E ²⁰ K ²¹ S ²² N ²³ G ²⁴ T ²⁵ I ²⁶ I ²⁷ H ²⁸ R ²⁹ X ³⁰ R ³¹ X ³² K ³³ R ³⁴ G ³⁵ W ³⁶ E ³⁷ Q ³⁸ L ³⁹ E ⁴⁰ Q ⁴¹ C ⁴² G ⁴³ Y ⁴⁴ P ⁴⁵ V ⁴⁶ Q ⁴⁷ R ⁴⁸ L ⁴⁹ V ⁵⁰ A ⁵¹ L ⁵² Y ⁵³ L ⁵⁴ A ⁵⁵ A ⁵⁶ R ⁵⁷ L ⁵⁸ S ⁵⁹ W ⁶⁰ N ⁶¹ Q ⁶² V ⁶³ D ⁶⁴ Q ⁶⁵ V ⁶⁶ I ⁶⁷ R ⁶⁸ . 여기서 X ⁸ 은 I 또는 L 이고; X ¹⁰ 는 V, F 또는 A 이고, X ¹¹ 은 M 또는 L 이고, X ¹⁷ 은 L 또는 I 이고, X ^{30, 32} 는 임의의 아미노산 잔기임.	30	68
CD28 컨센서스 서열 T ¹ D ² I ³ Y ⁴ F ⁵ C ⁶ K ⁷ X ⁸ E ⁹ X ¹⁰ X ¹¹ Y ¹² P ¹³ P ¹⁴ P ¹⁵ Y ¹⁶ X ¹⁷ D ¹⁸ N ¹⁹ E ²⁰ K ²¹ S ²² N ²³ G ²⁴ T ²⁵ I ²⁶ I ²⁷ H ²⁸ . 여기서 X ⁸ 은 I 또는 L 이고; X ¹⁰ 은 V, F 또는 A 이고, X ¹¹ 은 M 또는 L 이고, X ¹⁷ 은 L 또는 I 임.	31	28
CD28 중요 영역 K ¹ X ² E ³ X ⁴ X ⁵ Y ⁶ P ⁷ P ⁸ P ⁹ Y ¹⁰ . 여기서 X ² 는 I 또는 L 이고; X ⁴ 는 V, F 또는 A 이고, X ⁵ 는 M 또는 L 임.	32	10
SSX2	33	187
MAGE-A3	34	314
NY-ESO-1	35	181
iLRP	36	296
WT12-281	37	279

[0149]

RNF43 (2-116 + 696-783)	38	406
CEA-NE3	39	284
PE ₄₀₇ (전장 PE 의 a.a. 1 내지 a.a. 407)	40	407
PE ₂₅₃₋₃₁₃ (전장 PE 의 a.a. 253 내지 a.a. 313)	41	61
PE ₃₁₃ (전장 PE 의 a.a. 1 내지 a.a. 313)	42	313
NESK 는 LQKKLEELAKDEL *임	43	15
NES 컨센서스 서열은 L ¹ X ² X ³ K ⁴ L ⁵ X ⁶ X ⁷ L ⁸ X ⁹ L ¹⁰ X ¹¹ 이고, 여기서 “L”은 루신이고, “K”는 라이신이고, “X ^{2,3,6,7,9,11} ”은 일의의 자연 발생 아미노산일.	44	11
NES 는 LQKKLEELA 임	45	11
PCV2 ORF2 (돼지 서코바이러스 유형 2 개방 판독 프레임 2)	46	192
CSFV E2 (돼지 콜레라 바이러스 엔벨로프(Envelope) 당 단백질 E2)	47	328
FMDV VP1 웹타이드 (바이러스 캡시드 단백질 VP1 의 a.a. 127 내지 a.a. 176)	48	50
FMDV 3A 웹타이드 (3A 의 a.a. 21 내지 35)	49	15
FMDV (구체역 바이러스) VP1-3A 웹타이드**	50	65
NDV F 웹타이드 (융합 단백질의 a.a. 65 내지 a.a. 82)	51	18
NDV HN 웹타이드 (헤마글루티닌-뉴라미나다제의 a.a. 101 내지 a.a. 111)	52	11
NDV FHN 웹타이드 ***	53	29
PE ₄₀₇ -E7-K3	54	525
RAP1-CD28convPE-E7-K3	55	290

[0150]

*: 볼드체 문자는 인공 핵 외수송 신호의 아미노산 서열을 나타내고;
밀줄 친 문자는 세포질 그물 보유 신호의 아미노산 서열을
나타낸다.

**: VP1-3A 웹타이드(서열번호 50)는 VP1 의 a.a. 127 내지 a.a. 176 및 3A 의
a.a. 21 내지 a.a. 35로 구성된 융합 항원; 즉 FMDV VP1 웹타이드(서열번호
48) 및 FMDV 3A 웹타이드(서열번호 49)의 융합 단백질이다.

***: FHN 웹타이드(서열번호 53)는 융합 단백질의 a.a. 65 내지 a.a. 82 및
헤마글루티닌-뉴라미나다제의 a.a. 101 내지 a.a. 111의 융합 단백질; 즉
NDV F 웹타이드(서열번호 51) 및 NDV HN 웹타이드(서열번호 52)의 융합
단백질이다.

[0151]

豆 4

융합 단백질 명칭	항원 명칭	항원 서열번호
RAP1-CD28convPE _r -E7-K3 PE ₄₀₇ -E7-K3	HPV16 E7 (전장)	21
RAP1-CD28convPE _r -E7 ₁₈ -K3	HPV18 E7 (전장)	22
RAP1-CD28convPE _r -HCVc-K3	HCV core 단백질 (전장)	23
RAP1-CD28convPE _r -HBx-K3	HBV X 단백질 (전장)	24
RAP1-CD28convPE _r -PCV2-K3	PCV2 ORF2 (ORF2 의 단편)	25
RAP1-CD28convPE _r -DGD-K3	PRRSV 뉴클레오캡시드 (융합 항원: ORF7 a.a. 64 내지 a.a. 123, 링커 및 ORF7 a.a. 64 내지 a.a. 123)	26
RAP1-CD28convPE _r -M12-K3	PRRSV RNA-의존성 RNA 중합효소 (ORF1b a.a.1046 내지 a.a. 1210)	27
RAP1-CD28convPE _r -PQAB-K3	PRRSV 미국 균주: ORF6 (a.a. 2 내지 a.a. 26) 및 ORF5 (a.a. 31 내지 a.a. 63)의 융합 항원	28
RAP1-CD28convPE _r -RSAB-K3	PRRSV 유럽 균주: ORF6 (a.a. 2 내지 a.a. 28) 및 ORF5 (a.a. 31 내지 a.a. 64)의 융합 항원	29

[0152]

[0153]

실시형태 및 실시에는 고려되는 특정 용도에 따라서 적절히 변화되는 바와 같은 다양한 변형과 함께 관련 기술 분야의 통상의 기술자가 본 발명 및 다양한 실시형태를 이용하는 것을 가능하게 하기 위해서 본 발명의 원리 및 이의 실시 응용을 설명하기 위해서 선택되고 기술되었다. 대안적인 실시형태는 이의 사상 및 범주를 벗어나지 않으면서 본 발명의 속한 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 자명할 것이다. 본 명세서에서 언급되고 논의된 모든 문헌은 이들 각각이 참고로 개별적으로 포함된 것처럼 동일한 정도로 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 포함된다.

