



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년08월24일
 (11) 등록번호 10-1891195
 (24) 등록일자 2018년08월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) *C12N 15/00* (2017.01)
 (21) 출원번호 10-2013-7010740
 (22) 출원일자(국제) 2011년09월27일
 심사청구일자 2016년09월26일
 (85) 번역문제출일자 2013년04월26일
 (65) 공개번호 10-2013-0138790
 (43) 공개일자 2013년12월19일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2011/053541
 (87) 국제공개번호 WO 2012/047679
 국제공개일자 2012년04월12일
 (30) 우선권주장
 61/386,973 2010년09월27일 미국(US)
 (56) 선행기술조사문현
 US20090148477 A1
 WO2010062859 A2
 WO2009124309 A2

- (73) 특허권자
 더 트러스티스 오브 더 유니버시티 오브 펜실바니아
 미국 19104 펜실바니아주 필라델피아 슈트 200 케스트너트스트리트 3160
이노비오 파마수티컬즈, 임크.
 미국 19462 펜실베니아주 폴리머스 미팅 스위트 110 저먼타운 파이크 660
 (72) 발명자
 와이너, 데이비드 비
 미국 19066 펜실베니아주 메리온 비컴 레인 717
 얀, 지안
 미국 19083 펜실베니아주 하버타운 클래마 애비뉴 213
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
특허법인 웹에이피에스

전체 청구항 수 : 총 42 항

심사관 : 정의준

(54) 발명의 명칭 공통 항원 구성체 및 이것으로부터 만들어진 백신 및 말라리아를 치료하기 위한 이것의 사용 방법

(57) 요약

P. 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*; P.f.) 단백질의 공통 아미노산 서열 및 그것의 암호화 서열뿐만 아니라 서열을 발현시키는 발현 구성체가 본 명세서에 제공된다. 또한 본 명세서에 제공된 발현 구성체를 사용하여 P. 팔시파룸에 대해 면역 반응을 만드는 방법이 본 명세서에 제공된다.

(72) 발명자

사르데사이, 니란잔 와이

미국 19422 펜실베니아주 블루 벨 멜러드 서클 480

페라로, 베나테트

미국 19123 펜실베니아주 필라델피아 #409 엔. 헨
콕 스트리트 1010

명세서

청구범위

청구항 1

P. 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*) 면역원 TRAP를 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 백신으로서,

상기 P. 팔시파룸 면역원 TRAP를 암호화하는 핵산 서열은

- a) 서열번호 5를 포함하는 핵산 서열,
- b) 서열번호 17을 포함하는 핵산 서열,
- c) 서열번호 5의 90% 이상을 포함하는 서열번호 6의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열,
- d) 서열번호 18의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열로서, 상기 면역원성 단편은 서열번호 42를 포함하고, 상기 핵산 서열은 서열번호 42를 암호화하는 뉴클레오타이드에 연결된 서열번호 5의 90% 이상을 포함하는 핵산 서열,
- e) 서열번호 6에 대해서 98% 이상 상동성이 단백질을 암호화하되, 서열번호 5에 대해서 98% 이상 상동성이 핵산 서열,
- f) 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질을 암호화하며, 서열번호 17에 대해서 98% 이상 상동성이 핵산 서열,
- g) 서열번호 5에 대해서 98% 이상 상동성이 핵산 서열의 단편인 핵산 서열로서, 상기 핵산 서열의 상기 단편은 서열번호 5에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 6에 대해서 98% 이상 상동성이 단백질의 단편을 암호화하는 상기 핵산 서열의 90% 이상이되, 상기 단백질의 상기 단편은 서열번호 6에 대해서 98% 이상 상동성이 상기 단백질의 90% 이상인 핵산 서열; 및
- h) 서열번호 17에 대해서 98% 이상 상동성이 핵산 서열의 단편인 핵산 서열로서, 상기 핵산 서열의 상기 단편은 서열번호 17에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이 단백질의 단편을 암호화하는 핵산 서열의 90% 이상이며, 상기 단백질의 상기 단편은 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 상기 단백질의 90% 이상인 핵산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인,

백신.

청구항 2

제1항에 있어서,

다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 P. 팔시파룸 면역원을 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 하나 이상의 핵산 분자를 추가 포함하는, 백신:

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS 를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1 을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 CelTOS 을 암호화하는 핵산 서열; 및
- d) P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, IL-12, IL-15, IL-28B 또는 RANTES를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 추가 포함하는, 백신.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 핵산 서열은 하나 이상의 플라스미드 내로 혼입되는(incorporated) 것인, 백신.

청구항 5

제2항에 있어서, 각각의 P. 팔시파룸 면역원을 암호화하는 상기 핵산 서열은 별개의 플라스미드에 혼입되는 것인, 백신.

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항 또는 제2항의 상기 백신을 포함하는, 말라리아에 대한 포유류 면역화용 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

- a) 상기 백신은 상기 포유류의 조직에 투여되고,
- b) 상기 조직의 세포는 상기 세포 내에 상기 핵산 분자를 유입시키기에 효과적인 정전류에서의 에너지 펄스로 전기천공시키는 것인, 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 백신은 근육내 또는 피내 주사에 의해 투여되는 것인, 조성물.

청구항 10

제8항에 있어서, 전류는 상기 조직에 전달하기 위하여 사전 설정되고, 에너지 펄스는 상기 사전 설정된 전류와 동일한 정전류에서인 것인, 조성물.

청구항 11

제8항에 있어서, 상기 전기천공시키는 것은

- (a) 상기 전기천공된 세포 내 임피던스를 측정하는 단계; 및
- (b) 상기 측정된 임피던스에 대해 상기 에너지 펄스의 에너지 수준을 조절하여 상기 전기천공된 세포 내 정전류를 유지하는 단계를 더 포함하되,

상기 측정 단계 및 조절 단계는 상기 에너지 펄스의 수명 내에서 일어나는 것인, 조성물.

청구항 12

제8항에 있어서, 상기 전기천공시키는 것은 분산된 패턴으로 상기 에너지 펄스를 전달하는 펄스 서열 패턴에 따라 다수의 전극에 대해 상기 에너지 펄스를 전달하는 단계를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 13

제8항에 있어서, 상기 포유류는 말라리아로 감염되지 않았고, 면역 반응은 보호적 면역 반응인 것인, 조성물.

청구항 14

제8항에 있어서, 상기 포유류는 말라리아로 감염되었고, 면역 반응은 치료적 면역 반응인 것인, 조성물.

청구항 15

제2항에 있어서,

상기 백신은

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 TRAP를 암호화하는 핵산 서열; 및

d) P. 팔시파룸 면역원 CeITOS를 암호화하는 핵산 서열의 각각을 포함하되,

상기 P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열은

a1) 서열번호 2를 암호화하는 핵산 서열,

a2) 서열번호 12를 암호화하는 핵산 서열,

a3) 서열번호 14를 암호화하는 핵산 서열,

a4) 서열번호 24를 암호화하는 핵산 서열,

a5) 서열번호 2의 90% 이상을 포함하는 서열번호 2의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열,

a6) 서열번호 12의 90% 이상을 포함하는 서열번호 12의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열,

a7) 서열번호 14의 90% 이상을 포함하고 서열번호 42를 포함하는 서열번호 14의 면역원성 단편을 암호화하는, 핵산 서열;

a8) 서열번호 24의 90% 이상을 포함하고 서열번호 42를 포함하는 서열번호 24의 면역원성 단편을 암호화하는, 핵산 서열;

a9) 서열번호 14에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질을 암호화하는 핵산 서열;

a10) 서열번호 24에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질을 암호화하는 핵산 서열,

a11) 서열번호 14에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열로서, 상기 면역원성 단편은 서열번호 14에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질의 90% 이상을 포함하는 핵산 서열; 및

a12) 서열번호 24에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열로서, 상기 면역원성 단편은 서열번호 24에 대해서 98% 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질의 90% 이상을 포함하는 핵산 서열

로 이루어진 군으로부터 선택되고,

상기 P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열은

b1) 서열번호 4를 암호화하는 핵산 서열,

b2) 서열번호 16을 암호화하는 핵산 서열,

b3) 서열번호 16의 90% 이상을 포함하고 서열번호 42를 포함하는 서열번호 16의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열;

b4) 서열번호 4에 대해서 98% 이상 상동성인 단백질을 암호화하는 핵산 서열;

b5) 서열번호 16에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질을 암호화하는 핵산 서열,

b7) 서열번호 4에 대해서 98% 이상 상동성인 단백질의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열로서, 상기 면역원성 단편은 서열번호 4에 대해서 98% 이상 상동성인 상기 단백질의 90% 이상을 포함하는 핵산 서열, 및

b8) 서열번호 16에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열로서, 상기 면역원성 단편은 서열번호 14에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질의 90% 이상을 포함하는 핵산 서열

로 이루어진 군으로부터 선택되며,

상기 P. 팔시파룸 면역원 TRAP를 암호화하는 핵산 서열은

c1) 서열번호 6을 암호화하는 핵산 서열,

c2) 서열번호 18을 암호화하는 핵산 서열,

c3) 서열번호 18의 90% 이상을 포함하며 서열번호 42를 포함하는 서열번호 18의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열;

c4) 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질을 암호화하는 핵산 서열, 및
 c5) 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이며 서열번호 42를 포함하는 단백질의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열로서, 상기 면역원성 단편은 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이며 서열번호 42를 포함하는 상기 단백질의 90% 이상을 포함하는 핵산 서열

로 이루어진 군으로부터 선택되고,

상기 P. 팔시파룸 면역원 CelTOS를 암호화하는 핵산 서열은

d1) 서열번호 8을 암호화하는 핵산 서열,

d2) 서열번호 20을 암호화하는 핵산 서열,

d3) 서열번호 20의 90% 이상을 포함하고 서열번호 42를 포함하는 서열번호 20의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열;

d4) 서열번호 20에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질을 암호화하는 핵산 서열, 및

d5) 서열번호 20에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열로서, 상기 면역원성 단편은 서열번호 20에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질의 90% 이상을 포함하는 것인 핵산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 것인,

백신.

청구항 16

제15항에 있어서,

e) P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열을 더 포함하되;

상기 P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열은

e1) 서열번호 22를 암호화하는 핵산 서열,

e2) 서열번호 22의 90% 이상을 포함하고 서열번호 42를 포함하는 서열번호 22의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열,

e3) 서열번호 22에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질을 암호화하는 핵산 서열, 및

e4) 서열번호 22에 대해서 98% 이상 상동성이며 서열번호 42를 포함하는 단백질의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열로서, 상기 면역원성 단편은 서열번호 22에 대해서 98% 이상 상동성이며 서열번호 42를 포함하는 상기 단백질의 90% 이상을 포함하는 핵산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인,

백신.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, IL-12, IL-15, IL-28B 또는 RANTES를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 더 포함하는, 백신.

청구항 18

제15항 또는 제16항에 있어서, 상기 핵산 서열은 하나 이상의 플라스미드 내로 포함된 것인, 백신.

청구항 19

제15항 또는 제16항에 있어서, 각각의 P. 팔시파룸 면역원을 암호화하는 상기 핵산 서열은 별개의 플라스미드들에 혼입되는 것인, 백신.

청구항 20

제15항 또는 제16항에 있어서, 각각의 P. 팔시파룸 면역원을 암호화하는 상기 핵산 서열은 2개 이상의 상이한 플라스미드 내로 혼입되는 것인, 백신.

청구항 21

제15항 또는 제16항의 상기 백신을 포함하는, 말라리아에 대항한 포유류 면역화용 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서,

- a) 상기 백신은 상기 포유류의 조직에 투여되고,
- b) 상기 조직의 세포는 상기 세포 내에 상기 핵산 분자를 유입시키기에 효과적인 정전류에서의 에너지 펄스로 전기천공시키는 것인,
조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 백신은 근육내 또는 피내 주사에 의해 투여되는 것인, 조성물.

청구항 24

제22항에 있어서, 전류는 상기 조직에 전달하기 위하여 사전 설정되고, 에너지 펄스는 상기 사전 설정된 전류와 동일한 정전류에서인 것인, 조성물.

청구항 25

제22항에 있어서, 상기 전기천공시키는 것은

- (c) 상기 전기천공된 세포 내 임피던스를 측정하는 단계; 및
- (d) 상기 측정된 임피던스에 대해 상기 에너지 펄스의 에너지 수준을 조절하여 상기 전기천공된 세포 내 정전류를 유지하는 단계를 더 포함하되,

상기 측정 단계 및 조절 단계는 상기 에너지 펄스의 수명 내에서 일어나는 것인, 조성물.

청구항 26

제22항에 있어서, 상기 전기천공시키는 것은 분산된 패턴으로 상기 에너지 펄스를 전달하는 펄스 서열 패턴에 따라 다수의 전극에 대해 상기 에너지 펄스를 전달하는 단계를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 27

P. 팔시파룸 면역원 TRAP를 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 핵산 분자로서, 상기 핵산 서열은

- a) 서열번호 5를 포함하는 핵산 서열,
- b) 서열번호 17을 포함하는 핵산 서열,
- c) 서열번호 5의 90% 이상을 포함하는 서열번호 6의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열,
- d) 서열번호 18의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열로서, 상기 면역원성 단편은 서열번호 42를 포함하고, 상기 핵산 서열은 서열번호 42를 암호화하는 뉴클레오타이드에 연결된 서열번호 5의 90% 이상을 포함하는 핵산 서열,
- e) 서열번호 6에 대해서 98% 이상 상동성인 단백질을 암호화하되, 서열번호 5에 대해서 98% 이상 상동성인 핵산 서열,
- f) 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 단백질을 암호화하되, 서열번호 17에 대해서 98% 이상 상동성인 핵산 서열,
- g) 서열번호 5에 대해서 98% 이상 상동성인 핵산 서열의 단편인 핵산 서열로서, 상기 핵산 서열의 상기 단편은 서열번호 5에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 6에 대해서 98% 이상 상동성인 단백질의 단편을 암호화하는 핵산 서열의 90% 이상이되, 상기 단백질의 상기 단편은 서열번호 6에 대해서 98% 이상 상동성인 상기 단백질의

90% 이상인 핵산 서열; 및

h) 서열번호 17에 대해서 98% 이상 상동성인 핵산 서열의 단편인 핵산 서열로서, 상기 핵산 서열의 상기 단편은 서열번호 17에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성인 단백질의 단편을 암호화하는 상기 핵산 서열의 90% 이상이되, 상기 단백질의 상기 단편은 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 상기 단백질의 90% 이상인 핵산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인,

핵산 분자.

청구항 28

제27항에 있어서,

상기 핵산 분자는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 P. 팔시파룸 면역원을 암호화하는 하나 이상의 핵산을 추가 포함하는 것인, 핵산 분자:

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 CelTOS를 암호화하는 핵산 서열; 및
- d) P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열.

청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, 상기 핵산 분자는 플라스미드인 것인, 핵산 분자.

청구항 30

제27항 또는 제28항에 있어서, IL-12, IL-15, IL-28B 또는 RANTES를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 더 포함하는, 핵산 분자.

청구항 31

제28항에 있어서, 상기 핵산 분자는

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 CelTOS를 암호화하는 핵산 서열; 및
- d) P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 단일 P. 팔시파룸 면역원을 암호화하는 것인,

핵산 분자.

청구항 32

제28항에 있어서, 상기 핵산 분자는

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 CelTOS를 암호화하는 핵산 서열; 및
- d) P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 2 이상의 P. 팔시파룸 면역원을 암호화하는 것인,

핵산 분자.

청구항 33

조성물로서,

다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 P. 팔시파룸 면역원 TRAP를 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 하나 이상의 플라스미드를 포함하는 것인, 조성물:

- a) 서열번호 5를 포함하는 핵산 서열,
- b) 서열번호 17을 포함하는 핵산 서열,
- c) 서열번호 5의 90% 이상을 포함하는 서열번호 6의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열,
- d) 서열번호 18의 면역원성 단편을 암호화하는 핵산 서열로서, 상기 면역원성 단편은 서열번호 42를 포함하고, 상기 핵산 서열은 서열번호 42를 암호화하는 뉴클레오타이드에 연결된 서열번호 5의 90% 이상을 포함하는 핵산 서열,
- e) 서열번호 6에 대해서 98% 이상 상동성이 단백질을 암호화하되, 서열번호 5에 대해서 98% 이상 상동성이 핵산 서열,
- f) 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이며 서열번호 42를 포함하는 단백질을 암호화하고, 서열번호 17에 대해서 98% 이상 상동성이 핵산 서열,
- g) 서열번호 5에 대해서 98% 이상 상동성이 핵산 서열의 단편인 핵산 서열로서, 상기 핵산 서열의 상기 단편은 서열번호 5에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 6에 대해서 98% 이상 상동성이 단백질의 단편을 암호화하는 상기 핵산 서열의 90% 이상이되, 상기 단백질의 상기 단편은 서열번호 6에 대해서 98% 이상 상동성이 상기 단백질의 90% 이상인 핵산 서열, 및
- h) 서열번호 17에 대해서 98% 이상 상동성이 핵산 서열의 단편인 핵산 서열로서, 상기 핵산 서열의 상기 단편은 서열번호 17에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이 단백질의 단편을 암호화하는 상기 핵산 서열의 90% 이상이되, 상기 단백질의 상기 단편은 서열번호 18에 대해서 98% 이상 상동성이고 서열번호 42를 포함하는 상기 단백질의 90% 이상인 핵산 서열.

청구항 34

제33항에 있어서,

다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 P. 팔시파룸 면역원을 암호화하는 하나 이상의 핵산 서열을 포함하는 하나 이상의 플라스미드를 추가 포함하는, 조성물:

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 CelTOS를 암호화하는 핵산 서열; 및
- d) P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열.

청구항 35

제33항 또는 제34항에 있어서, IL-12, IL-15, IL-28B 또는 RANTES를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 더 포함하는, 조성물.

청구항 36

제34항에 있어서,

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 CelTOS를 암호화하는 핵산 서열; 및
- d) P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열 중 2가지 이상을 총괄적으로 포함하는 하나 이상의 플라스미드를 포함하는,

조성물.

청구항 37

제34항에 있어서,

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 CelTOS를 암호화하는 핵산 서열; 및
- d) P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열 중 3가지 이상을 총괄적으로 포함하는 하나 이상의 플라스미드를 포함하는,

조성물.

청구항 38

제34항에 있어서,

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 CelTOS를 암호화하는 핵산 서열; 및
- d) P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열 중 4가지를 총괄적으로 포함하는 하나 이상의 플라스미드를 포함하는,

조성물.

청구항 39

제34항에 있어서,

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 TRAP를 암호화하는 핵산 서열; 및
- d) P. 팔시파룸 면역원 CelTOS를 암호화하는 핵산 서열 각각을 총괄적으로 포함하는 하나 이상의 플라스미드를 포함하는,

조성물.

청구항 40

제34항에 있어서,

- a) P. 팔시파룸 면역원 CS를 암호화하는 핵산 서열;
- b) P. 팔시파룸 면역원 LSA1을 암호화하는 핵산 서열;
- c) P. 팔시파룸 면역원 TRAP를 암호화하는 핵산 서열;
- d) P. 팔시파룸 면역원 CelTOS를 암호화하는 핵산 서열; 및
- e) P. 팔시파룸 면역원 Ama1을 암호화하는 핵산 서열을 총괄적으로 포함하는 하나 이상의 플라스미드를 포함하는,

조성물.

청구항 41

제34항에 있어서, 하나의 플라스미드를 포함하는, 조성물.

청구항 42

제34항에 있어서, 2, 3, 4 또는 5개의 플라스미드를 포함하는, 조성물.

청구항 43

제7항에 있어서,

상기 조성물은 상기 백신으로 백신접종된 포유류에서 말라리아로 감염된 포유류를 진단하기 위한 것으로서, 상기 진단은

- a) 유체 샘플을 상기 포유류로부터 분리시키는 단계; 및
- b) 상기 백신 내 포함되지 않은 말라리아 단백질 및/또는 상기 백신 내에 포함되지 않은 말라리아 단백질에 대한 항체의 존재를 검출하는 단계로서, 상기 백신에 포함되지 않은 말라리아 단백질 및/또는 상기 백신에 포함되지 않은 말라리아 단백질에 대한 항체의 존재는 상기 포유류가 말라리아로 감염되었다는 것을 나타내는 것을 포함하는 것인,

조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 공통 항원성 말라리아 단백질 및 이것을 암호화하는 핵산 분자; 이러한 단백질 및/또는 핵산 분자를 포함하는 개선된 말라리아 백신; 및 말라리아 항원에 대한 면역 반응을 유발하기 위한 백신의 사용방법 및 말라리아 감염의 예방방법 및/또는 말라리아로 감염된 개체의 치료방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

본 출원은 2010년 9월 27일 출원된 미국 특허출원 제61/386,972호에 대한 우선권을 주장하며, 이 기초출원은 본 명세서에 참조로서 포함된다.

[0003]

말라리아는 플라스모듐(*Plasmodium*) 속의 진핵 원생생물에 의해 야기되는 모기-매개성 감염 질병이다. 이것은 아메리카(22개국)의 부분, 아시아 및 아프리카를 포함하는 열대 및 아열대 지역에 널리 퍼져 있다. 매년 2억 5천만의 말라리아 사례가 있으며, 이 중 백만 내지 3백만명의 사람이 사망하는데, 그들의 대다수는 사하라 사막 이남 아프리카의 영아이다. 전염을 감소시키고 치료를 증가시키기 위한 노력에도 불구하고, 1992년 이후에 이들 질병의 위험에 있는 지역에는 거의 변화가 없었다. 게다가, 말라리아의 출현율이 현재 증가하는 과정 중에 있다면, 사망률은 다음 20년 후에 2배로 될 수 있다. 정확한 통계는 알려져 있지 않은데, 다수의 사례가 건강 관리를 제공하는 병원 또는 수단에 사람들이 접근가능하지 않은 오지에서 일어나기 때문이다. 그 결과, 대다수의 사례는 입증되지 않는다.

[0004]

플라스모듐 기생충의 5가지 종은 인간을 감염시킬 수 있다: 가장 중증 형태의 질병은 플라스모듐 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*)(또한 P. 팔시파룸, P.f. 및 PF로서 언급됨)에 의해 야기된다. P. 팔시파룸은 인간에서 말라리아를 야기하는 플라스모듐 종 중 하나인 원생동물 기생충이다. 이것은 암컷 아노펠레스 모기(*Anopheles mosquito*)에 의해 전염된다. P. 팔시파룸(또는 악성) 말라리아가 가장 높은 합병증률 및 사망률을 가지기 때문에 P. 팔시파룸은 이들 감염 중 가장 위험하다. 2006년 현재, 모두 2억 4천 7백만명의 인간 말라리아 감염(아프리카에서 98%)의 91% 및 사망의 90%를 차지한다.

[0005]

매우 다양한 항말라리아 약물이 말라리아 치료에 이용가능하다. 최근 5년에, 풍토성 국가에서 P. 팔시파룸 감염의 치료는 아르테미시닌 유도체를 함유하는 약물의 조합 사용에 의해 변화되었다. 중증의 말라리아는 정맥내 또는 근육내 퀴닌 또는 점차적으로 아르테미시닌 유도체 아테수네이트로 치료된다. 몇몇 약물은 말라리아-풍토성 국가 여행자의 말라리아를 예방하기 위하여 이용가능하다(예방). 몇몇 항말라리아 약물, 가장 현저하게는 클로로퀸에 대해 내성이 발생되었다.

[0006]

말라리아용 백신은 개발 중에 있으며, 완전히 유효한 백신은 아직 이용가능하지 않다. 첫 번째 유망한 연구는 1967년에 마우스를 살아있는 방사선-감쇠 포자소체면역화하고, 정상의 생존가능한 포자소체로 이후의 주사 시 마우스의 약 60%에 대한 보호를 제공함으로써 말라리아 백신에 대한 가능성이 수행되었다는 것을 증명한다. 1970년대 이래로, 인간에서 유사한 백신접종 전략을 진행하기 위한 상당한 노력이 있었다. 그러나, 현재 가장 진전된 말라리아 백신 후보는 임상적 질병에 대해 단지 부분적인 보호를 부여한다.

발명의 내용

[0007]

P. 팔시파룸 면역원 CS; LSA1; TRAP; CeITOS; 및 Ama1 중 한 가지 이상을 암호화하는 플라스미드와 같은 핵산 분자가 제공된다. 면역원은 전장 또는 전장 단백질의 면역원성 단편일 수 있다. 면역원은 공통 서열 및/또는 개선된 발현을 위한 변형을 포함한다. 생체내에 전달될 때 높은 수준의 발현을 제공하는 암호 서열이 제공된다.

[0008]

1, 2, 3, 4 또는 모두 5개의 면역원을 총괄적으로 암호화하는 이를 핵산 분자 중 하나 이상을 포함하는 조성물이 제공된다. 이러한 조성물은 말라리아에 대한 백신으로서 유용할 수 있다. 말라리아에 대해 포유류를 면역화하는 방법이 제공되며, 이는 본 명세서에 개시된 하나 이상의 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0009]

도 1a 및 도 1b는 P. 팔시파룸 환상포자소체단백질(*P. falciparum* circumsporozoite protein, PfConCS)(서열번호 2)에 대한 공통 항원 서열을 도시한 도면. 도 1a는 PfConCS(서열번호 2)와 Genbank로부터의 선택된 CS 서열 사이의 상동성 표를 포함한다. 도 1b는 CS 서열과 PfConCS 서열의 다중서열정렬을 나타낸다. 나타낸 PfConCS 서열은 서열번호 26인데, 이는 서열번호 2 + CS N 말단 메티오닌 대신 N 말단에서 IgE 신호 웨بت아이드 및 CS C 말단의 IgE 신호 웨بت아이드 및 HA 태그에서 HA 태그이다.

도 2a 및 도 2b는 P. 팔시파룸 간 단계 항원 1 단백질(*P. falciparum* liver stage antigen 1 protein, PfConLSA1)에 대한 공통 항원 서열(서열번호 4)을 도시한 도면. 도 2a는 PfConLSA1(서열번호 4)과 선택된 LSA1 서열 사이의 상동성 표를 포함한다. 도 2b는 LSA1 서열 및 PfConLSA1 서열의 다중서열정렬을 나타낸다. 나타낸 PfConLAS1 서열은 서열번호 28인데, 이는 서열번호 4 + LAS1 N 말단 메티오닌 대신 N 말단에서 IgE 신호 웨بت아이드 및 LAS1 C 말단의 IgE 신호 웨بت아이드 및 HA 태그에서 HA 태그이다.

도 3a 및 도 3b는 P. 팔시파룸 트롬보스폰딘-관련-익명 단백질(*P. falciparum* thrombospondin-related-anonymous 단백질, PfConTRAP)(서열번호 6)에 대한 공통 항원 서열을 도시한 도면. 도 3a는 PfConTRAP(서열번호 6)와 Genbank로부터의 선택된 TRAP 서열 사이의 상동성 표를 포함한다. 도 3b는 TRAP 서열 및 PfConTRAP 서열의 다중서열정렬을 나타낸다. 나타낸 PfConTRAP 서열은 서열번호 30이며, 이는 서열번호 6 + TRAP N 말단 메티오닌 대신 N 말단에서 IgE 신호 웨بت아이드 및 TRAP C 말단의 IgE 신호 웨بت아이드에서 HA 태그에서 HA 태그이다.

도 4b 및 도 4b는 오키네트(ookinete) 및 포자소체에 대한 P. 팔시파룸 세포-횡단 단백질에 대한 공통 항원 서열(PfConAg2 또는 PfConCeITOS)(서열번호 8)을 도시한 도면. 도 4b는 PfConCeITOS(서열번호 8)와 Genbank로부터의 선택된 CeITOS 서열 사이의 상동성. 도 4b는 Genbank CeITOS 서열 및 PfConCeITOS 서열의 서열정렬을 나타낸다. 나타낸 PfConCeITOS 서열은 서열번호 32이며, 이는 서열번호 8 + CeITOS N 말단 메티오닌 대신 N 말단에서 IgE 신호 웨بت아이드 및 CeITOS C 말단의 IgE 신호 웨بت아이드에서 HA 태그에서 HA 태그이다.

도 5는 웨스턴 블로트 분석으로부터 SDS-PAGE 겔의 이미지를 도시한 도면. 합성된 단백질은 항-HA 항체를 사용하여 검출되었다(HA 태그는 항원 서열의 C-말단에 함유된다). pVAX1는 음성 대조군으로서 사용되었다.

도 6a 내지 도 6i는 면역화된 마우스 및 그것의 혈청의 면역학적 분석으로부터의 데이터를 도시한 도면. 사용된 P.f. 공통 면역원 구성체는 핵산 서열을 포함하였다(서열번호 26, 28, 30 및 32를 각각 암호화하는 서열번호 25, 27, 29 및 31은 서열번호 2, 4, 6 및 8에 대응되며, IgE 신호 웨بت아이드 및 HA 태그에 각각 연결된다). 도 6a는 INF- γ ELISpot 분석에 기반한 개개 항원(좌측 패널)의 세포 면역원성 및 CS 및 LSA1(우측 패널)에 대한 세포 반응의 분류(CD4 또는 CD8)를 나타내는 막대 그래프를 나타낸다. 도 6b는 보고된 플랫폼의 면역원성과 비교를 나타내는 그래프(CD8 상부 세트; 및 CD4 하부 세트)를 포함한다: PfConLSA1(우측 그래프)은 Ad35 또는 Ad35/단백질 이종성 프라임 부스트(prime boost) 접근(좌측 3 그래프)보다 우세한 CD4+ 및 CD8+ T 세포에 대해 더 강한 세포 반응을 유발한다. 도 6c는 다른 플랫폼에 대한 면역원성의 비교를 나타내는 그래프를 포함하며: PfconCS(우측 그래프)는 Ad5(그래프의 좌측 쪽)보다 약간 더 낮지만, Ad35 및 RTS,S보다는 강한 항원 특이적 IFN γ 를 유발하였다. 도 6d는 유세포 분석기 게이팅 전략을 상술하는 이미지를 보여주는 그래프를 나타낸다. 도 6e는 다중항원백신에 대한 CD4+ T 세포 반응을 나타내는 그래프를 포함하는데, 이는 CS-특이적 반응이 우세한 CD4+ T 세포 반응이라는 것을 보여준다. 도 6f는 다중항원백신에 대한 CD8+ T 세포반응을 나타내는 그래프를 포함하며, 이는 CS-특이적 및 LSA-특이적 반응이 대부분의 CD8+ T 세포 반응을 포함한다는 것을 보여준다. 도 6g는 단일 항원 백신의 CD8+ T 세포 반응을 보여주며, 다중항원백신과 비교하는 그래프를 나타내는 그래프이고, 이는 다중항원이 전달될 때 상당한 변화가 없다는 것을 보여준다. 도 6h는 체액성 반응을 보여주는 그래프를 포함하며, 단, 단일항원백신과 다중항원백신은 둘 다 강한 항체 반응을 유발하였다(평균 종말점 역가 > 100,000).

도 6i는 LSA1 항체가 반복 영역 바깥의 에피토프와 결합된다는 것을 나타내는 그래프를 포함한다.

도 7은 발현 구성체 pGX7001(서열번호 37)의 플라스미드 맵인데, 이는 IgE 신호 웨타이드 및 HA 태그를 포함하는 PfConAG2 (CeITOS)의 암호화 서열(서열번호 32를 암호화하는 서열번호 31)을 포함한다.

도 8은 발현 구성체 pGX7002(서열번호 38)의 플라스미드 맵을 나타내는데, 이는 IgE 신호 웨타이드 및 HA 태그를 포함하는 PfConCS의 암호화 서열(서열번호 26을 암호화하는 서열번호 25)을 포함한다.

도 9는 발현 구성체 pGX7004(서열번호 39)의 플라스미드 맵을 나타내는데, 이는 IgE 신호 웨타이드 및 HA 태그를 포함하는 PfConLSA1의 암호화 서열(서열번호 28을 암호화하는 서열번호 27)을 포함한다.

도 10은 발현 구성체 pGX7005(서열번호 40)의 플라스미드 맵을 나타내는데, 이는 IgE 신호 웨타이드 및 HA 태그를 포함하는 PfConTRAP의 암호화 서열(서열번호 30을 암호화하는 서열번호 29)을 포함한다.

도 11은 발현 구성체 pGX7003(서열번호 41)의 플라스미드 맵을 나타내는데, 플라스미드 pGX7003은 IgE 신호 웨타이드 및 HA 태그를 포함하는 암호 서열 PfConCS-alt(서열번호 36을 암호화하는 서열번호 35)를 포함한다. 대안의 공통 CS-alt 전장 공통 아미노산 서열(신호 웨타이드 또는 HA 태그가 없음)은 서열번호 11에 의해 암호화된 서열번호 12이다.

도 12 내지 도 25는 면역화된 동물 및 그것의 혈청의 면역학적 분석으로부터의 데이터를 포함한다. 사용된 P.f. 공통 면역원 구성체는 CS, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1을 암호화하는 핵산 서열을 포함하였고, 각각은 IgE 신호 웨타이드 및 HA 태그를 암호화하는 암호 서열을 포함한다. CS, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1을 암호화하는 사용된 핵산 서열은 각각 서열번호 25, 27, 29, 31 및 33이었는데, 이는 각각 아미노산 서열 서열번호 26, 28, 30, 32 및 34를 암호화한다. 신호 웨타이드 또는 HA 태그가 없는 전장 CS, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1을 암호화하는 이들 핵산 서열의 부분은 각각 서열번호 1, 3, 5, 7 및 9에 대응하는데, 이는 각각 아미노산 서열 서열번호 2, 4, 6, 8 및 10을 암호화한다.

도 12는 단일 및 다중-항원 구성체를 포함하는 백신으로부터의 체액성 반응과 비교하는 데이터를 도시한 도면.

도 13은 백신 내 구성체에 의해 암호화된 각각의 항원에 대해 다중-항원 구성체를 포함하는 백신에 의해 유발된 CD4+ T 세포 반응의 데이터를 도시한 도면.

도 14는 백신 내 구성체에 의해 암호화된 각각의 항원에 대해 다중-항원 구성체를 포함하는 백신에 의해 유발된 CD8+ T 세포 반응의 데이터를 도시한 도면.

도 15는 CS를 암호화하는 백신의 투여 대 TRAP, LSA1 및 CeITOS를 암호화하는 백신과 조합된 CS를 암호화하는 백신의 투여에 의해 유발된 IFN γ ELISpot에 의해 평가된 면역 반응을 비교하는 데이터를 도시한 도면.

도 16은 한 마리의 마우스 뒷다리에 다중-항원 백신의 전체 용적의 절반을 전달하고 대측성 마우스 뒷다리에 나머지 반을 전달하는 것 대한 마리 마우스 뒷다리에 CS 백신을 전달 및 대측성 뒷다리에 LSA1, TRAP 및 CeITOS 백신을 함유하는 각테일의 전달에 의해 유발되는 IFN γ 반응에서 CS-특이성을 비교하는 데이터를 도시한 도면.

도 17은 다중-항원 백신화된 마우스에서 CD8+ 간 럼프구에 의한 LSA1-특이적 IFN γ 생성을 평가하는 데이터를 도시한 도면.

도 18A는 AMA1 단백질을 암호화하는 백신 구성체에 의해 유발된 AMA1-특이적 T 세포 반응의 평가로부터의 데이터를 도시한 도면.

도 18B는 AMA1 단백질을 암호화하는 백신 구성체에 의해 유발된 AMA1-특이적 혈청 전환의 평가로부터의 데이터를 도시한 도면.

도 19는 제1 및 제2 면역화 전 및 후에 측정한 애주번트(adjuvant) IL-28B를 암호화하는 구성체와 함께 또는 구성체 없이 다중 항원 백신의 투여에 의해 유발된 IFN γ ELISpot에 의해 평가된 면역 반응을 비교하는 데이터를 도시한 도면. 좌측 패널은 조합 반응의 막대 그래프로서 데이터를 도시한다. 우측 패널은 별개로 개개의 항원에 대한 반응에 대한 데이터를 보여준다.

도 20은 애주번트 IL-28B 전달된 IM을 암호화하는 구성체가 있는 또는 이것이 없는 다중-항원 백신 또는 다중-항원 백신 전달된 ID에 의한 제2 면역화(제8주) 후 항원-특이적 CD4+ T 세포 면역반응을 비교하는 데이터를 도시한 도면. 도 20의 좌측 패널은 항원 특이적 IFN γ 생성 데이터를 나타내며, 중앙 패널은 항원 특이적 IL-2 생성 데이터를 나타내고, 우측 패널은 항원-특이적 TNF α 생성 데이터를 나타낸다.

도 21은 애주번트 IL-28B 전달된 IM을 암호화하는 구성체가 있는 또는 이것이 없는 다중-항원 백신 또는 다중-항원 전달된 ID에 의한 제2 면역화(제8주) 후 항원-특이적 CD8+ T 세포 면역 반응을 비교하는 데이터를 도시한 도면. 도 21의 상부 패널은 항원 특이적 IFN γ 생성 데이터를 나타내고, 중앙 패널은 항원 특이적 IL-2 생성 데이터를 나타내며, 오른쪽 패널은 항원-특이적 TNF α 생성 데이터를 나타낸다. 도 21의 하부 왼쪽 패널은 CD8+ IFN γ + T 세포에서 항원 특이적 그랜자임 B 평가를 결정하는 데이터를 나타낸다.

도 22는 애주번트 IL-28B 전달된 IM을 암호화하는 구성체가 있는 또는 이것이 없는 다중-항원 백신 또는 다중-항원 백신 전달된 ID에 의한 제2 면역화 후 항원-특이적 혈청전환을 비교하는 데이터를 도시한 도면.