도면

도면1



도면2

세포-매개된 면역원성

면역원성 단백질 아주반트	E7	PE ₄₀₇ -E7-K3	RAP1-CD _{28conv} PE _t -E7-K3
백반	-	-	++
GPI-0100	+	+++	++++
QS-21	+	+++	++++

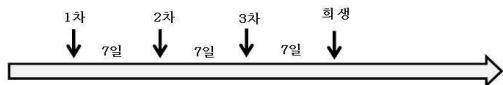
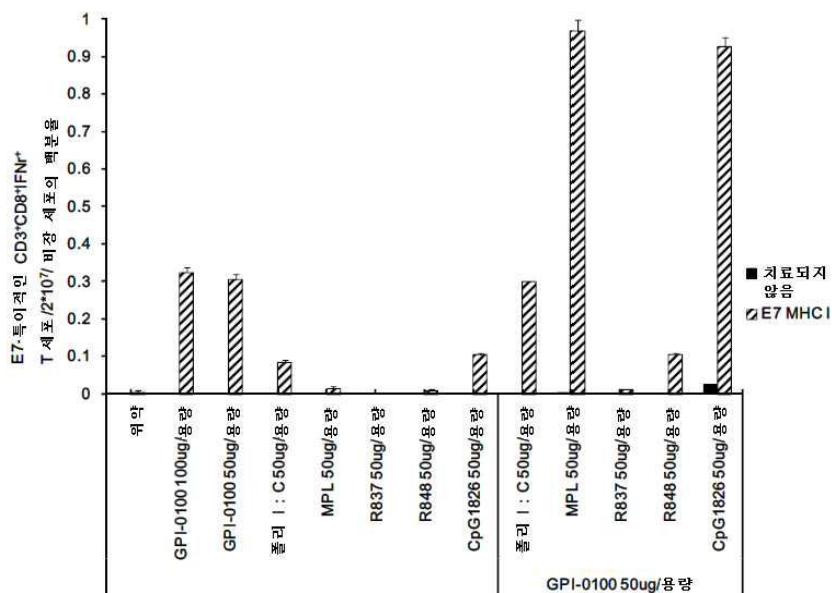
-: 음성, +: 약함, ++: 중간, +++: 강함, ++++: 매우 강함

도면3

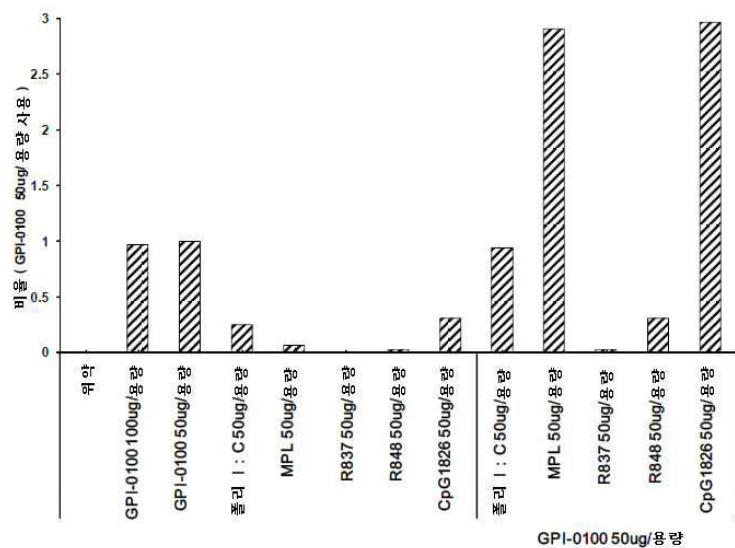
체액성 면역원성

면역원성 단백질 아주반트	E7	PE ₄₀₇ -E7-K3	RAP1-CD _{28conv} PE _t -E7-K3
백반	++	++	++
GPI-0100	++	+++	+++
QS-21	++	+++	+++