도 23은 애주번트 IL-28B를 암호화하는 다양한 양의 구성체 없이 또는 구성체와 조합된 다중 항원 백신의 투여에 의해 유발된 IFN γ ELISpot에 의한 항원-특이적 면역 반응을 비교하는 데이터를 도시한 도면. 좌측 패널은 제1 및 제2 면역화 전 및 후 측정된 것을 보여준다. 좌측 패널은 막대 그래프로서 조합된 반응의 항원-특이적 면역 반응을 보여주고; 우측 패널은 CS-특이적 면역 반응에 대한 데이터를 보여준다.

도 24는 애주번트 IL-28B를 암호화하는 다양한 양의 구성체 없이 또는 구성체와 조합된 다중 항원 백신의 투여 후 CD4+CD25+FoxP3+ 조절 T 세포의 집단을 비교하는 데이터를 도시한 도면.

도 25는 애주번트 IL-28B를 암호화하는 다양한 양의 구성체 없이 또는 구성체와 조합된 다중 항원 백신의 투여 후 CD4+CD25+FoxP3+ 조절 T 세포의 CS-특이적 혈청전환 집단을 비교하는 데이터를 도시한 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010]

본 발명의 한 양태에서, 공통 항원은 다음 중 하나 이상을 갖는 것을 포함하는 개선된 전사 및 번역을 제공하는 것이 바람직하다: 전사를 증가시키기 위한 낮은 GC 함량 리더 서열; mRNA 안정성 및 코돈 최적화; 시스-작용 서열 모티프(즉, 내부 TATA-박스)가 가능한 정도로 제거.

[0011]

본 발명의 일부 양태에서, 다음 단계 중 하나 이상을 갖는 것을 포함하여 다중 균주에 걸친 광역 면역 반응을 만드는 공통 항원을 만드는 것이 바람직하다: 모든 이용가능한 전장 서열을 내포 혹은 혼입시키는(incorporate) 단계; 컴퓨터가 각 위치에서 가장 흔히 발생하는 아미노산을 이용하는 생성 서열을 만드는 단계; 및 균주 간의 교차-반응성을 증가시키는 단계.

[0012]

1. 정의.

[0013]

본 명세서에 사용된 용어는 단지 특정 실시형태를 기재하는 목적을 위한 것이며, 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 본 명세서 및 첨부되는 특허청구범위에서 사용되는 것과 같은 단수 형태는 달리 명확하게 표시되지 않는다면 복수의 대상을 포함한다.

[0014]

본 명세서에서 수치적 범위의 인용을 위하여, 각각의 사이에 있는 수는 동일한 정도의 정밀도로 명확하게 고려된다. 예를 들어 6 내지 9의 범위에 대해, 6 및 9에 더하여 숫자 7 및 8이 고려되며, 범위 6.0 내지 7.0에 대해, 숫자 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9 및 7.0이 명확하게 고려된다.

[0015]

a. 애주번트

[0016]

본 명세서에서 사용되는 "애주번트"는 DNA 플라스미드에 의해 암호화되고, 본 명세서에서 이후에 기재되는 핵산 서열을 암호화하는, 말라리아(P.f.) 항원의 항원성을 향상시키기 위하여 본 명세서에 기재된 DNA 플라스미드 백신에 첨가된 임의의 문자를 의미한다.

[0017]

b. 항체

[0018]

"항체"는 Fab, F(ab')2, Fd 및 단일 쇄 항체, 다이아바디, 2중 특이성 항체, 2작용성 항체 및 이들의 유도체를 포함하는 분류 IgG, IgM, IgA, IgD 또는 IgE, 이것의 단편, 단편들 또는 유도체의 항체를 의미할 수 있다. 항체는 원하는 에피토프 또는 그것으로부터 유래된 서열에 충분한 결합 특이성을 나타내는 포유류의 혈청 샘플로부터 분리된 항체, 친화 정제 항체 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0019]

c. 암호 서열

[0020]

본 명세서에서 사용되는 "암호 서열" 또는 "암호화 핵산"은 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산(RNA 또는 DNA 분자)을 지칭하는 것으로 의미될 수 있다. 암호 서열은 핵산이 투여된 개체 또는 포유류의 세포에서 발현을 지시할 수 있는 프로모터 및 폴리아데닐화 신호를 포함하는 조절 요소에 작동가능하게 연결

된 개시 및 종결 신호를 추가로 포함할 수 있다.

[0021] d. 보체

본 명세서에 사용되는 "보체" 또는 "상보적"은 핵산을 의미할 수 있으며, 왓슨-크릭(Watson-Crick)(예를 들어, A-T/U 및 C-G) 또는 핵산 분자의 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체 간의 후그스틴형(Hoogsteen) 염기 쌍을 의미할 수 있다.

[0023] e. 공통 또는 공통 서열

본 명세서에 사용되는 "공통" 또는 "공통 서열"은 특정 말라리아 항원의 다수의 서브타입의 정렬 분석을 기반으로 구성된 합성 핵산 서열 또는 대응하는 폴리펩타이드 서열을 의미할 수 있으며, 이는 특정 말라리아 항원의 다수의 서브타입 또는 혈청형에 대해 광역 면역을 유발하기 위해 사용될 수 있다. 공통 말라리아 항원은 CS, LSA1, TRAP, CelTOS 및 AMA1 단백질을 포함할 수 있다. 공통 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 또한 높은 수준의 발현을 위해 지정된 것을 포함하여 제공된다. 또한 융합 단백질과 같은 합성 항원은 공통 서열(또는 공통 항원)을 포함할 수 있다.

[0025] f. 정전류

본 명세서에 사용되는 "정전류"는 동일 조직에 전달된 전기적 펄스의 지속 기간에 걸쳐 조직 또는 상기 조직을 한정하는 세포에 의해 받아들여지거나 또는 경험되는 전류를 정의하기 위한 것이다. 전기적 펄스는 본 명세서에 기재된 전기천공 장치로부터 전달된다. 이 전류는 전기적 펄스의 수명에 걸쳐 상기 조직에서 일정한 암페어 수로 남아있는데, 본 명세서에 제공된 전기천공 장치가 바람직하게는 즉각적인 피드백을 갖는 피드백 요소를 가지기 때문이다. 피드백 요소는 펄스 지속기간 내내 조직(또는 세포)의 저항성을 측정할 수 있고, 전기천공 장치가 그것의 전기적 에너지 출력(예를 들어 전압을 증가시킴)을 변경시키도록 하여서, 동일 조직 내 전류는 전류 펄스 내내(대략 수 마이크로초) 및 펄스 간에 일정하게 남아있다. 일부 실시형태에서, 피드백 요소는 제어기를 포함한다.

[0027] g. 전류 피드백 또는 피드백

본 명세서에 사용되는 "전류 피드백" 또는 "피드백"은 상호호환적으로 사용될 수 있으며, 제공된 전기천공 장치의 활성 반응을 의미할 수 있는데, 이는 전극 간 조직 내 전류를 측정하는 단계 및 따라서 EP 장치에 의해 전달되는 에너지 출력을 변경시키는 단계를 포함하여 전류를 일정한 수준으로 유지한다. 이 일정한 수준은 펄스 서열 또는 전기적 처리의 개시 전 사용자에 의해 사전 설정된다. 피드백은 전기천공 장치의 전기천공 부품, 예를 들어 제어기에 의해 달성될 수 있는데, 그것의 전기 회로는 전극 간 조직 내 전류를 지속적으로 모니터링하고, 모니터링된 전류(또는 조직 내 전류)를 사전 설정된 전류와 비교하며, 지속적으로 에너지-출력 조절을 하여 사전 설정된 수준에서 모니터링된 전류를 유지한다. 피드백 루프는 즉각적일 수 있는데, 이것이 아날로그 폐회로(closed-loop) 피드백이기 때문이다.

[0029] h. 분산된 전류

본 명세서에 사용되는 "분산된 전류"는 본 명세서에 기재된 전기천공 장치의 다양한 바늘 전극 배열로부터 전달된 전기적 전류의 패턴을 의미하되, 해당 패턴은 전기천공되는 조직의 임의의 영역 상에서 전기천공 관련 열 스트레스를 최소화하거나 또는 바람직하게는 제거한다.

[0031] i. 전기천공법

본 명세서에서 상호호환적으로 사용되는 "전기천공법", "전기-침투성" 또는 "전기-역학적 향상"은 생체막 내 미시적 경로(기공)를 유도하는 막관통 전기장 펄스의 사용을 지칭할 수 있으며; 이것의 존재는 플라스미드, 올리고뉴클레오타이드, siRNA, 약물, 이온 및 물이 세포막의 한 측면으로부터 다른 것으로 통과되도록 한다.

[0033] j. 피드백 메커니즘

본 명세서에서 사용되는 "피드백 메커니즘"은 소프트웨어 또는 하드웨어(또는 휴웨어) 중 하나에 의해 수행되는 과정을 지칭할 수 있는데, 이 과정은 원하는 조직의 임피던스(에너지 펄스의 전달 전, 전달 동안 및/또는 전달 후)를 현재 값, 바람직하게는 전류와 비교하고 수신하며, 전달된 에너지의 펄스를 조절하여 사전 설정 값을 달성한다. 피드백 메커니즘은 아날로그 폐회로에 의해 수행될 수 있다.

[0035] k. 단편

[0036]

"단편"은 특정 말라리아 항원을 인식함으로써 말라이아에 대해 포유류 내 면역 반응을 유발할 수 있는 말라리아 공통 면역원의 폴리펩타이드 단편을 의미할 수 있다. 단편은 면역글로불린 신호 펩타이드와 같은 신호 펩타이드, 예를 들어 IgE 신호 펩타이드(서열번호 42) 또는 IgG 신호 펩타이드에 연결된 말라리아 공통 면역원의 단편을 포함할 수 있다.

[0037]

PfCon 공통 말라리아 면역원의 단편, 예컨대 PfConCS 공통 말라리아 면역원, PfConLAS1 공통 말라리아 면역원의 단편 또는 PfConTRAP 공통 말라리아 면역원의 단편 또는 PfConCe1TOS 공통 말라리아 면역원의 단편 또는 PfConAMA1 공통 말라리아 면역원의 단편 또는 PfConCS-alt 대안적 공통 말라리아 면역원의 단편은 각각 본 명세서에 제시되는 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 또는 그 이상 백분율의 전장 PfConCS 면역원 서열(서열번호 2)의 길이, 전장 PfConLAS1 공통 말라리아 면역원(서열번호 4), 또는 전장 PfConTRAP 공통 말라리아 면역원의 단편(서열번호 6), 또는 전장 PfConCe1TOS 공통 말라리아 면역원의 단편(서열번호 8) 또는 전장 PfConAMA1 공통 말라리아 면역원의 단편(서열번호 10), 또는 전장 PfConCS-alt의 단편(서열번호 12)일 수 있다. 신호 펩타이드 또는 다른 첨가된 서열(예를 들어 P.f. 공통 서열, 예컨대 서열번호 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34 및 36을 포함하는 단백질)을 포함하는 P.f. 공통 서열의 단편 크기를 계산할 때, 계산은 단지 전장 서열 Pf 서열 부분이다(서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12). 일부 실시형태에서 전장 PfConCS 면역원 서열(서열번호 2), 전장 PfConLAS1 공통 말라리아 면역원(서열번호 4) 또는 전장 PfConTRAP 공통 말라리아 면역원의 단편(서열번호 6), 또는 전장 PfConCe1TOS 공통 말라리아 면역원의 단편(서열번호 8), 또는 전장 PfConAMA1 공통 말라리아 면역원의 단편(서열번호 10), 또는 전장 PfConCS-alt의 단편(서열번호 12) 중 하나의 단편은 각각 N 말단 서열의 거의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 잔기 또는 C 말단 서열의 거의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 잔기 또는 N 말단 서열의 거의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 잔기 및 C 말단 서열의 거의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 잔기의 조합을 포함한다.

[0038]

단편은 또한 각각 전장 PfConCS 면역원 서열(서열번호 2), 전장 PfConLAS1 공통 말라리아 면역원(서열번호 4), 또는 전장 PfConTRAP 공통 말라리아 면역원의 단편(서열번호 6), 또는 전장 PfConCe1TOS 공통 말라리아 면역원의 단편(서열번호 8), 또는 전장 PfConAMA1 공통 말라리아 면역원의 단편(서열번호 10), 또는 전장 PfConCS-alt의 단편(서열번호 12) 중 하나의 서열에 대해서 98% 이상, 또는 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드인 상동성 변이체 아미노산 서열의 단편을 지칭한다. 상동성 변이체 아미노산 서열의 단편은 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 백분율의 특정 전장 상동성 변이체 아미노산 서열의 길이(각각 전장 PfConCS 면역원 서열(서열번호 2), 전장 PfConLAS1 공통 말라리아 면역원(서열번호 4), 또는 전장 PfConTRAP 공통 말라리아 면역원(서열번호 6)의 단편, 또는 전장 PfConCe1TOS 공통 말라리아 면역원(서열번호 8)의 단편, 또는 전장 PfConAMA1 공통 말라리아 면역원(서열번호 10)의 단편, 또는 전장 PfConCS-alt(서열번호 12)의 단편에 대해서 98% 이상 또는 99% 이상 상동성인 폴리펩타이드)이다. P.f. 공통 면역원 서열(서열번호 2, 4, 6, 8 또는 10)에 대한 상동성 변이체 아미노산 서열의 상동성을 계산할 때, 계산은 P.f. 공통 면역원 서열에 대응하는 상동성 변이체 아미노산 서열의 아미노산에 연결된 임의의 신호 펩타이드 또는 다른 첨가된 서열을 포함하지 않는다. 상동성 변이체 아미노산 서열의 단편 길이를 계산할 때, 계산은 P.f. 공통 면역원 서열에 대응하는 전체 상동성 변이체 아미노산 서열의 백분율을 기준으로 한다. 일부 실시형태에서 전장 상동성 변이체 아미노산 서열의 단편은 N 말단 서열의 거의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 잔기 또는 C 말단 서열의 거의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 잔기 또는 전장 상동성 변이체 아미노산 서열의 N 말단 서열의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 잔기와 C 말단 서열의 거의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 잔기의 조합을 포함한다.

[0039]

"단편"은 또한 상기 기재한 바와 같은 전장 PF 공통 면역원의 단편을 암호화하는 핵산 서열 또는 상기 기재한 바와 같은 상동성 변이체 아미노산 서열의 단편을 암호화하는 핵산 서열일 수 있다. 단편은 서열번호 1, 3, 5, 7, 9 또는 11의 단편이며 상기 기재한 전장 PF 공통 면역원의 단편을 암호화하는 핵산 서열일 수 있다. 단편은 상동성 변이체 핵산 서열의 단편인 핵산 서열일 수 있다. 상동성 변이체 핵산 서열은 서열번호 1, 3, 5, 7, 9 또는 11에 대해서 98% 이상 또는 99% 이상 상동성이며, 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12에 대해서 98% 이상 또는 99% 이상 상동성인 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열이다. 상동성 변이체 핵산 서열의 단편은 상동성 변이체 아미노산 서열의 단편을 암호화한다. 서열번호 1, 3, 5, 7, 9, 11 또는 상동성 변이체 핵산 서열의 단편은 신호 펩타이드, 바람직하게는 면역글로불린 신호 펩타이드, 바람직하게는 IgE 또는 IgG 신호 펩타이드를 암호화하는 암호 서열을 포함할 수 있다. 상동성 변이체 핵산 서열과 공통 PF 면역원 암호 서열(서열번호 1, 3, 5, 7, 9 또는 11) 사이의 상동성%의 계산은 신호 펩타이드에 대한 암호 서열 또는 상동성 변이체 핵산 서열에

연결될 수 있는 임의의 다른 비-공통 전장 PF 면역원 암호 서열을 포함하지 않는다. 전장 상동성 변이체 핵산 서열의 백분율로서 단편 크기는 신호 웨بت아이드에 대한 암호 서열 또는 상동성 변이체 핵산 서열 또는 이것의 단편에 연결될 수 있는 임의의 다른 비-공통 전장 PF 면역원 암호 서열을 포함하지 않는다.

[0040] 1. 상동성 변이체

"상동성 변이체 아미노산 서열"은 각각 전장 PfConCS 면역원 서열(서열번호 2), 전장 PfConLAS1 공통 말라리아 면역원(서열번호 4), 또는 전장 PfConTRAP 공통 말라리아 면역원(서열번호 6)의 단편, 또는 전장 PfConCeITOS 공통 말라리아 면역원(서열번호 8)의 단편, 또는 전장 PfConAMA1 공통 말라리아 면역원(서열번호 10)의 단편, 또는 전장 PfConCS-alt(서열번호 12)의 단편 중 하나의 서열에 대해서 98% 이상 또는 99% 이상 상동성인 폴리웨بت아이드를 의미할 수 있으며, 특정 말라리아 항원을 인식함으로써 말라리아에 대해 포유류 내 면역 반응을 유발할 수 있다. 상동성 변이체 아미노산 서열은 면역글로불린 신호 웨بت아이드와 같은 신호 웨بت아이드, 예를 들어 IgE 신호 웨بت아이드 또는 IgG 신호 웨بت아이드에 연결된 것을 포함할 수 있다. P.f. 공통 면역원 서열(서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12)에 대한 상동성 변이체 아미노산 서열의 상동성을 계산할 때, 계산은 P.f. 공통 면역원 서열에 대응하는 상동성 변이체 아미노산 서열의 아미노산 서열에 연결된 임의의 신호 웨بت아이드 또는 다른 첨가된 서열을 포함하지 않는다.

"상동성 변이체 핵산 서열"은 서열번호 1, 3, 5, 7, 9 또는 11에 대해서 98% 이상 또는 99% 이상 상동성이며, 특정 말라리아 항원을 인식함으로써 말라리아에 대해 포유류 내 면역 반응을 유발할 수 있는 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12에 대해서 98% 이상 또는 99% 이상 상동성인 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 상동성 변이체 핵산 서열은 신호 웨بت아이드, 바람직하게는 면역글로불린 신호 웨بت아이드, 바람직하게는 IgE 또는 IgG 신호 웨بت아이드를 암호화하는 암호화 서열을 포함할 수 있다. 상동성 변이체 핵산 서열과 공통 PF 면역원 암호 서열(서열번호 1, 3, 5, 7, 9 또는 11) 사이의 상동성% 계산은 상동성 변이체 핵산 서열에 연결될 수 있는 신호 웨بت아이드에 대한 암호 서열 또는 임의의 다른 비-공통 전장 PF 면역원 암호 서열을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 상동성 변이체 핵산 서열은 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12를 포함하는 단백질을 암호화 한다.

[0043] 1. 동일성

2 이상의 핵산 또는 폴리웨بت아이드 서열의 내용에서 본 명세서에 사용되는 "동일한" 또는 "동일성"은 서열이 특정된 영역에 걸쳐 동일한 특정된 잔기의 백분율을 가진다는 것을 의미할 수 있다. 백분율은 두 서열을 최적으로 정렬하는 단계, 특정된 영역에 걸쳐 두 서열을 비교하는 단계, 동일한 잔기가 두 서열 모두에서 생기는 위치의 수를 결정하여 매칭된 위치의 수를 얻는 단계, 매칭된 위치의 수를 특정된 영역 내 전체 위치의 수로 나누는 단계 및 결과에 100을 곱해서 서열 동일성의 백분율을 얻는 단계에 의해 계산될 수 있다. 두 서열이 상이한 길이를 가지거나 또는 정렬이 하나 이상의 엇갈린 말단을 생성하고, 비교의 특정 영역이 단지 하나의 서열을 포함하는 경우, 단일 서열의 잔기는 분모에 포함되지만, 계산의 분자는 아니다. DNA와 RNA를 비교할 때, 티민(T) 및 유라실(U)은 동등한 것으로 고려될 수 있다. 동일성은 수동으로 또는 BLAST 또는 BLAST 2.0과 같은 컴퓨터 서열 알고리즘을 사용하여 수행될 수 있다.

[0045] m. 임피던스

본 명세서에서 사용되는 "임피던스"는 피드백 메커니즘을 논의할 때 사용될 수 있고, 음의 볍칙에 따라 전류 값으로 전환될 수 있으며, 따라서 사전 설정된 전류와 비교할 수 있다.

[0047] n. 면역 반응

본 명세서에서 사용되는 "면역 반응"은 제공된 DNA 플라스미드 백신을 통해 말라리아 공통 항원의 도입에 반응하는 숙주 면역 시스템의 활성화, 예를 들어 포유류 면역 시스템의 활성화를 의미할 수 있다. 면역 반응은 세포 또는 체액성 반응 형태로 또는 둘 다로 있을 수 있다.

[0049] o. 핵산

본 명세서에서 사용되는 "핵산" 또는 "올리고뉴클레오타이드" 또는 "폴리뉴클레오타이드"는 함께 공유적으로 연결된 적어도 2개의 뉴클레오타이드를 의미할 수 있다. 단일 가닥의 도시는 또한 상보적 가닥의 서열을 나타낸다. 따라서, 핵산은 또한 도시된 단일 가닥의 상보적 가닥을 포함한다. 핵산의 다수 변이체는 주어진 핵산과 동일한 목적을 위해 사용될 수 있다. 따라서, 핵산은 또한 실질적으로 동일한 핵산 및 이것의 보체를 포함한다. 단일 가닥은 염색 혼성화 조건 하에 표적 서열을 혼성화할 수 있는 프로브를 제공한다. 따라서, 핵산은

또한 염격 혼성화 조건 하에 혼성화되는 프로브를 포함한다.

[0051] 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있거나 또는 이중 가닥과 단일 가닥 서열 둘 다의 일부를 함유할 수 있다. 핵산은 DNA, 계놈 둘 다 및 cDNA, RNA 또는 혼성체일 수 있으며, 핵산은 데옥시리보-뉴클레오타이드와 리보-뉴클레오타이드의 조합 및 유라실, 아데닌, 티민, 사이토신, 구아닌, 이노신, 잔틴, 하이포잔틴, 아이소사이토신 및 아이소구아닌을 포함하는 염기의 조합을 함유할 수 있다. 핵산은 화학적 합성 방법에 의해 또는 재조합 방법에 의해 얻어질 수 있다.

p. 작동가능하게 연결

[0053] 본 명세서에 사용되는 "작동가능하게 연결된"은 유전자 발현이 공간적으로 연결된 프로모터의 제어 하에 있다는 것을 의미할 수 있다. 프로모터는 유전자의 제어 하에 유전자의 5'(상류) 또는 3'(하류)에 위치될 수 있다. 프로모터와 유전자 사이의 거리는 대략 해당 프로모터와 유전자 사이의 거리와 대략 동일할 수 있으며, 이는 프로모터가 유래된 유전자에서 제어된다. 당업계에 공지된 바와 같이, 이 거리의 변화는 프로모터 기능의 손실 없이 수용될 수 있다.

q. 프로모터

[0055] 본 명세서에서 사용되는 "프로모터"는 세포 내 핵산의 발현을 부여하고, 활성화하거나 또는 향상시킬 수 있는 합성의 또는 자연적으로 유래된 분자를 의미할 수 있다. 프로모터는 하나 이상의 특이적 전사 조절 서열을 포함하여 추가로 발현을 향상시킬 수 있고/있거나 이것의 공간적 발현 및/또는 일시적 발현을 변경시킬 수 있다. 프로모터는 또한 전사의 출발 부위로부터 수 천개의 염기쌍만큼 많이 위치될 수 있는 원위 인핸서 또는 리프레서 요소를 포함할 수 있다. 프로모터는 바이러스, 박테리아, 진균, 식물, 곤충 및 동물을 포함하는 공급물로부터 유래될 수 있다. 프로모터는 발현이 일어나는 세포 조직 또는 기관에 대해, 발현이 일어나는 발생 단계에 대해 또는 외부 자극, 예컨대 생리적 스트레스, 병원체, 금속 이온 또는 유발 작용제(agent)에 반응하여 구성요소로 또는 차별적으로 유전자 성분의 발현을 조절할 수 있다. 프로모터의 대표적인 예는 박테리오파지 T7 프로모터, 박테리오파지 T3 프로모터, SP6 프로모터, lac 오퍼레이터-프로모터, tac 프로모터, SV40 후기 프로모터, SV40 조기 프로모터, RSV-LTR 프로모터, CMV IE 프로모터, SV40 조기 프로모터 또는 SV40 후기 프로모터 및 CMV IE 프로모터를 포함한다.

r. 염격 혼성화 조건

[0057] 본 명세서에서 사용되는 "염격 혼성화 조건"은 제1 핵산 서열(예를 들어, 프로브)이 예컨대 핵산의 복합체 혼합물에서 제2 핵산 서열(예를 들어 표적)에 혼성화되는 조건을 의미할 수 있다. 염격 조건은 서열-의존적이며, 상이한 환경에서 상이할 것이다. 염격 조건은 정해진 이온 강도 pH에서 특이적 서열에 대해 열 융점(T_m)보다 더 낮은 약 5°C 내지 10°C가 되도록 선택될 수 있다. T_m 은 표적에 상보적인 프로브의 50%가 평형상태(T_m 에서 표적 서열이 과량으로 존재하면, 프로브의 50%는 평형상태로 점유됨)에서 표적 서열과 혼성화되는 온도(정해진 이온 강도, pH 및 핵산 농도하에)일 수 있다. 염격 조건은 pH 7.0 내지 8.3에서 염 농도가 약 1.0M 미만의 나트륨 이온, 예컨대 약 0.01 내지 1.0 M 나트륨 이온 농도(또는 다른 염)이며, 온도가 짧은 프로브(예를 들어, 약 10 내지 50개 뉴클레오타이드)에 대해 적어도 약 30°C 및 긴 프로브(예를 들어, 약 50개 초과의 뉴클레오타이드)에 대해 적어도 약 60°C인 것일 수 있다. 염격 조건은 또한 포름아마이드와 같은 불안정체의 첨가에 의해 이루어질 수 있다. 선택적 또는 특이적 혼성화를 위해, 포지티브 신호는 적어도 2 내지 10배의 배경 혼성화일 수 있다. 대표적인 염격 혼성화 조건은 다음을 포함한다: 50% 포름아마이드, 5x SSC 및 1% SDS, 42°C에서 인큐베이션 또는 5x SSC, 1% SDS, 65°C에서 인큐베이션, 65°C에서 0.2x SSC 및 0.1% SDS로 세척.

s. 실질적으로 상보적

[0059] 본 명세서에서 사용되는 "실질적으로 상보적"은 제1 서열이 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100개 또는 그 이상의 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 영역에 걸쳐 제2 서열의 보체와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것 또는 제2 서열이 염격 혼성화 조건 하에 혼성화되는 것을 의미할 수 있다.

t. 실질적으로 동일한

[0061] 본 명세서에서 사용되는 제1 서열이 제2 서열의 보체에 실질적으로 상보적이라면, "실질적으로 동일한"은 제1 및 제2 서열이 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 또는 그 이상의 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 영역에 걸쳐

또는 핵산에 대해 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것을 의미할 수 있다.

u. 변이체

[0063] 핵산에 대해 본 명세서에서 사용되는 "변이체"는 (i) 기준 뉴클레오타이드 서열의 일부 또는 단편; (ii) 기준 뉴클레오타이드 서열의 보체 또는 이것의 일부; (iii) 기준 핵산 또는 이것의 보체와 실질적으로 동일한 핵산; 또는 (iv) 기준 핵산에 염격 조건 하에 혼성화되는 핵산, 이것의 보체 또는 그것과 실질적으로 동일한 서열을 의미할 수 있다.

[0064] 웨타이드 또는 폴리웨타이드에 대해 "변이체"는 아미노산의 삽입, 결실 또는 보존적 치환에 의해 아미노산 서열과 상이하지만, 적어도 하나의 생물학적 활성을 보유한다. 변이체는 또한 적어도 하나의 생물학적 활성을 보유하는 아미노산 서열을 갖는 기준 단백질과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 단백질을 의미할 수 있다. 아미노산의 보존적 치환, 즉 아미노산을 유사한 특성(예를 들어, 친수성, 하전된 영역의 정도 및 분포)의 상이한 아미노산으로 대체하는 것은 전형적으로 부수적 변화를 수반하는 것으로 당업계에서 인식된다. 이들 부수적 변화는 당업계에 이해되는 바와 같이 부분적으로 아미노산의 수치료 지수(hydropathic index)를 고려함으로써 확인될 수 있다. 문헌[Kyte et al., J. Mol. Biol. 157:105-132 (1982)]. 아미노산의 수치료 지수는 그것의 소수성 및 전하의 고려를 기반으로 한다. 유사한 수치료 지수의 아미노산은 치환될 수 있고 단백질 기능을 여전히 유지한다는 것이 당업계에 공지되어 있다. 한 양태에서, ± 2 의 수치료 지수를 갖는 아미노산이 치환된다. 아미노산의 친수성은 또한 생물학적 기능을 보유하는 단백질을 초래하는 치환을 드러내기 위하여 사용될 수 있다. 웨타이드의 내용에서 아미노산의 친수성의 고려는 해당 웨타이드의 가장 큰 국소 평균 친수성의 계산을 허용하며, 이는 항원성 및 면역원성을 잘 보여주는 것으로 보고된 유용한 측정이다. 미국 특히 제4,554,101호는 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다. 유사한 친수성 값을 가지는 아미노산의 치환은 당업계에 이해되는 바와 같은 생물학적 활성, 예를 들어 면역원성을 보유하는 웨타이드를 초래할 수 있다. 서로 ± 2 이내의 친수성 값을 갖는 아미노산으로 치환이 수행될 수 있다. 아미노산의 소수성 지수와 친수성 값은 둘 다 해당 아미노산의 특정 측쇄에 의해 영향받는다. 관찰과 일치되게, 생물학적 기능과 양립할 수 있는 아미노산 치환은 소수성, 친수성, 전하, 크기 및 다른 특성에 의해 드러나는 바와 같은 아미노산의 상대적 유사성, 특히 아미노산의 측쇄에 의존한다는 것이 이해된다.

v. 벡터

[0066] 본 명세서에서 사용되는 "벡터"는 복제원점을 함유하는 핵산 서열을 의미할 수 있다. 벡터는 플라스미드, 박테리오파지, 박테리아 인공 염색체 또는 효모 인공 염색체일 수 있다. 벡터는 DNA 또는 RNA 벡터일 수 있다. 벡터는 자기-복제 염색체 밖 벡터 또는 숙주 세포 내에 통합되는 벡터 중 하나일 수 있다.

2. P.f. 공통 면역원

[0068] 본 명세서에서 또한 "공통 PF 면역원"으로 언급되는 공통 PF 단백질이 본 명세서에 제공되며, 이는 PF에 대해 면역 반응을 유발할 수 있는 공통 항원이다. 전체 6개의 공통 서열이 제조되었다. 공통 PF 단백질은 본 명세서에서 기재되는 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12, 그것의 단편, 본 명세서에서 기재되는 상동성 변이체 아미노산 서열, 본 명세서에서 기재되는 상동성 변이체 아미노산 서열의 단편을 포함할 수 있다. 공통 PF 단백질은 면역글로불린 신호 웨타이드와 같은 신호 웨타이드, 예컨대 IgE 또는 IgG 신호 웨타이드를 포함할 수 있다. 공통 PF 단백질 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12가 IgE 신호 웨타이드를 추가로 포함하는 실시형태는 서열번호 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34 및 36을 포함한다. 바람직한 실시형태는 신호 웨타이드, 예컨대 IgE 신호 웨타이드를 포함한다. 각 단백질에서, PF 공통 서열의 N 말단 메티오닌은 신호 웨타이드로 대체된다. 일부 실시형태에서, 공통 PF 단백질은 다른 아미노산 서열, 예컨대 HA 태그를 포함한다. 공통 PF 단백질의 실시형태에서, 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12는 IgE 신호 웨타이드를 추가로 포함하며, HA 태그는 서열번호 26, 28, 30, 32, 34 및 36을 포함한다.

[0069] 공통 CS 공통 서열은 GenBank 데이터베이스(전체 66 서열)에서 모든 전장 환상포자소체 단백질 서열의 편집으로부터 설계되었다. 전장 PfConCS 리더 서열에 대한 단백질 서열은 서열번호 2이다. 각각의 기여 서열에 대한 서열번호 2의 상동성%는 도 1a에서 보고된다. 모두 66개의 Genbank 서열과 서열번호 2의 중앙값 상동성은 98.2%(97.0 내지 99.8)이다. GenBank 서열에 의한 PfConCS의 서열 정렬은 도 1b에 나타낸다. 나타낸 PfConCS 서열은 서열번호 26의 도 1b를 포함한다. "공통 CS 면역원"은 서열번호 2, 본 명세서에 기재되는 이것의 단편, 본 명세서에 기재되는 서열 번호 2에 대해 상동성이 아미노산 서열 및 본 명세서에 기재되는 이것의 단편을 포

함하는 단백질을 지칭한다. 공통 CS 면역원은 면역글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 신호 웨პ타이드, 예컨대 IgE 또는 IgG 신호 웨პ타이드를 포함할 수 있으며, 일부 실시형태에서, HA 태그를 포함할 수 있다. IgE 신호 웨პ타이드를 포함하는 공통 CS 면역원은 서열번호 14 및 26을 포함한다. 서열번호 26은 IgE 신호 웨პ타이드 및 HA 태그를 포함하는 공통 CS 면역원이다.

[0070] LSA1은 고도로 보존된 항원이다. 공통 서열 PfConLSA1은 GenBank 데이터베이스 내 전장 Pf LSA1 서열을 기반으로 설계된다. 전장 PfConLSA에 대한 단백질 서열은 서열번호 4이다. 도 2a는 GenBank 데이터베이스 내 전장 Pf LSA1 서열 및 LSA1-NRC, 즉 재조합 단백질 백신 후보에 대해 서열번호 4의 상동성을 나타낸다. 서열번호 4는 전장 LSA1 서열에 95% 상동성이며 LSA-NRC에 96% 상동성이다. PfConLSA1, 전장 LSA1 및 LSA1-NRC의 다중 서열 정렬을 도 2b에 나타낸다. 나타낸 PfConLAS1 서열은 서열번호 28의 도 2b를 포함한다. 전장 LSA1 서열은 단백질 중심의 다중 반복 영역을 함유한다. PfConLSA1은 이들 반복 영역의 단지 8개를 함유한다. 서열 정렬은 최소화되어 PfConLSA1 또는 LSA1-NRC에 함유되지 않은 반복 영역의 단지 일부를 포함한다. "공통 LAS1 면역원"은 서열번호 4, 본 명세서에 기재된 이것의 단편, 본 명세서에 기재된 서열번호 4에 대한 상동성 아미노산 서열, 및 본 명세서에 기재된 이것의 단편을 포함하는 단백질을 지칭한다. 공통 LAS1 면역원은 면역글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 신호 웨პ타이드, 예컨대 IgE 또는 IgG 신호 웨პ타이드를 포함할 수 있으며, 일부 실시형태에서, HA 태그를 포함할 수 있다. IgE 신호 웨პ타이드를 포함하는 공통 LAS1 면역원은 서열번호 16 및 28을 포함한다. 서열번호 28은 IgE 신호 웨პ타이드 및 HA 태그를 포함하는 공통 CS 면역원이다.

[0071] TRAP의 공통 서열은 또한 SSP2로서 언급되며, GenBank 데이터베이스(전체 28개 서열) 내 모두 전장 플라스모듐 팔시파룸 TRAP/SSP2 서열의 편집으로부터 설계되었다. 전장 PfConTRAP/SSP2에 대한 단백질 서열은 서열번호 6이다. 각각의 기여 서열에 대한 서열번호 6의 상동성%는 도 3a의 표에서 보고된다. 모두 28개의 Genbank 서열을 갖는 서열번호 6의 중앙값 상동성은 98.3%(93.0 내지 99.1)이다. PfConSSP2/TRAP 및 28개 서열의 다중서열정렬은 도 3b에 나타낸다. 나타낸 PfConTRAP 서열은 서열번호 30의 도 3b를 포함한다. "공통 TRAP 면역원"은 서열번호 6, 본 명세서에 기재된 이것의 단편, 본 명세서에 기재된 서열번호 6에 대한 상동성 아미노산 서열, 및 본 명세서에 기재된 이것의 단편을 포함하는 단백질을 지칭한다. 공통 TRAP 면역원은 면역글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 신호 웨პ타이드, 예컨대 IgE 또는 IgG 신호 웨პ타이드를 포함할 수 있으며, 일부 실시형태에서, HA 태그를 포함할 수 있다. IgE 신호 웨პ타이드를 포함하는 공통 TRAP 면역원은 서열번호 18 및 30을 포함한다. 서열번호 30은 IgE 신호 웨პ타이드 및 HA 태그를 포함하는 공통 TRAP 면역원이다.

[0072] CelTOS는 또한 Ag2로서 언급되며, 고도로 보존된 플라스모듐 항원이다. 공통 서열 PfConAg2(PfConCelTOS)인 서열번호 8은 신규 리더 서열에 추가로 도 4a에서 확인되는 GenBank 데이터베이스 내 전장 CelTOS 서열을 기반으로 설계된다. GenBank 내 PfConAg2에 대한 단백질 서열 및 전장 CelTOS 서열은 도 4b에서 제시되는 것과 비교되었다. 나타낸 PfConCelTOS 서열은 서열번호 32로 도 4b를 포함한다. 공통 CelTOS 면역원은 서열번호 8, 본 명세서에 기재된 이것의 단편, 본 명세서에 기재된 서열번호 8에 대한 상동성 아미노산 서열, 및 본 명세서에 기재된 이것의 단편을 포함하는 단백질을 지칭하며, 면역글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 신호 웨პ타이드, 예컨대 IgE 또는 IgG 신호 웨პ타이드를 포함하고, 일부 실시형태에서, HA 태그를 포함할 수 있다. IgE 신호 웨პ타이드를 포함하는 공통 CelTOS 면역원은 서열번호 20 및 32를 포함한다. 서열번호 32는 IgE 신호 웨პ타이드 및 HA 태그를 포함하는 공통 CelTOS 면역원이다.

[0073] Ama1은 고도로 보존된 플라스모듐 항원이다. 공통 서열 PfConAma1, 즉 서열번호 10은 전장 Ama1 서열을 기반으로 설계되었다. 공통 Ama1 면역원은 서열번호 10, 본 명세서에 기재된 이것의 단편, 본 명세서에 기재된 서열번호 10에 대한 상동성 아미노산 서열, 및 본 명세서에 기재된 이것의 단편을 포함하는 단백질을 지칭하며, 면역글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 신호 웨პ타이드, 예컨대 IgE 또는 IgG 신호 웨პ타이드를 포함하고, 일부 실시형태에서, HA 태그를 포함할 수 있다. IgE 신호 웨პ타이드를 포함하는 공통 Ama1 면역원은 서열번호 22 및 34를 포함한다. 서열번호 34는 IgE 신호 웨პ타이드 및 HA 태그를 포함하는 공통 Ama1 면역원이다.

[0074] 또 다른 공통 CS 공통 서열인 공통 CS-alt가 설계되었다. PfConCS-alt에 대한 단백질 서열은 서열번호 12이다. "공통 CS-alt 면역원"은 서열번호 12, 본 명세서에 기재된 이것의 단편, 본 명세서에 기재된 서열번호 12에 대한 상동성 아미노산 서열, 및 본 명세서에 기재된 이것의 단편을 포함하는 단백질을 지칭하며, 면역글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 신호 웨პ타이드, 예컨대 IgE 또는 IgG 신호 웨პ타이드를 포함할 수 있고, 일부 실시형태에서, HA 태그를 포함할 수 있다. IgE 신호 웨პ타이드를 포함하는 공통 CS-alt 면역원은 서열번호 24 및 36을 포함한다. 서열번호 36은 IgE 신호 웨პ타이드 및 HA 태그를 포함하는 공통 CS-alt 면역원이다.

[0075] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제시된 PF 단백질 중 2 이상의 조합을 포함하는 융합 단백질이 제공된다. 예를

들어, 융합 단백질은 서로 인접하여 직접 연결되거나 또는 스페이서 또는 그 사이의 하나 이상의 아미노산과 연결된 공통 CS 면역원 또는 ConCS-alt 면역원, ConLSA1 면역원, ConTRAP 면역원, ConCe1TOS 면역원 및 ConAma1 면역원 중 2 이상을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서 융합 단백질은 2개의 PF 면역원을 포함하며; 일부 실시 형태에서 융합 단백질은 3개의 PF 면역원을 포함하고, 일부 실시형태에서 융합 단백질은 4개의 PF 면역원을 포함하며, 일부 실시형태에서 융합 단백질은 5개의 PF 면역원을 포함한다. 2개의 공통 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 CS 또는 CS-alt 및 LSA1; CS 또는 CS-alt 및 TRAP; CS 또는 CS-alt 및 Ce1TOS; CS 또는 CS-alt 및 Ama1; LSA1 및 TRAP; LSA1 및 Ce1TOS; LSA1 및 Ama1; TRAP 및 Ce1TOS; TRAP 및 Ama1; 또는 Ce1TOS 및 Ama1을 포함할 수 있다. 3개의 공통 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 CS 또는 CS-alt, LSA1 및 TRAP; CS 또는 CS-alt, LSA1 및 Ce1TOS; CS 또는 CS-alt, LSA1 및 Ama1; LSA1, TRAP 및 Ce1TOS; LSA1, TRAP 및 Ama1; 또는 TRAP, Ce1TOS 및 Ama1을 포함할 수 있다. 4개의 공통 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP 및 Ce1TOS; CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP 및 Ama1; CS 또는 CS-alt, LSA1, Ce1TOS 및 Ama1; CS 또는 CS-alt, TRAP, Ce1TOS 및 Ama1; 또는 LSA1, TRAP, Ce1TOS 및 Ama1을 포함할 수 있다. 5개의 공통 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, Ce1TOS 및 Ama1을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 융합 단백질은 각각의 공통 PF 면역원의 N 말단에 연결된 신호 펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 융합 단백질은 각각의 PF 면역원 사이에 포함될 수 있다. 일부 실시형태에서, 융합 단백질의 PF 면역원 사이의 스페이서는 단백질 분해 절단 부위일 수 있다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 백신이 투여되고/되거나 취해지도록 의도되는 세포 내에서 발견되는 프로테아제에 의해 인식되는 단백질 절단 부위일 수 있다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 융합 단백질의 PF 면역원 사이에 포함될 수 있고, 스페이서는 백신이 투여되고/되거나 취해지도록 의도되는 세포 내에서 발견되는 프로테아제에 의해 인식되는 단백질 절단 부위이고, 융합 단백질은 각 공통 PF 면역원의 N 말단에 연결된 다수의 신호 펩타이드를 포함하므로, 각 공통 PF 면역원의 신호 펩타이드 절단 시, 세포의 바깥으로 공통 PF 면역원을 이동시킨다.

[0076] 3. 공통 PF 면역원을 암호화하는 암호 서열

본 명세서에서 공통 PF 면역원을 암호화하는 핵산 서열이 제공된다. 세포에 의해 취해지고 발현될 때 핵산 서열을 포함하는 핵산 분자의 투여는 PF에 대해 광역 면역 반응을 초래한다. 상기 개시된 각 6개 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열이 제조되었다. 공통 PF 단백질에 대한 암호 서열은 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12, 본 명세서에 기재되는 이것의 단편, 본 명세서에 기재되는 상동성 변이체 아미노산 서열, 또는 상동성 변이체 아미노산 서열의 단편을 암호화할 수 있다. 일부 실시형태에서, 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12인 암호 서열은 상동성 변이체 핵산 서열일 수 있다. 일부 실시형태에서, 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12의 단편을 암호화하는 암호 서열은 상동성 변이체 핵산 서열의 단편일 수 있다. 공통 PF 단백질에 대한 암호 서열은 서열번호 1, 3, 5, 7, 9 또는 11, 본 명세서에 기재되는 것과 같은 이들의 단편, 본 명세서에 기재되는 것과 같은 상동성 변이체 아미노산 서열을 암호화하는 본 명세서에 기재된 것과 같은 상동성 변이체 핵산 서열, 또는 상동성 변이체 아미노산 서열의 단편을 암호화하는 상동성 변이체 핵산 서열의 단편을 포함할 수 있다. 공통 PF 단백질에 대한 암호 서열은 면역글로불린 신호 펩타이드와 같은 신호 펩타이드, 예컨대 IgE 또는 IgG 신호 펩타이드에 대한 암호 서열을 포함할 수 있다.

암호 서열은 실시형태를 암호화할 수 있으며, 이때 공통 PF 단백질 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12는 IgE 신호 펩타이드: 서열번호 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34 및 36을 포함할 수 있다. 암호 서열은 IgE 신호 펩타이드 및 HA 태그: 서열번호 26, 28, 30, 32, 34 및 36을 포함하는 공통 PF 단백질 서열번호 2, 4, 6, 8, 10 또는 12를 암호화할 수 있다. IgE 신호 펩타이드에 대한 암호 서열을 포함하는 암호 서열 서열번호 1, 3, 5, 7, 9 또는 11은 서열번호 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33 및 35를 포함한다. IgE 신호 펩타이드 및 HA 태그에 대한 암호 서열을 포함하는 암호 서열 서열번호 1, 3, 5, 7, 9 또는 11은 서열번호 25, 27, 29, 31, 33 및 35를 포함한다. 암호 서열은 본 명세서에 제공된 융합 단백질을 암호화할 수 있다. 암호 서열은 서열번호 1, 3, 5, 7, 9 또는 11, 본 명세서에 기재된 바와 같은 이것의 단편, 본 명세서에 기재된 바와 같은 상동성 변이체 아미노산 서열을 암호화하는 본 명세서에 기재된 바와 같은 이것의 상동성 변이체 핵산 서열 또는 상동성 변이체 아미노산 서열의 단편을 암호화하는 상동성 변이체 핵산 서열의 단편을 포함할 수 있다.

[0079] 4. 폴라스미드

본 명세서에서 포유류에서 면역 반응을 유발하기에 효과적인 양으로 포유류의 세포에서 말라리아 항원을 발현시킬 수 있는 벡터가 제공된다. 벡터는 말라리아 항원을 암호화하는 이종성 핵산을 포함할 수 있다. 벡터는 폴라스미드일 수 있다. 폴라스미드는 말라리아 항원을 암호화하는 핵산으로 세포를 트랜스펙션시키는데 유용할 수

있는데, 트랜스펙션된 숙주 세포는 말라리아 항원의 발현이 일어나는 조건 하에서 배양되며 유지된다.

[0081] 플라스미드는 본 명세서에 개시된 것과 같은 공통 PF 면역원을 암호화하는 하나 이상의 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 포함할 수 있다. 본 명세서에 개시된 것과 같은 공통 PF 면역원을 암호화하는 암호 서열은 바람직하게는 조절 요소에 작동가능하게 연결된다.

[0082] 일부 실시형태에서, 플라스미드는 하나의 공통 PF 면역원, 즉, 공통 PF CS 면역원, 공통 PF LSA1 면역원, 공통 PF TRAP 면역원, 공통 PF CelTOS 면역원, 공통 PF Ama1 면역원 또는 공통 PF CS-alt 면역원에 대해 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 가진다.

[0083] 일부 실시형태에서, 플라스미드는 다수의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 가진다. 플라스미드에서 다수의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 가지며, 구성체는 별개의 발현 카세트일 수 있되, 각각의 공통 PF 면역원은 별개의 조절 요소 세트를 포함하거나 또는 2 이상의 암호 서열은 단일 발현 카세트에 혼입될 수 있고, 이때 암호 서열은 IRS 서열에 의해 분리된다.

[0084] 일부 실시형태에서, 플라스미드는 2개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 가진다. 이러한 플라스미드는 CS 또는 CS-alt 및 LSA1; CS 또는 CS-alt 및 TRAP; CS 또는 CS-alt 및 CelTOS; CS 또는 CS-alt 및 Ama1; LSA1 및 TRAP; LSA1 및 CelTOS; LSA1 및 Ama1; TRAP 및 CelTOS; TRAP 및 Ama1; 또는 CelTOS 및 Ama1에 대한 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 포함할 수 있다.

[0085] 일부 실시형태에서, 플라스미드는 3개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 가진다. 이러한 플라스미드는 CS 또는 CS-alt, LSA1 및 TRAP; CS 또는 CS-alt, LSA1 및 CelTOS; CS 또는 CS-alt, LSA1 및 Ama1; LSA1, TRAP 및 CelTOS; LSA1, TRAP 및 Ama1; 또는 TRAP, CelTOS 및 Ama1에 대한 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 포함할 수 있다.

[0086] 일부 실시형태에서, 플라스미드는 4개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 가진다. 이러한 플라스미드는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP 및 CelTOS; CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP 및 Ama1; CS 또는 CS-alt, LSA1, CelTOS 및 Ama1; CS 또는 CS-alt, TRAP, CelTOS 및 Ama1; 또는 LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1에 대한 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 포함할 수 있다.

[0087] 일부 실시형태에서, 플라스미드는 5개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 가진다. 이러한 플라스미드는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1에 대한 암호 서열을 포함하는 DNA 구성체를 포함할 수 있다.

[0088] 플라스미드는 암호 서열의 상류에 있을 수 있는 개시 코돈 및 암호 서열의 하류에 있을 수 있는 정지 코돈을 포함할 수 있다. 개시 및 종결 코돈은 암호 서열과 함께 프레임에 있을 수 있다.

[0089] 플라스미드는 또한 암호 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함할 수 있다. 암호 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터는 시미안 바이러스 40(simian virus 40, SV40), 마우스 유방 종양 바이러스(mouse mammary tumor virus, MMTV) 프로모터, 인간 면역결핍 바이러스(human immunodeficiency virus, HIV) 프로모터, 예컨대 소 면역결핍바이러스(bovine immunodeficiency virus, BIV) 긴말단반복순서(long terminal repeat, LTR) 프로모터, 몰로니 바이러스 프로모터, 조류 백혈병 바이러스(avian leukosis virus, ALV) 프로모터, 거대세포바이러스(cytomegalovirus, CMV) 프로모터, 예컨대 CMV 급속 초기 프로모터, 엠스타인 바르 바이러스(Epstein Barr virus, EBV) 프로모터, 또는 라우스 육종 바이러스(Rous sarcoma virus, RSV) 프로모터로부터 유래될 수 있다. 프로모터는 인간 유전자, 예컨대 액틴, 인간 미오신, 인간 해모글로빈, 인간 근육 크레아틴 또는 인간 메탈로티오네인으로부터의 프로모터일 수 있다. 프로모터는 또한 조직 특이적 프로모터, 예컨대 근육 또는 피부 특이적 프로모터, 천연 또는 합성일 수 있다. 이러한 프로모터의 예는 미국 특허출원 공개 제20040175727호에 기재되며, 이것의 내용은 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된다.

[0090] 플라스미드는 또한 암호 서열의 하류일 수 있는 폴리아데닐화 신호를 포함할 수 있다. 폴리아데닐화 신호는 SV40 폴리아데닐화 신호, LTR 폴리아데닐화 신호, 소 성장 호르몬(bovine growth hormone, bGH) 폴리아데닐화 신호, 인간 성장 호르몬(human growth hormone, hGH) 폴리아데닐화 신호, 또는 인간 β -글로빈 폴리아데닐화 신호일 수 있다. SV40 폴리아데닐화 신호는 pCEP4 플라스미드(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 Invitrogen)로부터의 폴리아데닐화 신호일 수 있다.

[0091] 플라스미드는 또한 암호 서열 상류에 인핸서를 포함할 수 있다. 인핸서는 인간 액틴, 인간 마이오신, 인간 해모글로빈, 인간 근육 크레아틴 또는 바이러스 인핸서, 예컨대 CMV, FMDV, RSV 또는 EBV일 수 있다. 폴리뉴클레오

타이드 작용 인핸서는 미국 특허 제5,593,972, 제5,962,428 및 WO94/016737에 기재되며, 각각의 내용은 완전히 참조로 포함된다.

[0092] 플라스미드는 또한 염색체 밖으로 플라스미드를 유지하고 세포 내 플라스미드의 다수 복제물을 생성하기 위해서 포유류 복제원점을 포함할 수 있다. 플라스미드는 Invitrogen(캘리포니아주 샌디에고에 소재)으로부터의 pVAX1, pCEP4 또는 pREP4일 수 있으며, 이는 앱스타인 바르 바이러스 복제원점 및 핵 항원 EBNA-1 암호 영역을 포함할 수 있고, 통합 없이 높은 복제물 에피솜 복제를 생성할 수 있다. 플라스미드의 백본은 pAV0242일 수 있다. 플라스미드는 복제 결함 아데노바이러스 5(adenovirus type 5, Ad5) 플라스미드일 수 있다.

[0093] 플라스미드는 또한 조절 서열을 포함할 수 있는데, 이는 플라스미드가 투여된 세포 내 유전자 발현에 적합할 수 있다. 암호 서열은 숙주 세포 내 암호 서열을 더 효율적인 전사를 허용할 수 있는 코돈을 포함할 수 있다.

[0094] 암호 서열은 또한 Ig 리더 서열을 포함할 수 있다. 리더 서열은 암호 서열의 5' 일 수 있다. 이 서열에 의해 암호화된 공통 항원은 N-말단의 Ig 리더 다음에 공통 항원 단백질을 포함할 수 있다. N-말단의 Ig 리더는 IgE 또는 IgG일 수 있다.

[0095] 플라스미드는 pSE420(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 Invitrogen)일 수 있으며, 이는 에스케리키아 콜라이 (*Escherichia coli*(이콜라이, *E. coli*))에서 단백질 생성을 위해 사용될 수 있다. 플라스미드는 또한 pYES2(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 Invitrogen)일 수 있으며, 이는 효모의 사카로마이세스 세레비시애(*Saccharomyces cerevisiae*) 균주에서 단백질 생성을 위해 사용될 수 있다. 플라스미드는 또한 MAXBAC(상표명) 완전 바클로바이러스 발현 시스템(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 Invitrogen)을 가질 수 있으며, 이는 곤충 세포 내 단백질 생성을 위해 사용될 수 있다. 플라스미드는 또한 pcDNA I 또는 pcDNA3(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 Invitrogen)일 수 있으며, 이는 중국 햄스터 난소(Chinese hamster ovary, CHO) 세포와 같은 포유류 세포 내 단백질 생성을 위해 사용될 수 있다.

5. 조성물

[0097] 플라스미드를 포함하는 조성물이 제공된다. 조성물은 단일 플라스미드와 같은 단일 핵산 분자의 다수의 복제물, 2 이상의 상이한 플라스미드와 같은 2 이상의 상이한 핵산 분자의 다수의 복제물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 조성물은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 이상의 다수의 상이한 핵산 분자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 이상의 다수의 상이한 플라스미드를 포함할 수 있다. 조성물은 공통 PF CS 면역원, 공통 PF LSA1 면역원, 공통 PF TRAP 면역원, 공통 PF CelTOS 면역원, 공통 PF Ama1 면역원 또는 공통 PF CS-alt 면역원 중 하나 이상에 대한 암호 서열을 포함할 수 있다. 조성물은 플라스미드와 같은 핵산 분자를 포함할 수 있는데, 이는 단일 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열, 2개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열, 3개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열, 4개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열 또는 5개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 총괄적으로 함유한다. 2개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 조성물은 단일 플라스미드와 같은 단일 핵산 분자일 수 있거나 또는 조성물은 2개의 상이한 플라스미드와 같은 2개의 상이한 핵산 분자를 포함할 수 있되, 하나의 핵산 분자는 하나의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하고, 다른 핵산 분자는 상이한 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함한다. 유사하게, 3개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 조성물은 단일 플라스미드와 같은 단일 핵산 분자, 2개의 상이한 핵산 분자 또는 3개의 상이한 핵산 분자를 포함할 수 있다. 마찬가지로, 4개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 조성물은 단일 플라스미드와 같은 단일 핵산 분자, 2개의 상이한 핵산 분자, 3개의 상이한 핵산 분자 또는 4개의 상이한 핵산 분자를 포함할 수 있다. 5개의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 조성물은 단일 플라스미드와 같은 단일 핵산 분자, 2개의 상이한 핵산 분자, 3개의 상이한 핵산 분자, 4개의 상이한 핵산 분자 또는 5개의 상이한 핵산 분자를 포함할 수 있다.

[0098] 일부 실시형태에서, 조성물은 하나의 공통 PF 면역원, 예컨대 공통 PF CS 또는 CS-alt 면역원, 공통 PF LAS1 면역원, 공통 PF TRAP면역원, 공통 PF CelTOS 면역원 또는 공통 PF Ama1 면역원을 암호화하는 다수의 단일 핵산 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 2개의 공통 PF 면역원, 예컨대 CS 또는 CS-alt 및 LSA1; CS 또는 CS-alt 및 TRAP; CS 또는 CS-alt 및 CelTOS; CS 또는 CS-alt 및 Ama1; LSA1 및 TRAP; LSA1 및 CelTOS; LSA1 및 Ama1; TRAP 및 CelTOS; TRAP 및 Ama1; 또는 CelTOS 및 Ama1을 암호화하는 단일 플라스미드와 같은 다수의 단일 핵산 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 3개의 공통 PF 면역원, 예컨대 CS 또는 CS-alt, LSA1 및 TRAP; CS 또는 CS-alt, LSA1 및 CelTOS; CS 또는 CS-alt, LSA1 및 Ama1; LSA1, TRAP 및 CelTOS; LSA1, TRAP 및 Ama1; 또는 TRAP, CelTOS 및 Ama1을 암호화하는 단일 플라스미드와 같은 다수의 단일 핵산 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 4개의 공통 PF 면역원, 예컨대 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP 및

CeITOS; CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP 및 Ama1; CS 또는 CS-alt, CeITOS 및 Ama1; CS 또는 CS-alt, TRAP, CeITOS 및 Ama1; 또는 LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1을 암호화하는 단일 플라스미드와 같은 다수의 단일 핵산 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 5개의 공통 PF 면역원, CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1을 암호화하는 단일 플라스미드와 같은 다수의 단일 핵산 분자를 포함한다.

[0099] 일부 실시형태에서, 조성물은 2개의 플라스미드와 같은 다수의 2개의 상이한 핵산 분자를 포함하며, 각각의 상이한 핵산 분자는 상이한 공통 PF 면역원에 대해 하나의 상이한 암호 서열을 포함하되, 상이한 핵산 분자의 쌍은 CS 또는 CS-alt 및 LSA1; CS 또는 CS-alt 및 TRAP; CS 또는 CS-alt 및 CeITOS; CS 또는 CS-alt 및 Ama1; LSA1 및 TRAP; LSA1 및 CeITOS; LSA1 및 Ama1; TRAP 및 CeITOS; TRAP 및 Ama1; 또는 CeITOS 및 Ama1을 포함한다. 총괄적으로, 2개의 상이한 플라스미드는 2개의 상이한 공통 PF 면역원을 암호화한다.

[0100] 일부 실시형태에서, 조성물은 2개의 플라스미드와 같은 다수의 2개의 상이한 핵산 분자를 포함하며, 이는 3개의 상이한 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 총괄적으로 포함한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1으로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 2개의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 총괄적으로, 2개의 상이한 플라스미드는 3개의 상이한 공통 PF면역원을 암호화한다.

[0101] 일부 실시형태에서, 조성물은 2개의 플라스미드와 같은 다수의 2개의 상이한 핵산 분자를 포함하며, 이는 총괄적으로 4개의 상이한 공통 PF 면역원에 대해 암호 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1으로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 3개의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1으로부터 선택된 2개의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 2개의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 총괄적으로, 2개의 상이한 플라스미드는 4개의 상이한 공통 PF 면역원을 암호화한다.

[0102] 일부 실시형태에서, 조성물은 2개의 플라스미드와 같은 다수의 2개의 상이한 핵산 분자를 포함하며, 이는 총괄적으로 5개의 상이한 공통 PF 면역원에 대해 암호 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 2개의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 3개의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 2개의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 2개의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 총괄적으로, 2개의 상이한 플라스미드는 5개의 상이한 공통 PF 면역원을 암호화한다.

[0103] 일부 실시형태에서, 조성물은 3개의 플라스미드와 같은 다수의 3개의 상이한 핵산 분자를 포함하며, 이는 총괄적으로 3개의 상이한 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 공통 PF 면역원을 암호화하고, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 세 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1으로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 총괄적으로, 3개의 상이한 플라스미드는 3개의 상이한 공통 PF 면역원을 암호화한다.

[0104] 일부 실시형태에서, 조성물은 3개의 플라스미드와 같은 다수의 3개의 상이한 핵산 분자를 포함하며, 이는 총괄적으로 4개의 상이한 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하고, 세 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1으로부터 선택된 2개의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 총괄적으로, 3개의 상이한 플라스미드는 4개의 상이한 공통 PF 면역원을 암호화한다.

[0105] 일부 실시형태에서, 조성물은 3개의 플라스미드와 같은 다수의 3개의 상이한 핵산 분자를 포함하며, 이는 총괄적으로 5개의 상이한 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1으로부터 선택된 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1으로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하고, 세 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 3개의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1으로부터 선택된 2개의 공통 PF 면역원을 암호화하고, 세 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1으로부터 선택된 2개의 공통 PF 면역원을 암호화한다.

다. 총괄적으로, 3개의 상이한 플라스미드는 5개의 상이한 공통 PF 면역원을 암호화한다.

[0106] 일부 실시형태에서, 조성물은 다수의 4개의 상이한 핵산 분자, 예컨대 4개의 플라스미드를 포함하며, 이는 총괄적으로 4개의 상이한 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 총괄적으로 포함한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하고, 세 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 네 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 총괄적으로, 4개의 상이한 플라스미드는 4개의 상이한 공통 PF 면역원을 암호화한다.

[0107] 일부 실시형태에서, 조성물은 4개의 플라스미드와 같은 다수의 4개의 상이한 핵산 분자를 포함하며, 이는 총괄적으로 5개의 상이한 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하고, 세 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 네 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 두 개의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 총괄적으로, 4개의 상이한 플라스미드는 5개의 상이한 공통 PF 면역원을 암호화한다.

[0108] 일부 실시형태에서, 조성물은 4개의 플라스미드와 같이 다수의 5개의 상이한 핵산 분자를 포함하며, 이는 총괄적으로 5개의 상이한 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서: 하나의 핵산 분자는 CS, CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 두 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하고, 세 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하며, 네 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화하고, 다섯 번째는 CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CelTOS 및 Ama1로부터 선택된 하나의 공통 PF 면역원을 암호화한다. 총괄적으로, 5개의 상이한 플라스미드는 5개의 상이한 공통 PF 면역원을 암호화한다.

[0109] 일부 실시형태에서, 조성물은 IL-12, IL-15, IL-28B 및/또는 RANTES에 대한 암호 서열을 추가로 포함한다. IL-12, IL-15, IL-28B 및/또는 RANTES에 대한 암호 서열은 하나 이상의 공통 PF 면역원에 대한 암호 서열을 포함하는 하나 이상의 핵산 분자에 포함될 수 있다. IL-12, IL-15, IL-28B 및/또는 RANTES에 대한 암호 서열은 별개의 플라스미드와 같은 별개의 핵산 분자 상에 포함될 수 있다.

6. 백신

[0111] 본 명세서에서 말라리아에 대해 포유류에서 면역 반응을 만들 수 있는 백신이 제공된다. 백신은 상기 논의한 바와 같은 각 플라스미드를 포함할 수 있다. 백신은 다수의 플라스미드 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 백신은 치료적 또는 예방적 면역 반응을 유발하기 위해 사용될 수 있다.

[0112] 백신은 공통 PF CS 면역원, 공통 PF LSA1 면역원, 공통 PF TRAP 면역원, 공통 PF CelTOS 면역원, 공통 PF Ama1 면역원 또는 공통 PF CS-alt 면역원으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 공통 PF 면역원을 전달하기 위해 사용될 수 있다. 다수의 표적의 전달의 경우에, 백신은 다수의 조성물 또는 단일 조성물을 포함할 수 있다. 단일 플라스미드 또는 상이한 단백질을 암호화하는 상이한 플라스미드를 포함하는 조성물 상에서 다수의 단백질을 암호화하는 플라스미드가 사용될 수 있다.

[0113] 백신은 약제학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 부형제는 비히클, 애주번트, 담체 또는 희석제로서 작용 분자일 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 부형제는 트랜스펙션 촉진제 (facilitating agent)일 수 있는데, 이는 표면 활성제, 예컨대 면역 자극 복합체(immune-stimulating complexes, ISCOMS), 프로인트 불완전 애주번트, 모노포스포릴 지질 A를 포함하는 LPS 유사체, 무라밀 웨타이드, 퀴논 유사체, 소포, 예컨대 스쿠알렌 및 스쿠알렌, 히알루론산, 지질, 리포좀, 칼슘 이온, 바이러스 단백질, 다중음이온, 다중양이온 또는 나노입자 또는 다른 공지된 트랜스펙션 촉진제를 포함할 수 있다.

[0114] 트랜스펙션 촉진제는 다중음이온, 폴리-L-글루타메이트(LGS)를 포함하는 다중양이온 또는 지질이다. 트랜스펙션 촉진제는 폴리-L-글루타메이트이며, 더 바람직하게는, 폴리-L-글루타메이트는 6mg/ml 미만의 농도로 백신에서 존재한다. 트랜스펙션 촉진제는 또한 표면 활성제, 예컨대 면역 자극 복합체(ISCOMS), 프로인트 불완전 애주번트, 모노포스포릴 지질 A를 포함하는 LPS 유사체, 무라밀 웨타이드, 퀴논 유사체, 소포, 예컨대 스쿠알렌 및 스쿠알렌을 포함할 수 있으며, 또한 히알루론산은 유전적 구성체와 함께 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, DNA

플라스미드 백신은 또한 촉진제, 예컨대 지질, DNA-리포좀 혼합물(예를 들어 W09324640)로서 레시틴 리포좀 또는 당업계에 공지된 다른 리포좀을 포함하는 리포좀, 칼슘 이온, 바이러스 단백질, 다중양이온, 다중음이온 또는 나노입자 또는 다른 공지된 트랜스펙션 촉진제를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 트랜스펙션 촉진제는 다중 음이온, 폴리-L-글루타메이트(LGS)를 포함하는 다중양이온 또는 지질이다. 백신 내 트랜스펙션제의 농도는 4mg/ml 미만, 2mg/ml 미만, 1mg/ml 미만, 0.750mg/ml 미만, 0.500mg/ml 미만, 0.250mg/ml 미만, 0.100mg/ml 미만, 0.050mg/ml 미만 또는 0.010mg/ml 미만이다.

[0115]

약제학적으로 허용가능한 부형제는 하나 이상의 애주번트일 수 있다. 애주번트는 동일 또는 대안의 플라스미드로부터 발현되거나 또는 백신 내 상기 플라스미드와 조합된 단백질로서 전달되는 다른 유전자일 수 있다. 하나 이상의 애주번트는 단백질 및/또는 α -인터페론(IFN- α), β -인터페론(IFN- β), γ -인터페론, 혈소판 유래 성장 인자(platelet derived growth factor, PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, 상피세포 성장인자(EGF), 피부 T 세포-유인 케모카인(cutaneous T cell-attracting chemokine, CTACK), 상피 흉선-발현 케모카인(epithelial thymus-expressed chemokine, TECK), 점막-결합 상피 케모카인(mucosae-associated epithelial chemokine, MEC), IL-12, IL-15, 예를 들어 신호 서열 또는 결실된 신호 서열을 암호화하는 암호 서열을 가지며 및 선택적으로 IgE로부터의 신호 웨타이드와 같은 상이한 신호 웨타이드 또는 IgE로부터의 신호 웨타이드와 같은 상이한 신호 웨타이드를 암호화하는 암호 서열을 포함하는 IL-15, IL-28, MHC, CD80, CD86, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-18, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , IL-8, L-셀렉틴, P-셀렉틴, E-셀렉틴, CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1, LFA-1, VLA-1, Mac-1, p150.95, PECAM, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, CD2, LFA-3, M-CSF, G-CSF, IL-18의 돌연변이체 형태, CD40, CD40L, 혈관 성장 인자, 섬유아세포 성장 인자, IL-7, 신경 성장 인자, 혈관내피성장인자, Fas, TNF 수용체, Flt, Apo-1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, Apo-3, AIR, LARD, NGRF, DR4, DR5, KILLER, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, 카파제 ICE, Fos, c-jun, Sp-1, Ap-1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, IkB, Inactive NIK, SAP K, SAP-1, JNK, 인터페론 반응 유전자, NFkB, Bax, TRAIL, TRAILrec, TRAILrecDRC5, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, RANK LIGAND, OX40, OX40 LIGAND, NKG2D, MICA, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, TAP1, TAP2 및 이것의 작용성 단편 또는 이것의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 및/또는 단백질을 암호화하는 핵산 분자일 수 있다. 일부 실시형태에서 애주번트는 하나 이상의 단백질 및/또는 IL-12, IL-15, IL-28, CTACK, TECK, MEC 또는 RANTES로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질을 암호화하는 핵산 분자일 수 있다. IL-12 구성체 및 서열의 예는 국제특허출원 PCT/US1997/019502 및 대응하는 미국 출원 제08/956,865호에 개시되며, 이들 각각은 본 명세서에 참조로서 포함된다. IL-15 구성체 및 서열의 예는 국제특허출원 PCT/US04/18962 및 대응하는 미국 출원 제10/560,650호, 및 국제특허출원 PCT/US07/00886 및 대응하는 미국 출원 제12/160,766호 및 국제특허출원 PCT/US10/048827에 개시되며, 이들은 각각 본 명세서에 참조로서 포함된다. IL-28 구성체 및 서열의 예는 국제특허출원 PCT/US09/039648 및 대응하는 미국 출원 제 12/936,192호에 개시되며, 이들 각각은 본 명세서에 참조로서 포함된다. RANTES 및 다른 구성체 및 서열의 예는 국제특허출원 PCT/US1999/004332 및 대응하는 미국 출원 제09/622452호에 개시되며, 이들 각각은 본 명세서에 참조로서 포함된다. RANTES 구성체 및 서열의 다른 예는 국제특허출원 PCT/US11/024098에 개시되며, 이들은 본 명세서에 참조로서 포함된다. 케모카인 CTACK, TECK 및 MEC 구성체 및 서열의 예는 국제특허출원 PCT/US2005/042231 및 대응하는 미국 출원 제11/719,646호에 개시되며, 이들 각각은 본 명세서에 참조로서 포함된다. OX40 및 다른 면역조절제의 예는 미국 출원 제10/560,653호에 개시되며, 이는 본 명세서에 참조로서 포함된다. DR5 및 다른 면역조절제의 예는 미국 출원 제09/622452호에 개시되며, 이는 본 명세서에 참조로서 포함된다.

[0116]

백신은 전문이 참조로서 포함된 1994년 4월 1일 출원된 미국 출원 제021,579호에 기재된 바와 같은 유전적 백신 촉진제를 추가로 포함할 수 있다.

[0117]

백신은 약 1 나노그램 내지 100 밀리그램; 약 1 마이크로그램 내지 약 10 밀리그램; 또는 바람직하게는 약 0.1 마이크로그램 내지 약 10 밀리그램; 또는 더 바람직하게는 약 1 밀리그램 내지 약 2 밀리그램의 양으로 공통 항원 및 플라스미드를 포함할 수 있다. 일부 바람직한 실시형태에서, 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 약 5 나노그램 내지 약 1000 마이크로그램의 DNA를 포함한다. 일부 바람직한 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 10 나노그램 내지 약 800 마이크로그램의 DNA를 함유한다. 일부 바람직한 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 0.1 내지 약 500 마이크로그램의 DNA를 함유한다. 일부 바람직한 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 1 내지 약 350 마이크로그램의 DNA를 함유한다. 일부 바람직한 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 25 내지 약 250 마이크로그램, 약 100 내지 약 200 마이크로그램, 약 1 나노그램 내지 100 밀리그램; 약 1 마이크로그램 내지 약 10

밀리그램; 약 0.1 마이크로그램 내지 약 10 밀리그램; 약 1 밀리그램 내지 약 2 밀리그램, 약 5 나노그램 내지 약 1000 마이크로그램, 약 10 나노그램 내지 약 800 마이크로그램, 약 0.1 내지 약 500 마이크로그램, 약 1 내지 약 350 마이크로그램, 약 25 내지 약 250 마이크로그램, 약 100 내지 약 200 마이크로그램의 공통 항원 또는 이것의 플라스미드를 함유한다.

[0118] 백신은 사용되는 투여 방식에 따라 조제될 수 있다. 주사가능한 백신 약제학적 조성물은 멸균이며, 발열원이 없고, 미립자가 없을 수 있다. 등장성 조제물 또는 용액이 사용될 수 있다. 등장성을 위한 첨가제는 염화나트륨, 텍스트로스, 만니톨, 솔비톨 및 락토스를 포함할 수 있다. 백신은 혈관수축제를 포함할 수 있다. 등장 용액은 인산염 완충 식염수를 포함할 수 있다. 백신은 젤라틴 및 알부민을 포함하는 안정제를 추가로 포함할 수 있다. 백신 조제물에 대해 LGS 또는 다중양이온 또는 다중음이온과 같은 안정화는 조제물이 실온 또는 주위 온도에서 연장된 시간 기간 동안 안정하게 되도록 할 수 있다.

7. 백신의 전달 방법

[0120] 면역 반응이 유발될 수 있는 것에 대해 말라리아의 면역원에 특히 효과적으로 되도록 하는 에피토프를 포함하는 공통 항원의 유전적 구성체 및 단백질을 제공하는 백신의 전달 방법이 본 명세서에 제공된다. 백신 또는 백신접종의 전달 방법은 치료적 및 예방적 면역 반응을 유발하도록 제공될 수 있다. 백신접종 과정은 포유류에서 말라리아에 대한 면역 반응을 만들 수 있다. 백신은 개체에 전달되어 포유류 면역계의 활성을 조절하고 면역 반응을 향상시킬 수 있다. 백신의 전달은 면역 반응이 인식되고 세포, 체액성 또는 세포 및 체액성 반응이 유발될 때 세포에서 발현되고 세포 표면에 전달되는 핵산 분자로서 공통 항원의 트랜스펙션일 수 있다. 상기 논의한 바와 같이 백신의 전달은 백신을 포유류에 투여함으로써 포유류에서 말라리아에 대해 면역 반응을 유도하거나 또는 유발하기 위해 사용될 수 있다.

[0121] 포유류의 세포 내에 백신 및 플라스미드의 전달 시, 트랜스펙션된 세포는 백신으로부터 주사된 각각의 플라스미드에 대해 공통 항원을 발현시키고 분비할 것이다. 이들 단백질은 면역계에 의해 이를질로서 인식될 것이며, 그것에 대해 항체가 만들어질 것이다. 이들 항체는 면역계에 의해 유지될 것이며, 이후의 말라리아 감염에 대해 효과적인 반응을 허용한다.