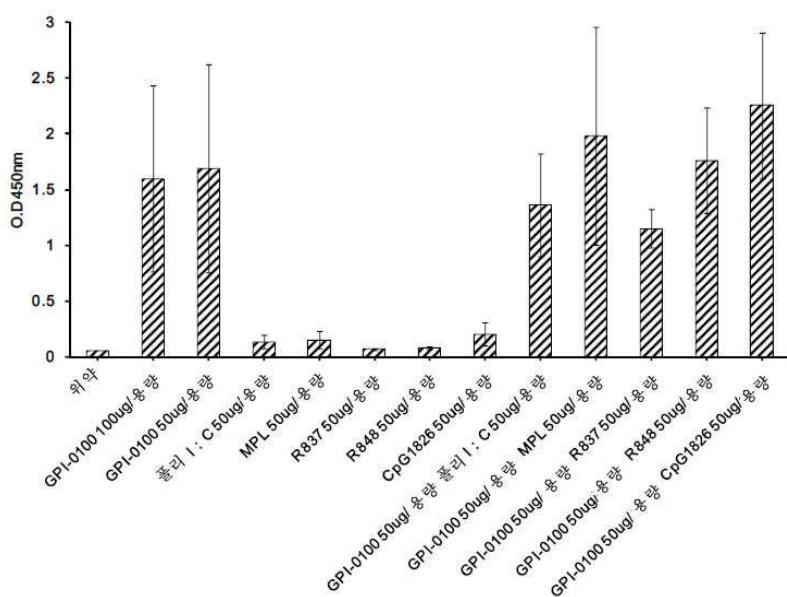
-: 음성, +: 약함, ++: 중간, +++: 강함

도면4**도면5a**

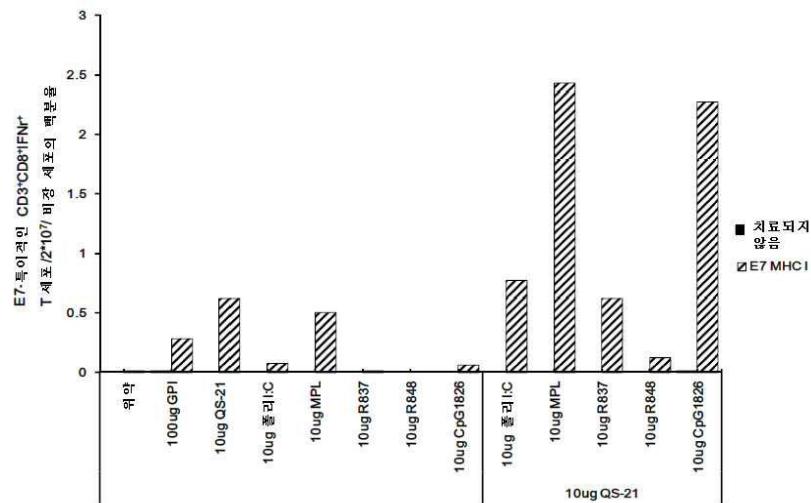
도면5b



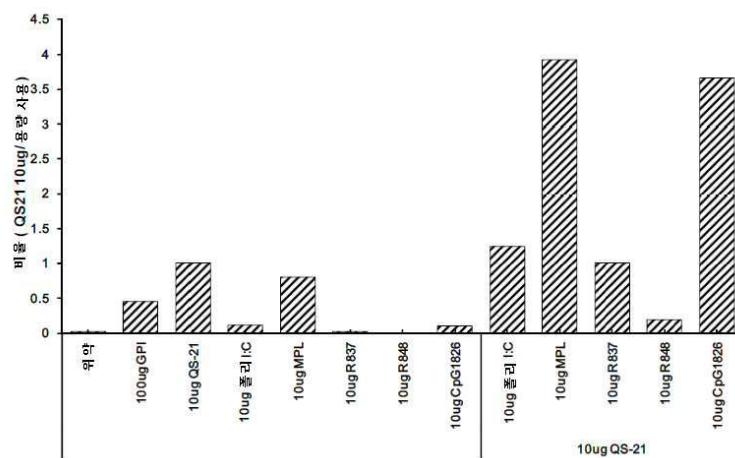
도면6



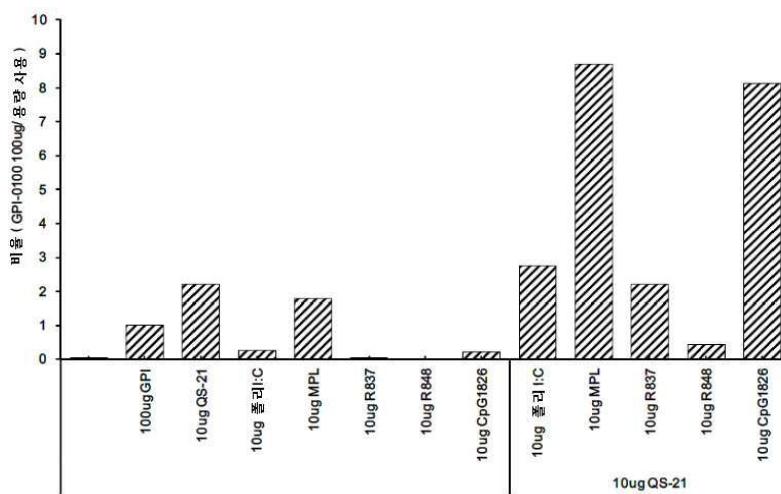
도면7a



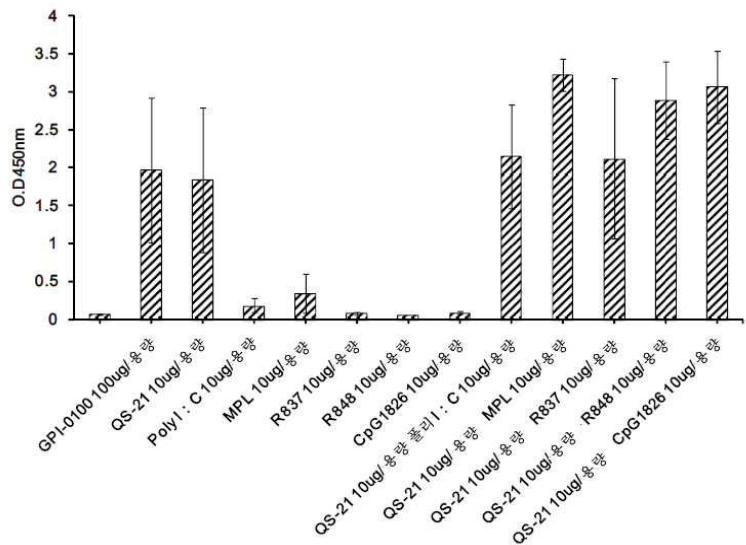
도면7b



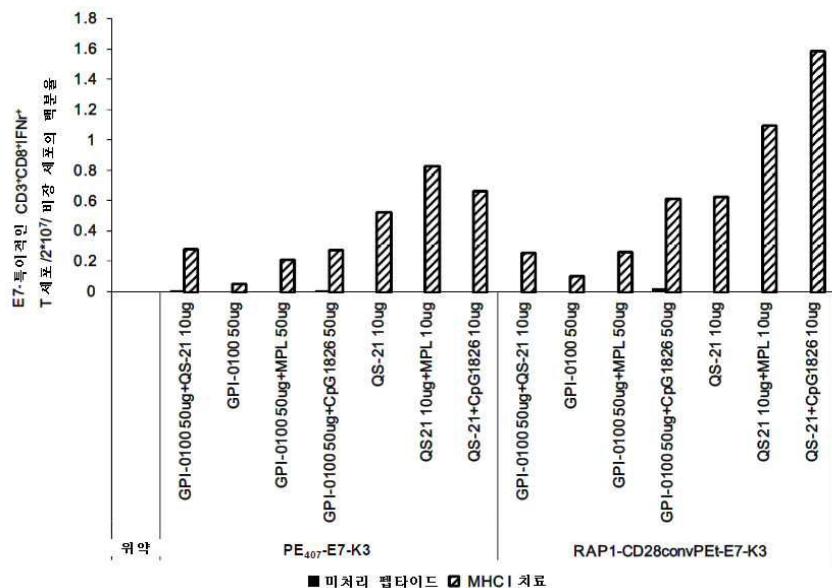
도면7c



도면8

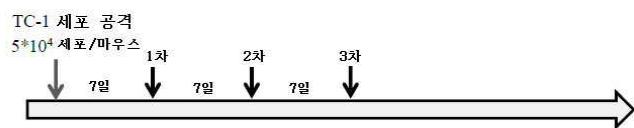
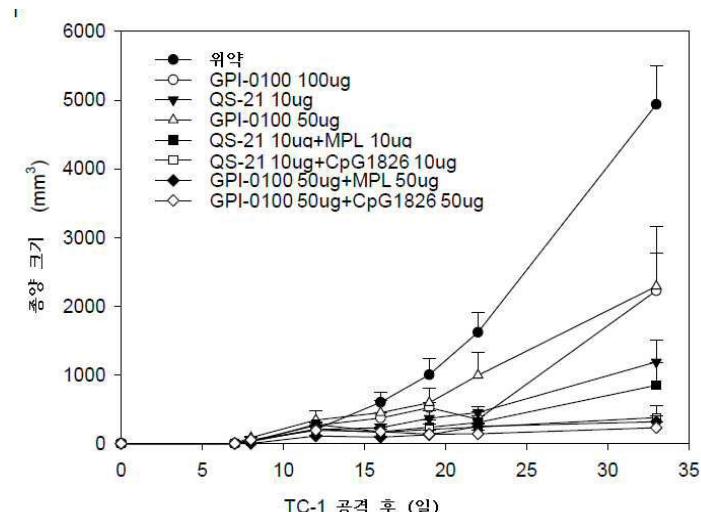


도면9



도면10a

제형 번호	단백질	QS-21	GPI-0100	MPL	CpG1826
A			위약		
B			100 µg		
C		10 µg			
D			50 µg		
E	PE ₄₀₇ -E7-K3	10 µg		10 µg	
F		10 µg			10 µg
G			50 µg	50 µg	
H			50 µg		50 µg

도면10b**도면11****서 열 목록**

SEQUENCE LISTING

<110> TheVax Genetics Vaccine Co., Ltd

<120> A VACCINE COMPOSITION COMPRISING AN IMMUNOGENIC PROTEIN AND COMBINATION ADJUVANTS FOR USE IN ELICITING ANTIGEN-SPECIFIC T-CELL RESPONSES

<130> WO 2016/138164

<140> PCT/US2016/019401

<141> 2016-02-24

<150> US 62/121,406

<151> 2015-02-26

<160> 55

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hCD28 Core

<

400> 1

Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr

1 5 10 15

Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His

20 25

<210> 2

<211> 53

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hCD28 Maximum

<400> 2

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

1 5 10 15

Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Ile Glu Val

20 25 30

Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile

35 40 45

Ile His Val Lys Gly

50

<210> 3

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PEt Core

<400> 3

Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val

1 5 10 15

Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val

20 25 30

Ile Arg

<210> 4

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PEt Maximum

<400> 4

Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro

1 5 10 15

Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu

20 25 30

Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala

35 40 45

Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu

50 55 60

Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn

100 105 110

<210> 5

<211> 104

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> RAP1 Minimum

<400> 5

Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg Val Ile Asp Leu Trp Asp Leu Ala Gln

1 5 10 15

Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Glu Leu

20 25 30

Lys His Phe Glu Ala Lys Ile Glu Lys His Asn His Tyr Gln Lys Gln

35 40 45

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

<210> 6

<211> 153

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A2M Minimum

<400> 6

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

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

Tyr Asp Tyr Tyr Glu Thr Asp Glu Phe Ala Ile Ala Glu Tyr Asn Ala
 130 135 140

Pro Cys Ser Lys Asp Leu Gly Asn Ala

145 150

<210> 7

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HIV-Tat Minimum

<400> 7

Arg Gly Asp Pro Thr Gly Gln Glu Glu Ser Lys Glu Lys Val Glu Lys

1 5 10 15

Glu Thr Val Val Asp Pro Val Thr

20

<210> 8

<211> 641

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HSPs Minimum

<400> 8

Met Ala Lys Ala Ala Ala Ile Gly Ile Asp Leu Gly Thr Thr Tyr Ser

1 5 10 15

Cys Val Gly Val Phe Gln His Gly Lys Val Glu Ile Ile Ala Asn Asp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Val Val Gln Ser Asp Met Lys His Trp Pro Phe Gln Val Ile Asn