[0122] 백신은 포유류에서 면역반응을 유발하도록 포유류에 투여될 수 있다. 포유류는 인간, 영장류, 비-인간 영장류, 젖소, 소, 양, 염소, 영양, 들소, 물소, 솟과 동물, 사슴, 고슴도치, 코끼리, 라마, 알파카, 마우스, 래트 및 닭일 수 있다.

a. 조합 치료

[0124] 백신은 다른 단백질 및/또는 α -인터페론, γ -인터페론, 혈소판 유래 성장인자(PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, 상피세포 성장인자(EGF), 피부 T 세포-유인 케모카인(CTACK), 상피 흉선-발현 케모카인(TECK), 점막-결합 상피 케모카인(MEC), IL-12, 결실된 신호 서열을 가지며 선택적으로 IgE 신호 웹타이드와 같은 상이한 웹타이드를 포함하는 IL-15을 포함하는 IL-15, IgE, IL-28, MHC, CD80, CD86, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-18, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , IL-8, L-셀렉틴, P-셀렉틴, E-셀렉틴, CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1, LFA-1, VLA-1, Mac-1, p150.95, PECAM, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, CD2, LFA-3, M-CSF, G-CSF, IL-18의 돌연변이체 형태, CD40, CD40L, 혈관 성장 인자, 섬유아세포 성장 인자, IL-7, 신경 성장 인자, 혈관내피성장인자, Fas, TNF 수용체, Flt, Apo-1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, Apo-3, AIR, LARD, NGRF, DR4, DR5, KILLER, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, 카파제 ICE, Fos, c-jun, Sp-1, Ap-1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, IkB, Inactive NIK, SAP K, SAP-1, JNK, 인터페론 반응 유전자, NFKB, Bax, TRAIL, TRAILrec, TRAILrecDRC5, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, RANK LIGAND, Ox40, Ox40 LIGAND, NKG2D, MICA, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, TAP1, TAP2 및 이것의 작용성 단편 또는 이것의 조합을 암호화하는 유전자와 조합되어 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 백신은 다음의 핵산 분자 및/또는 단백질 중 하나 이상과 조합되어 투여된다: IL-12, IL-15, IL-28, CTACK, TECK, MEC 및 RANTES 또는 이것의 작용 단편 중 하나 이상을 암호화하는 암호 서열을 포함하는 핵산 분자로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 분자, 및 IL-12 단백질, IL-15 단백질, IL-28 단백질, CTACK 단백질, TECK 단백질, MEC 단백질 또는 RANTES 단백질 또는 이것의 작용성 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질.

[0125] 백신은 경구로, 비경구로, 혀 밑으로, 경피로, 직장으로, 경점막으로, 국소로, 흡입을 통해, 구강 투여를 통해, 흉막내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 피하, 근육내, 비강내, 척추강내 및 관절내 또는 이들의 조합을 포함하는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다. 수의과 사용을 위해, 조성물은 정상의 수의과 실시에 따라 적합하게 허용 가능한 조제물로서 투여될 수 있다. 수의사는 특정 동물에게 가장 적합한 투약 섭생 및 투여 경로를 용이하게 결

정할 수 있다. 백신은 전통적인 주사기, 무바늘 주사장치, "입자총 방법(microprojectile bombardment gun)" 또는 다른 생리적 방법, 예컨대 전기천공법("EP"), "유체역학 방법" 또는 초음파에 의해 투여될 수 있다.

[0126] 백신의 플라스미드는 생체내 전기천공법, 리포좀 매개되고, 나노입자 촉진된, 재조합 백터, 예컨대 재조합 아데노바이러스, 재조합 아데노바이러스 관련 바이러스 및 재조합 백시니아와 함께 또는 이것들 없이 DNA 주사(또한 DNA 백신접종으로서 언급됨)를 포함하는 몇몇 잘 알려진 기법에 의해 포유류에 전달될 수 있다. 공동 항원은 DNA 주사를 통해 및 생체내 전기천공법과 함께 전달될 수 있다.

b. 전기천공법

[0128] 백신의 플라스미드의 전기천공법을 통한 백신의 투여는 세포막을 형성하는 가역적 기공을 야기하기에 유효한 에너지의 펄스를 포유류의 원하는 조직에 전달하도록 배치될 수 있는 전기천공 장치를 사용하여 수행될 수 있고, 바람직하게는 에너지의 펄스는 사용자에 의해 사전 설정된 전류와 유사한 일정한 전류이다. 전기천공 장치는 전기천공 성분 및 전극 어셈블리 또는 조작 어셈블리를 포함할 수 있다. 전기천공 성분은 하기를 포함하는 전기천공 장치의 다양한 구성요소 중 하나 이상을 포함하고 넣을 수 있다: 제어기, 전류 웨이브폼 제너레이터, 임피던스 시험기, 웨이브폼 로거, 입력 요소, 상태 기록 요소, 통신 접속구, 기억 부품, 전력원 및 전력 스위치. 전기천공법은 생체내 전기천공장치, 예를 들어 CELLECTRA EP 시스템(펜실베니아주 블루밸에 소재한 VGX Pharmaceuticals) 또는 Elgen 전기천공기(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 Genetronics)를 사용하여 수행되어 플라스미드에 의한 세포의 트랜스페션을 용이하게 할 수 있다.

[0129] 전기천공 부품은 전기천공 장치의 한 구성요소로서 작용할 수 있으며, 다른 구성요소는 전기천공 부품과 통신하는 별개의 구성요소(또는 부품)이다. 전기천공 부품은 전기천공 장치의 하나 이상의 구성요소로서 작용할 수 있는데, 이는 전기천공 부품과 별개의 전기천공 장치의 또 다른 구성요소와 통신할 수 있다. 하나의 전자기계 또는 기계 장치의 부분으로서 존재하는 전기천공 장치의 구성요소는 구성요소가 하나의 장치로서 또는 서로 통신하는 별개의 구성요소로서 작용할 수 있기 때문에 제한될 수 없다. 전기천공 부품은 원하는 조직에서 일정한 전류를 생성하는 에너지의 펄스를 전달할 수 있으며, 피드백 메커니즘을 포함한다. 전극 어셈블리는 공간 배열에서 다수의 전극을 갖는 전극 어레이를 포함할 수 되, 전극 어셈블리는 전기천공 부품으로부터 에너지의 펄스를 받고, 전극을 통해 원하는 조직에 에너지 펄스를 전달한다. 다수의 전극 중 적어도 하나는 에너지 펄스의 전달 동안 중립이며, 원하는 조직에서 임피던스를 측정하고, 전기천공 부품에 임피던스를 전달한다. 피드백 메커니즘은 측정된 임피던스를 받을 수 있고, 일정한 전류를 유지하기 위하여 전기천공 부품에 의해 전달된 에너지 펄스를 조절할 수 있다.

[0130] 다수의 전극은 분산된 패턴으로 에너지 펄스를 전달할 수 있다. 다수의 전극은 프로그램된 서열 하에 전극 제어를 통해 분산된 패턴으로 에너지 펄스를 전달할 수 있고, 프로그램된 서열은 전기천공 부품에 대해 사용자에 의해 입력된다. 프로그램된 서열은 서열에서 다수의 전달될 펄스를 포함할 수 되, 다수의 펄스 중 각 펄스는 임피던스를 측정하는 하나의 중립 전극과 함께 적어도 2개의 활성 전극에 의해 전달되고, 다수의 펄스 중 이후의 펄스는 임피던스를 측정하는 하나의 중립 전극과 함께 적어도 2개의 활성 전극 중 상이한 하나에 의해 전달된다.

[0131] 피드백 메커니즘은 하드웨어 또는 소프트웨어에 의해 수행될 수 있다. 피드백 메커니즘은 아날로그 폐회로에 의해 수행될 수 있다. 피드백 메커니즘은 $50\text{ }\mu\text{s}$, $20\text{ }\mu\text{s}$, $10\text{ }\mu\text{s}$ 또는 $1\text{ }\mu\text{s}$ 마다 일어나지만, 바람직하게는 실시간 피드백 또는 즉각적이다(즉, 반응 시간을 결정하기 위해 이용 가능한 기술에 의해 결정되는 것과 같이 실질적으로 즉각적이다). 중립 전극은 원하는 조직 내 임피던스를 측정할 수 있고, 피드백 메커니즘에 대한 임피던스를 전달하며, 피드백 메커니즘은 임피던스에 반응하며, 사전 설정한 전류와 유사한 값으로 일정한 전류를 유지하기 위하여 에너지 펄스를 조절한다. 피드백 메커니즘은 에너지 펄스의 전달 동안 지속적으로 및 즉각적으로 일정한 전류를 유지할 수 있다.

[0132] 본 발명의 DNA 백신의 전달을 용이하게 할 수 있는 전기천공 장치 및 전기천공법의 예는 Draghia-Akli 등에 의한 미국 특허 제7,245,963호, Smith 등에 의해 제출된 미국 특허 공개 2005/0052630호에 기재되는 것을 포함하며, 이들의 내용은 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된다. DNA 백신의 전달을 용이하게 하기 위해 사용될 수 있는 다른 전기천공 장치 및 전기천공 방법은 2007년 10월 17일 출원된 공동 계류중이며 공동 소유된 미국 특허 출원 제11/874072호에서 제공되는 것을 포함하며, 이는 2006년 10월 17일 출원된 미국 특허 출원 제60/852,149 호 및 2007년 10월 10일 출원된 제60/978,982호에 대해 35 USC 119(e) 하에서 우선권을 주장하고, 이를 모두는 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된다.

- [0133] Draghia-Akli 등에 의한 미국 특허 제7,245,963호는 모듈식 전극 시스템 및 신체 또는 식물에서 선택된 조직의 세포 내로 생체분자의 도입을 용이하게 하기 위한 그것의 용도를 기재한다. 모듈식 전극 시스템은 다수의 바늘 전극; 피하주사 바늘; 다수의 바늘 전극에 프로그램가능한 일정한-전류 펄스 제어기로부터 전도 연결을 제공하는 전기 커넥터; 및 전력 공급원을 포함할 수 있다. 오퍼레이터는 지지 구조 상에 장착되고 그것들을 신체 또는 식물 내 선택된 조직 내로 단단히 삽입시키는 다수의 바늘 전극을 잡을 수 있다. 그 다음에 생체분자는 선택된 조직 내로 피하주사 바늘을 통해 전달된다. 프로그램가능한 일정한-전류 펄스 제어기는 활성화되며, 일정한-전류 전기적 펄스는 다수의 바늘 전극에 적용된다. 적용된 일정한-전류 전기적 펄스는 다수의 전극 간의 세포 내로 생체분자의 도입을 용이하게 한다. 미국 특허 제7,245,963호의 전문은 본 명세서에 참조로서 포함된다.
- [0134] Smith 등에 의해 제출된 미국 특허 공개 제2005/0052630호는 신체 또는 식물 내 선택된 조직의 세포 내로 생체분자의 도입을 효과적으로 용이하게 하기 위하여 사용될 수 있는 전기천공 장치를 기재한다. 전기천공장치는 작업이 소프트웨어 또는 펌웨어에 의해 구체화되는 동전학 장치(electro-kinetic device, "EKD 장치")를 포함한다. EKD 장치는 펄스 변수의 사용자 제어 및 입력을 기반으로 어레이 내 전극 사이에 일련의 프로그램가능한 일정한-전류 펄스 패턴을 생성하고, 전류 웨이브폼 데이터의 저장 및 획득을 허용한다. 전기천공 장치는 또한 바늘 전극의 어레이를 갖는 대체가능한 전극 디스크, 주사 바늘에 대한 중심 주사 채널 및 제거가능한 가이드 디스크를 포함한다. 미국 특허 공개 제2005/0052630호의 전체 내용은 본 명세서에 참조로 포함된다.
- [0135] 미국 특허 제7,245,963호 및 미국 특허 공개 제2005/0052630호에 기재된 전극 어레이 및 방법은 근육과 같은 조직뿐만 아니라 다른 조직 또는 기관에 깊은 침투에 적합할 수 있다. 전극 어레이의 배치 때문에, (선택의 생체분자를 전달하기 위한) 주사바늘은 또한 표적 기관 내로 완전히 삽입되고, 전극에 의해 사전-기술된 영역에서 주사는 표적 조직에 수직으로 투여된다. 미국 특허 제7,245,963호 및 미국 특허 공개 제2005/005263호에 기재된 전극은 바람직하게는 20mm 길이 및 21 게이지이다.
- [0136] 추가적으로, 전기천공 장치 및 이것의 용도를 포함하는 일부 실시형태에서, 다음의 특허에 기재된 것인 전기천공 장치가 고려된다: 1993년 12월 28일 발행된 미국 특허 제5,273,525호, 2000년 8월 29일 발행된 미국 특허 제6,110,161호, 2001년 7월 17일 발행된 제6,261,281호, 및 2005년 10월 25일 발행된 제6,958,060호, 및 2005년 9월 6일 발행된 미국 특허 제 6,939,862호. 더 나아가, 2004년 2월 24일 발행되고, 어떤 다양한 장치를 사용하는 DNA 전달에 관한 미국 특허 제 6,697,669호 및 2008년 2월 5일 발행되고, DNA의 주사 방법에 대해 도시된 미국 특허 제 7,328,064호에 제공된 대상을 다루는 특허가 본 명세서에 고려된다.
- [0137] **c. 단백질 부스트**
- [0138] 일부 실시형태에서, 공통 PF 면역원은 백신 프로토콜의 부분으로서 단백질로서 전달될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시되는 바와 같은 플라스미드 DNA 조성물이 투여된 초기 면역화 백신접종 이후에, 단백질 면역원은 부스트로서 전달된다. 일부 실시형태에서, 부스트는 플라스미드 DNA 백신 및 단백질의 조합이다. 일부 실시형태에서, 다수의 부스트가 투여된다. 일부 실시형태에서, 다수의 부스트가 투여되어, 하나 이상의 부스트는 단백질 투여이며, 하나 이상의 부스트는 DNA 백신 투여이다. 바이러스 백터 및/또는 사멸되거나 또는 감쇠된 병원체를 사용하는 부스트가 또한 사용될 수 있다. 하나 이상의 백신접종은 1일, 1주, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 12주, 6개월, 1년 간격 내로 초기 또는 가장 최근 이외의 모든 횟수에 대해 독립적으로 투여될 수 있다.
- [0139] 단백질 부스트 내에 사용되는 단백질은 본 명세서에 개시된 정보 및 잘 공지된 방법을 사용하여 일상적인 방법에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 단백질에 대한 암호 서열을 포함하는 재조합 벡터가 생성될 수 있고, 다량의 단백질을 만들기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 재조합 발현 벡터는 일상적으로 생성될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "재조합 발현 벡터"는 적절한 숙주 내로 도입될 때, 암호 서열의 발현을 지시하는 필요한 유전적 요소를 함유하는 플라스미드, 파지, 바이러스 입자 또는 다른 벡터를 지칭하는 것을 의미한다. 당업자는 본 발명의 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 분리시키거나 또는 합성할 수 있고, 표준 기법 및 용이하게 이용가능한 출발 물질을 사용하여 발현 벡터 내로 삽입시킬 수 있다. 암호 서열은 필요한 조절 서열 내로 작동가능하게 연결된다. 발현 벡터는 잘 공지되어 있고, 용이하게 입수 가능하다. 발현 벡터의 예는 플라스미드, 파지, 바이러스 벡터 및 다른 핵산 분자 또는 숙주 세포를 형질전환시키고 암호 서열의 발현을 용이하게 하는데 유용한 비히클을 함유하는 핵산 분자를 포함한다. 본 발명의 재조합 발현 벡터는 형질전환 숙주에 유용하다.
- [0140] 재조합 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포가 사용되어 단백질을 생성할 수 있다. 단백질의 생성을 위한 잘 알려진 재조합 발현 시스템에서 사용을 위한 숙주 세포는 잘 공지되어 있으며 용이하게 입수 가능하다. 숙주 세포의 예는 이콜라이와 같은 박테리아 세포, 사카로마이세스 세레비시애(*S. cerevisiae*)와 같은 효모 세포, 도둑나방(*S.*

frugiperda)과 같은 곤충 세포, 비-인간 포유류 조직 배양 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 및 HeLa 세포와 같은 인간 조직 배양물 세포를 포함한다.

[0141] 일부 실시형태에서, 예를 들어 당업자는 잘 공지된 기법을 사용하여 잘 공지된 발현 시스템에서 사용을 위해 상업적으로 입수가능한 발현 벡터 내로 DNA 분자를 삽입시킬 수 있다. 예를 들어, 상업적으로 입수가능한 플라스미드 pSE420(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 Invitrogen)는 이콜라이 내 단백질의 생성을 위해 사용될 수 있다. 상업적으로 입수가능한 플라스미드 pYES2(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 Invitrogen)는, 예를 들어 효모의 사카로마이세스 세레비시에 균주 내 생성을 위해 사용될 수 있다. 완전한 바클로바이러스 발현 시스템인 상업적으로 입수가능한 MAXBAC(상표명)(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 Invitrogen)은 곤충 세포에서 생성을 위해 사용될 수 있다. 상업적으로 입수가능한 플라스미드 pcDNA I 또는 pcDNA3(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 Invitrogen)은 예를 들어 중국 햄스터 난소 세포와 같은 포유류 세포에서 생성을 위해 사용될 수 있다. 당업자는 이들 상업적 발현 벡터 및 시스템 또는 일상적인 기법 및 용이하게 입수가능한 출발 물질을 사용하여 본 발명의 단백질을 생성하는 다른 것을 사용할 수 있다(예를 들어, 문헌[Sambrook et al., Molecular Cloning a Laboratory Manual, Second Ed. Cold Spring Harbor Press (1989)]을 참조하며, 이는 본 명세서에 참조로서 포함됨). 따라서, 원하는 단백질은 원핵생물과 진행생물 시스템 모두에서 제조될 수 있으며, 이는 가공된 형태의 단백질의 범위를 초래한다.

[0142] 당업자는 다른 상업적으로 입수가능한 발현 벡터 및 시스템을 사용할 수 있거나 또는 잘 공지된 방법 및 용이하게 입수가능한 출발 물질을 사용하여 벡터를 생성할 수 있다. 프로모터 및 폴리아데닐화 신호와 같은 필수 제어서열, 및 바람직하게는 인핸서를 함유하는 발현 시스템은 용이하게 입수가능하며, 당업계에서 다양한 숙주에 대해 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., Molecular Cloning a Laboratory Manual, Second Ed. Cold Spring Harbor Press (1989)]을 참조한다.

[0143] 단백질을 암호화하는 DNA를 포함하는 발현 벡터는 양립가능한 숙주 세포로 형질전환된 다음 배양되고, 외래 DNA의 발현이 일어나는 조건 하에 유지된다. 이렇게 생성된 본 발명의 단백질은 적절하고 당업계에 공지된 바와 같이 세포를 용해시킴으로써 또는 배양배지로부터, 배양물로부터 회수된다. 당업자는 잘 공지된 기법을 사용하여 이러한 발현 시스템을 사용하여 생성된 본 발명의 단백질을 분리시킬 수 있다. 이러한 단백질에 특이적으로 결합되는 항체를 사용하여 천연 공급원으로부터 본 발명의 단백질을 정제하는 방법은 이러한 항체를 생성하는 방법으로서 일상적이다(본 명세서에 참조로서 포함된 문헌[Harlow, E. and Lane, E., Antibodies: A Laboratory Manual, 1988, Cold Spring Harbor Laboratory Press]을 참조). 이러한 항체는 재조합 DNA 방법 또는 중성 공급원에 의해 생성된 단백질을 정제하기 위해 사용될 수 있다.

[0144] 구성체의 예는 본 발명의 단백질을 암호화하고, 구성체가 트랜스펙션된 세포주 내에서 작용성인 프로모터에 작동가능하게 연결된 암호 서열을 포함한다. 구성적 프로모터의 예는 거대세포 바이러스 또는 SV40으로부터의 프로모터를 포함한다. 유도성 프로모터의 예는 마우스 유방 백혈병 바이러스 또는 메탈로티오네인(metallothionein) 프로모터를 포함한다. 당업자는 용이하게 입수가능한 출발 물질로부터 본 발명의 단백질을 암호화하는 DNA를 갖는 세포에 의한 트랜스펙션에 유용한 유전적 구성체를 용이하게 생성할 수 있다. 이러한 유전적 구성체는 본 발명의 단백질 생성에 유용하다.

[0145] 재조합 기법에 의한 본 발명의 단백질의 생성에 추가로, 또한 본 발명의 단백질을 생성하기 위해 자동화 패턴아드가 사용될 수 있다. 이러한 기법은 당업자에게 잘 공지되어 있으며, 치환되는 유도체가 DNA-암호화 단백질 생성에서 제공되는지 여부는 유용하다. 예를 들어, 본 발명의 단백질은 다음의 공지된 기법 중 어떤 것에 의해 제조될 수 있다. 편리하게, 본 발명의 단백질은 문헌[Merrifield, in J. Am. Chem. Soc., 15:2149-2154 (1963)]에 의해 처음으로 기재된 고체상 합성 기법을 사용하여 제조될 수 있으며, 이는 본 명세서에서 참조로 포함된다. 다른 단백질 합성 기법은, 예를 들어 본 명세서에 참조로서 포함되는 문헌[M. Bodanszky et al., (1976) Peptide Synthesis, John Wiley & Sons, 2d Ed.]; 본 명세서에 참조로서 포함되는 문헌[Kent and Clark-Lewis in Synthetic Peptides in Biology and Medicine, p. 295-358, eds. Alitalo, K., et al. Science Publishers, (Amsterdam, 1985)];뿐만 아니라 당업자에게 공지된 다른 참조문헌 작업에서 찾을 수 있다. 합성 기법의 개요는 본 명세서에 참조로서 포함된 문헌[J. Stuart and J. D. Young, Solid Phase Peptide Synthesis, Pierce Chemical Company, Rockford, Ill. (1984)]에서 찾을 수 있다. 본 명세서에 참조로서 포함되는 문헌[The Proteins, Vol. II, 3d Ed., p. 105-237, Neurath, H. et al., Eds., Academic Press, New York, N.Y. (1976)]에 기재되는 바와 같은 용액 방법에 의한 합성이 또한 사용될 수 있다. 이러한 합성에서 사용을 위한 적절한 보호기는 상기 문헌뿐만 아니라 본 명세서에 참조로 포함된 문헌[J. F. W. McOmie, Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press, New York, N.Y. (1973)]에서 찾을 것이다. 일반적으

로, 이들 합성 방법은 늘어나는 웨타이드 쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기 또는 적합한 보호된 아미노산 잔기의 연속적인 첨가를 수반한다. 보통, 제1 아미노산 잔기의 아미노기 또는 카복실기 중 하나는 적합한, 선택적으로-제거가능한 보호기에 의해 보호된다. 상이한, 선택적으로 제거가능한 보호기는 리신과 같은 반응성 측기를 함유하는 아미노산에 대해 이용된다.

[0146] 단백질은 용이하게 입수가능한 물질을 사용하여 잘 공지된 방법에 의해 포유류에게 투여를 위해 조제될 수 있다. 당업자는 본 발명에서 사용될 수 있는 다수의 약제학적으로 허용가능한 배지를 용이하게 이해할 것이다. 적합한 약제학적 담체는 본 명세서에 참조로서 포함된 본 분야의 표준 참고 문헌인 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol]에 기재된다. 국소 투여를 위한 조제물은 경피 패치, 연고, 로션, 크림, 젤, 점액, 좌약, 스프레이, 액체 및 분말을 포함할 수 있다. 통상적인 약제학적 담체, 수성, 분말 또는 유성 베이스, 증점제 등은 필요하거나 바람직할 수 있다. 경구 투여를 위한 조성물은 분말 또는 과립, 혼탁액 또는 수용액 또는 비수성 배지, 캡슐, 사제 또는 정제일 수 있다. 증점제, 향미제, 희석제, 에멀젼화제, 분산 보조제 또는 결합제가 바람직할 수 있다. 비경구, 정맥내, 척추강내 또는 뇌실내 투여를 위한 조성물은 또한 완충제, 희석제 및 다른 적합한 첨가제를 함유할 수 있는 멸균 수용액을 포함할 수 있고, 바람직하게는 멸균이며 발열원이 없다. 본 발명에 따른 정맥내 투여에 적합한 약제학적 조성물은 멸균이며 발열원이 없다. 비경구 투여를 위해, 본 발명의 웨타이드는, 예를 들어 약제학적으로 허용가능한 비경구 비히클과 함께 용액, 혼탁액, 에멀젼 또는 동결건조 분말로서 조제될 수 있다. 이러한 비히클의 예는 물, 식염수, 링거 용액, 텍스트로스 용액 및 5% 인간 혈청 알부민이다. 고정유와 같은 리포좀 및 비수성 비히클이 또한 사용될 수 있다. 비히클 또는 동결건조 분말은 등장성(예를 들어 염화나트륨, 만니톨) 및 화학적 안정성(예를 들어, 완충제 및 보존제를 유지하는 첨가제를 함유할 수 있다. 조제물은 통상적으로 사용되는 기법에 의해 멸균된다. 예를 들어, 주사에 의한 투여에 적합한 비경구 조성물은 0.9% 염화나트륨 용액 중에서 활성 성분의 1.5중량%를 용해시킴으로써 제조된다.

[0147] 본 발명에 따른 단백질을 포함하는 약제학적 조성물은 1회 용량으로서 또는 다회 용량으로 투여될 수 있다. 투약량은 공지된 인자, 예컨대 특정 작용제의 약력학적 특징 및 그것의 방식 및 투여 경로; 수용인의 연령, 건강 상태 및 체중; 증상의 특성 및 정도, 동시 치료의 종류, 치료 빈도, 및 원하는 효과에 따라서 다르다. 치료 조성물의 조제 및 그것의 이후의 투여는 당업자의 능력 내인 것으로 믿어진다. 보통, 웨타이드의 투약량은 약 1 마이크로그램 내지 1000 밀리그램 또는 그 이상; 10 마이크로그램 내지 1000 밀리그램; 바람직하게는 50 마이크로그램 내지 500 밀리그램; 더 바람직하게는 100 마이크로그램 내지 400 밀리그램일 수 있다. 일부 실시형태에서, 투약량은 10 내지 250 마이크로그램의 범위에 있다. 일부 실시형태에서, 투약량은 예를 들어 250 마이크로그램 내지 1 밀리그램 또는 초과, 예컨대 1 내지 50 밀리그램이다. 일부 실시형태에서, 투약량은 훨씬 더 높으며, 예를 들어 50 내지 500 밀리그램이다.

d. DNA 플라스미드의 제조방법

[0149] 본 명세서에 논의되는 DNA 백신을 포함하는 DNA 플라스미드의 제조방법이 본 명세서에 제공된다. 포유류 발현 플라스미드 내로 최종 서브클로닝 단계 후, 당업계에 공지된 방법을 사용하여 DNA 플라스미드는 대규모 발효 탱크에서 세포 배양물을 접종시키기 위하여 사용될 수 있다.

[0150] 본 발명의 EP 장치와 함께 사용을 위한 DNA 플라스미드는 공지된 장치 및 기법의 조합을 사용하여 조제되거나 또는 제조될 수 있지만, 바람직하게는 2007년 5월 23일 출원된 라이센스가 있는 공동계류증인 미국 가특허 출원 제60/939,792호에 기재된 최적화된 플라스미드 제조 기법을 사용하여 제조된다. 일부 실시예에서, 본 연구에 사용된 DNA 플라스미드는 10mg/ml 초과 또는 동일한 농도로 조제될 수 있다. 제조 기법은 또한 미국 가특허 제60/939792호에 기재된 것에 추가로 2007년 7월 3일 발행된 라이센스가 있는 특허인 미국 특허 제7,238,522호에 기재된 것을 포함하여, 당업자에게 흔히 공지된 다양한 장치 및 프로토콜을 포함하거나 또는 내포한다. 상기-언급된 출원 및 특허, 미국 출원 제60/939,792호 및 미국 특허 제No. 7,238,522호는 각각 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된다.

실시예

[0152] 본 발명의 다음의 실시예에서 추가로 예시된다. 이들 실시예는 본 발명의 바람직한 실시형태를 나타내지만, 단지 예시의 방법으로서 주어진다는 것이 이해되어야 한다. 상기 논의 및 이들 실시예로부터, 당업자는 본 발명의 필수 특징을 확인할 수 있고, 본 발명의 정신 및 범주로부터 벗어나지 않고, 다양한 어구 및 조건에 적합한 본 발명의 다양한 변화 및 변형을 만들 수 있다. 따라서 나타내고 본 명세서에 기재된 것에 추가로 본 발명의 다양한 변형은 앞서 언급한 기재로부터 당업자에게 명백할 것이다. 이러한 변형은 또한 침부되는 특허청구범위의 범주 내에 속하는 것으로 의도된다.

[0153] **실시예 1 - 발현 구성체의 제조**

[0154] 4가지 중요한 P.f. 항원: 환상포자소체 단백질(CS), 간 단계 항원(LSA1), 트롬보스폰딘-관련-익명-단백질(TRAP) 및 오키네트 및 포자소체에 대한 세포-횡단 단백질(CeITOS 또는 Ag2)을 확인하는 것을 기반으로 백신 후보를 개발하였다. 코돈 및 RNA 최적화를 포함하는 발현을 개선하기 위하여 만든 몇몇 변형과 함께 공통 서열을 기반으로 각 항원을 설계하였다.

[0155] **공통 CS**

[0156] 공통 CS 서열은 도 1a에서 개시한 GenBank 데이터베이스(전체 66개 서열)에서 전장 CS 서열로부터 설계하였다. 도 1b는 공통 CS 서열과 GenBank 서열 사이의 비교를 나타낸다. 공통 CS 서열은 면역글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 리더 서열, 예컨대 IgE 신호 웨პ타이드를 선택적으로 포함할 수 있다. 공통 CS를 서열번호 2에 제시한다. 서열번호 2에 제시하는 공통 CS의 암호 서열을 서열번호 1에 제시한다. IgE 리더 서열을 갖는 공통 CS를 서열번호 14 및 26에 제시한다. 서열번호 14 및 26에서 IgE 리더 서열을 갖는 공통 CS의 암호 서열을 서열번호 13 및 25에 제시한다. pGX7002를 생성하기 위해 pVAX에서 클로닝한 서열번호 25에서 제시한 암호 서열은 서열번호 37에서 제시하는 서열을 가진다.

[0157] **공통 Ag2(또는 공통 CeITOS)**

[0158] 공통 CeITOS 서열은 또한 공통 Ag2 서열로도 언급되며, 도 4a에서 개시되는 GenBank 데이터베이스 내 전장 CeITOS 서열로부터 설계하였다. 도 4b는 공통 CeITOS 서열과 GenBank 서열 사이의 비교를 나타낸다. 공통 CeITOS를 서열번호 8에서 제시한다. 서열번호 8의 높은 수준의 발현을 위해 설계한 공통 CeITOS를 암호화하는 서열을 서열번호 7로 제시한다. 공통 CeITOS 서열은 면역글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 리더서열, 예컨대 IgE 신호 웨პ타이드를 선택적으로 포함할 수 있다. IgE 리더 서열을 갖는 공통 CeITOS를 서열번호 20 및 32에서 제시한다. 서열번호 20 및 32의 높은 수준의 발현을 위해 설계한 IgE 리더 서열을 갖는 공통 CeITOS를 암호화하는 서열을 서열번호 19 및 31에 제시한다. pGX7001을 생성하기 위하여 pVAX에서 클로닝한 서열번호 31에 제시한 암호 서열은 서열번호 39에서 제시한 서열을 가진다.

[0159] **공통 LSA1**

[0160] 전장 LSA1 서열로부터 공통 LAS 서열을 설계하였다. 도 2a는 서열번호 4와 서열들 간의 상동성 정도를 나타낸다. 도 2b는 공통 CS 서열과 GenBank 서열 간의 비교를 나타낸다. 전장 LSA1 서열이 단백질의 중심에서 다수의 반복 영역을 함유하지만, 공통 LSA1(PfConLSA1)은 이들 반복 영역 중 단지 8개를 함유한다. 공통 LAS1을 서열번호 4에 제시한다. 서열번호 4의 공통 LAS1의 암호 서열을 서열번호 3에 제시한다. 공통 LAS1 서열은 면역 글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 리더 서열, 예컨대 IgE 신호 웨პ타이드를 선택적으로 포함할 수 있다. IgE 리더 서열을 갖는 공통 LAS1을 서열번호 16 및 28에 제시한다. 서열번호 16 및 28에서 IgE 리더 서열을 갖는 공통 LAS1의 암호 서열을 서열번호 15 및 27에 제시한다. pGX7004를 생성하기 위하여 pVAX에서 클로닝한 서열번호 27에서 제시한 암호 서열은 서열번호 39에서 제시한 서열을 가진다.

[0161] **공통 TRAP(공통 SSP2)**

[0162] 공통 TRAP 서열은 또한 공통 SSP2 서열로서 언급되며, 도 3a에 개시된 GenBank 데이터베이스(전체 28개 서열) 내 전장 TRAP 서열로부터 설계하였다. 도 3b는 공통 TRAP와 GenBank 서열 사이의 비교를 나타낸다. 공통 TRAP를 서열번호 6에 제시한다. 높은 수준의 발현을 위해 설계한 공통 TRAP를 암호화하는 서열을 서열번호 6에서 제시하며, 서열번호 5에서 제시된다. 공통 TRAP 서열은 선택적으로 면역글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 리더 서열, 예컨대 IgE 신호 웨პ타이드를 포함할 수 있다. IgE 리더 서열을 갖는 공통 TRAP를 서열번호 18 및 30에 제시한다. 서열번호 18 및 30의 높은 수준의 발현을 위해 설계한 IgE 리더 서열을 갖는 공통 TRAP를 암호화하는 서열을 서열번호 17 및 29에 제시한다. pGX7005를 생성하기 위하여 pVAX에서 클로닝한 서열번호 29에 제시한 암호 서열은 서열번호 40에서 제시한 서열을 가진다.

[0163] **대안의 공통 CS(CS-alt)**

[0164] 대안의 공통 CS는 서열 서열번호 12를 가지도록 만들어진다. 서열번호 12의 암호 서열은 서열번호 11이다. 공통 CS-alt 서열은 선택적으로 면역글로불린 신호 웨პ타이드와 같은 리더 서열, 예컨대 IgE 신호 웨პ타이드를 포함할 수 있다. IgE 리더 서열을 갖는 공통 CS-alt를 서열번호 22 및 34에 제시한다. 서열번호 22 및 34의 높은 수준의 발현을 위해 설계한 IgE 리더 서열을 갖는 공통 CS-alt를 암호화하는 서열을 서열번호 21 및 33에 제시한다. 서열번호 33의 공통 서열을 pVAX에 기반한 발현 벡터 내로 삽입하였고, 발현 구성체 pGX7003(서열번호 41)으로

서 도 11에 나타낸다.

[0165] 실시예 2 - 공통 항원의 발현

[0166] 그 다음에 클로닝한 발현 구성체를 시험관내 번역 분석으로 발현시키고, 단백질 발현을 웨스턴 블롯 분석에 의해 결정하였다. 플라스미드를 리포펙타민에 의한 RD 세포 내로 트랜스펙션시켰다. 20시간 후, 세포를 채취하였고, 전체 세포 용해물을 얻었다. 단백질을 정량화하였고, 12% SDS-PAGE 겔 상에서 전기영동 시켰다. 합성 단백질을 항-HA 항체를 사용하여 검출하였다(HA 태그는 항원 서열의 C-말단에서 함유한다). pVAX 1을 음성 대조군으로서 사용하였다. 결과를 도 5에 나타낸다.

[0167] 실시예 3 - 백신화된 마우스에서 면역 반응

[0168] 세포 면역원성 연구를 위해, 10 또는 20 μ g의 각각의 항원-암호화 플라스미드를 근육내 주사에 의해 Balb/c 마우스의 전경골근(tibialis anterior)에 전달한 후 CELLECTRA 적응형 정전류 전기천공 장치(펜실베니아주 블루 벨에 소재한 Inovio Pharmaceuticals)를 사용하여 전기천공시켰다. 마우스(그룹 당 n=5)는 제0주, 제3주 및 제6주에 3회 면역화를 받았다. 면역화 1주 후에 세포 및 반응을 평가하였다(제5주). 96-웰 플레이트(Millipore)를 사용하여 제조업자의 설명서(R&D Systems)에 따라 ELISpot을 수행하였다. 각각의 면역화 마우스로부터 2×10^5 개 비장세포를 플레이트의 각 웰에 첨가하였고, 밤새 37°C, 5% CO₂에서 R10(음성 대조군), 콘카나발린 A(양성 대조군) 또는 각 항원에 특이적인 웨პ타이드 풀의 존재에서 자극하였다. 웨პ타이드 풀은 전체 단백질을 신장시키는 15량체 웨პ타이드로 구성되며, 11개 아미노산에 의해 중첩된다.

[0169] 공통 항원의 세포 면역원성을 INF-γ ELISpot 세포 면역원성 분석에 의해 결정하였다. 개개 공통 항원의 세포 면역원성을 도 6a에 나타내고, 다중 항원 백신 칵테일을 도 6b에 나타낸다. 모든 백신은 ELISpot에 의해 결정되는 바와 같이 강한 IFN γ 반응을 유발하였다. 다수의 CS- 및 LSA1-특이적 반응은 CD4+ 및 CD8+ 우세 에피토프에 기인할 수 있다. 면역원성을 Ad35 또는 Ad35/단백질 부스트를 포함하는 보고 플랫폼과 비교하였고, 결과를 도 6b에 나타낸다. PfConLSA1(우측 그래프)은 Ad35 또는 Ad35/단백질 이종성 프라임 부스트 접근보다 우세한 CD4+ 및 CD8+ T 세포에 대해 더 강한 세포 반응을 유발하였다(왼쪽 3개 그래프). 면역원성을 Ad5, Ad35 및 RTS,S를 포함하는 보고 플랫폼과 비교하였고, 결과를 도 6c에 나타낸다. PfconCS(우측 그래프)는 Ad5보다 약간 더 낮은 항원 특이적 IFN 감마를 유발하였지만(그래프의 좌측 쌍), Ad35 및 RTS,S보다 더 강하였다. 유세포 분석기 케이팅 전략을 사용하였고, 결과를 도 6d에 도시하였다. 다중 항원 백신을 비교하여 CD4+ T 세포 반응의 정보를 판독하였다. 다중 항원 백신에 대한 CD4+ T 세포 반응은 CS-특이적 반응이 우세한 CD4+ T 세포 반응이라는 것을 나타내었다(도 6e). 다중 항원 백신을 비교하여 CD8+ T 세포 반응의 정보를 판독하였다. 다중 항원 백신에 대한 CD8+ T 세포 반응은 CS-특이적 및 LSA-특이적 반응이 대부분의 CD8+ T 세포 반응을 포함한다는 것을 나타내었다(도 6f). CD8+ T 세포 반응을 단일 항원 백신과 다중 항원 백신 간에 비교하였다. CD8+ T 세포 반응은 다중 항원을 전달할 때 상당한 변화가 없다는 것을 나타내었다(도 6g를 참조). 치액성 반응을 연구하였다. 도 6h에서 나타내는 바와 같이 단일과 다중 항원 백신은 둘 다 강한 항체 반응(평균 종말점 역가 > 100,000)을 유발하였다. 도 6i는 LSA1 항체가 반복 영역 바깥의 에피토프와 관련된다는 것을 보여주는 그래프를 나타낸다. 한 실시형태에서, 항체는 생체내 동족 항원을 인식하는 것으로 나타났다. 각각의 항원을 간에서 수력학적 정맥 주사에 의해 주사하여 간에서 과발현시킨다. 그 다음에 간 부문을 면역화된 마우스로부터의 혈청으로 염색하였고(1:500), 각각의 면역화된 마우스로부터의 혈청으로 염색한 모든 부문(CS, LSA1, TRAP 또는 CelTOS)은 발현 세포의 항체 인식을 나타내었다(이미지는 도시하지 않음).

[0170] 실시예 4: 생체내 전기천공법을 통해 전달된 다중-항원 pDNA 백신 후보자를 사용한 마우스 연구

[0171] 초기 연구

[0172] 다중-항원 백신 접근을 통해 말라리아에 대해 개선된 DNA 백신이 연구 대상이다. 플라스모듐 팔시파룸(P.f.) 감염의 간-단계를 표적화하는 근육내 주사 및 전기천공법(EP)에 의해 전달된 다중-항원 DNA 백신 후보를 초기 마우스 연구에서 평가하였다. 이 백신 후보는 4개의 중요한 간-단계 P.f. 항원을 내포하였다: 환상포자소체 단백질(CS), 간 단계 항원 1(LSA1), 트롬보스폰딘-관련-익명-단백질(TRAP) 및 오키네트 및 포자소체에 대한 세포-횡단 단백질(CelTOS). 몇몇 변형을 갖는 공통 서열을 기반으로 백신 항원을 설계하여 코돈 및 RNA 최적화 및 고도로 효율적인 IgE 리더 서열의 첨가를 포함하는 발현을 개선시켰다.

[0173] Balb/c 마우스에서 면역원성 연구 전, 시험관내 번역, 웨스턴 블로팅 및 면역조직화학에 의해 항원 발현을 확인하였다. 마우스에서, 백신은 다른 벡터 시스템에 의해 유발된 것과 유사하거나 또는 뛰어난 강한, 항원-특이적

세포 및 체액성 반응을 유발하였다. 구체적으로, 10^6 개 비장세포(SFU) 당 인터페론-감마(IFN γ) 스팟 형성 세포를 ELISpot에 의해 정량화하였다: CS(1607 ± 391), LSA1(1908 ± 821), TRAP(929 ± 255) 및 CelTOS(477 ± 160). 추가로, 단독으로 또는 TRAP 및 CelTOS와 조합된 CS 및 LSA1 백신은 강한 CS-특이적 및 LSA-특이적 혈청전환율을 유발하였고(150,000 초과의 IgG 종말점 역가), ELISA에 의해 결정하였다.

[0174] 추가적인 마우스 연구

[0175] 현재 증거는 다중 간-단계 항원에 대해 강한 체액성과 세포성 반응을 유발하는 말라리아 백신 후보는 P.f에 대한 보호를 부여할 수 있다는 것을 지지한다. 따라서, 이 백신 접근의 최종 목표는 CS, LSA1, TRAP 및 CelTOS에 대한 세포 반응 및 체액 반응을 동시에 유발하는 것이다. 마우스 모델에서 몇몇 연구를 수행하여 백신 설계 및 전달을 추가로 최적화하였고, 백신-유도된 면역 반응을 추가로 특성규명(characterize)하였다.

[0176] 다른 연구는 추가적인 DNA-기반 말라리아 항원을 갖는 PfCS DNA 백신의 조합 전달이 CS-특이적 T 세포 반응을 감소시킬 수 있다는 것을 시사하였다(Sedegah M, et al., Gene Therapy, 2004, 11(5):448-56)6). 이런 이유로, 이 다중-항원 백신 후보에 의해 유발된 항원-특이적 반응을 우선 개개의 백신에 의해 유발된 반응과 비교하였으며, 이때 CS, LSA1, TRAP 및 CelTOS DNA 백신은 1회 용량으로 전달한다. 이들 연구를 위해, Balb/c 마우스는 3주 간격으로 3회 면역화를 받았고(제0일, 제3주 및 제6주), 최종 면역화 1주 후에 면역 반응을 평가하였다(제7일). 백신을 i.m. 다음에 CELLETRA(상표명) 적응형 정전류 장치(펜실베니아주 블루 벨에 소재한 Inovio Pharmaceuticals, Inc.)를 사용하여 EP에 의해 제공하였다. 주어진 각 백신의 용량은 단일 및 다중 항원 백신 접근에 대한 것과 동일하였다. 체액성 분석을 위한 종말점 연구에서 ELISA를 사용하여 혈액을 제1주, 제3주에 회수하였다. 최종 면역화 1주 후에 세포 반응을 IFN γ ELISpot 및 유세포분석기에 의해 결정하였다.

[0177] 마우스 모델에서 백신 항원의 조합 전달의 최적화

[0178] 미래 임상 시험을 지원하기 위하여, 후보 항원의 면역원성을 추가로 특성규명하고 다중-항원 조제물을 개발하는 연구에 착수하였다. 특히 2가지 질문을 평가하였다: 1) CS, LSA1, TRAP 및 CelTOS 항원이 함께 조제될 수 있는지 여부 및 2) 다중-플라스미드 DNA 항원의 공동발현이 조제물의 얻어진 면역 효능에 영향을 미치는지 여부.

[0179] 다중-성분 말라리아 백신을 개발하기 위한 2가지 다음의 접근을 고려하였다: (1) 4가지 항원을 개개로 발현시키는 DNA 플라스미드의 생리적 조합 후 다중-항원 조제물의 공동-전달; 및 (2) 항원이 번역적으로 커플링되고 분명히 공동 전달되도록 2 이상의 항원을 단일 플라스미드 상에 클로닝. 2가지 접근 중에서, 옵션 (1)을 인식하여 항원 조합에 대해 가장 큰 유연성을 얻었다. 접근은 가장 용이하게 면역 간섭에 대한 개개의 조합의 질의를 허용하였고, 따라서 세포 및 체액 면역 반응의 발현 및 유도와 상호간에 양립가능한 추가 개발을 위한 선택 항원 조합을 보조한다. 이 접근은 또한 항원이 시험한 임상적 가설(DNA EP 단독 대 프라임 부스트, 예컨대 DNA-단백질)뿐만 아니라 평가되는 원하는 면역 반응(세포 대 체액성)에 따라서 "혼합 및 매칭"될 수 있는 실험을 허용하였다. 이 전략의 추구로부터 초래되는 데이터가 본 명세서에 포함된다.

[0180] 선택(2)은 또한 실행가능한 것으로 고려되며, 필요한 플라스미드의 수를 감소시키는 이점을 갖는 것으로 고려된다(다중 항원이 단일 벡터 내에 조합되기 때문). 그러나, 다시트론성 구성체와 같은 발현 및 면역원성에 영향을 미치는 다수의 독립적 인자 때문에, 우선적 최적화는 시간 소모적일 수 있다. 이들은 다수의 프로모터의 최적화, 적절한 단백질분해 절단 부위, RNA 수준 상의 번역 중단-재시작 서열, 및 아마도 가장 중요하게는 프로모터에 대한 항원의 순서뿐만 아니라 구성체의 전반적인 크기를 포함한다. 거대 항원에 대해(>1 kb DNA 삽입물), 각각의 암호화된 항원의 최적 발현을 달성하기 위하여 상기 변수 모두를 최적화할 필요성은 백신의 유효성을 최대화하기 위하여 가능하였다. 결론적으로, 후자의 접근은 실행가능한 대안이지만, 인간에서 면역원성 및 효능 데이터를 확립하는 것에 대해 가장 효율적인 경로를 제공하기 위하여 이를 실험에서 추구하지 않았다. 항원의 성분 및 특이적 정렬의 최종 선택은 임상적 개발에서 이후에 더 적절하게 행해진 후 거대한 인간 임상 실험에 착수한다.

[0181] 임상 실험 설계를 알리고, 병원에 그것의 추가적인 전달을 지원하기 위하여 가능한 간섭에 대해 항원 조합을 평가하였다.

[0182] 가능한 항원 경쟁-체액 면역원성의 평가

[0183] 단일 및 다중-항원 백신은 높은 수준의 CS- 및 LSA1-특이적 혈청전환율을 유발하였다. 재조합 단백질의 생성 완료로 TRAP 및 CelTOS 백신에 의해 유발된 체액성 반응을 평가하였다. CS 및 LSA1과 유사하게, 단일과 다중-항원

백신은 둘 다 높은 수준의 TRAP- 및 CelTOS-특이적 혈청전환을 유발하였다. 모든 항원에 대해, 제2 백신접종에 의해 항체 역가에서 거대 부스트가 있었고, 더 적은 정도로, 제3 백신접종이 있었다(도 12). 중요하게는, 단지 2회의 면역화 후 100%의 백신접종 동물이 혈청전환되었고, 모든 항원 및 백신 둘 다에 대한 종말점 역가는 제3 백신접종 후 100,000 이상이었다.

[0184] 가능한 항원 경쟁-세포 면역원성의 평가

[0185] 단일 항원 및 다중-항원 백신에 의한 IFN γ , IL-2 및 TNF α 의 항원-특이적 CD4+ 및 CD8+ T 세포 분비의 유도를 ICS에 의해 우선 평가하였다. 이 데이터를 이하에 간략하게 요약한다.

[0186] 전반적으로, 다중-항원 백신은 강한 CD4+ T 세포 반응을 유발하였다. 구체적으로, 0.01%의 CD4+ T 세포는 항원-특이적 IFN γ 를 생성하였고, 2.45%의 CD4+ T 세포는 항원-특이적 IL-2를 생성하였으며, 1.39% CD4+ T 세포는 항원-특이적 TNF α 를 생성하였다(도 13). 다중-항원 백신에 의해 유발된 IFN γ 의 항원-특이적 CD4+ T 세포 분비 수준은 단일 항원 백신의 세포 분비 수준과 비슷하였다. CS 및 LSA1 백신에 대해, 다중-항원 백신은 IL-2의 더 강한 항원-특이적 CD4+ T 세포 생성을 유발하였고, CS-특이적 IL-2 분비의 증가는 통계적 유의도에 접근하였다 ($p=0.06$). 다중-항원 백신에 대해 관찰된 항원-특이적 반응의 단지 통계적으로 상당한 감소는 CelTOS ($p=0.01$) 및 TRAP($p=0.01$)에 대한 CD4+ T 세포 TNF α 생성의 더 낮은 수준이었다. 이것이 CelTOS- 및 TRAP-특이적 TNF α 생성에서 감소되었지만, CS-특이적 CD4+ T 세포 TNF α 분비 증가에 대한 경향이 있었고 LSA-특이적 CD4+ TNF α 반응에 대해 변화가 없었다.

[0187] 다중-항원 백신은 강한 항원-특이적 CD8+ T 세포 반응을 유발하였다. 특이적으로, 0.9%의 CD8+ T 세포는 항원-특이적 IFN γ 를 생성하였고, 3.1%의 CD8+ T 세포는 항원-특이적 IL-2를 생성하였으며 1.51% CD8+ T 세포는 항원-특이적 TNF α 를 생성하였다(도 14). CD4+ T 세포 IFN γ 반응과 유사하게, 다중-항원과 단일 항원 접근 사이에 IFN γ 의 항원-특이적 CD8+ T 세포 분비의 규모에서 최소의 차이가 있었다. 흥미롭게도, CD8+ T 세포를 생성하는 CS- 및 LSA1-특이적 IL-2 및 TNF α 의 백분율은 다중-항원 백신에 의해 현저하게 증가되었다.

[0188] 그러나 항원 경쟁의 존재는 다중-항원의 면역원성이 IFN γ ELISpot에 의해 평가될 때 더 명확하였다. 구체적으로, CS 백신이 LSA1, TRAP 및 CelTOS 백신과 함께 공동 전달될 때, CS-특이적 IFN γ 반응에서 3.0-배 감소를 관찰하였다. IFN γ 생성의 규모에서 관찰된 감소는 전달되는 DNA의 전체량의 증가에 기인하지 않는다(도 15). ICS와 비교하여 ELISpot 분석을 사용하여 관찰한 CS-특이적 IFN γ 반응에서 더 명확하게 알려진 감소는 더 큰 분석의 민감도에 기인할 가능성이 가장 크며, 항원-특이적 T-세포 수의 상당한 감소에 필수적으로 기인하지 않는다. 중요하게는, ELISpot에 의한 CS-특이적 IFN γ 생성의 감소는 전체 T 세포 집단의 단지 0.005%의 대표적인 감소인데, 이는 ICS에 의해 관찰된 CS-특이적 CD8+ T 세포 IFN γ 생성의 전체 집단의 감소와 유사하다(0.004%).

[0189] 가능한 항원 경쟁의 평가-요약

[0190] ICS와 ELSIA 데이터는 함께 일반적으로 항원이 유발된 면역 반응에서 상당한 간섭 없이 다중-항원 조제물 내에 조합될 수 있다는 것을 시사한다.

[0191] CS-특이적 반응을 증가시키기 위한 전략

[0192] 그럼에도 불구하고, CS 특이적 반응은 말라리아 백신에서 중요하게 고려되기 때문에, 2가지 백신 전달 접근을 전체 다중-항원 백신 IFN γ 반응의 CS-특이적 성분의 규모를 증가시키는 노력에서 평가하였다. 제1 접근에서, 다중-항원 백신 칵테일의 전체 용적의 절반을 한 마리의 마우스 뒷다리에 전달하였고, 나머지 절반을 대측성 마우스 뒷다리에 전달하였다("분할 다리" 전달). 제2 접근에서, CS 백신을 한 마리의 마우스 뒷다리에 전달하였고, LSA1, TRAP 및 CelTOS 백신을 함유하는 칵테일을 대측성 뒷다리에 전달하였다. 이들 접근은 CS-특이적 IFN γ 생성의 규모에 유효하게 영향을 미치지 않았다(도 16). 이들 데이터는 다중-항원 백신에 의해 관찰된 IFN γ 에서 CS-특이성 감소가 알려지지 않은 전신 메커니즘에 기인할 가능성이 가장 크며, 동일 부위에 모두 4가지 항원의 공동 전달과 직접적으로 관련되지 않는다는 것을 나타낸다.

[0193] 쌍 비교

[0194] 다음에, 쌍(pair-wise) 효과를 평가하여 하나의 항원이 다른 백신 항원에 대해 항원-특이적 IFN γ 반응의 유발을 조절할 수 있었는지 여부를 결정하였다. 매트릭스 접근을 사용하여 모든 가능한 2-항원 조합을 평가하였고, 항원-특이적 IFN γ 생성을 IFN γ ELISpot에 의해 결정하였다. 각 항원 쌍에 대해 단일-항원 백신 반응에 대한 IFN γ 생성의 배수 변화를 표 1에 기록한다. 흥미롭게도, CS 백신 반응과 LSA1 백신 반응은 둘 다 CelTOS 백신과 공동 전달될 때 감소되었다.

표 1

각 항원 쌍에 대해 단일-항원 백신 반응에 대한 IFN γ 생성의 배수 변화					
반응	항원 1	항원 2			
		CS	LSA1	TRAP	CeITOS
CS	CS	1.0	-1.4	-1.1	-2.8
LSA	LSA1	1.2	1.0	-1.3	-2.9
TRAP	TRAP	1.4	-1.2	1.0	1.0
CeITOS	CeITOS	-1.5	-1.1	3.0	1.0

[0195] 이러한 발견점이 예비적이며 통계적 유의도에 도달하지 못한 항원 조합에 대해 면역원성에서 변화가 있지만, 모든 항원 및 모든 항원 쌍은 앞서 주목한 바와 같이 강한 T-세포 반응을 얻었다. 따라서, 주목한 차이점에도 불구하고, 기준 면역 반응의 높은 수준에 대해 간섭을 관찰하였고, 일반적으로 다른 백신 접근에 대해 강한 T-세포 반응의 도입보다 못하였다.

[0197] 함께 취한 모든 데이터는 조합한, 4가지-항원 조제물이 임상적 설정에서 시험될 수 있고, 관찰된 항원성 경쟁이 만약에 있다 하더라도, 부수적이며, 범주 내에서 제한되고, 본 연구 결과 이상으로 일반화될 수 없다는 것을 시사한다.

CD8+ 간 림프구에 의한 LSA1-특이적 IFN γ 생성

[0199] 설치류 모델에서, CD8+ T 세포는 주된 효과기 세포로서 표시되었고, IFN γ는 포자소체-감염 간세포의 제거에서 중요한 효과기 분자로서 표시되었다. 이런 이유로, 이 백신 후보를 평가하여 CD8+ 간 림프구에 의한 항원-특이적 IFN γ 생성이 유발될 수 있는지 여부를 결정하였다. 다중-항원 백신화 마우스로부터 간 림프구를 분리하였다. 간 림프구의 분리 전 간을 철저하게 관류시켜 분리된 간 림프구 집단 내 T 세포를 순환시키는 존재를 감소시키거나 또는 제거하였다. LSA1-특이적 CD8+ T 세포 IFN γ 분비의 유도를 ICS에 의해 측정하였다. 간 CD8+ T 세포의 1.5%의 평균은 LSA1-특이적 IFN γ (n=8)를 만들었고, 모든 배경은 나이브 마우스(n=3)에서 관찰되지 않았다(도 17).

[0200] 이들 데이터는 다중-항원 후보와 같은 DNA-기반 백신이 간에서, 즉 그것들이 근육내 면역화 후 포자소체-감염 간세포를 클리어런스하기 위해 필요한 부위에서 항원-특이적 CD8+ T 세포를 유발할 수 있다는 것을 나타낸다.

요약

[0202] 조합된 항원(단일 대 다중 항원 조합) 효과의 조사는 CS, TRAP, LSA-1 및 CeITOS가 4-플라스미드, 조합 말라리아 백신 내로 조합될 수 있다는 것을 증명하였다.

실시예 5: 항원 AMA1의 암호 서열을 포함하는 DNA 백신의 개발

[0204] 더 최근에, 다른 그룹은 AMA1 항원을 내포하는 백신 접근에 대해 유망한 데이터를 보고하였다. Pf 3D7 균주로부터 AMA1 단백질을 암호화하는 백신 구성체를 설계하였고, 본 명세서에 개시한다. 표준 백신접종 스케줄에 따라 백신의 3회 투약(10 µg, 20 µg 및 30µg)을 위해, 마우스(그룹 당 n=4)에서 세포 및 체액 면역원성을 평가하였다 (상기 참조). 백신은 강한 AMA1-특이적 T 세포 반응(도 18A) 및 혈청전환(도 18B)을 유발하였다. 세포와 체액성 면역 반응은 둘 다 용량을 상당히 증가시키지 않았다. CS, LSA1, TRAP 및 CeITOS 백신을 포함하고 AMA1 백신을 추가로 포함하는 백신을 설계하였고 사용하였다.

실시예 6: 생체내 전기천공법을 통해 전달된 다중-항원 pDNA 백신 후보를 사용하는 비-인간 영장류 연구

[0206] 인도 붉은털 원숭이(벵골원숭이)(macaca mulatta) NHP 모델에서 EP에 의해 전달된 다중-항원 말라리아 백신에 의해 유발된 세포와 체액성 면역 반응 둘 다의 질 및 양을 평가하는 연구는 진행중이다. DNA 백신을 단독으로 시험하는 것에 더하여, IL-28B를 공동 전달하고, 백신-유발 면역 반응 상에서 CS 단백질 부스트를 포함시키는 것의 효과를 연구하고, 이 백신 후보의 면역원성 평가 및 애주번트 포함의 영향 및 세포 및 체액성 반응 상에서 이종성 프라임-부스트 접근에서 기능적 분석을 사용한다.

[0207] NHP 연구를 시작하였다. 다른 연구에 대해 대조군으로서 작용하는 추가적인 그룹(그룹 5)을 더 빨리 백신접종시켰다. 이들 연구는 현재 진행 중이다. 연구 그룹 및 백신 접종 및 출혈 시가표를 표 2 및 표 3에 각각 제공한다.

표 2

연구 그룹

그룹	제0주	제6주	제12주	제24주	DNA 전달
1	DNA	DNA	DNA	DNA	IM EP
2	DNA	DNA	DNA	단백질	IM EP
3	DNA	DNA	DNA	단백질	MID EP (3P)
4	DNA + IL-28	DNA + IL-28	DNA + IL-28	단백질	IM EP
5	DNA + IL-28	DNA + IL-28	DNA + IL-28	DNA + IL-28	MID EP (3P)
6	대조군 DNA	대조군 DNA	대조군 DNA	대조군 DNA	IM EP

DNA: 1.0 mg 각각 PfCS, PfLSA1, PfTRAP, PfCeITOS

DNA+IL-28: 1.0 mg 각각 PfCS, PfLSA1, PfTRAP, PfCeITOS 및 0.5 mg macIL-28

단백질: 재조합 PfCS 단백질 50 µg.

[0208]

표 3

백신 접종 및 출혈 시각표

주																	
-2	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	25	27	29	32	33
	V			V			V						V				
*B	B	B		B	B		B	B		B			B		B	B	

B=혈액 배출, V=백신 접종

[0209]

제2 면역화 후 NHP 데이터의 요약(제8주)

이하는 진행중인 NHP 연구의 제2 백신접종을 통한 후 세포 및 체액 면역원성 데이터의 요약이다.

세포 면역원성

[0210]

전반적인 항원-특이적 IFN γ 반응은 모두 4개의 항원 및 전달 접근을 위한 제2 면역화에 의해 부스팅되었다(도 19, 좌측 패널). 제2 면역화 후, 평균 항원-특이적 IFN(ELISpot은 IM 그룹(n=10)에서 보다 약간 더 큼)(1350(1116 SFU, 318 내지 3842 SFU의 범위)을 IL-28B(n=5)(1310(309 SFU, 986 내지 1540 SFU의 범위)에 의한 IM 전달 및 ID 전달(n=5)(402(288 SFU, 범위 132 내지 760 SFU)과 비교하였다. 흥미롭게도, IL-28B의 공동-전달은 CSP-특이적 반응의 규모를 특이적으로 증가시켰고(도 19, 우측 패널), 반응의 가변성을 감소시켰다.

[0214]

또한 유세포분석기에 의해 세포 면역원성을 평가하였고, 제2 면역화 후 항원-특이적 반응(제8주)을 도 20 및 21에서 보고한다. IFN γ 의 CD4+ T 세포 생성은 IM(0.22%) 및 IM+IL-28(0.20%) 전달 접근과 유사하였다. IFN γ 의 항원-특이적 CD4+ T 세포 분비의 최소 수준을 ID 전달에 대해 관찰하였다(도 20, 좌측 패널). IL-28B와 공동 전달은 백신 단독의 IM 전달과 비교하여 IL-2(0.49%)의 항원-특이적 CD4+ T 세포를 증가시켰다(0.20%)(도 20, 중앙 패널). 모든 그룹에서 CD4+ T 세포 구획 내 강한 CSP- 및 LSA1-특이적 반응 TNF α 반응이 있었다. 항원-특이적 TNF α 는 IM+IL-28B(2.0%) 및 ID(1.9%)와 비교하여 IM 그룹에서 가장 높았다(3.2%)(도 20, 우측 패널).

[0215]

CD8+ T 세포 구획에서 IFN γ T 세포 반응은 IFN γ ELISpot 및 CD4+ T 세포 구획 내 반응에 대해 유사한 경향을 따른다. 전반적으로, 항원-특이적 CD8+ T 세포 반응은 ID 전달과 비교하여 IM 전달(IL-28B이 있거나 또는 없음)에 대해 더 강하였다. 항원-특이적 IFN γ 생성은 ID 그룹(0.15%)과 비교하여 IM(0.44%) 및 IM+IL-28B(0.42%) 그룹에서 가장 컸다(도 21, 좌측 패널). CSP-특이적 IFN γ 생성은 애주번트가 없는 백신의 IM 전달(0.11%)과 비교하여 IL-28B의 공동 전달(0.28%)에 의해 더 컸다. 대다수의 CD8+IFN γ + T 세포는 또한 그랜자임 B+(도 21, 하부 좌측 패널)이었다: IM, 0.35%; IM+IL-28B, 0.35%; ID, 0.11%. IL-2의 항원-특이적 CD8+ T 세포 생성은 ID(0.24%)와 비교하여 IM(0.48%) 및 IM+IL-28B (0.41%) 그룹에서 더 강하였다(도 21, 중앙 패널). CD4+ T 세포 구획과 유사하게, 더 낮은 규모일지라도 CSP 및 LSA1 항원에 대해 우세한 CD8+ T 세포 구획 내 강한 TNF α 반응이 있었다. 구체적으로, 0.58% 0.40% 및 0.43%의 CD8+ T 세포는 각각 IM, IM+IL-28 및 ID 그룹에서 TNF α 를 생성하였다.

[0216]

체액 면역원성

[0217]

전반적으로 제2 면역화와 함께 부스팅한 단일 면역화 후 모든 항원에 대해 항원-특이적 혈청 전환의 높은 수준을 관찰하였다(도 22). 모든 항원에 대한 IgG 항체 역가를 ELISA에 의해 결정하였고, 문헌[Frey, A. et al. (J Immunol. Methods 1998; 221:35-41)]에 의해 기재된 바와 같이 종말점 역가를 계산하였다. 간략하게, 종말점 역가를 나이브 항원 역가의 평균으로부터 계산한 95% 신뢰 구간의 상부 예측 제한 이상으로 남아있는 최종 회석의 역수로서 보고한다. CSP 및 LSA1-특이적 혈청전환은 제2 면역화 후 모든 그룹에서 증가되었다. 평균 TRAP 및 CeITOS 종말점 역가는 제2 면역화에 의해 IM 및 ID 전달에 대해 증가되었지만, IM+IL-28B 그룹에 대해 평균 역가는 증가되지 않았다. IgG의 TRAP- 및 CeITOS-특이적 수준은 IL-28B에 의해 전반적으로 증가되지 않았지만, 반응의 일관성은 증가되었다.

[0218]

요약

[0219]

비-인간 영장류에서 백신 항원의 면역원성의 조사는 4가지 항원 조합이 단지 2회 백신접종 후 NHP에서 강한 T-세포 및 체액성 면역 반응을 생성한다는 것을 증명하였다. 본 명세서에서 NHP 데이터는 영장류 모델에서 CS, LSA1, TRAP 및 CeITOS를 표적화하는 pDNA 구성체의 면역원성을 확인하였고, 이는 마우스 모델에서 이전의 데이터를 지지한다. 상기 주목한 바와 같이, 생체내 EP에 의해 전달된 pDNA 항원은 강한 세포 및 체액성 반응을 얻는다. 전달 경로(ID 대 IM)의 차이점 및 IL-28B 사이토카인의 사용으로부터 초래되는 상대적 면역 반응을 시험하였고, 백신 조제물의 ID전달이 강한 체액성 면역 반응을 유발하였다는 것을 나타내었다. 면역 반응의 규모 및 질에서 추가 단백질 부스트의 영향을 평가할 것이다.

[0220]

실시예 7: IL-28B은 백신-특이적 세포 및 체액성 반응을 향상시키며, 조절 T 세포 집단을 감소시킨다

[0221]

DNA 백신의 전달과 조합된 사이토카인 유전자 애주번트, IL-28을 암호화하는 DNA 벡터의 전달 효과를 평가하여 항원-특이적 효과기 및 백신 항원에 특이적인 기억 T-세포 반응이 증가되었는지 여부를 결정하였다. 현재 증거는 기억 T 세포의 높은 수준을 유발하는 말라리아 백신이 장기간 보호를 제공할 수 있다는 것을 시사한다. 다른 DNA 백신과 함께 IL-28B 사이토카인 유전자 애주번트를 암호화하는 DNA 벡터의 전달(Morrow et al., Blood, 2009 113(23):5868-77.)은 전반적인 면역원성 및 기억 T 세포의 수준을 증가시킨 반면, 조절 T 세포의 수준을 감소시켰다. IL-28B는 CTL의 특징인 표현형을 나타내는 항원 특이적 CD8+ T 세포의 유도를 구동시키는 것을 증명하였다.

[0222]

마우스 모델에서 이 백신에 대한 항원-특이적 반응을 향상시키는 IL-28B의 능력을 조사하였다. 다중-항원 백신과 함께 10 μ g IL-28B의 공동 전달은 전체 백신-특이적 IFN γ 반응을 1.5-배로 증가시켰다. IL-28B은 CS-특이적 및 CeITOS-특이적 IFN γ 생성을 각각 2.5-배 및 2.0-배로 증가시켰다(도 23). CD4+CD25+FoxP3+ 조절 T 세포의 집단에서 감소는 백신-특이적 IFN γ 반응이 증가함에 따라 유사한 경향을 따랐다(도 24). IL-28B는 앞서 특이적으로 증가된 세포 면역원성을 가지는 것으로 보고되었지만, 2가지 상이한 백신에 대한 체액성 반응에 영향을 미치지 않았다. 이 백신과 함께 공동 전달될 때, IL-28B는 또한 CS-특이적 혈청전환을 증가시켰다(도 25).

[0223]

후보 백신의 면역 효능을 조절하고/하거나 개선시키는 사이토카인 애주번트 IL-28B의 효과 조사는 IL-28B의 공동 전달이 백신 특이적 IFN γ 생성을 증가시키고, Tregs의 수를 감소시키며, CS-특이적 혈청 변환을 증가시킨다는 것을 나타내었다.

[0224]

실시예 8: DNA/단백질 프라임-부스트 접근

[0225]

CS 단백질은 중요한 항원이며, 체액성 반응을 구동시키는 그것의 능력은 보호와 관련될 수 있다. NHP 연구에서 CS 단백질 부스트를 시험하는 것에 추가로, CS 단백질 자체의 면역원성 및 잠재적 독성을 마우스에서 시험하였다.

도면

도면1a

공통 CS-서열 동일성 표

Genbank CS 서열에 대한 PfConCS의 상동성%					
등록번호	상동성%	등록번호	상동성%	등록번호	상동성%
AB116602	98.8	AF540454	97.5	AF540479	98.8
AB116603	99.3	AF540458	97.2	AF540480	97.6
AB116604	99.3	AF540459	97.5	AF540481	99.2
AB116605	99.8	AF540460	97.2	AF540482	98.0
AB116606	99.8	AF540461	97.4	AF540483	98.1
AB116607	99.8	AF540462	97.5	AF540484	98.2
AB121010	98.8	AF540463	97.2	AF540485	97.0
AB121015	98.8	AF540464	97.7	AF540486	98.1
AB121016	99.3	AF540465	98.2	AF540487	98.3
AB121017	99.3	AF540466	98.1	AF540488	98.5
AB121018	98.3	AF540467	97.6	AY870439	99.5
AB121019	98.3	AF540468	97.6	M15505	98.3
AB121021	97.9	AF540469	98.2	M19752	99.3
AB121022	99.3	AF540470	98.2	M83149	99.0
AB121024	98.2	AF540471	98.2	M83150	98.1
AF540442	98.5	AF540472	99.0	M83152	99.0
AF540444	97.9	AF540473	97.4	M83155	99.0
AF540445	98.2	AF540474	98.2	M83156	98.1
AF540446	98.2	AF540475	98.0	M83158	99.0
AF540449	97.7	AF540476	98.4	M83161	97.6
AF540452	97.6	AF540477	98.7	M83163	98.1
AF540453	97.6	AF540478	98.8	M83173	98.1

도면1ba

PfConCS 공통 CS 다중서열정렬

10 20 30 40 50 60 70 80 90

도면 1bb

도면 1bc

도면 1bd

도면 1be

도면1bf

AF540469 NPNANP NANP	ANP 195	
AF540470 NPNANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP	ANP 195	
AF540471 NPNANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP	ANP 195	
AF540472 NPNANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP	ANP 183	
AF540473 --ANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 171
AF540474 NPNANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 179
AF540475 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
AF540476 --ANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 171
AF540477 NPNANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 179
AF540478 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
AF540479 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
AF540480 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
AF540481	135	
AF540482	147	
AF540483	147	
AF540484	ANP 151	
AF540485	148	
AF540486 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP NANP NVDPNANP	NANP 195
AF540487 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP NANP NVDPNANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP	241
AF540488 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP NVDPNANP	ANP 191
AY870439 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
M15505 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 193
M19752 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
M83149 DPNA NP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 175
M83150 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
M83152 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
M83155 DPNA NP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
M83156 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
M83158 DPNA NP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
M83161 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
M83163 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 183
M83173 NPNANP NANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 193
0921078P1 NPNANP NANP NANP	PNANP NANP	ANP 196

도면1bg

280 290 300 310 320 330 340 350 360	+	+	+	+	+	+	+	+
AB116602 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NANP NVDPNANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP	—	239				
AB116603 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP	—	231				
AB116604 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP	—	239				
AB116605 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP	—	239				
AB116606 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP	—	239				
AB116607 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP	—	239				
AB121010 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NANP NVDPNANP NANP NANP NANP NANP NANP NANP	—	239				
AB121015 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NVDPNANP —ANP NANP NANP NANP NANP NANP	—	235				
AB121016 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP	—	239				
AB121017 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP	—	239				
AB121018 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NANP NANP —VDPNANP NANP NANP NANP NANP	—	231				
AB121019 NANP NVDPNANP NANP NANP	—	NANP	—	239				
AB121021 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NVDPNANP —ANP NANP NANP NANP NANP	—	212				
AB121022 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP	—	239				
AB121024 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP DPNA NP NANP —NANP NANP NANP NANP NANP	—	212				
AF540442 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP	—	251				
AF540444 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NVDPNANP —ANP NANP NANP NANP NANP	—	216				
AF540445 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NVDPNANP —ANP NANP NANP NANP NANP	—	216				
AF540446 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NVDPNANP —NANP NANP NANP NANP NANP	—	208				
AF540449 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NANP NANP NANP NVDPNANP NANP NANP NANP NANP	—	220				
AF540452 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NANP NANP NVDPNANP NANP NANP NANP NANP NANP	—	235				
AF540453 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NANP NVDPNANP NANP NANP NANP NANP NANP	—	235				
AF540454 NANP NVDPNANP NANP NANP	—	NANP NANP NANP NANP —NANP NANP NANP NANP NANP	—	227				
AF540458 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NVD —PNANP NANP NANP NANP NANP	—	219				
AF540459 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NVD —PNANP NANP NANP NANP NANP	—	219				
AF540460 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NVD —PNANP NANP NANP NANP NANP NANP	—	219				
AF540461 NANP NANP NANP NANP NVDP	—	NAN —PNANP NANP NANP NANP NANP	—	215				
AF540462 NANP NANP NANP NANP NVDP	—	NAN —PNANP NANP NANP NANP NANP	—	183				
AF540463 NANP NANP NANP NANP NVDP	—	NAN —PNANP NANP NANP NANP NANP	—	183				
AF540464 NANP NANP NANP NANP NVDP	—	NAN —PNANP NANP NANP NANP NANP	—	235				
AF540465 NANP NVDPNANP	—	NANP NANP NANP NANP NANP	—	211				
AF540466 NANP NVDPNANP	—	NANP NANP NANP NANP NANP NANP	—	186				
AF540467 NANP NANP NANP NANP NANP	—	NANP NANP NANP NVDPNANP NANP NANP NANP NANP NANP	—	235				

도면 1bh

도면 1b*i*

도면 1bj

도면 1bk

도면 1b1

AF540469 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEKYLKRQNSLSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 373
 AF540470 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEKYLKRQNSLSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 373
 AF540471 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEKYLKRQNSLSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 373
 AF540472 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEKYLKKIQNSLSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 373
 AF540473 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLNKIKNSLSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDQL 353
 AF540474 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKIIKNSLSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 353
 AF540475 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKTIQNSLSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDQL 369
 AF540476 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLNKIKNSLSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDQL 341
 AF540477 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKIIKNSLSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 373
 AF540478 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDQL 369
 AF540479 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDQL 369
 AF540480 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDQL 377
 AF540481 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 317
 AF540482 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 325
 AF540483 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 329
 AF540484 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 353
 AF540485 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 341
 AF540486 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 397
 AF540487 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 443
 AF540488 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPGSANKPKDEL 393
 AY870439 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 381
 M15505 — ANPNKNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 403
 M19752 --- KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 385
 M3149 — ANPNKNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 385
 M3150 — ANPNKNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 397
 M3152 — ANPNKNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 393
 M3155 — ANPNKNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 393
 M3156 — NANPNKNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNDVKNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 413
 M3158 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 393
 M3161 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 381
 M3163 — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 397
 M3173 — ANPNKNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 403
 0921078Pf — KNNQNGQGHNMNPDPNRNVDENANANNAVKNNNNEEPSDKHIEQYLKQKQNALSTEWSPCSVCVCGNGIQVRIPKGSAADPKDQL 390