85 90 95

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

100 105 110

Ala Phe Tyr Pro Glu Glu Ile Ser Ser Met Val Leu Thr Lys Met Lys

115 120 125

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

130 135 140

Thr Val Pro Ala Tyr Phe Asn Asp Ser Gln Arg Gln Ala Thr Lys Asp

145 150 155 160

Ala Gly Val Ile Ala Gly Leu Asn Val Leu Arg Ile Ile Asn Glu Pro

165 170 175

Thr Ala Ala Ala Ile Ala Tyr Gly Leu Asp Arg Thr Gly Lys Gly Glu

180 185 190

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

195 200 205

Ile Leu Thr Ile Asp Asp Gly Ile Phe Glu Val Lys Ala Thr Ala Gly

210 215 220

Asp Thr His Leu Gly Gly Glu Asp Phe Asp Asn Arg Leu Val Asn His

225 230 235 240

Phe Val Glu Glu Phe Lys Arg Lys His Lys Lys Asp Ile Ser Gln Asn

245 250 255

Lys Arg Ala Val Arg Arg Leu Arg Thr Ala Cys Glu Arg Ala Lys Arg

260 265 270

Thr Leu Ser Ser Ser Thr Gln Ala Ser Leu Glu Ile Asp Ser Leu Phe

275 280 285

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

290 295 300

Leu Cys Ser Asp Leu Phe Arg Ser Thr Leu Glu Pro Val Glu Lys Ala

305 310 315 320

Leu Arg Asp Ala Lys Leu Asp Lys Ala Gln Ile His Asp Leu Val Leu

325 330 335

Val Gly Gly Ser Thr Arg Ile Pro Lys Val Gln Lys Leu Leu Gln Asp

340 345 350

Phe Phe Asn Gly Arg Asp Leu Asn Lys Ser Ile Asn Pro Asp Glu Ala

355 360 365

Val Ala Tyr Gly Ala Ala Val Gln Ala Ala Ile Leu Met Gly Asp Lys

370 375 380

Ser Glu Asn Val Gln Asp Leu Leu Leu Asp Val Ala Pro Leu Ser

385 390 395 400

Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Gly Val Met Thr Ala Leu Ile Lys Arg

405 410 415

Asn Ser Thr Ile Pro Thr Lys Gln Thr Gln Ile Phe Thr Thr Tyr Ser

420 425 430

Asp Asn Gln Pro Gly Val Leu Ile Gln Val Tyr Glu Gly Glu Arg Ala

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

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

500 505 510

Glu Glu Ile Glu Arg Met Val Gln Glu Ala Glu Lys Tyr Lys Ala Glu

515 520 525

Asp Glu Val Gln Arg Glu Arg Val Ser Ala Lys Asn Ala Leu Glu Ser

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

Val Ile Ser Trp Leu Asp Ala Asn Thr Leu Ala Glu Lys Asp Glu Phe

580 585 590

Glu His Lys Arg Lys Glu Leu Glu Gln Val Cys Asn Pro Ile Ile Ser

595 600 605

Gly Leu Tyr Gln Gly Ala Gly Gly Pro Gly Pro Gly Phe Gly Ala
 610 615 620
 Gln Gly Pro Lys Gly Gly Ser Gly Ser Gly Pro Thr Ile Glu Glu Val
 625 630 635 640
 Asp

<210> 9
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa
 <400> 9

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

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

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

165	170	175
-----	-----	-----

Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser

180	185	190
-----	-----	-----

Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr

195	200	205
-----	-----	-----

Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu

245	250	
-----	-----	--

<210> 10

<211> 613

<212> PRT

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 10

Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val

1	5	10	15
---	---	----	----

Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro

20	25	30
----	----	----

Ala Ile Ala Asp Thr Asn Gly Gln Gly Val Leu His Tyr Ser Met Val

35	40	45
----	----	----

Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser

85	90	95
----	----	----

Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn

100	105	110
-----	-----	-----

Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His

115	120	125
Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys		
130	135	140
Leu Ala Arg Asp Ala Thr Phe Phe Val Arg Ala His Glu Ser Asn Glu		
145	150	155
Met Gln Pro Thr Leu Ala Ile Ser His Ala Gly Val Ser Val Val Met		
165	170	175
Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser		
180	185	190
Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr		
195	200	205
Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile		
210	215	220
Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys		
225	230	235
Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Ser Leu		
245	250	255
Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe		
260	265	270
Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly		
275	280	285
Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser		
290	295	300
Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly		
305	310	315
Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala		
325	330	335
Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg		
340	345	350
Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Ala Asp Val Val		
355	360	365

Ser Leu Thr Cys Pro Val Ala Ala Gly Glu Cys Ala Gly Pro Ala Asp
 370 375 380
 Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe
 385 390 395 400
 Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln Asn
 405 410 415
 Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu Arg
 420 425 430
 Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala Gln
 435 440 445
 Ser Ile Val Phe Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp Ala
 450 455 460
 Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr Gly
 465 470 475 480
 Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn Gly
 485 490 495
 Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe Tyr
 500 505 510
 Arg Thr Ser Leu Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val Glu
 515 520 525
 Arg Leu Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr Gly
 530 535 540
 Pro Glu Glu Glu Gly Arg Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro Leu
 545 550 555 560
 Ala Glu Arg Thr Val Val Ile Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro Arg
 565 570 575
 Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu Gln
 580 585 590
 Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro Pro
 595 600 605
 Arg Glu Asp Leu Lys
 610

<210

> 11

<211> 323

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Tyr Ser Arg Glu Lys Asn Gln Pro Lys Pro Ser Pro Lys Arg Glu Ser

1 5 10 15

Gly Glu Glu Phe Arg Met Glu Lys Leu Asn Gln Leu Trp Glu Lys Ala

20 25 30

Gln Arg Leu His Leu Pro Pro Val Arg Leu Ala Glu Leu His Ala Asp

35 40 45

Leu Lys Ile Gln Glu Arg Asp Glu Leu Ala Trp Lys Lys Leu Lys Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gln Val Thr Ser Asn Ser Leu Ser Gly Thr Gln Glu Asp Gly Leu

100 105 110

Asp Asp Pro Arg Leu Glu Lys Leu Trp His Lys Ala Lys Thr Ser Gly

115 120 125

Lys Phe Ser Gly Glu Glu Leu Asp Lys Leu Trp Arg Glu Phe Leu His

130 135 140

His Lys Glu Lys Val His Glu Tyr Asn Val Leu Leu Glu Thr Leu Ser

145 150 155 160

Arg Thr Glu Glu Ile His Glu Asn Val Ile Ser Pro Ser Asp Leu Ser

165 170 175

Asp Ile Lys Gly Ser Val Leu His Ser Arg His Thr Glu Leu Lys Glu

180 185 190

Lys Leu Arg Ser Ile Asn Gln Gly Leu Asp Arg Leu Arg Arg Val Ser

195 200 205

His Gln Gly Tyr Ser Thr Glu Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg Val Ile
 210 215 220
 Asp Leu Trp Asp Leu Ala Gln Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys Glu Leu
 225 230 235 240
 Glu Ala Phe Arg Glu Glu Leu Lys His Phe Glu Ala Lys Ile Glu Lys
 245 250 255
 His Asn His Tyr Gln Lys Gln Leu Glu Ile Ala His Glu Lys Leu Arg
 260 265 270
 His Ala Glu Ser Val Gly Asp Gly Glu Arg Val Ser Arg Ser Arg Glu
 275 280 285
 Lys His Ala Leu Leu Glu Gly Arg Thr Lys Glu Leu Gly Tyr Thr Val
 290 295 300
 Lys Lys His Leu Gln Asp Leu Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala Arg His
 305 310 315 320
 Asn Glu Leu