도면 1b2

550 560 570 580

AB116602 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 416
 AB116603 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 416
 AB116604 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 424
 AB116605 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 424
 AB116606 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 428
 AB116607 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 432
 AB121010 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 416
 AB121015 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 412
 AB121016 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 428
 AB121017 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 428
 AB121018 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 408
 AB121019 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 420
 AB121021 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 389
 AB121022 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 428
 AB121024 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 389
 AF540442 NYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 436
 AF540444 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 393
 AF540445 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 393
 AF540446 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 385
 AF540449 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 397
 AF540452 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 412
 AF540453 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 412
 AF540454 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 404
 AF540458 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 396
 AF540459 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 396
 AF540460 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 396
 AF540461 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 392
 AF540462 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 360
 AF540463 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 360
 AF540464 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 412
 AF540465 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 388
 AF540466 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 363
 AF540467 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 412
 AF540468 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVNSSLIMVLSFLFLN 412

도면1bn

AF540469 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 412
 AF540470 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 412
 AF540471 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 412
 AF540472 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 412
 AF540473 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 392
 AF540474 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 392
 AF540475 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 408
 AF540476 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 380
 AF540477 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 412
 AF540478 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 408
 AF540479 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 408
 AF540480 DYANDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 416
 AF540481 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 356
 AF540482 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 364
 AF540483 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 368
 AF540484 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 392
 AF540485 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 380
 AF540486 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 436
 AF540487 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 482
 AF540488 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 432
 AY870439 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 420
 M15505 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 442
 M19752 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 424
 M83149 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 424
 M83150 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 436
 M83152 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 432
 M83155 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 432
 M83156 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 452
 M83158 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 432
 M83161 EYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 420
 M83163 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 436
 M83173 DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLN 442
 0921078P DYENDIEKKICKMEKCSSVFNVVNNSIGLIMVLSFLFLNYPYDVPDYA 438

도면2aa

공통 LSA1 – 서열 상동성

서열A 명칭	Len(aa)	서열B 명칭	Len(aa)	스코어
1 공통	591	2 LSA1	1909	95
1 공통	591	3 LSA_NRC	456	96

도면2ab

공통 LSA1 - 서열정렬	
CLOUDAL 2.0.12 다중서열정렬	
LSA1 LSA_NRC 공통	-----MHILYISPYFILVNLLIPRINGKTIKNSSEKDEIIKS -----MCTASSEKDEIIKS MDWZWLFLVAAATRVHSKILYISPYFILVNLLIPRINGKTIKNSSEKDEIIKS : *****
LSA1 LSA_NRC 공통	SMSRBRINZEKEKKHVLSNSYETKWNENKFPODKELTMSNVGNVSQZNP SMSRBRINZEKEKKHVLSNSYETKWNENKFPODKELTMSNVGNVSQZNP SMSRBRINZEKEKKHVLSNSYETKWNENKFPODKELTMSNVGNVSQZNP *****
LSA1 LSA_NRC 공통	LGWSENIPLKENKLNECKLLENIDDDDKKYYIKGQDENRQEDELEKAANET LGWSENIPLKENKLNECKLLENIDDDDKKYYIKGQDENRQEDELEKAANET LGWSENIPLKENKLNECKLLENIDDDDKKYYIKGQDENRQEDELEKAANET *****
LSA1 LSA_NRC 공통	DLEQERLAKEKLOBQOSDSEQRLAKEKLOBQOSDLEQERLAKEKLOBQOSDLE -----BQOSDLEQERLAKEKLO----- DLEQERLAKEKLOBQOSDSEQRLAKEKLOBQOSDLEQERLAKEKLOBQOSDLE *****
LSA1 LSA_NRC 공통	EKLOBQOSDLEQERRAKEKLOBQOSDLEQERRAKEKLOBQOSDLEQERRAKEKLO ----- EKLOBQOSDLEQERRAKEKLOBQOSDLEQERRAKEKLOBQOSDLEQ-----
LSA1 LSA_NRC 공통	LEQERLAKEKLOBQOSDLEQERRAKEKLOBQOSDLEQERLAKEKLOBQOSDLEQ -----
LSA1 LSA_NRC 공통	KLOBQOSDLEQERLAKEKLOBQOSDLEQERLAKEKLOBQOSDLEQERLAKEKLO -----
LSA1 LSA_NRC 공통	EQERLAKEKLOBQOSDLEQERRAKEKLOBQOSDLEQERLAKEKLOBQOSDLEQ -----

도면2ac

LSA1 LSA_NRC 공통	LQEQQSDLEQERRAKEKLQEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQ 523
LSA1 LSA_NRC 공통	QERLAKEKLQEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQ 583
LSA1 LSA_NRC 공통	QEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQ 643
LSA1 LSA_NRC 공통	ERLAKEKLQEQQSDELTAKSETLQEQQSDLEQERLAKEKLQEQQSDEQERRAKEKLQ 703
LSA1 LSA_NRC 공통	EQQSDLEQERRAKEKLQEQQSDEQERRAKEKLQEQQSDEQERRAKEKLQEQQSDEQ 763
LSA1 LSA_NRC 공통	RLAKEKLQEQQSDEQERRAKEKLQEQQSDEQDRLAKEKLQEQQSDEQERRAKEKLQ 823
LSA1 LSA_NRC 공통	QQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQERRAKEKLQEQQSDEQDRLAKEKLQEQQSDEQER 883
LSA1 LSA_NRC 공통	RAKEKLQEQQSDEQERRAKEKLQEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQERRAKEKLQEQ 943
LSA1 LSA_NRC 공통	QSDLEQERRAKEKLQEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQERLAKEKLQEQQSDEQERL 1003

도면2ad

LSA1 LSA_NRC 공통	LOBOQDLEQERRAKEKLQEQQSDLEQERRAKEKLQEQQSDLEQERLANEKLOBOQDLE 1543

LSA1 LSA_NRC 공통	QERRAKEKLQEQQSDLEQERRAKEKLQEQQSDLEQERRAKEKLQEQQSDLEQERLAKEKL 1603

LSA1 LSA_NRC 공통	QSOQDLEQERLAKEKLQEQQDLEQORKADTKNLERKKHGDVLAEDLYGRLEIPAIEL 1663 -----ERLAKEKLQEQQDLEQORKADTKNLERKKHGDVLAZDLYGRLEIPAIEL 198 -----ERRAKEKLQEQQDLEQORKADTKNLERKKHGDVLAEDLYGRLEIPAIEL 336 *****

LSA1 LSA_NRC 공통	PSENERGYYIPHQSSLQPQDGCRSRSKESIIEKTNRESITTNVEGRRDIBKGHLEEKK 1723 PSENERGYYIPHQSSLQPQDGCRSRSKESIIEKTNRESITTNVEGRRDIBKGHLEEKK 258 PSENERGYYIPHQSSLQPQDGCRSRSKESIIEKTNRESITTNVEGRRDIBKGHLEEKK 396 *****

LSA1 LSA_NRC 공통	DGSIKPEQKEDKSADIQNHLETVMISDVNDPQISKYEDISAELYDDSLIDEEDDEDLD 1783 DGSIKPEQKEDKSADIQNHLETVMISDVNDPQISKYEDISAELYDDSLIDEEDDEDLD 318 DGSIKPEQKEDKSADIQNHLETVMISDVNDPQISKYEDISAELYDDSLIDEEDDEDLD 456 *****

LSA1 LSA_NRC 공통	EPKPTIVQYDNFQDEENIGTYKELEDLIEKNEFLDDLGEGIEKSSEELSERKIKRKYEK 1843 EPKPTIVQYDNFQDEENIGTYKELEDLIEKNEFLDDLGEGIEKSSEELSERKIKRKYEK 378 EPKPTIVQYDNFQDEENIGTYKELEDLIEKNEFLDDLGEGIEKSSEELSERKIKRKYEK 516 *****

LSA1 LSA_NRC 공통	TKDNNFKPNOKSLYDEHIKKYKNDRQVNKEKEKPTIKSLPHIFDGDNIELQIVDELSEDIT 1903 TKDNNFKPNOKSLYDEHIKKYKNDRQVNKEKEKPTIKSLPHIFDGDNIELQIVDELSEDIT 438 TKDNNFKPNOKSLYDEHIKKYKNDRQVNKEKEKPTIKSLPHIFDGDNIELQIVDELSEDIT 576 *****

LSA1 LSA_NRC 공통	KYPML----- 1909 KYPMLKGSGC3PHHHHHH 456 KYPNKLYPYDVPDYA--- 591 *****

도면3a

공통 TRAP-서열 동일성 표

Genbank TRAP/SSP2 서열에 대한 PfConTRAP/SSP2의 상동성%			
등록번호	상동성%	등록번호	상동성%
AAG12328	98.7	AF544209	98.7
AB006332	97.9	AF544211	98.6
AB006351	98.7	AF544212	99.1
AB006352	98.2	AF544213	98.7
AB006353	98.7	M96805	98.6
AB006354	98.2	M96806	97.8
AB006355	98.4	M96807	97.1
AB006356	98.4	M96808	97.3
AB006357	98.7	M96810	97.5
AB006358	98	M96813	98.7
AB006359	93.7	M96814	98.2
AF249739	98.7	M96815	97.7
AF544201	97.7	X13022	96.8

도면3ba

공통 TRAP ~ 서열 정렬

PfConTRAP/SSP2 다중서열정렬

10 20 30 40 50 60 70 80 90

AAG12328	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AB006332	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AB006351	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AB006352	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AB006353	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AB006354	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AB006355	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AB006356	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AB006357	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AB006358	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AB006359	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AF249739	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AF544201	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYHEEVCNQDVLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AF544209	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AF544211	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AF544212	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
AF544213	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
M96805	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
M96806	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
M96807	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
M96808	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
M96810	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
M96813	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
M96814	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
M96815	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
X13022	MNHGLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYSEEVCNQDVLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 73
902295-PICon	MDWTWFLVAAATRVSNSHLGNVKYLIVFLIFFDLFLVNGRDVQVNINDEIKYREEVCNDEVDLYLLMDCSGSIRRHNWWNVHAPLAM 90

도면3bb

100 110 120 130 140 150 160 170 180

도면 3bc

도면3bg

-----+-----+-----+-----+-----+
 550 560 570 580 590 600
 -----+-----+-----+-----+-----+
 AAG12328 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AB006332 ASAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPPDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 565
 AB006351 ASAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AB006352 ASAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AB006353 ASAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AB006354 ASAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AB006355 ASAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AB006356 ASAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AB006357 ASAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AB006358 ASAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 568
 AB006359 ASAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 568
 AF249739 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AF544201 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AF544209 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AF544211 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AF544212 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 AF544213 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 M96805 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 M96806 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 M96807 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 565
 M96808 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 568
 M96810 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 574
 M96813 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 M96814 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 M96815 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 562
 X13022 ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN 559
 0922925-PtCor ACAGLAYKFVVPGAATPYAGEPAPFDETGEEDKDLDEPEQFRLPEENEWN PYDVPDYA 585

도면4a

공통 CelTOS - 서열 상동성

서열A 명칭	Len(as)	서열B 명칭	Len(as)	스코어
1 공통	208	2 CelTOS_3D7_xp001360569.1	182	99

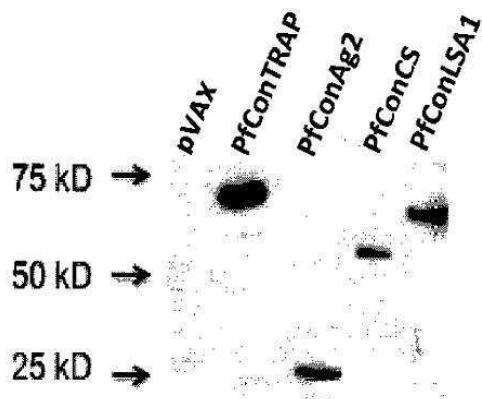
도면4b

공통 CelTOS – 서열 정렬

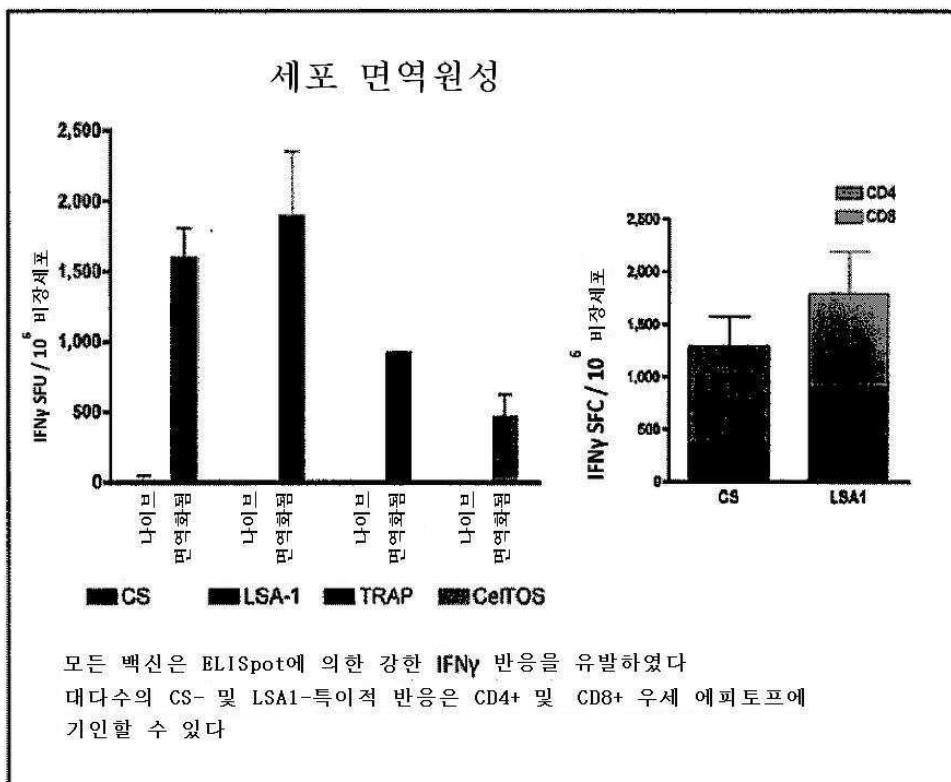
CLUSTAL 2.0.12 다중 서열 정렬

공통 CelTOS_3D7_XP001350569.1	MDNNTWILFLVAAATRVHSMALRRLPVICSPFLVPLVF3NVLCPFGNNNGNS 50 -----MALERLPVICSPFLVPLVF3NVLCPFGNNNGNS 33 *****
공통 CelTOS_3D7_XP001350569.1	SSGLYNGCQPIEQLNNNSPTSAFLESQSMNKIGDDLAETISNELVSVLQKN 100 SSGLYNGCQPIEQLNNNSPTSAFLESQSMNKIGDDLAETISNELVSVLQKN 83 *****
공통 CelTOS_3D7_XP001350569.1	SPTPLLESSPDIKS2EVKKHAKSMLKELIKVGLPSPEENLVAENVKPPKVDPK 150 SPTPLRS9SPDIKS2EVKKHAKSMLKELIKVGLPSPEENLVAENVKPPKVDPK 133 *****
공통 CelTOS_3D7_XP001350569.1	TYGIIIVPVLTSLPMKVEAVGAKVSDIEINNYN3PDV92SER3LSIDNEFFDY 200 TYGIIIVPVLTSLPMKVEAVGAKVSDIEINNYN3PDV92SER3LSIDNEFFDY- 182 *****
공통 CelTOS_3D7_XP001350569.1	PYDVPDIA 208 -----

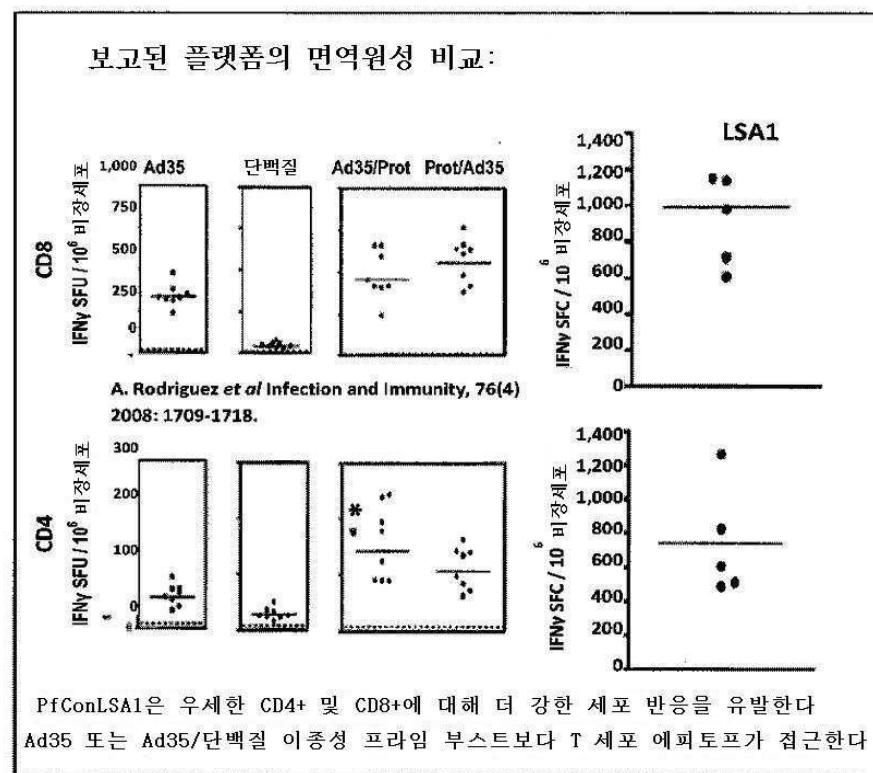
도면5



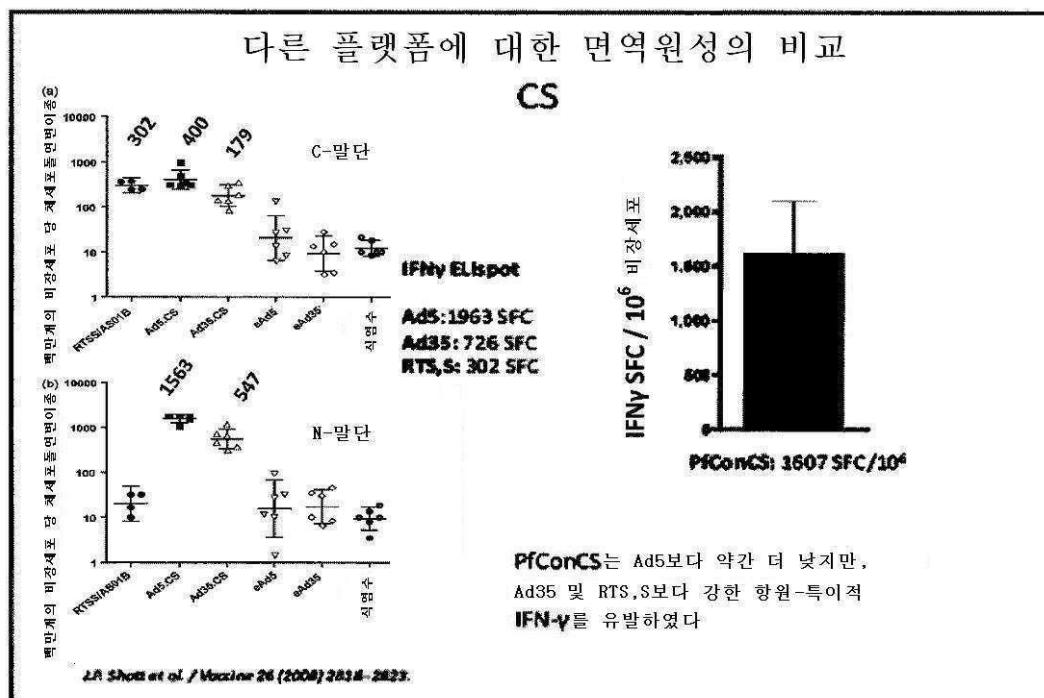
도면6a



도면6b

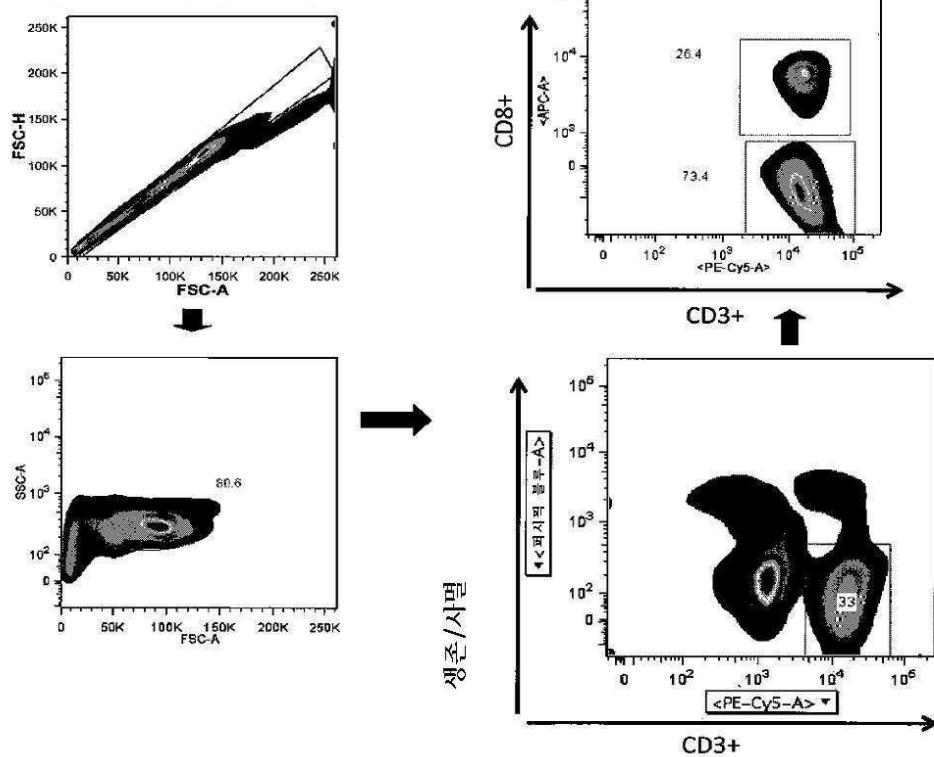


도면6c

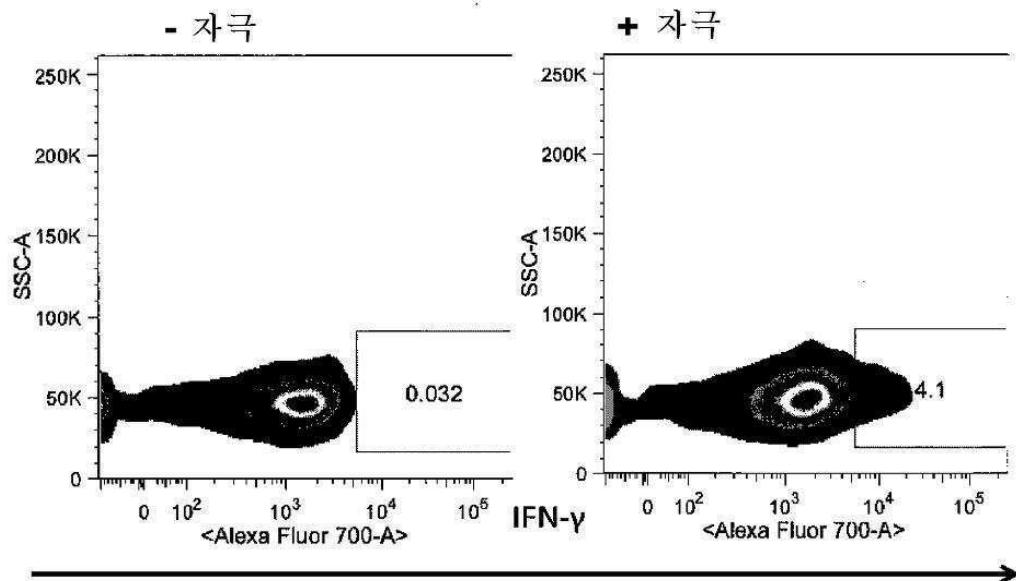


도면6da

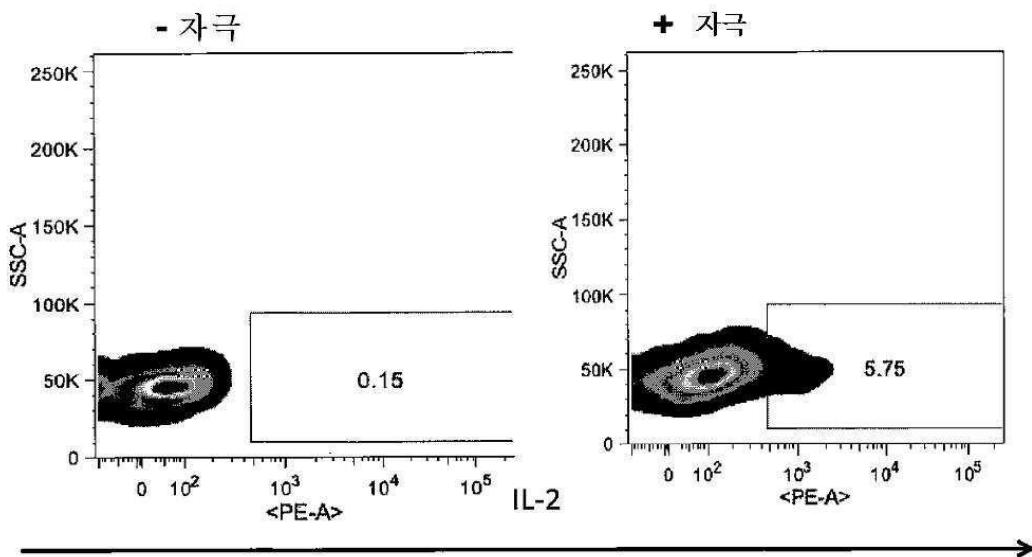
유세포 분석기 케이팅 전략



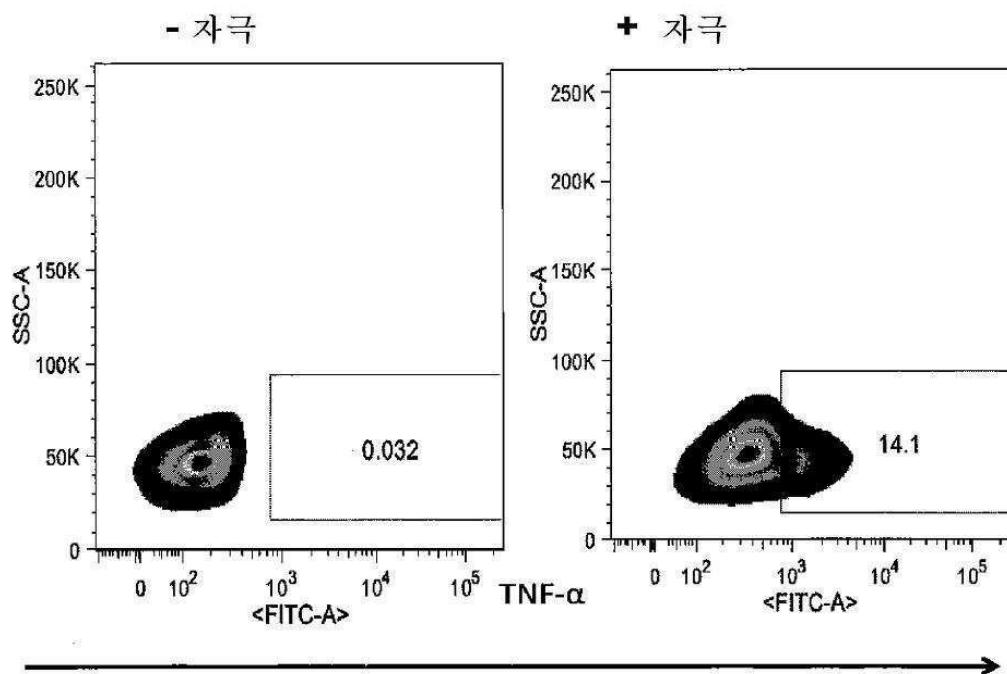
도면6db



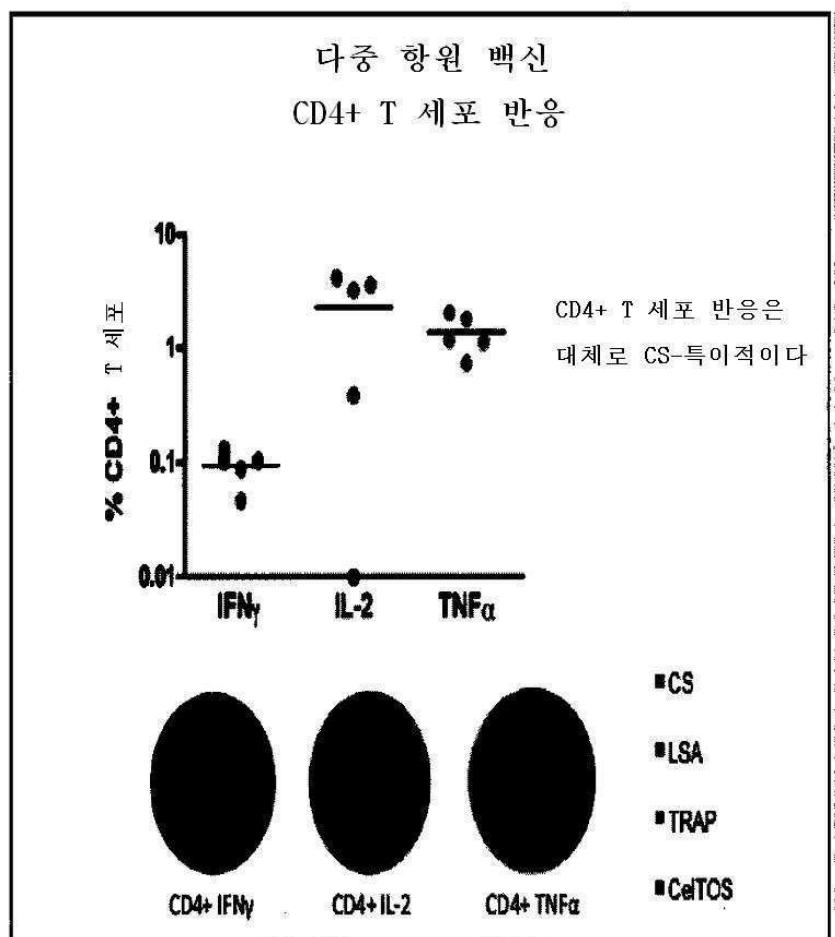
도면6dc



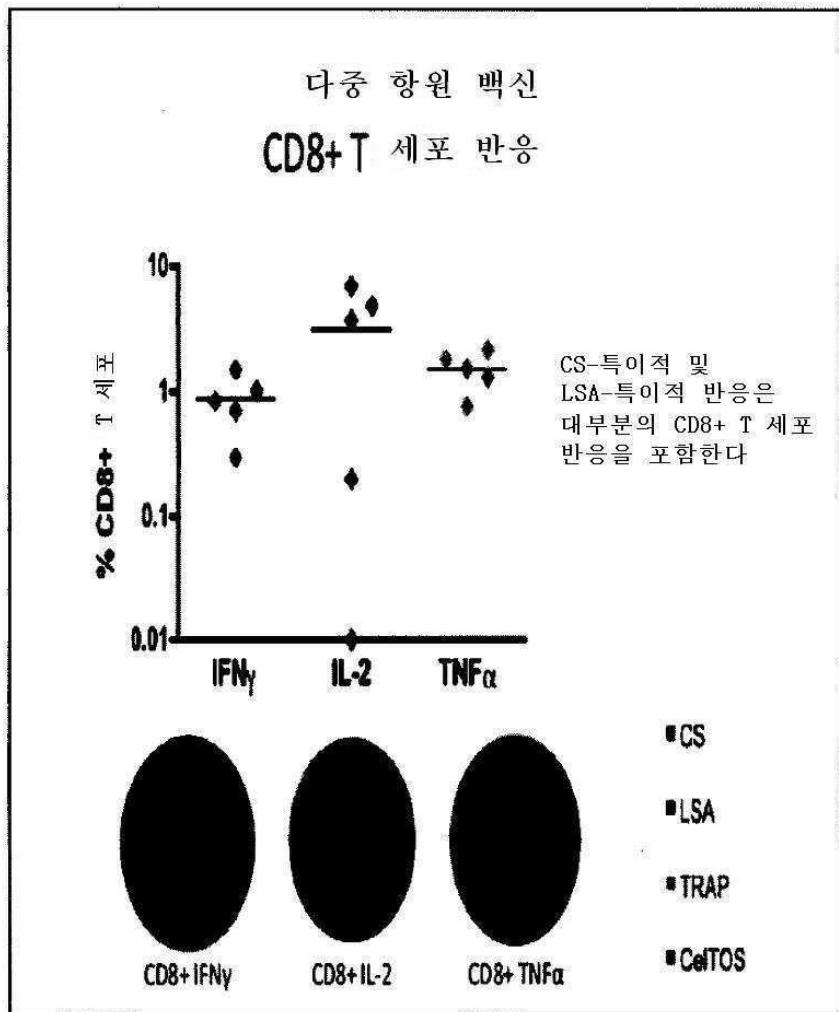
도면6dd



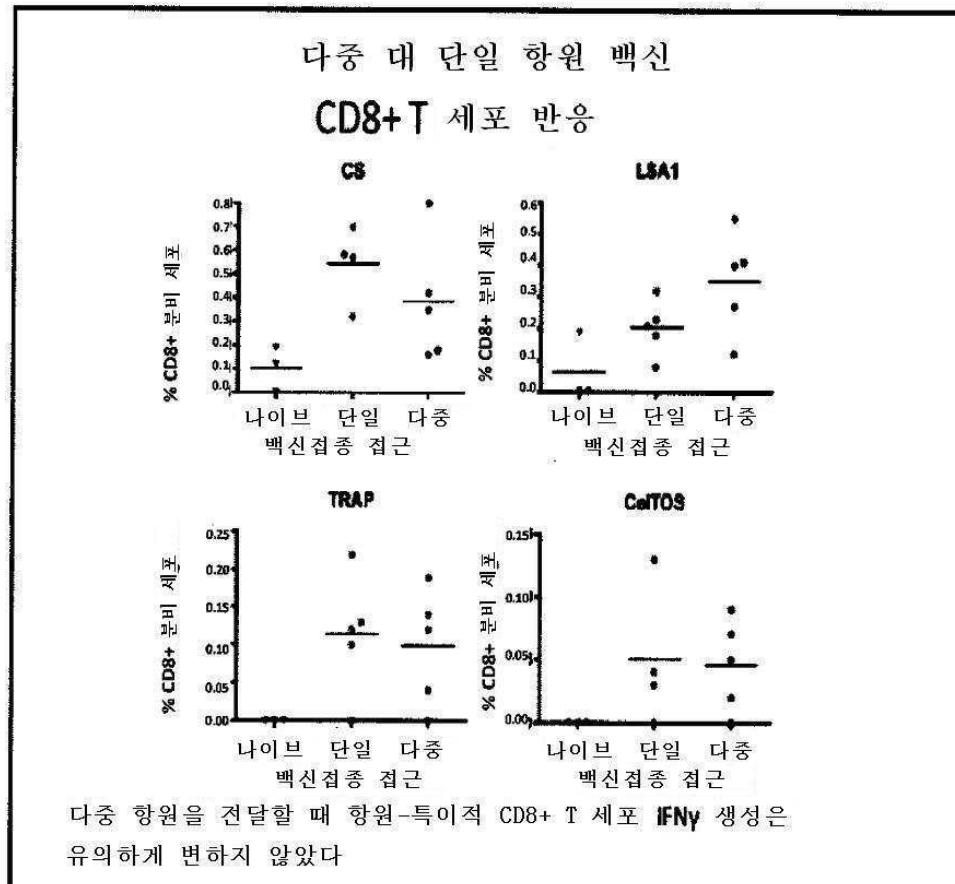
도면6e



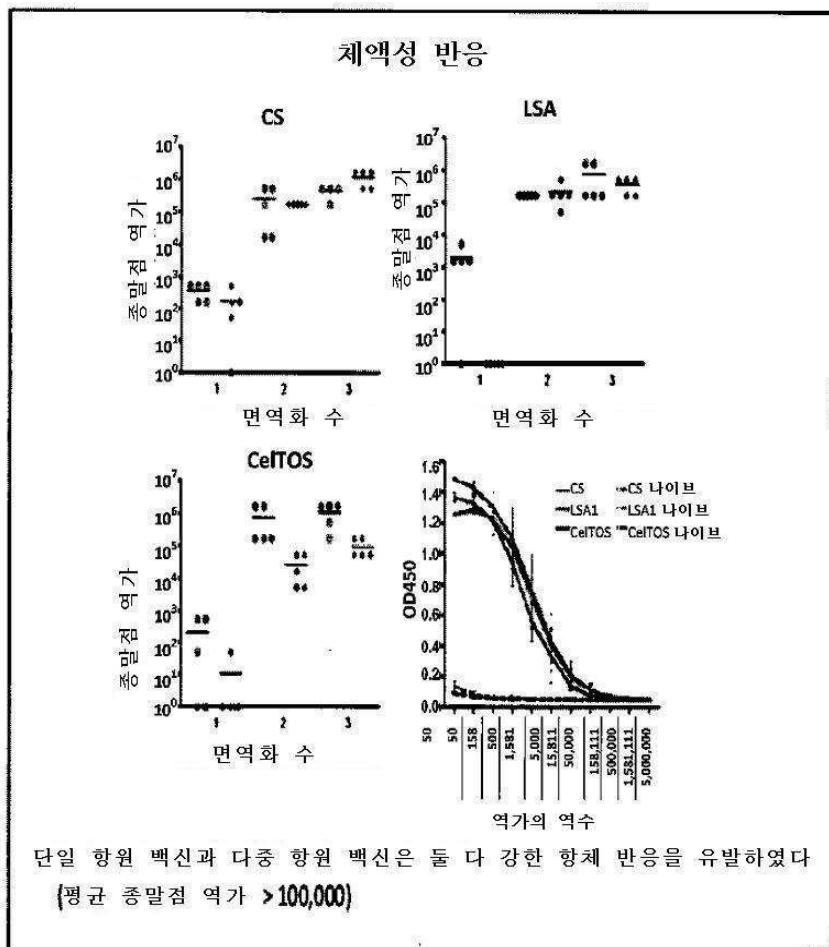
도면6f



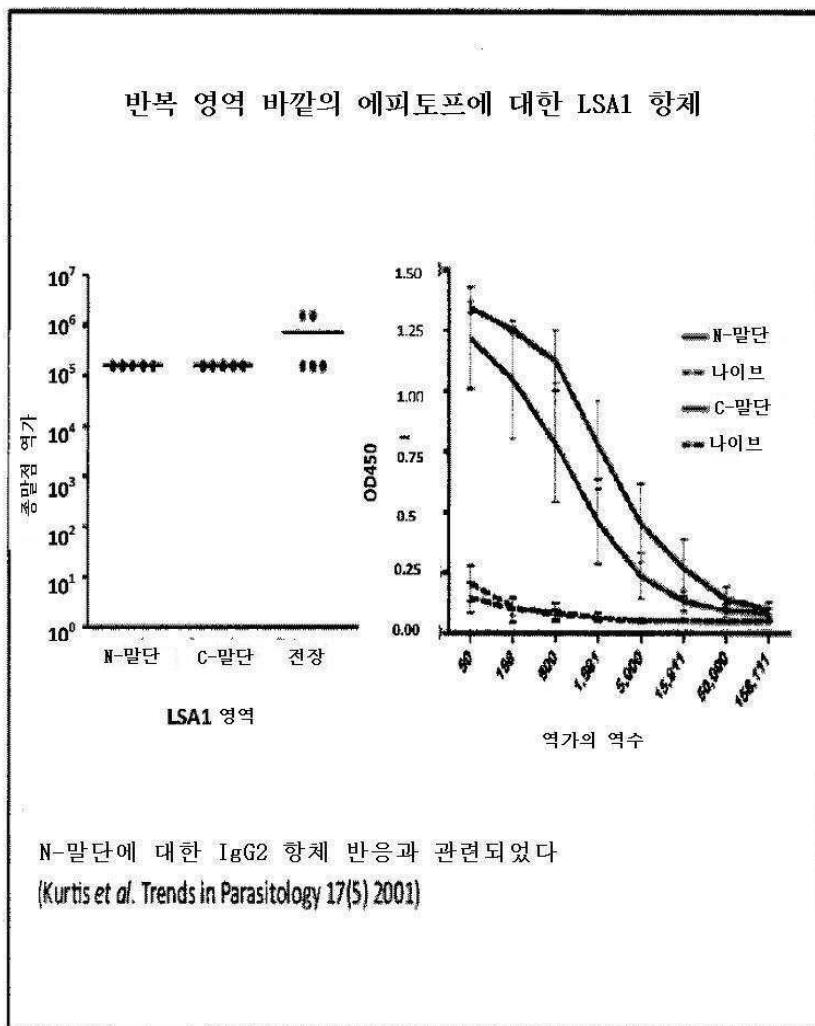
도면6g



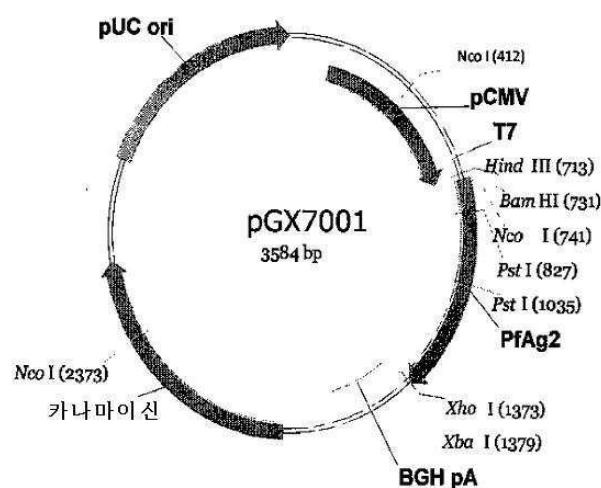
도면6h



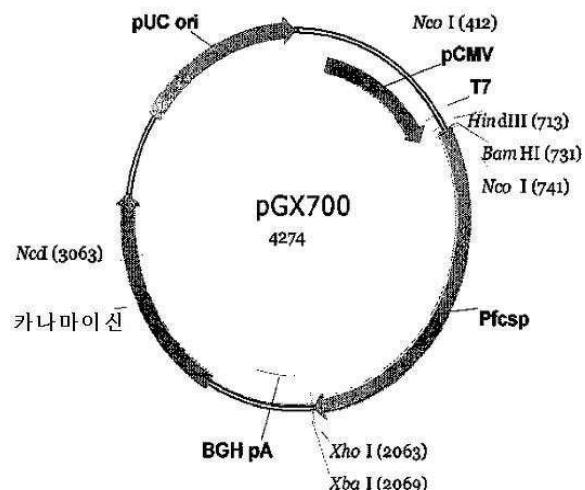
도면6i



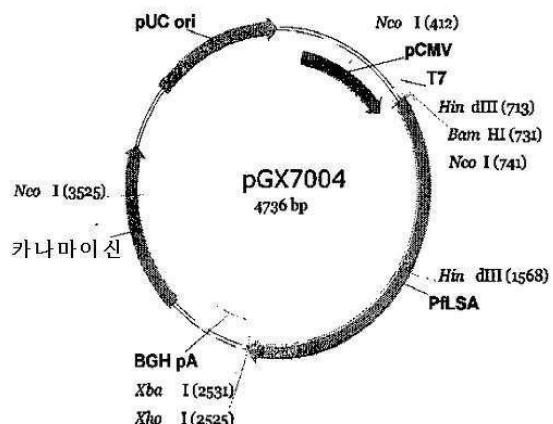
도면7



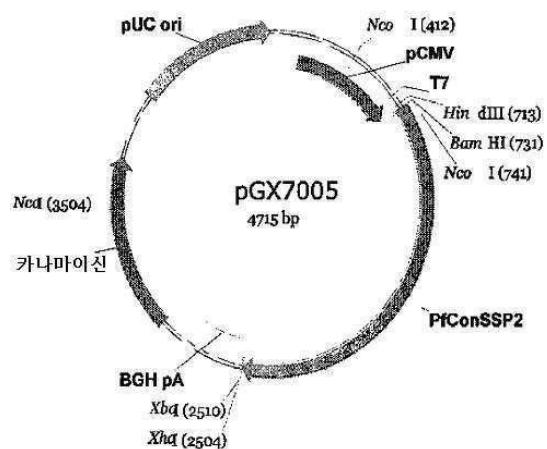
도면8



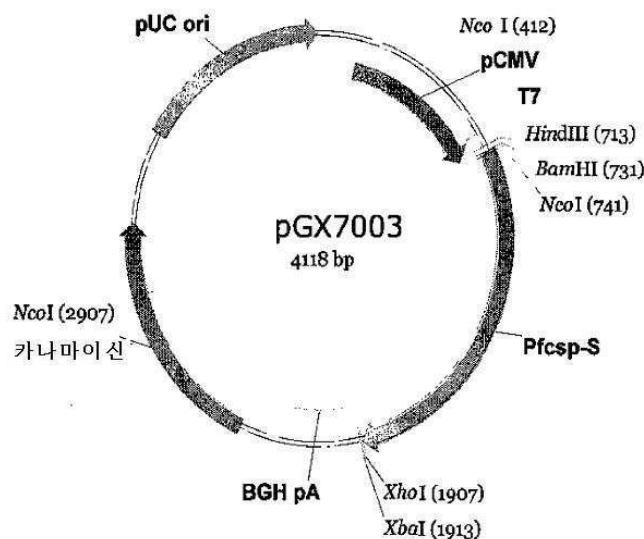
도면9



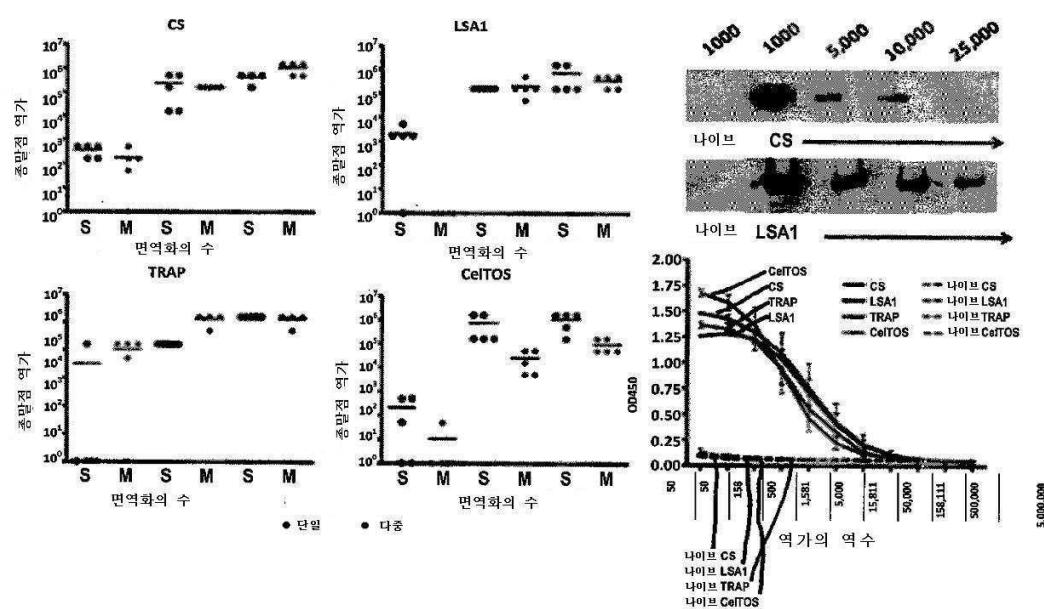
도면10



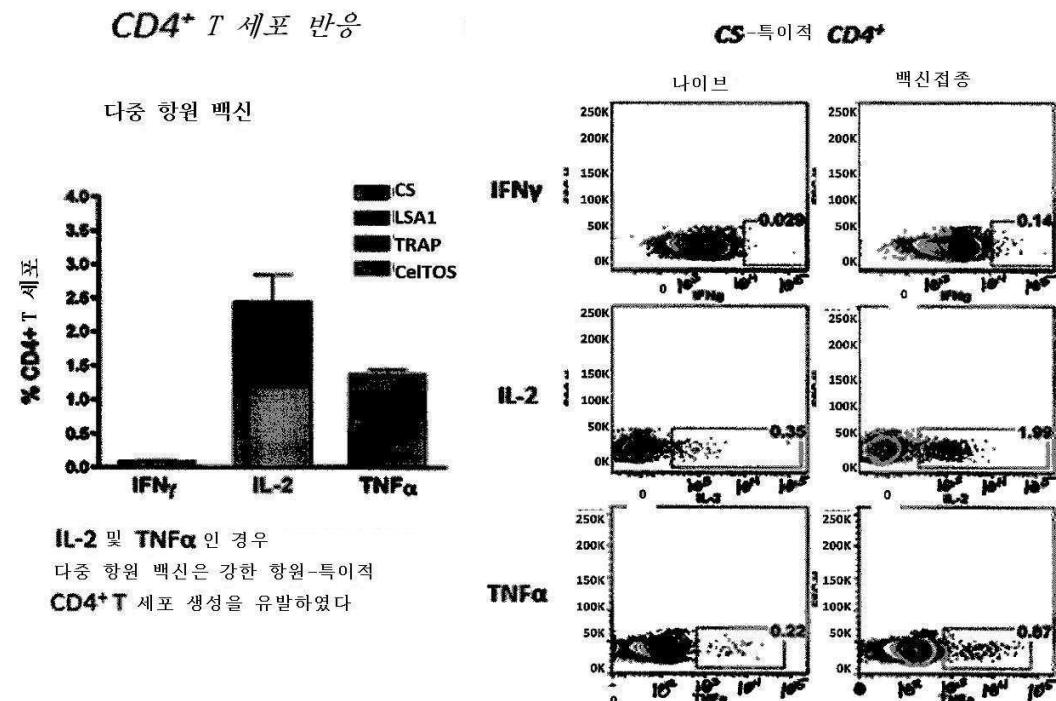
도면11



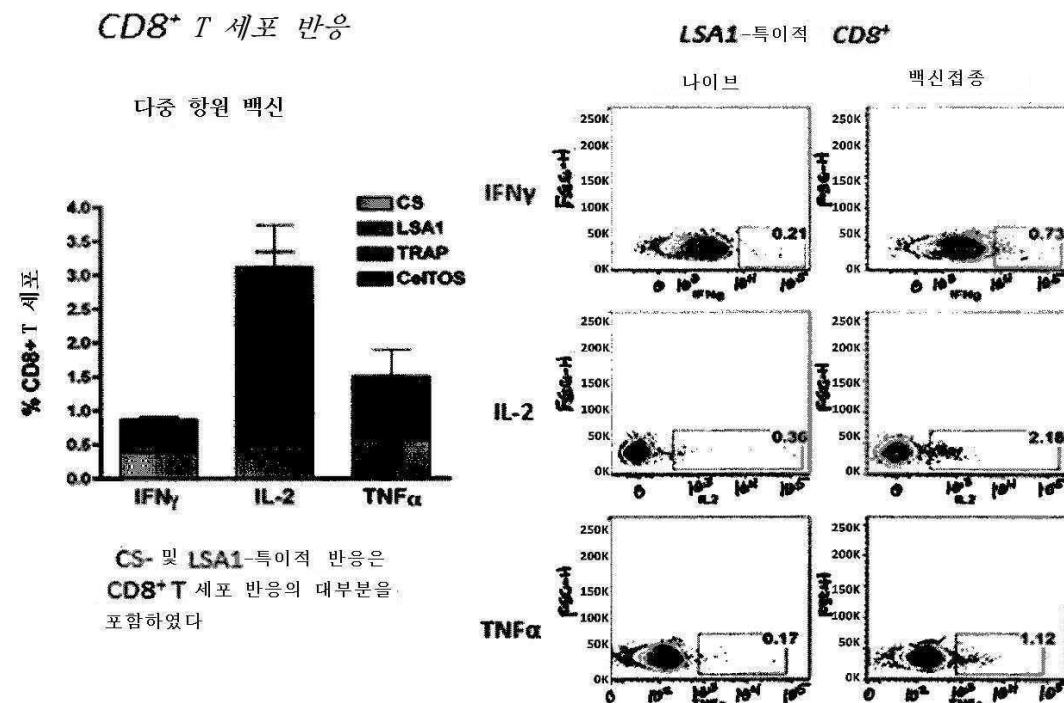
도면12



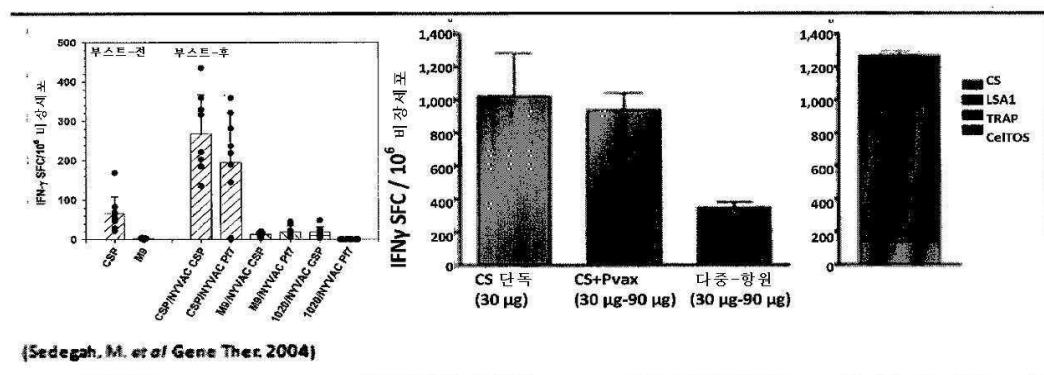
도면13



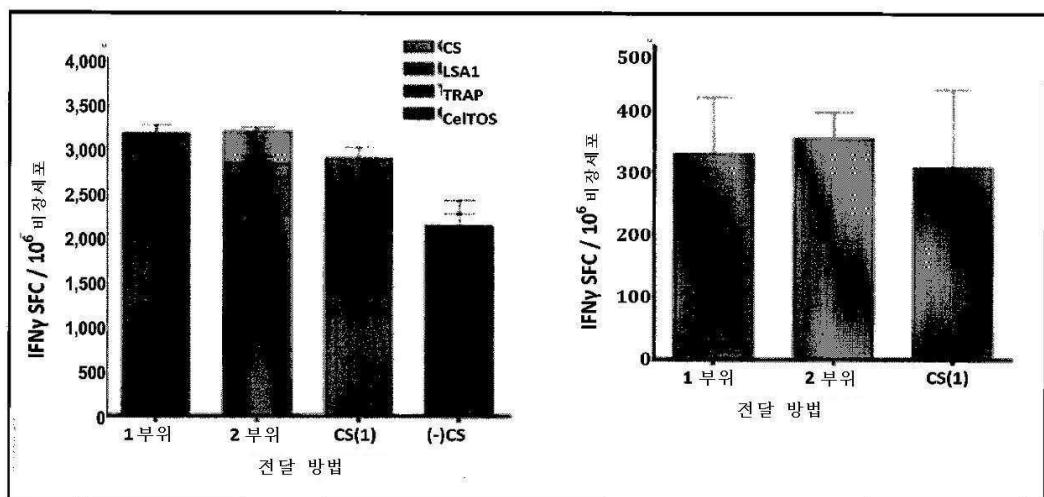
도면14



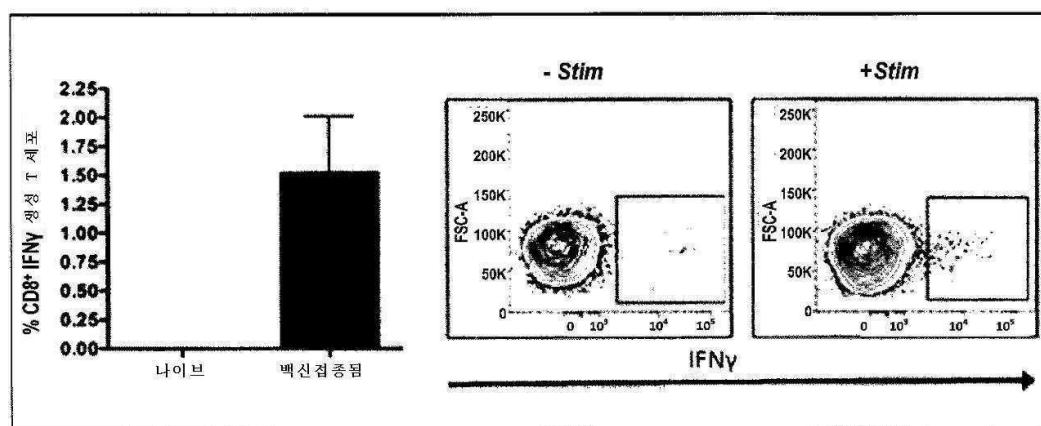
도면15



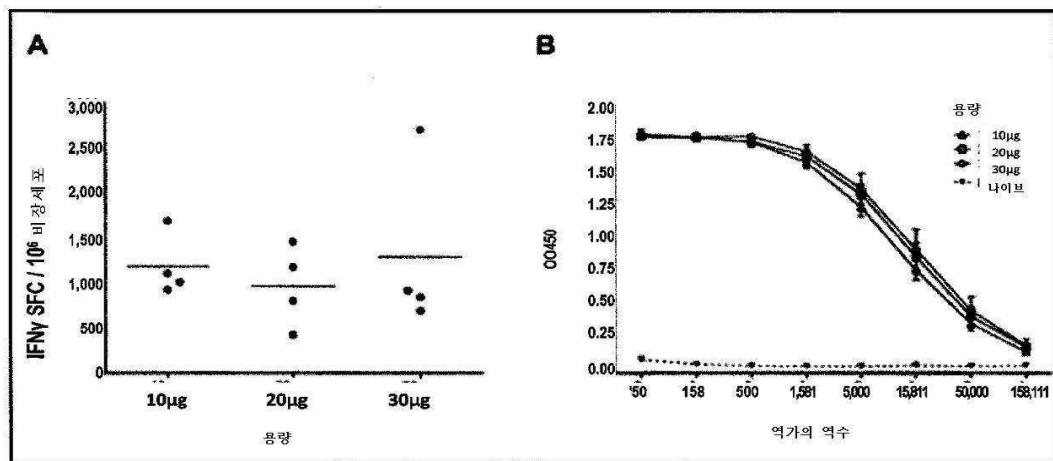
도면16



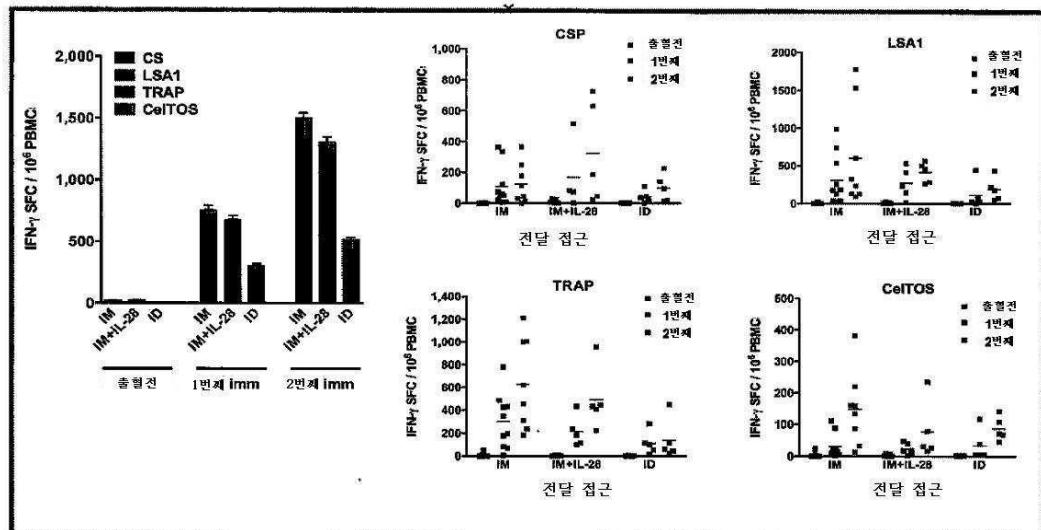
도면17



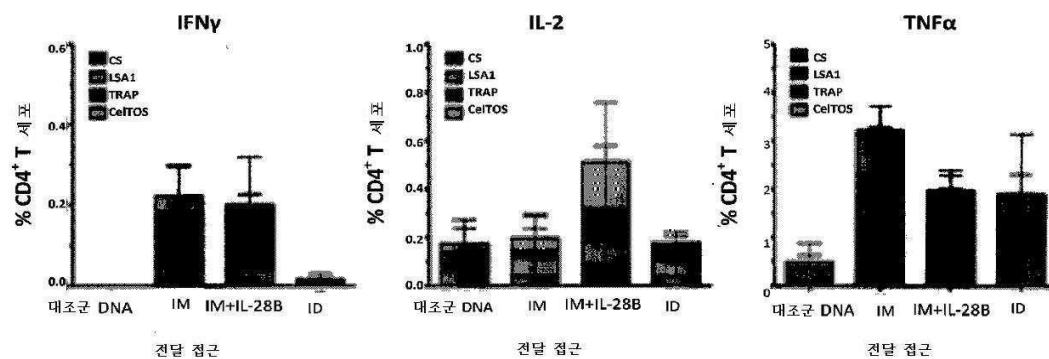
도면18



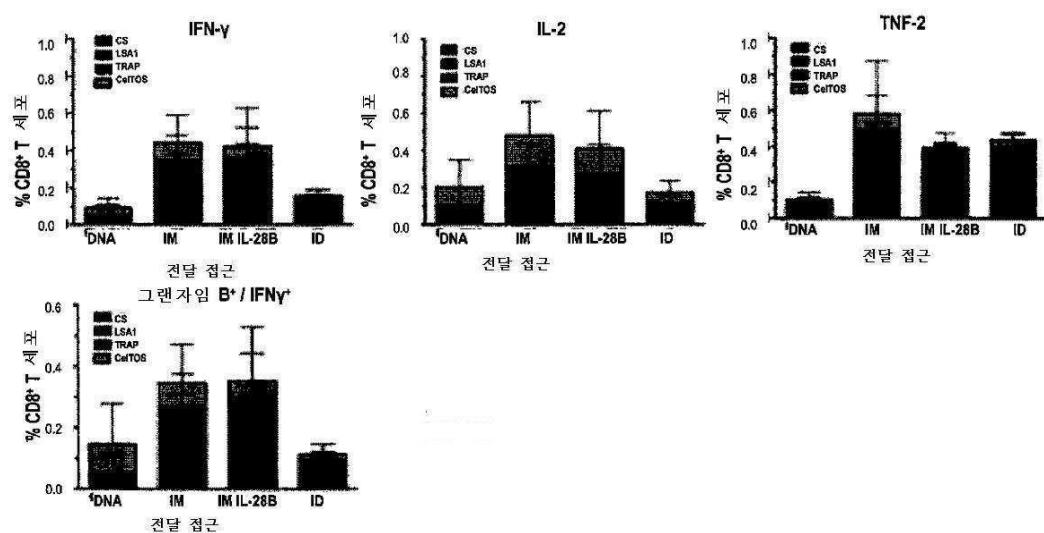
도면19



도면20



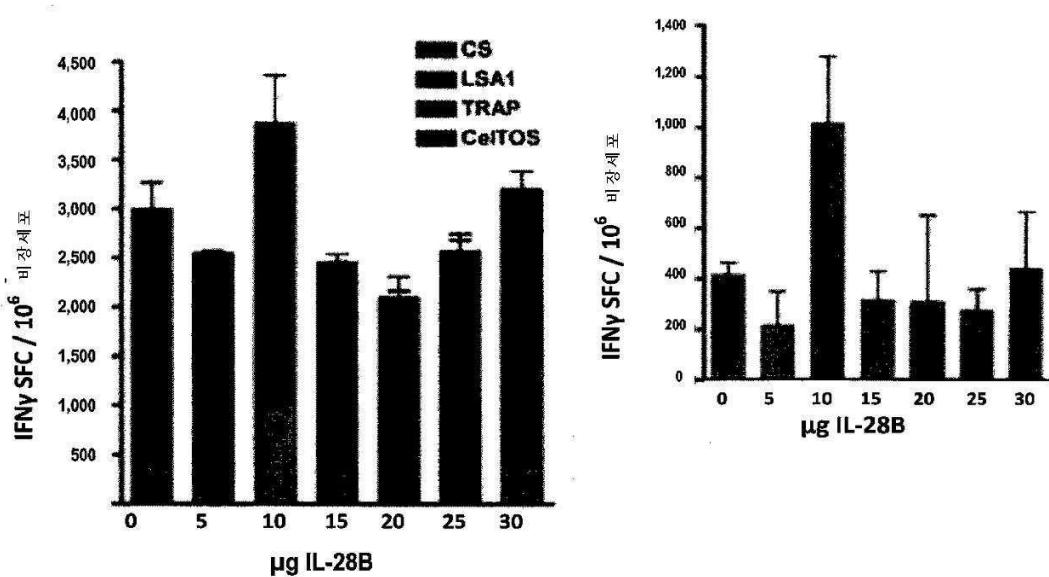
도면21



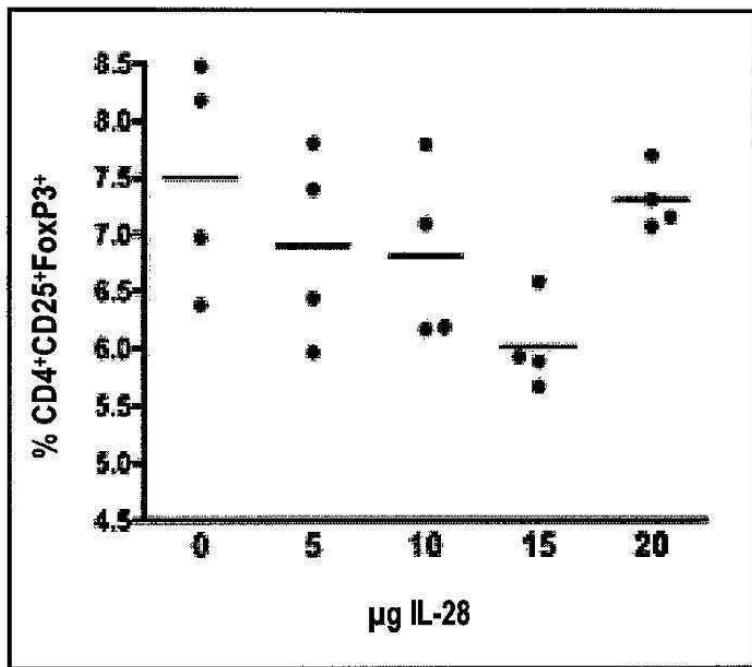
도면22

	IM	IM+IL-28	ID
CSP	241,556 (1- 158,111)	54,816 (158- 111)	1,044,794 (50- 5,000,000)
LSA1	807,978 (158,111- 5,000,000)	1,173,244 (50,000- 5,000,000)	1,619,826 (15,811- 5,000,000)
TRAP	364,169 (15,811- 158,111)	29,487 (15,811- 50,000)	114,867 (50,000- 158,111)
CeTOS	792,325 (158,111- 5,000,000)	176,407 (50,000- 500,000)	511,089 (158,111- 500,000)

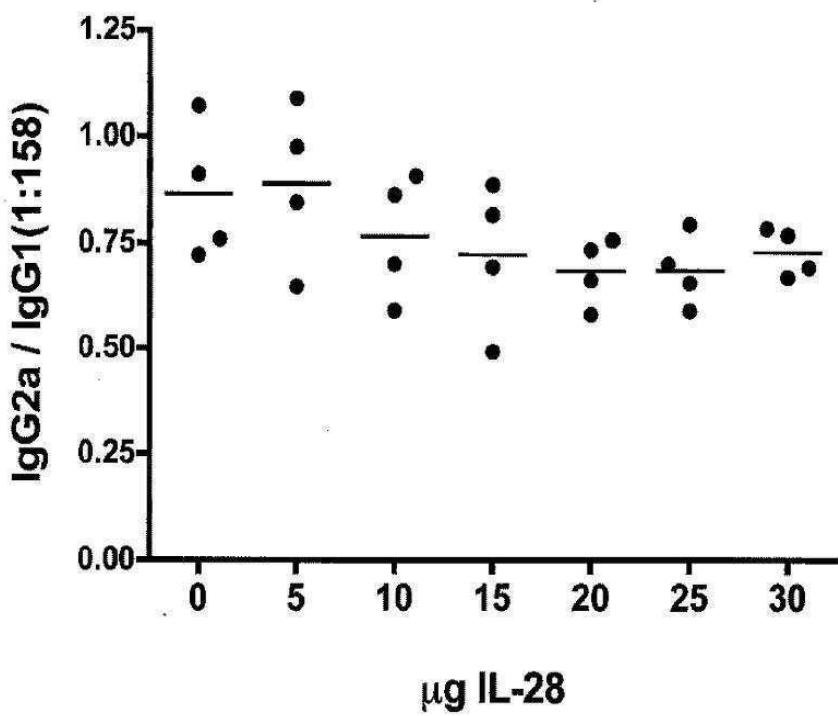
도면23



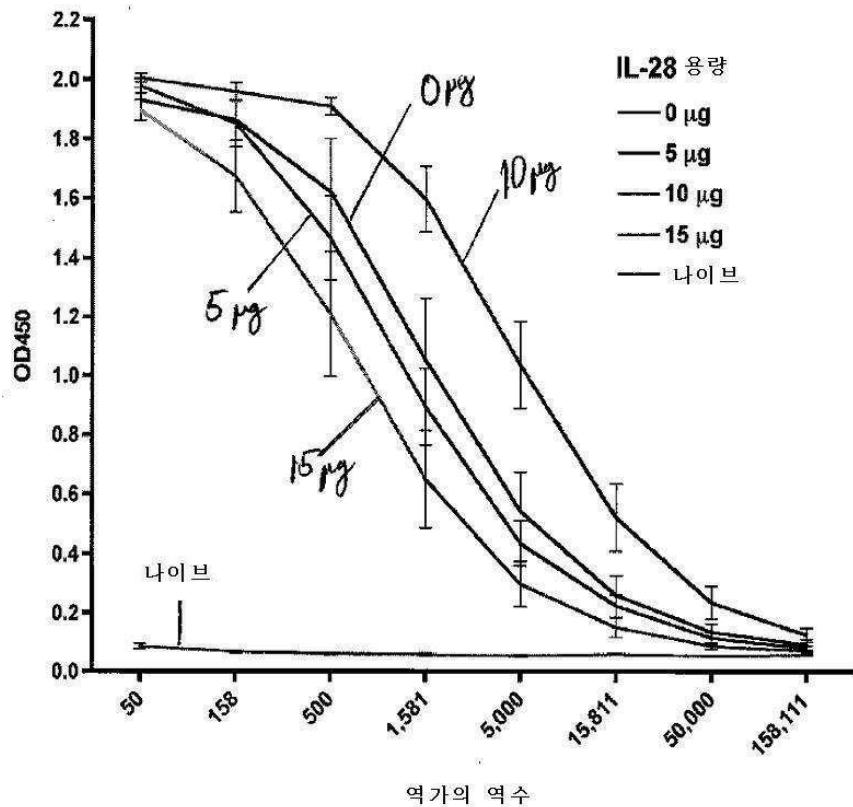
도면24



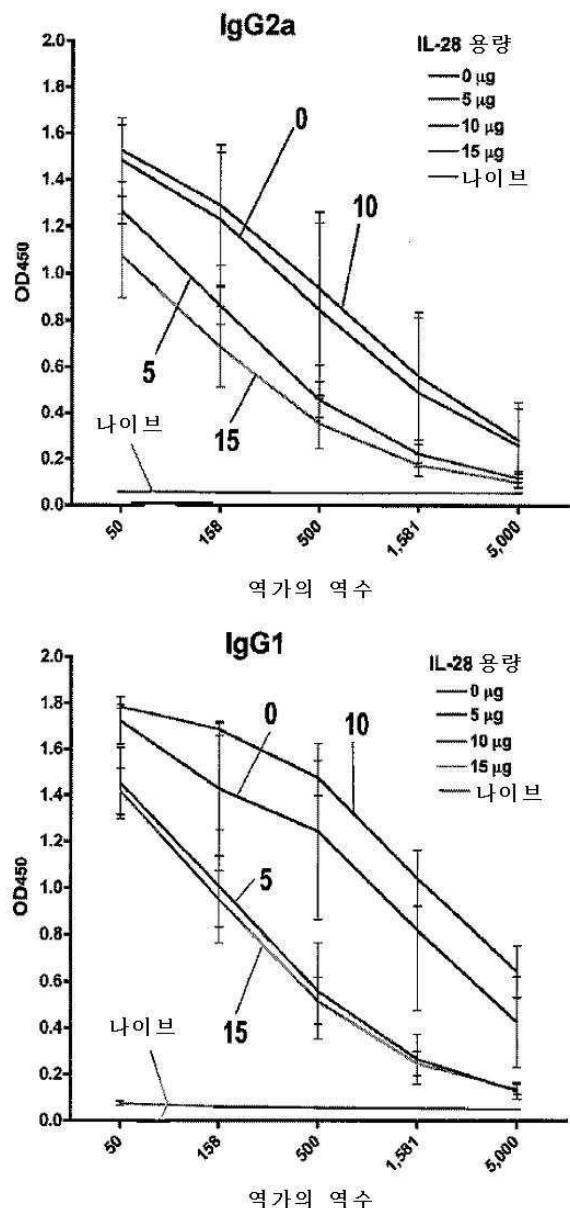
도면25a



도면25b



도면25c



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> The Trustees of the University of Pennsylvania

Inovio Pharmaceuticals, Inc.

Weiner, David B.

Yan, Jian

Sardesai, Niranjan Y.