<210> 12
 <211> 357
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 12
 Met Ala Pro Arg Arg Val Arg Ser Phe Leu Arg Gly Leu Pro Ala Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Leu Phe Leu Gly Pro Trp Pro Ala Ala Ser His Gly
 20 25 30
 Gly Lys Tyr Ser Arg Glu Lys Asn Gln Pro Lys Pro Ser Pro Lys Arg
 35 40 45

Glu Ser Gly Glu Glu Phe Arg Met Glu Lys Leu Asn Gln Leu Trp Glu
 50 55 60
 Lys Ala Gln Arg Leu His Leu Pro Pro Val Arg Leu Ala Glu Leu His
 65 70 75 80
 Ala Asp Leu Lys Ile Gln Glu Arg Asp Glu Leu Ala Trp Lys Lys Leu

85	90	95
Lys Leu Asp Gly Leu Asp Glu Asp Gly Glu Lys Ala Arg Leu Ile		
100	105	110
Arg Asn Leu Asn Val Ile Leu Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Gly Lys Lys		
115	120	125
Asp Ala Arg Gln Val Thr Ser Asn Ser Leu Ser Gly Thr Gln Glu Asp		
130	135	140
Gly Leu Asp Asp Pro Arg Leu Glu Lys Leu Trp His Lys Ala Lys Thr		
145	150	155
Ser Gly Lys Phe Ser Gly Glu Glu Leu Asp Lys Leu Trp Arg Glu Phe		
165	170	175
Leu His His Lys Glu Lys Val His Glu Tyr Asn Val Leu Leu Glu Thr		
180	185	190
Leu Ser Arg Thr Glu Glu Ile His Glu Asn Val Ile Ser Pro Ser Asp		
195	200	205
Leu Ser Asp Ile Lys Gly Ser Val Leu His Ser Arg His Thr Glu Leu		
210	215	220
Lys Glu Lys Leu Arg Ser Ile Asn Gln Gly Leu Asp Arg Leu Arg Arg		
225	230	235
Val Ser His Gln Gly Tyr Ser Thr Glu Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg		
245	250	255
Val Ile Asp Leu Trp Asp Leu Ala Gln Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys		
260	265	270
Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Glu Leu Lys His Phe Glu Ala Lys Ile		
275	280	285
Glu Lys His Asn His Tyr Gln Lys Gln Leu Glu Ile Ala His Glu Lys		
290	295	300
Leu Arg His Ala Glu Ser Val Gly Asp Gly Glu Arg Val Ser Arg Ser		
305	310	315
Arg Glu Lys His Ala Leu Leu Glu Gly Arg Thr Lys Glu Leu Gly Tyr		
325	330	335

Thr Val Lys Lys His Leu Gln Asp Leu Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala
 340 345 350
 Arg His Asn Glu Leu
 355
 <210> 13
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> Human immunodeficiency virus

<400> 13
 Met Glu Pro Val Asp Pro Arg Leu Glu Pro Trp Lys His Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Gln Pro Lys Thr Pro Cys Thr Lys Cys Tyr Cys Lys Lys Cys Cys Leu
 20 25 30
 His Cys Gln Val Cys Phe Met Thr Lys Gly Leu Gly Ile Ser Tyr Gly
 35 40 45
 Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Ala Pro Gln Asp Asn Lys Asn
 50 55 60

His Gln Val Ser Leu Ser Lys Gln Pro Thr Ser Arg Ala Arg Gly Asp
 65 70 75 80
 Pro Thr Gly Gln Glu Glu Ser Lys Glu Lys Val Glu Lys Glu Thr Val
 85 90 95
 Val Asp Pro Val Thr
 100

<210> 14
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ER retention sequence
 <400> 14

Lys Asp Glu Leu

1
 <210> 15
 <211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker of CD28-PEt

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 15

Arg Xaa Arg Xaa Lys Arg

1 5

<210> 16

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ER retention sequence

<400> 16

Lys Lys Asp Leu Arg Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu

1 5 10

<210> 17

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ER retention sequence

<400> 17

Lys Lys Asp Glu Leu Arg Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu

1 5 10

<210> 18

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ER retention sequence

<400> 18

Lys Lys Asp Glu Leu Arg Val Glu Leu Lys Asp Glu Leu

1 5 10

<210> 19

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><223> ER retention sequence

<400> 19

Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu

1 5 10

<210> 20

<211> 46

<212> PRT

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 20

Pro Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln

1 5 10 15

Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu

20 25 30

Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg

35 40 45

<210> 21

<211> 98

<212> PRT

<213> Human papillomavirus type 16

<400> 21

Met His Gly Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln

1 5 10 15

Pro Glu Thr Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln Leu Asn Asp Ser Ser

20 25 30

Glu Glu Glu Asp Glu Ile Asp Gly Pro Ala Gly Gln Ala Glu Pro Asp

35 40 45

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

<210> 22
 <211> 105
 <212> PRT
 <213> Human papillomavirus type 18
 <400> 22

Met His Gly Pro Lys Ala Thr Leu Gln Asp Ile Val Leu His Leu Glu

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

65 70 75 80
 Asp Asp Leu Arg Ala Phe Gln Gln Leu Phe Leu Asn Thr Leu Ser Phe
 85 90 95
 Val Cys Pro Trp Cys Ala Ser Gln Gln
 100 105

<210> 23
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> Hepatitis C virus

<400> 23

Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn

1 5 10 15

Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gln Ile Val Gly

20 25 30

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Met Gly Trp Ala Gly Trp

85 90 95

Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Asn Trp Gly Pro Thr Asp Pro

100 105 110

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

115 120 125

Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu Val Gly Ala Pro Leu

130 135 140

Gly Gly Val Ala Arg Ala Leu Ala His Gly Val Arg Val Leu Glu Asp

145 150 155 160

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

165 170 175

Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Thr Pro Ala Ser

180 185 190

<210> 24

<211> 154

<212> PRT

<213> Hepatitis B virus

<400> 24

Met Ala Ala Arg Met Cys Cys Gln Leu Asp Pro Ala Arg Asp Val Leu

1	5	10	15
---	---	----	----

Cys Leu Arg Pro Val Gly Ala Glu Ser Arg Gly Arg Pro Leu Pro Gly

20	25	30
----	----	----

Pro Leu Gly Ala Leu Pro Pro Ser Ser Ala Ser Ala Val Pro Ala Asp

35	40	45
----	----	----

His Gly Ser His Leu Ser Leu Arg Gly Leu Pro Val Cys Ser Phe Ser

50	55	60
----	----	----

Ser Ala Gly Pro Cys Ala Leu Arg Phe Thr Ser Ala Arg Arg Met Glu

65	70	75	80
----	----	----	----

Thr Thr Val Asn Ala Pro Trp Ser Leu Pro Thr Val Leu His Lys Arg

85	90	95
----	----	----

Thr Ile Gly Leu Ser Gly Arg Ser Met Thr Trp Ile Glu Glu Tyr Ile

100	105	110
-----	-----	-----

Lys Asp Cys Val Phe Lys Asp Trp Glu Glu Leu Gly Glu Glu Ile Arg

115	120	125
-----	-----	-----

Leu Lys Val Phe Val Leu Gly Gly Cys Arg His Lys Leu Val Cys Ser

130	135	140
-----	-----	-----

Pro Ala Pro Cys Asn Phe Phe Thr Ser Ala

145	150
-----	-----

<210> 25

<211> 192

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 25

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Lys Arg Thr Thr Val Lys Thr Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg

20	25	30
----	----	----

Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu Pro Pro Gly Gly Ser Asn Pro Arg

35	40	45
----	----	----

Ser Val Pro Phe Glu Tyr Tyr Ser Ile Ser Lys Val Lys Val Glu Phe

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

Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser		
115	120	125
Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu		
130	135	140
Arg Leu Gln Thr Ala Gly Asn Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala		
145	150	155
Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp Gln Glu Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met		
165	170	175

Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro		
180	185	190

<210> 26

<211> 220

<212> PRT

<213> Porcine reproductive and respiratory syndrome virus

<400> 26

Arg His His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile

1 5 10 15

Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser

20 25 30

Gly Arg Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr

35 40 45

Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala Leu Asp Gln Val

50 55 60

Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu

65 70 75 80

Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ala Gly Glu Cys Ala Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu

130 135 140

Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val

145 150 155 160

Arg His His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile

165 170 175

Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser

180 185 190

Gly Arg Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr

195 200 205

Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala

210 215 220

<210> 27

<211> 165

<212> PRT

<213> Porcine reproductive and respiratory syndrome virus

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Asp Leu Glu Gly Ser Ser Ser Pro Leu Pro Lys Val Ala His Asn

35 40 45

Leu Gly Phe Tyr Phe Ser Pro Asp Leu Thr Gln Phe Ala Lys Leu Pro

50 55 60

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

Gly Glu Ala Gln Val Leu Pro Glu Thr Val Phe Ser Thr Gly Arg Ile
 130 135 140
 Glu Val Asp Cys Arg Glu Tyr Leu Asp Asp Arg Glu Arg Glu Val Ala
 145 150 155 160
 Ala Ser Leu Pro His
 165

<210> 28
<211> 58
<212> PRT
<213> Porcine reproductive and respiratory syndrome virus
<400> 28
Gly Ser Ser Leu Asp Asp Phe Cys Tyr Asp Ser Thr Ala Pro Gln Lys
1 5 10 15

Val Leu Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Ala Ser Asn Asp Ser Ser Ser
20 25 30
His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys Glu Leu Asn Gly Thr
35 40 45

Asp Trp Leu Ala Asn Lys Phe Asp Trp Ala
50 55

<210> 29
<211> 62
<212> PRT
<213> Porcine reproductive and respiratory syndrome virus
<400> 29

Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe Cys Asn Asp Ser Thr Ala Ala Gln Lys

1	5	10	15
Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Phe Val Ala Gly			
20	25	30	
Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr Ile Cys Glu			
35	40	45	
Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Asn His Phe Asp Trp Ala			
50	55	60	
<210> 30			
<211> 68			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			

<220><223> CD28-PET			
<220><221> misc_feature			
<222> (8)..(8)			
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid			
<220><221> misc_feature			
<222> (10)..(11)			
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid			
<220><221> misc_feature			
<222> (17)..(17)			
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid			
<220><221> misc_feature			
<222> (30)..(30)			
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid			
<220><221> misc_feature			
<222> (32)..(32)			
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid			

<400> 30			
Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Xaa Glu Xaa Xaa Tyr Pro Pro Pro Tyr			
1	5	10	15
Xaa Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Arg Xaa Arg Xaa			

20 25 30

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

35 40 45

Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp

50 55 60

Gln Val Ile Arg

65

<210> 31

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28 consensus sequence

<220><221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (10)..(11)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 31

Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Xaa Glu Xaa Xaa Tyr Pro Pro Pro Tyr

1 5 10 15

Xaa Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His

20 25

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28 critical region

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 32

Lys Xaa Glu Xaa Xaa Tyr Pro Pro Pro Tyr

1 5 10

<210> 33

<211> 187

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Met Asn Gly Asp Asp Ala Phe Ala Arg Arg Pro Thr Val Gly Ala Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Lys Glu Glu Trp Glu Lys Met Lys Ala Ser Glu Lys Ile Phe Tyr

35 40 45

Val Tyr Met Lys Arg Lys Tyr Glu Ala Met Thr Lys Leu Gly Phe Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Asn Asp Leu Asp Asn Asp Pro Asn Arg Gly Asn Gln Val Glu Arg

85 90 95

Pro Gln Met Thr Phe Gly Arg Leu Gln Gly Ile Ser Pro Lys Ile Met

100 105 110

Pro Lys Lys Pro Ala Glu Glu Gly Asn Asp Ser Glu Glu Val Pro Glu

115 120 125

Ala Ser Gly Pro Gln Asn Asp Gly Lys Glu Leu Cys Pro Pro Gly Lys

130 135 140

Pro Thr Thr Ser Glu Lys Ile His Glu Arg Ser Gly Pro Lys Arg Gly

145 150 155 160

Glu His Ala Trp Thr His Arg Leu Arg Glu Arg Lys Gln Leu Val Ile

165 170 175

Tyr Glu Glu Ile Ser Asp Pro Glu Glu Asp Asp

180 185

<210> 34

<211> 314

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Met Pro Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Glu Glu Gln Glu Ala Ala Ser Ser Ser Ser Thr Leu Val Glu Val

35 40 45

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

50 55 60

Pro Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro Leu Trp

65 70 75 80

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Gly Pro Ser

85 90 95

Thr Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser Arg Lys

100 105 110

Val Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu

115 120 125

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

130 135 140

Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu

145 150 155 160

Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr

165 170 175

Ile Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp
 180 185 190
 Asn Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala Ile
 195 200 205
 Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu
 210 215 220
 Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Leu Gly
 225 230 235 240
 Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu
 245 250 255
 Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu
 260 265 270
 Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His
 275 280 285
 His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro Pro Leu
 290 295 300
 His Glu Trp Val Leu Arg Glu Gly Glu Glu
 305 310
 <210> 35
 <211> 181
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 35
 Phe Met Gln Ala Glu Gly Arg Gly Thr Gly Ser Thr Gly Asp Ala
 1 5 10 15
 Asp Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala
 20 25 30
 Gly Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly
 35 40 45
 Ala Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Ala Pro Arg Gly
 50 55 60
 Pro His Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly

65	70	75	80
Ala Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro			
85	90	95	
Phe Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln			
100	105	110	

Asp Ala Pro Pro Leu Pro Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr			
115	120	125	
Val Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg			
130	135	140	
Gln Leu Gln Leu Ser Ile Ser Ser Cys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu			
145	150	155	160
Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro			
165	170	175	

Ser Gly Gln Arg Arg

180

<210> 36

<211> 296

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

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

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

Thr Pro Ile Ala Gly Arg Phe Thr Pro Gly Thr Phe Thr Asn Gln Ile
 100 105 110

Gln Ala Ala Phe Arg Glu Pro Arg Leu Leu Val Val Thr Asp Pro Arg
 115 120 125

Ala Asp His Gln Pro Leu Thr Glu Ala Ser Tyr Val Asn Leu Pro Thr
 130 135 140

Ile Ala Leu Cys Asn Thr Asp Ser Pro Leu Arg Tyr Val Asp Ile Ala
 145 150 155 160

Ile Pro Cys Asn Asn Lys Gly Ala Ala His Ser Val Gly Leu Met Trp
 165 170 175

Trp Met Leu Ala Arg Glu Val Leu Arg Met Arg Gly Thr Ile Ser Arg
 180 185 190

Glu His Pro Trp Glu Val Met Pro Asp Leu Tyr Phe Tyr Arg Asp Pro
 195 200 205

Glu Glu Ile Glu Lys Glu Glu Gln Ala Ala Ala Glu Lys Ala Val Thr
 210 215 220

Lys Glu Glu Phe Gln Gly Glu Trp Thr Ala Pro Ala Pro Glu Phe Thr
 225 230 235 240

Ala Thr Gln Pro Glu Val Ala Asp Trp Ser Glu Gly Val Gln Val Pro
 245 250 255

Ser Val Pro Ile Gln Gln Phe Pro Thr Glu Asp Trp Ser Ala Gln Pro
 260 265 270

Ala Thr Glu Asp Trp Ser Ala Ala Pro Thr Ala Gln Ala Thr Glu Trp
 275 280 285

Val Gly Ala Thr Thr Asp Trp Ser
 290 295

<210> 37

<211> 279

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Gly Ser Asp Val Arg Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val Pro Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly

35 40 45

Ser Leu Gly Gly Pro Ala Pro Pro Ala Pro Pro Pro Pro Pro

50 55 60

Pro Pro Pro His Ser Phe Ile Lys Gln Glu Pro Ser Trp Gly Gly Ala

65 70 75 80

Glu Pro His Glu Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Val His Phe Ser

85 90 95

Gly Gln Phe Thr Gly Thr Ala Gly Ala Cys Arg Tyr Gly Pro Phe Gly

100 105 110

Pro Pro Pro Pro Ser Gln Ala Ser Ser Gly Gln Ala Arg Met Phe Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

His Thr Pro Ser His His Ala Ala Gln Phe Pro Asn His Ser Phe Lys

165 170 175

His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr

180 185 190

Ser Val Pro Pro Pro Val Tyr Gly Cys His Thr Pro Thr Asp Ser Cys

195 200 205

Thr Gly Ser Gln Ala Leu Leu Leu Arg Thr Pro Tyr Ser Ser Asp Asn

210 215 220

Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu Cys Met Thr Trp Asn Gln Met

225 230 235 240

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

245	250	255
-----	-----	-----

Val Lys Trp Thr Glu Gly Gln Ser Asn His Ser Thr Gly Tyr Glu Ser

260	265	270
-----	-----	-----

Asp Asn His Thr Thr Pro Ile

275

<210> 38

<211> 406

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Ser Gly Gly His Gln Leu Gln Leu Ala Ala Leu Trp Pro Trp Leu Leu

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Ala Ala Val Glu Ser Glu Arg Ser Ala Glu Gln Lys Ala Ile Ile Arg

35	40	45
----	----	----

Val Ile Pro Leu Lys Met Asp Pro Thr Gly Lys Leu Asn Leu Thr Leu

50	55	60
----	----	----

Glu Gly Val Phe Ala Gly Val Ala Glu Ile Thr Pro Ala Glu Gly Lys

65	70	75	80
----	----	----	----

Leu Met Gln Ser His Pro Leu Tyr Leu Cys Asn Ala Ser Asp Asp Asp

85	90	95
----	----	----

Asn Leu Glu Pro Gly Phe Ile Ser Ile Val Lys Leu Glu Ser Pro Arg

100	105	110
-----	-----	-----

Arg Ala Pro Ala His Pro Leu Ile Cys Gly Pro Pro Gly Leu Asp Lys

115	120	125
-----	-----	-----

Arg Leu Leu Pro Glu Thr Pro Gly Pro Cys Tyr Ser Asn Ser Gln Pro

130	135	140
-----	-----	-----

Val Trp Leu Cys Leu Thr Pro Arg Gln Pro Leu Glu Pro His Pro Pro

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Gly Glu Gly Pro Ser Glu Trp Ser Ser Asp Thr Ala Glu Gly Arg Pro

165	170	175
Cys Pro Tyr Pro His Cys Gln Val Leu Ser Ala Gln Pro Gly Ser Glu		
180	185	190
Glu Glu Leu Glu Glu Leu Cys Glu Gln Ala Val Ser Gly Gly His Gln		
195	200	205
Leu Gln Leu Ala Ala Leu Trp Pro Trp Leu Leu Met Ala Thr Leu Gln		
210	215	220
Ala Gly Phe Gly Arg Thr Gly Leu Val Leu Ala Ala Ala Val Glu Ser		
225	230	235
Glu Arg Ser Ala Glu Gln Lys Ala Ile Ile Arg Val Ile Pro Leu Lys		
245	250	255
Met Asp Pro Thr Gly Leu Asn Leu Thr Leu Glu Gly Val Phe Ala		
260	265	270
Gly Val Ala Glu Ile Thr Pro Ala Glu Gly Lys Leu Met Gln Ser His		
275	280	285
Pro Leu Tyr Leu Cys Asn Ala Ser Asp Asp Asp Asn Leu Glu Pro Gly		
290	295	300
Phe Ile Ser Ile Val Lys Leu Glu Ser Pro Arg Arg Ala Pro Ala His		
305	310	315
320		
Pro Leu Ile Cys Gly Pro Pro Gly Leu Asp Lys Arg Leu Leu Pro Glu		
325	330	335
Thr Pro Gly Pro Cys Tyr Ser Asn Ser Gln Pro Val Trp Leu Cys Leu		
340	345	350
Thr Pro Arg Gln Pro Leu Glu Pro His Pro Pro Gly Glu Gly Pro Ser		
355	360	365
Glu Trp Ser Ser Asp Thr Ala Glu Gly Arg Pro Cys Pro Tyr Pro His		
370	375	380
Cys Gln Val Leu Ser Ala Gln Pro Gly Ser Glu Glu Glu Leu Glu Glu		
385	390	395
400		
Leu Cys Glu Gln Ala Val		
405		

<210> 39

<211> 284

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 39

Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu

1 5 10 15

Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln His Leu Phe Gly Tyr Ser

20 25 30

Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Ile Gly Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Glu Ile Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Ile Ile Gln

65 70 75 80

Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu His Val Ile Lys Ser Asp Leu Val

85 90 95

Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe Arg Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys

100 105 110

Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Ser Tyr Lys Cys Glu Thr Gln Asn Pro Val Ser Ala Arg Arg Ser

180 185 190

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

195 200 205

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

210	215	220
Cys His Ser Ala Ser Asn Pro Ser Pro Gln Tyr Ser Trp Phe Val Asn		
225	230	235
Gly Thr Phe Gln Gln His Thr Gln Val Leu Leu Ile Ala Lys Ile Gln		
245	250	255
Pro Asn Asn Asn Gly Thr Tyr Ala Cys Phe Val Ser Asn Leu Ala Thr		
260	265	270
Gly Arg Asn Asn Ser Ile Val Lys Ser Ile Thr Val		
275	280	
<210> 40		
<211> 407		
<212> PRT		
<213> Pseudomonas aeruginosa		
<400> 40		
Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val		
1	5	10
Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro		15
20	25	30
Ala Ile Ala Asp Thr Asn Gly Gln Gly Val Leu His Tyr Ser Met Val		
35	40	45
Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu		
50	55	60
Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val Glu		
65	70	75
Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser		80
85	90	95
Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn		
100	105	110
Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His		
115	120	125
Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys		
130	135	140

Leu Ala Arg Asp Ala Thr Phe Phe Val Arg Ala His Glu Ser Asn Glu

145 150 155 160

Met Gln Pro Thr Leu Ala Ile Ser His Ala Gly Val Ser Val Val Met

165 170 175

Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser

180 185 190

Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr

195 200 205

Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile

210 215 220

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

225 230 235 240

Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Ser Leu

245 250 255

Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe

260 265 270

Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly

275 280 285

Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala

325 330 335

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

340 345 350

Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Ala Asp Val Val

355 360 365

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

370 375 380

Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe

385 390 395 400

Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val

405

<210> 41

<211> 61

<212> PRT

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 41

Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro

1 5 10 15

Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu

20 25 30

Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala

35 40 45

Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg

50 55 60

<210> 42

<211> 313

<212> PRT

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 42

Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val

1 5 10 15

Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro

20 25 30

Ala Ile Ala Asp Thr Asn Gly Gln Gly Val Leu His Tyr Ser Met Val

35 40 45

Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser

85	90	95
Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn		
100	105	110
Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His		
115	120	125
Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys		
130	135	140
Leu Ala Arg Asp Ala Thr Phe Phe Val Arg Ala His Glu Ser Asn Glu		
145	150	155
Met Gln Pro Thr Leu Ala Ile Ser His Ala Gly Val Ser Val Val Met		
165	170	175
Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser		
180	185	190
Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr		
195	200	205
Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile		
210	215	220
Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys		
225	230	235
Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Ser Leu		
245	250	255
Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe		
260	265	270
Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly		
275	280	285
Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser		
290	295	300
Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg		
305	310	
<210> 43		
<211> 15		

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NESK

<400> 43

Leu Gln Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Leu Ala Lys Asp Glu Leu

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NES consensus sequence

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(7)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 44

Leu Xaa Xaa Lys Leu Xaa Xaa Leu Xaa Leu Xaa

1	5	10
---	---	----

<210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NES

<400> 45

Leu Gln Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Leu Ala

1 5 10
 <210> 46
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> Porcine circovirus
 <400> 46

Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Ile
 1 5 10 15
 Lys Arg Thr Thr Val Lys Thr Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg
 20 25 30

Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu Pro Pro Gly Gly Ser Asn Pro Arg
 35 40 45

Ser Val Pro Phe Glu Tyr Tyr Ser Ile Ser Lys Val Lys Val Glu Phe
 50 55 60

Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr Gln Gly Asp Ser Gly Val Gly Ser Ser
 65 70 75 80

Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr
 85 90 95

Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro
 100 105 110

Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser
 115 120 125

Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu
 130 135 140

Arg Leu Gln Thr Ala Gly Asn Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala
 145 150 155 160

Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp Gln Glu Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met
 165 170 175

Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro
 180 185 190

<210> 47
 <211> 328

<212> PRT

<213> classical swine fever virus

<400> 47

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

1 5 10 15

Glu Ile Gly Pro Leu Gly Ala Glu Gly Leu Thr Thr Trp Lys Glu

20 25 30

Tyr Ser His Gly Leu Gln Leu Asp Asp Gly Thr Val Arg Ala Ile Cys

35 40 45

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

50 55 60

Tyr Leu Ala Ser Leu His Lys Arg Ala Leu Pro Thr Ser Val Thr Phe

65 70 75 80

Glu Leu Leu Phe Asp Gly Thr Ser Pro Ala Ile Glu Glu Met Gly Glu

85 90 95

Asp Phe Gly Phe Gly Leu Cys Pro Phe Asp Thr Thr Pro Val Val Lys

100 105 110

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

115 120 125

Cys Pro Ile Gly Trp Thr Gly Val Ile Glu Cys Thr Ala Val Ser Pro

130 135 140

Thr Thr Leu Arg Thr Glu Val Val Lys Thr Phe Lys Arg Glu Lys Pro

145 150 155 160

Phe Pro His Arg Ala Asp Cys Val Thr Thr Ile Val Glu Lys Glu Asp

165 170 175

Leu Phe His Cys Lys Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Val Lys Gly Asn

180 185 190

Pro Val Thr Tyr Thr Gly Gly Gln Val Lys Gln Cys Arg Trp Cys Gly

195 200 205

Phe Asp Phe Lys Glu Pro Asp Gly Leu Pro His Tyr Pro Ile Gly Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Val Arg Lys Thr Ser Cys Thr Phe Asn Tyr Thr Lys Thr Leu Arg Asn

290 295 300

Lys Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Ser Tyr Phe Gln Gln Tyr Met Leu Lys

305 310 315 320

Gly Glu Tyr Gln Tyr Trp Phe Asp

325

<210> 48

<211> 50

<212> PRT

<213> Foot-and-mouth disease virus

<400> 48

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

1 5 10 15

Asn Val Arg Gly Asp Leu Gln Val Leu Ala Gln Lys Ala Glu Arg Thr

20 25 30

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

35 40 45

Glu Leu

50

<210> 49

<211> 15

<212> PRT

<213> Foot-and-mouth disease virus

<400> 49

Ala Ala Ile Glu Phe Phe Glu Gly Met Val His Asp Ser Ile Lys

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 50

<211> 65

<212> PRT

<213> Foot-and-mouth disease virus

<400>

50

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Asn Val Arg Gly Asp Leu Gln Val Leu Ala Gln Lys Ala Glu Arg Thr

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Glu Leu Ala Ala Ile Glu Phe Phe Glu Gly Met Val His Asp Ser Ile

50	55	60
----	----	----

Lys

65

<210> 51

<211> 18

<212> PRT

<213> Paramyxovirus

<400> 51

Leu Leu Pro Asn Met Pro Lys Asp Lys Glu Gly Cys Ala Lys Ala Pro

1	5	10	15
---	---	----	----

Leu Glu

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> Paramyxovirus

<400> 52

Pro Asp Glu Gln Asp Tyr Gln Ile Arg Met Ala

1	5	10
---	---	----

<210> 53

<211> 29

<212> PRT

<213> Paramyxovirus

<400> 53

Leu Leu Pro Asn Met Pro Lys Asp Lys Glu Gly Cys Ala Lys Ala Pro

1 5 10 15

Leu Glu Pro Asp Glu Gln Asp Tyr Gln Ile Arg Met Ala

20 25

<210> 54

<211> 525

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein PE407-E7-K3

<400> 54

Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val

1 5 10 15

Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro

20 25 30

Ala Ile Ala Asp Thr Asn Gly Gln Gly Val Leu His Tyr Ser Met Val

35 40 45

Leu Glu Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser

85 90 95

Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn

100 105 110

Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His

115 120 125

Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys

130	135	140
Leu Ala Arg Asp Ala Thr Phe Phe Val Arg Ala His Glu Ser Asn Glu		
145	150	155
Met Gln Pro Thr Leu Ala Ile Ser His Ala Gly Val Ser Val Val Met		
165	170	175
Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser		
180	185	190
Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr		
195	200	205
Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile		
210	215	220
Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys		
225	230	235
Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Ser Leu		
245	250	255
Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe		
260	265	270
Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly		
275	280	285
Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser		
290	295	300
Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly		
305	310	315
Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala		
325	330	335
Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg		
340	345	350
Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Ala Asp Val Val		
355	360	365
Ser Leu Thr Cys Pro Val Ala Ala Gly Glu Cys Ala Gly Pro Ala Asp		
370	375	380

Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe
 385 390 395 400
 Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val Glu Phe His Met Val Asp Met His Gly
 405 410 415

Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr
 420 425 430

Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln Leu Asn Asp Ser Ser Glu Glu Glu
 435 440 445

Asp Glu Ile Asp Gly Pro Ala Gly Gln Ala Glu Pro Asp Arg Ala His
 450 455 460

Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys Lys Cys Asp Ser Thr Leu Arg Leu
 465 470 475 480

Cys Val Gln Ser Thr His Val Asp Ile Arg Thr Leu Glu Asp Leu Leu
 485 490 495

Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys Ser Gln Lys Pro Leu
 500 505 510

Glu Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu
 515 520 525

<210> 55

<211> 290

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein RAP1-CD28convPEt-E7-K3

<400> 55

Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg Val Ile Asp Leu Trp Asp Leu Ala Gln

1 5 10 15

Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Glu Leu
 20 25 30

Lys His Phe Glu Ala Lys Ile Glu Lys His Asn His Tyr Gln Lys Gln
 35 40 45

Leu Glu Ile Ala His Glu Lys Leu Arg His Ala Glu Ser Val Gly Asp
 50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Thr Lys Glu Leu Gly Tyr Thr Val Lys Lys His Leu Gln Asp Leu

85 90 95

Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala Arg Glu Leu Thr Asp Ile Tyr Phe Cys

100 105 110

Lys Ile Glu Phe Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser

115 120 125

Asn Gly Thr Ile Ile His Arg Ala Arg Tyr Lys Arg Gly Trp Glu Gln

130 135 140

Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu

145 150 155 160

Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Gly Ser

165 170 175

Glu Phe Met His Gly Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp

180 185 190

Leu Gln Pro Glu Thr Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln Leu Asn Asp

195 200 205

Ser Ser Glu Glu Asp Glu Ile Asp Gly Pro Ala Gly Gln Ala Glu

210 215 220

Pro Asp Arg Ala His Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys Lys Cys Asp

225 230 235 240

Ser Thr Leu Arg Leu Cys Val Gln Ser Thr His Val Asp Ile Arg Thr

245 250 255

Leu Glu Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys

260 265 270

Ser Gln Lys Pro Leu Glu Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu Lys Asp

275 280 285

Glu Leu

290