Ferraro, Bernadette

<120> CONSENSUS ANTIGEN CONSTRUCTS AND VACCINES MADE THEREFROM, AND

METHODS OF USING THE SAME TO TREAT MALARIA

<130> 133172.3502
<140> PCT/US11/053541
<141> 2011-09-27
<150> US 61/386,973
<151> 2010-09-27
<160> 42
<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1239
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Immunogen consensus nucleotide sequence 1
<400> 1

atgatgcgga agctggctat cctgagcgtg tccagcttcc tggcgatgg ggcctgttc	60
caagagtacc agtgctacgg cagcagcagg aacacaagag tgctgaacga gctgaactac	120
gacaacgccc gcaccaacct gtacaacgag ctggaaatga actactacgg caagcaggaa	180
aactggtaca gcctgaagaa gaacagccgg tccctggcg agaacgacga cggcaacaac	240
aacaacggcg acaacggcag agagggcaag gacgaggaca agcggatgg caacaacgag	300
gacaacgaga agctgccccaa gcccaaggcac aagaagctga agcagccgg cgacggcac	360
cccgacccca acgccaaccc caacgtggac cccaatgcca atcctaattgt cgatccaaac	420
gctaacccaa atgtcgaccc taacgcaaatt cctaacgcca atcccaatgc aaaccctaaat	480
gccaaacccaa atgctaattcc aaacgcaaac cccaatgcta accccaaacgc taaccctaaat	540
gcaaattccaa atgccaaccc caacgccaac cccaaacgcca atcccaacgc taatcctaacc	600
gctaacccca acgccaattcc taacgccaac cccaaacgcta accccaaatgc caaccctaaat	660
gcaaattcta atgctaattcc taacgctaatt cccaaatgcaa atccaaacgc taatcctaatt	720
gccaaacccata acgcaaaaccc caacgcaaat cccaaatgcta accccaaatgc aaatccaaac	780
gccaaatccaa acgcaaaatcc aaatgccaat cctaattgcaa acccttaatgc aaatccaaat	840
gctaattccta atgctaattcc aaacaagaac aaccaggcga acggccagg ccacaacatg	900
cccaacgacc ccaacccggaa cgtggacgag aatgccaatg ccaacaacgc cgtgaagaac	960
aacaacaatg aggaaccccg cgacaaggcac atcgagcagt acctcaagaa gatccagaac	1020
agcctgagca ccgagtgag cccctgttagc gtgacctgcg gcaacggcat ccaagtccgg	1080

atcaagcccg gcagcgccaa caagcccaag gacgagctgg attacgagaa cgacatcgag 1140

aagaaaaatct gcaagatgga aaagtgcagc agcgtgttca acgtggtaa cagcagcatc 1200

ggcctgtatca tggtgctgag ctttctgttc ctcaactga 1239

<210> 2

<211> 412

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 1

<400> 2

Met Met Arg Lys Leu Ala Ile Leu Ser Val Ser Ser Phe Leu Phe Val

1 5 10 15

Glu Ala Leu Phe Gln Glu Tyr Gln Cys Tyr Gly Ser Ser Ser Asn Thr

20 25 30

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

35 40 45

Asn Glu Leu Glu Met Asn Tyr Tyr Gly Lys Gln Glu Asn Trp Tyr Ser

50 55 60

Leu Lys Lys Asn Ser Arg Ser Leu Gly Glu Asn Asp Asp Gly Asn Asn

65 70 75 80

Asn Asn Gly Asp Asn Gly Arg Glu Gly Lys Asp Glu Asp Lys Arg Asp

85 90 95

Gly Asn Asn Glu Asp Asn Glu Lys Leu Arg Lys Pro Lys His Lys Lys

100 105 110

Leu Lys Gln Pro Gly Asp Gly Asn Pro Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn

115 120 125

Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn

130 135 140

Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn

145 150 155 160

Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn

165 170 175

Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 180 185 190
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 195 200 205
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 210 215 220

Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 225 230 235 240
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 245 250 255
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 260 265 270
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 275 280 285

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

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

<210> 3

<211>

> 1701

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 2

<400> 3

atgaaggcaca tcctgtacat cagtttctac ttcatcctgg tgaacctgct gatttccac	60
atcaacggca agatcatcaa gaacagcgag aaggacgaga tcataaaag caacctgcgg	120
agcggcagca gcaacagccg gaaccggatc aacgaggaaa agcacgagaa gaaacacgtg	180
ctgagccaca acagctacga aaagaccaag aacaatgaga acaacaagt tttcgacaag	240
gacaaagaac tgaccatgag caacgtgaag aacgtgtccc agaccaactt caagagcctg	300
ctgcggAAC tggcgttag cgagaacatc ttccctgaaaAG agaacaagct gaacaaagag	360
ggcaagctga tcgagcacat catcaacgc gacgacgata agaagaagta catcaaggc	420
caggacgaga accggcagga agatctggaa gagaaggccg ccaaagagac actgcaggc	480
cagcagacgc acctggaaaca ggaacggctg gccaaagaaa agctgcagga acagcagtcc	540
gacagcggc aggaaagact ggctaaagag aaactccaag agcagcagtc tgacttggag	600
caggaacgcc tcgcaaaaga gaagttgcaa gagcaacagt ccgatctgga acaagagcgc	660
ctcgctaaag aaaaacttca ggaacaacag agcgatttg agcaagagcg gagagccaa	720
gagaaattgc aggaacaaca atctgacctc gaacaggaaa gaagggccaa agagaagtt	780
caagaacaac aaagtgacct tgagcaagag aggccggcta aaaaaatt gcaagaacag	840
cagcgggatc tcaacagcgc gaaggccgac accaagaaga acctggaaacg gaagaaagaa	900
cacggcgacg tgctggccga ggacctgtac ggcagactgg aaatccccgc catcgagctg	960
cccagcggaga acgagcgggg ctactacatc cccaccaga gcagcctgcc ccaggacaac	1020
cggggcaaca gcagagacag caaagagatc agcatcatcg agaaaacaaa ccggagagc	1080
atcaccacca acgtggaggg cagacggac atccacaagg gccacctgga agaaaagaag	1140
gacggcagca tcaagcccgaa gcagaaagag gacaagagcg ccgacatcca gaaccacacc	1200
ctggaaaccg tgaacatcag cgacgtgaac gacttccaga tcagcaagta cgaggatgag	1260
atcagcgcgc agtacgacga cagcctgtac gacgaggaag aggacgacga ggacctggac	1320
gagttcaagc ccatcgtgca gtacgacaac ttccaggacg agaaaacat cggcatctac	1380
aaagagctgg aagatctgat cgagaagaac gagaacctgg atgatctgga cgagggcatc	1440
gagaagtcca gcggaggaact gagcggaggaa aagatcaaga agggcaagaa gtacgagaaa	1500
actaaggaca acaacttcaa gcccaacgc aagagcctgt acgatgagca catcaagaag	1560

tacaaaaacg acaaacaggt gaacaaagaa aaagagaagt tcatcaagtc cctgttccac 1620

atcttcgacg gcgacaacga gatcctgcag atcgtggatg agctgtccga ggacatcacc 1680

aagtacttca tgaagctgtg a 1701

<210> 4

<211> 565

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 2

<400> 4

Met Lys His Ile Leu Tyr Ile Ser Phe Tyr Phe Ile Leu Val Asn Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Ile Ile Lys Ser Asn Leu Arg Ser Gly Ser Ser Asn Ser Arg Asn

35 40 45

Arg Ile Asn Glu Glu Lys His Glu Lys Lys His Val Leu Ser His Asn

50 55 60

Ser Tyr Glu Lys Thr Lys Asn Asn Glu Asn Asn Lys Phe Phe Asp Lys

65 70 75 80

Lys Glu Leu Thr Met Ser Asn Val Lys Asn Val Ser Gln Thr Asn Phe

85 90 95

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

100 105 110

Glu Asn Lys Leu Asn Lys Glu Gly Lys Leu Ile Glu His Ile Ile Asn

115 120 125

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

130 135 140

Gln Glu Asp Leu Glu Glu Lys Ala Ala Lys Glu Thr Leu Gln Gly Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Glu Asn Glu Arg Gly Tyr Tyr Ile Pro His Gln Ser Ser Leu Pro

325 330 335

Gln Asp Asn Arg Gly Asn Ser Arg Asp Ser Lys Glu Ile Ser Ile Ile

340 345 350

Glu Lys Thr Asn Arg Glu Ser Ile Thr Thr Asn Val Glu Gly Arg Arg

355 360 365

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

370 375 380

Pro Glu Gln Lys Glu Asp Lys Ser Ala Asp Ile Gln Asn His Thr Leu

385 390 395 400

Glu Thr Val Asn Ile Ser Asp Val Asn Asp Phe Gln Ile Ser Lys Tyr

405 410 415

Glu Asp Glu Ile Ser Ala Glu Tyr Asp Asp Ser Leu Ile Asp Glu Glu

420	425	430
Glu Asp Asp Glu Asp Leu Asp Glu Phe Lys Pro Ile Val Gln Tyr Asp		
435	440	445
Asn Phe Gln Asp Glu Glu Asn Ile Gly Ile Tyr Lys Glu Leu Glu Asp		
450	455	460
Leu Ile Glu Lys Asn Glu Asn Leu Asp Asp Leu Asp Glu Gly Ile Glu		
465	470	475
480		
Lys Ser Ser Glu Glu Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Lys Gly Lys Lys		
485	490	495
Tyr Glu Lys Thr Lys Asp Asn Asn Phe Lys Pro Asn Asp Lys Ser Leu		
500	505	510
Tyr Asp Glu His Ile Lys Lys Tyr Lys Asn Asp Lys Gln Val Asn Lys		
515	520	525
Glu Lys Glu Lys Phe Ile Lys Ser Leu Phe His Ile Phe Asp Gly Asp		
530	535	540
Asn Glu Ile Leu Gln Ile Val Asp Glu Leu Ser Glu Asp Ile Thr Lys		
545	550	555
560		
Tyr Phe Met Lys Leu		
565		

<210> 5

<211> 1680

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 3

<400> 5

atgaaccacc	tggcaacgt	gaagtacctg	gtgatcggt	tcctgatctt	cttcgacctg	60
tttctggta	acggccggga	cgtgcagaac	aacatcggt	acgagatcaa	gtaccggag	120
gaagtgtgca	acgacgaggt	ggacctgtac	ctgctgatgg	actgcagcgg	cagcatcaga	180

cggcacaact	gggtgaacca	cggcgtgcc	ctggccatga	agctgatcca	gcagctgaac	240
ctgaacgaga	acgccccatcca	cctgtacgt	aacgacttca	gcaacaacgc	caaagagatc	300
atccggctgc	acagcgacgc	cagcaagaac	aaagagaagg	ccctgatcat	catcaagagc	360
ctgctgagca	ccaacctgcc	ctacggccgg	accaacctgt	ctgacgctct	gctgcaggtg	420

cggaagcacc tgaacgaccg gatcaaccgg gagaacgccca accagctgggt ggtgatcctg
 accgacggca tccccgacag catccaggac agcctgaaag agagccggaa gctgaacgac
 agaggcgtga agatcgccgt gttcgccatc ggccaggcgtcaacgtggc cttcaacaga 480
 540
 600

ttcctggtgg gctgtcaccc cagcgacggc aagtgcaccc tgtacgccga cagcgctgg
 gagaacgtga agaatgtat cggcccttc atgaaggccg tgtgcgtgga ggtggagaaa
 accgccagct gcggcgtgtg ggatgagtgg agccctgca gcgtgacactg tggcaaggc
 accagaagcc ggaagcggga gatcctgcac gaggcgtgca ccagcgagct gcaggaacag
 tgcgaagagg aacggtgccc ccccaagagg gaaccctgg acgtgcccc cgagcccgag
 gacgaccagg ccagacccag aggcgacaac ttgcgtgg agaagccgaa ggaaaacatc
 atcgacaaca acccccagga acccagcccc aaccctgagg aaggcaaggg cgagaacccc 660
 720
 780
 840
 900
 960
 1020

aacggcttcg acctggacga gaaccccgag aatccccca accccgacat ccccgagcag
 gaacccaaca tccctgagga cagcgagaaa gaggtgccca gcgacgtccc caagaatccc
 gaggatgacc gggaaagagaa ctgcacatc cccaaagaagc ctgagaacaa gcacgacaac
 cagaacaacc tgcccaacga caagagcgcac cggtaatcc cttacagccc cttggccccc
 aagggtgtgg acaacgagcg gaagcagagc gaccccgaga gccaggacaa caacggcaac
 cggcacgtgc ccaacagcga ggaccggag acaagacccc acggccggaa caacgagaac
 cggccttaca accggaagta caacgacacc cccaaagcacc cggagccggaa ggaacacgag 1080
 1140
 1200
 1260
 1320
 1380
 1440

aaacccgaca acaacaagaa gaagggcggc agcgacaaca agtacaagat tgccggcggaa
 atcgctggcg gactggccct gctggctgt gccggctgg cttacaagtt tgtggcct
 ggcgccgcta caccttatgc cggcgagct gcccccttg acgagacact gggcgaagag
 gacaaggacc tggatgagcc cgagcagtcc cggctgccc aagagaacga gtggactga 1500
 1560
 1620
 1680

<210> 6

<211> 559

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 3

<400> 6

Met Asn His Leu Gly Asn Val Lys Tyr Leu Val Ile Val Phe Leu Ile

1 5 10 15

Phe Phe Asp Leu Phe Leu Val Asn Gly Arg Asp Val Gln Asn Asn Ile

20 25 30

Val Asp Glu Ile Lys Tyr Arg Glu Glu Val Cys Asn Asp Glu Val Asp
 35 40 45
 Leu Tyr Leu Leu Met Asp Cys Ser Gly Ser Ile Arg Arg His Asn Trp
 50 55 60
 Val Asn His Ala Val Pro Leu Ala Met Lys Leu Ile Gln Gln Leu Asn
 65 70 75 80

 Leu Asn Glu Asn Ala Ile His Leu Tyr Val Asn Asp Phe Ser Asn Asn
 85 90 95
 Ala Lys Glu Ile Ile Arg Leu His Ser Asp Ala Ser Lys Asn Lys Glu
 100 105 110
 Lys Ala Leu Ile Ile Ile Lys Ser Leu Leu Ser Thr Asn Leu Pro Tyr
 115 120 125
 Gly Arg Thr Asn Leu Ser Asp Ala Leu Leu Gln Val Arg Lys His Leu
 130 135 140

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

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

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

275	280	285
Lys Arg Glu Pro Leu Asp Val Pro His Glu Pro Glu Asp Asp Gln Pro		
290	295	300
Arg Pro Arg Gly Asp Asn Phe Ala Val Glu Lys Pro Glu Glu Asn Ile		
305	310	315
Ile Asp Asn Asn Pro Gln Glu Pro Ser Pro Asn Pro Glu Glu Gly Lys		
325	330	335
Gly Glu Asn Pro Asn Gly Phe Asp Leu Asp Glu Asn Pro Glu Asn Pro		
340	345	350
Pro Asn Pro Asp Ile Pro Glu Gln Glu Pro Asn Ile Pro Glu Asp Ser		
355	360	365
Glu Lys Glu Val Pro Ser Asp Val Pro Lys Asn Pro Glu Asp Asp Arg		
370	375	380
Glu Glu Asn Phe Asp Ile Pro Lys Lys Pro Glu Asn Lys His Asp Asn		
385	390	395
Gln Asn Asn Leu Pro Asn Asp Lys Ser Asp Arg Tyr Ile Pro Tyr Ser		
405	410	415
Pro Leu Pro Pro Lys Val Leu Asp Asn Glu Arg Lys Gln Ser Asp Pro		
420	425	430
Gln Ser Gln Asp Asn Asn Gly Asn Arg His Val Pro Asn Ser Glu Asp		
435	440	445
Arg Glu Thr Arg Pro His Gly Arg Asn Asn Glu Asn Arg Ser Tyr Asn		
450	455	460
Arg Lys Tyr Asn Asp Thr Pro Lys His Pro Glu Arg Glu Glu His Glu		
465	470	475
Lys Pro Asp Asn Asn Lys Lys Gly Gly Ser Asp Asn Lys Tyr Lys		
485	490	495
Ile Ala Gly Gly Ile Ala Gly Leu Ala Leu Leu Ala Cys Ala Gly		
500	505	510
Leu Ala Tyr Lys Phe Val Val Pro Gly Ala Ala Thr Pro Tyr Ala Gly		
515	520	525

Glu Pro Ala Pro Phe Asp Glu Thr Leu Gly Glu Glu Asp Lys Asp Leu

530 535 540

Asp Glu Pro Glu Gln Phe Arg Leu Pro Glu Glu Asn Glu Trp Asn

545 550 555

<210> 7

<211> 549

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 4

<400> 7

atgaacgccc tgcggagact gcccgtgatc tgcagttcc tggtgttct ggtgttcagc 60

aacgtgttgt gcttccgggg caacaacggc cacaacagca gcagcagcct gtacaacggc 120

agccagttca tcgaggagct gaacaacagc ttaccaggcg ctttttgaa aagccagagc 180

atgaacaaga tcggcgacga cctggccgag acaatcagca acgagctggt gtccgtgctg 240

cagaagaaca gccccacatt cctggaaagc agcttcgaca tcaagagcga agtgaagaaa 300

cacgccaaga gcatgctgaa agaactgatc aaagtggcc tgcccgactt cgagaatctg 360

gtcgccgaga acgtgaagcc ccccaagggtg gaccctgcca catacggcat catcgcccc 420

gtgctgacca gcctgttcaa caaggtggag acagccgtgg ggcggcaaggt gtccgacgag 480

atctggaact acaacagccc cgacgtgtcc gagagcgagg aaagcctgag cgacgacttc 540

tgcactga 549

<210> 8

<211> 182

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 4

<400> 8

Met Asn Ala Leu Arg Arg Leu Pro Val Ile Cys Ser Phe Leu Val Phe

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Ser Ser Ser Leu Tyr Asn Gly Ser Gln Phe Ile Glu Gln Leu Asn

35 40 45

Asn Ser Phe Thr Ser Ala Phe Leu Glu Ser Gln Ser Met Asn Lys Ile
 50 55 60
 Gly Asp Asp Leu Ala Glu Thr Ile Ser Asn Glu Leu Val Ser Val Leu
 65 70 75 80
 Gln Lys Asn Ser Pro Thr Phe Leu Glu Ser Ser Phe Asp Ile Lys Ser
 85 90 95
 Glu Val Lys Lys His Ala Lys Ser Met Leu Lys Glu Leu Ile Lys Val
 100 105 110
 Gly Leu Pro Ser Phe Glu Asn Leu Val Ala Glu Asn Val Lys Pro Pro
 115 120 125
 Lys Val Asp Pro Ala Thr Tyr Gly Ile Ile Val Pro Val Leu Thr Ser
 130 135 140
 Leu Phe Asn Lys Val Glu Thr Ala Val Gly Ala Lys Val Ser Asp Glu
 145 150 155 160
 Ile Trp Asn Tyr Asn Ser Pro Asp Val Ser Glu Ser Glu Ser Leu
 165 170 175
 Ser Asp Asp Phe Phe Asp
 180

<210> 9

<211> 1866

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 5

<400> 9

atgagaaaaac tgtattgcgt gctgctgcgt agcgccttcg agttcaccta tatgtatcaac	60
ttcggaaggg gccagaatta ctgggagcac ccctatcaga actctgacgt gtaccgacct	120
attaatgaac accgggagca tcccaaggag tacgaataatc ctctgcacca ggaacataca	180
tatcagcagg aggacagcgg ggaggatgaa aacactctgc agcacgccta cccaatcgac	240

catgaaggag ctgagccagc accccaggag cagaatctgt tttagctccat cgaaatttg	300
gagcgcagta actacatggg caatccctgg accgagtaca tggccaagta tgatatcgag	360
gaagtccacg ggtccggaat tcgcgtggac ctgggcgaag atgccgaggt cgctggac	420
cagtatcgac tgccttccgg caaatgccca gtgttcggca agggatcat tatcgagaac	480

tctaatacca catttctgac ccccggtggcc acagggaacc agtacctgaa ggacggcggaa	540
ttcgcttttc cccctactga acccctgatg tctcctatga ccctggacga gatgaggcac	600
ttctacaagg ataacaataa cgtcaagaat ctggacgagc tgactctgtg ctcacgccat	660
gctggaaaca tgatcccaga caacgataag aacagcaact acaagtatcc cgcatgtac	720
gacgataagg acaagaaaatg tcacatcctg tatattgcgg cttagaaaaa caatggcccc	780
cggtaactgca acaaagatga gtctaaagaga aacagtatgt tctgtttcag gcctgcaaaa	840
gacatcagg tccagaacta cacatatctg tcaaagaacg tggtcgataa ttgggagaaa	900
gtgtgccccca gaaaagaacct gcagaatgct aagttggc tggggtcga cgaaactgc	960
gaagatatcc cacacgtgaa tgagttcccc gcaattgacc tggtaatg taacaagctg	1020
gtgttcgagc tgtccgcctc tgatcagcct aagcgtacg agcagcatct gacagactat	1080
gaaaagatca aagaggcctt taagaacaaa aacgcatcaa tgatcaagag cgcccttcctg	1140
ccaactgggg ccttcaaggc cgataggtac aaaagccacg gaaaggccta caactggggaa	1200
aactataata cagaaactca gaaatgcgag atcttcaatg tcaagccac ctgtctgatc	1260
acaatttcta gttacatcgc tactaccgca ctgtctcatc ctattgaggt gaaaaacaat	1320
tttccatgca gtctgtacaa agacgaaatc atgaaggaga ttgaaaggaa gagcaaacgc	1380
atcaagctga acgataatga cgatgagggg aacaagaaaa ttatgcggcc tcgaatttc	1440
atttccgacg ataaagactc tctgaagtgc ccttgtgatc cagagatggt cagtaattca	1500
acctgtcgct tctttgtctg caagtgcgtg gaacggagag ccgaggtgac atccaacaat	1560
gagggtggtcg tggaaagagga atacaaggac gaatatgcgg atatcccaga gcacaagccc	1620
acttacgaca agatgaaaat tatcattgtc tcaagcgcag ccgtcgccgt gctggctacc	1680
attctgtatgg tggatgtttaa taagagaaaa ggaaacgcgg aaaaatacga caagatggat	1740
gagcctcagg attatggcaa aagcaactcc cgaaatgacg aaatgctgga ccccgaggct	1800
agcttttggg gcgagggaaaa gagagcatcc cataccaccc ccgtccgtat ggaaaagcct	1860
tactat	1866

<210> 10

<211> 622

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 5

<400> 10

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

1	5	10	15
Tyr Met Ile Asn Phe Gly Arg Gly Gln Asn Tyr Trp Glu His Pro Tyr			
20	25	30	
Gln Asn Ser Asp Val Tyr Arg Pro Ile Asn Glu His Arg Glu His Pro			
35	40	45	
Lys Glu Tyr Glu Tyr Pro Leu His Gln Glu His Thr Tyr Gln Gln Glu			
50	55	60	
Asp Ser Gly Glu Asp Glu Asn Thr Leu Gln His Ala Tyr Pro Ile Asp			
65	70	75	80
His Glu Gly Ala Glu Pro Ala Pro Gln Glu Gln Asn Leu Phe Ser Ser			
85	90	95	
Ile Glu Ile Val Glu Arg Ser Asn Tyr Met Gly Asn Pro Trp Thr Glu			
100	105	110	
Tyr Met Ala Lys Tyr Asp Ile Glu Glu Val His Gly Ser Gly Ile Arg			
115	120	125	
Val Asp Leu Gly Glu Asp Ala Glu Val Ala Gly Thr Gln Tyr Arg Leu			
130	135	140	
Pro Ser Gly Lys Cys Pro Val Phe Gly Lys Gly Ile Ile Glu Asn			
145	150	155	160
Ser Asn Thr Thr Phe Leu Thr Pro Val Ala Thr Gly Asn Gln Tyr Leu			
165	170	175	
Lys Asp Gly Gly Phe Ala Phe Pro Pro Thr Glu Pro Leu Met Ser Pro			
180	185	190	
Met Thr Leu Asp Glu Met Arg His Phe Tyr Lys Asp Asn Lys Tyr Val			
195	200	205	
Lys Asn Leu Asp Glu Leu Thr Leu Cys Ser Arg His Ala Gly Asn Met			
210	215	220	
Ile Pro Asp Asn Asp Lys Asn Ser Asn Tyr Lys Tyr Pro Ala Val Tyr			
225	230	235	240
Asp Asp Lys Asp Lys Cys His Ile Leu Tyr Ile Ala Ala Gln Glu			
245	250	255	

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

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

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

His Pro Ile Glu Val Glu Asn Asn Phe Pro Cys Ser Leu Tyr Lys Asp
 435 440 445
 Glu Ile Met Lys Glu Ile Glu Arg Glu Ser Lys Arg Ile Lys Leu Asn
 450 455 460
 Asp Asn Asp Asp Glu Gly Asn Lys Lys Ile Ile Ala Pro Arg Ile Phe
 465 470 475 480
 Ile Ser Asp Asp Lys Asp Ser Leu Lys Cys Pro Cys Asp Pro Glu Met
 485 490 495

Val Ser Asn Ser Thr Cys Arg Phe Phe Val Cys Lys Cys Val Glu Arg

500	505	510
Arg Ala Glu Val Thr Ser Asn Asn Glu Val Val Val Lys Glu Glu Tyr		
515	520	525
Lys Asp Glu Tyr Ala Asp Ile Pro Glu His Lys Pro Thr Tyr Asp Lys		
530	535	540
Met Lys Ile Ile Ile Ala Ser Ser Ala Ala Val Ala Val Leu Ala Thr		
545	550	555
560		
Ile Leu Met Val Tyr Leu Tyr Lys Arg Lys Gly Asn Ala Glu Lys Tyr		
565	570	575
Asp Lys Met Asp Glu Pro Gln Asp Tyr Gly Lys Ser Asn Ser Arg Asn		
580	585	590
Asp Glu Met Leu Asp Pro Glu Ala Ser Phe Trp Gly Glu Lys Arg		
595	600	605
Ala Ser His Thr Thr Pro Val Leu Met Glu Lys Pro Tyr Tyr		
610	615	620

<210> 11

<211> 1083

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 6

<400> 11

atgatgcgga agctggctat cctgagcgtg tccagttcc tggcgatgg ggcctgttc	60
caagagtacc agtgctacgg cagcagcagg aacacaagag tgctgaacga gctgaactac	120
gacaacgccc gcaccaacct gtacaacgag ctggaaatga actactacgg caagcagggaa	180
aactggtaca gcctgaagaa gaacagccgg tccctggcg agaacgacga cggcaacaac	240
aacaacggcg acaacggcag agagggcaag gacgaggaca agcggatgg caacaacgag	300

gacaacgaga agctgcggaa gcccaagcac aagaagctga agcagccgg cgacggcaac	360
cccgacccca acgccaaccc caacgtggac cccaatgccca atcctaattgt cgatccaaac	420
gctaacccaa atgtcgaccc taacgcaaatt cctaacgcca atcccaatgc aaaccctaatt	480
gccaaacccaa atgctaattcc aaacgcaaac cccaatgcta accccaaacgc taaccctaatt	540
gcaaattccaa atgccaaccc caacgccaac ccaaacgcca atcccaacgc taatcctaacc	600
gctaacccaa acgccaatcc taacgccaac ccaaacgcta acccaaattgc caaccctaatt	660

gcaaattctta atgtaatcc taacgctaat ccaaattgcaa atccaaacaa gaacaaccag	720
ggcaacggcc agggccacaa catgcccaac gaccccaacc ggaacgtgga cgagaatgcc	780
aatgccaaca acgcgtgaa gaacaacaac aatgaggaac ccagcgacaa gcacatcgag	840
cagtacctca agaagatcca gaacagcctg agcaccgagt ggagccctg tagcgtgacc	900
tgcggcaacg gcatccaagt ccggatcaag cccggcagcg ccaacaagcc caaggacgag	960
ctggattacg agaacgacat cgagaagaaa atctgcaaga tggaaaagtg cagcagcgtg	1020
ttcaacgtgg tcaacagcag catcggcctg atcatggtgc tgagctttct gttcctaacc	1080
tga	1083

<210> 12

<211> 360

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 6

<400> 12

Met Met Arg Lys Leu Ala Ile Leu Ser Val Ser Ser Phe Leu Phe Val

1 5 10 15

Glu Ala Leu Phe Gln Glu Tyr Gln Cys Tyr Gly Ser Ser Ser Asn Thr

20 25 30

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

35 40 45

Asn Glu Leu Glu Met Asn Tyr Tyr Gly Lys Gln Glu Asn Trp Tyr Ser

50 55 60

Leu Lys Lys Asn Ser Arg Ser Leu Gly Glu Asn Asp Asp Gly Asn Asn

65 70 75 80

Asn Asn Gly Asp Asn Gly Arg Glu Gly Lys Asp Glu Asp Lys Arg Asp

85 90 95

Gly Asn Asn Glu Asp Asn Glu Lys Leu Arg Lys Pro Lys His Lys

100 105 110

Leu Lys Gln Pro Gly Asp Gly Asn Pro Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn

115 120 125

Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn

130	135	140
Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn		
145	150	155
Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn		
165	170	175
Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn		
180	185	190
Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn		
195	200	205
Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn		
210	215	220
Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Lys Asn Asn Gln		
225	230	235
		240
Gly Asn Gly Gln Gly His Asn Met Pro Asn Asp Pro Asn Arg Asn Val		
245	250	255
Asp Glu Asn Ala Asn Ala Asn Asn Ala Val Lys Asn Asn Asn Glu		
260	265	270
Glu Pro Ser Asp Lys His Ile Glu Gln Tyr Leu Lys Lys Ile Gln Asn		
275	280	285
Ser Leu Ser Thr Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val Thr Cys Gly Asn Gly		
290	295	300
Ile Gln Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro Lys Asp Glu		
305	310	315
Leu Asp Tyr Glu Asn Asp Ile Glu Lys Lys Ile Cys Lys Met Glu Lys		
325	330	335
Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser Ser Ile Gly Leu Ile Met		
340	345	350
Val Leu Ser Phe Leu Phe Leu Asn		
355	360	
<210> 13		
<211> 1290		
<212> DNA		

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 7

<400> 13

atggactgga cctggattct gttcctggtg gccgctgccca cacgggtgca cagcatgcgg	60
aagctggcta tcctgagcgt gtccagcttc ctgtcggtt aggcctgtt ccaagagtac	120
cagtgtacg gcagcagcag caacacaaga gtgctgaacg agctgaacta cgacaacgcc	180
ggcaccaacc tgtacaacga gctggaaatg aactactacg gcaagcagga aaactggtag	240
agcctgaaga agaacagccg gtccctggc gagaacgacg acggcaacaa caacaacggc	300
gacaacggca gagagggcaa ggacgaggac aagcggatg gcaacaacga ggacaacgag	360

aagctgcgga agcccaagca caagaagctg aagcagcccg ggcacggcaa ccccgacccc	420
aacgccaacc ccaacgtgga ccccaatgcc aatcctaattg tcgatccaa cgctaaccca	480
aatgtcgacc ctaacgc当地 tcctaacgcc aatcccaatg caaaccctaa tgccaaaccca	540
aatgctaattc caaacgc当地 ccccaatgt aaccccaacg ctaaccctaa tgcaaattca	600
aatgccaacc ccaacgc当地 cccaaacgcc aatcccaacg ctaatccctaa cgctaacccc	660
aacgccaattc ctaacgc当地 cccaaacgct aacccaaatg ccaaccccaa tgcaaattct	720
aatgctaattc ctaacgc当地 tccaaatgca aatccaaacg ctaatccctaa tgccaaaccc	780

aacgcaaaacc ccaacgc当地 tccaaatgt aacccaaatg caaatcccaa cgccaaatca	840
aacgcaattc caaatgccaa tcctaattgca aaccctaaatg caaatcccaa tgctaattct	900
aatgctaattc caaacaagaa caaccaggc aacggccagg gccacaacat gccccaaacgac	960
cccaacccgga acgtggacga gaatgcaat gccaacaacg ccgtgaagaa caacaacaat	1020
gaggaacccaa ggcacaagca catcgagc当地 tacctcaaga agatccagaa cagcctgagc	1080
accgagtggaa gcccctgttag cgtgacctgc ggcaacggca tccaaatccg gatcaagccc	1140
ggcagcgc当地 acaagcccaa ggacgagctg gattacgaga acgacatcga gaagaaaaatc	1200

tgcaagatgg aaaagtgcag cagcgtgtt aacgtggta acagcagcat cggcctgatc	1260
atggtgctga gctttctgtt cctcaactga	1290

<210> 14

<211> 429

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 7

<400> 14

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

1 5 10 15

His Ser Met Arg Lys Leu Ala Ile Leu Ser Val Ser Ser Phe Leu Phe

20 25 30

Val Glu Ala Leu Phe Gln Glu Tyr Gln Cys Tyr Gly Ser Ser Ser Asn

35 40 45

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

50 55 60

Tyr Asn Glu Leu Glu Met Asn Tyr Tyr Gly Lys Gln Glu Asn Trp Tyr

65 70 75 80

Ser Leu Lys Lys Asn Ser Arg Ser Leu Gly Glu Asn Asp Asp Gly Asn

85 90 95

Asn Asn Asn Gly Asp Asn Gly Arg Glu Gly Lys Asp Glu Asp Lys Arg

100 105 110

Asp Gly Asn Asn Glu Asp Asn Glu Lys Leu Arg Lys Pro Lys His Lys

115 120 125

Lys Leu Lys Gln Pro Gly Asp Gly Asn Pro Asp Pro Asn Ala Asn Pro

130 135 140

Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro

145 150 155 160

Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

165 170 175

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

180 185 190

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

195 200 205

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

210 215 220

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

225 230 235 240

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

245	250	255
Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro		
260	265	270
Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro		
275	280	285
Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro		
290	295	300
Asn Lys Asn Asn Gln Gly Asn Gly Gln Gly His Asn Met Pro Asn Asp		
305	310	315
Pro Asn Arg Asn Val Asp Glu Asn Ala Asn Ala Asn Ala Val Lys		
325	330	335
Asn Asn Asn Glu Glu Pro Ser Asp Lys His Ile Glu Gln Tyr Leu		
340	345	350
Lys Lys Ile Gln Asn Ser Leu Ser Thr Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val		
355	360	365
Thr Cys Gly Asn Gly Ile Gln Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn		
370	375	380
Lys Pro Lys Asp Glu Leu Asp Tyr Glu Asn Asp Ile Glu Lys Lys Ile		
385	390	395
Cys Lys Met Glu Lys Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser Ser		
405	410	415
Ile Gly Leu Ile Met Val Leu Ser Phe Leu Phe Leu Asn		
420	425	
<210> 15		
<211> 1752		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 8		
<400> 15		
atggactgga cctggattct gttcctcgta gcagactgcc a ccaaggcac		60
atccctgtaca tcagcttcta cttcatcctg gtgaacctgc t gatcttcca catcaacggc		120
aagatcatca agaacagcga gaaggacgag atcatcaaaa gcaacctgcg gagcggcagc		180

agcaacagcc ggaaccggat caacgaggaa aagcacgaga agaaacacgt gctgagccac	240
aacagctacg aaaagaccaa gaacaatgag aacaacaagt tcttcgacaa ggacaaagaa	300
ctgaccatga gcaacgtgaa gaacgtgtcc cagaccaact tcaagagcct gctgcggAAC	360
ctggcggtga gcgagaacat cttcctgaaa gagaacaagc tgaacaaaga gggcaagctg	420
atcgagcaca tcatcaacga cgacgacgt aagaagaagt acatcaaggg ccaggacgag	480
aaccggcagg aagatctgga agagaaggcc gccaaagaga cactgcaggg ccagcagAGC	540
gacctggAAC aggaacggct ggccaaagaa aagctgcagg aacagcagt c cgacagcgg	600
cagggaaagac tggctaaaga gaaactccaa gagcagcagt ctgacttgga gcagggAAC	660
ctcgaaaAG agaagt tgca agagcaacag tccgatctgg aacaagagcg cctcgctaaa	720
aaaaaaACTC aggaacaaca gagcgatttgg gagcaagagc ggagagccaa agagaaatttG	780
cagggAAAC aatctgacct cgaacaggaa agaaggGCCA aagagaagct tcaagaacaa	840
caaagtgacc ttgagcaaga gaggcgggct aaagaaaaat tgcaagaaca gcagcgggat	900
ctcgAACAGC ggaaggCCGA caccaagaag aacctggAAC ggaagaaAGA acacggcgc	960
gtgctggccg aggacctgta cggcagactg gaaatccccG ccatcgagct gcccagcgg	1020
aacgagcggg gctactacat cccccaccAG agcagcctgc cccaggacaa ccggggcaac	1080
agcagagaca gcaaagagat cagcatcatc gagaaaacaa accgggagag catcaccacc	1140
aacgtggagg gcagacggga catccacaag ggccacTGG aagaaaagaa ggacggcagC	1200
atcaagCCCG agcagaaAGA ggacaagAGC gCcGACATCC agaaccacac CCTGAAACC	1260
gtgaacatca ggcacgtgaa cgacttccAG atcagcaagt acgaggatga gatcagcGCC	1320
gagtacgacg acagcctgat cgacgaggaa gaggacgacg aggacctggA cgagttaAG	1380
cccatcgTC agtacgacaa cttccaggAC gaggAAAACA tcggcatcta caaagagctg	1440
gaagatctgA tcgagaAGAA cgagaacCTG gatgatctgg acgaggGCAT cgagaAGTCC	1500
agcgaggaac tgagcgagGA aaagatcaAG aaggGCAAGA agtacgagAA aactaaggAC	1560
aacaacttca agcccaacGA caagagcCTG tacgtgAGC acatcaAGAA gtacaaaaAC	1620
gacAAACAGG tgaacAAAGA aaaAGAGAAG ttcatcaAGT ccctgttcca catttcgac	1680
ggcgacAAcG agatcctgca gatcgtggat gagctgtccg aggacatCAC caagtacttC	1740
atgaagctgt GA	1752
<210> 16	
<211> 582	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 8

<400>

16

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

1 5 10 15

His Ser Lys His Ile Leu Tyr Ile Ser Phe Tyr Phe Ile Leu Val Asn

20 25 30

Leu Leu Ile Phe His Ile Asn Gly Lys Ile Ile Lys Asn Ser Glu Lys

35 40 45

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

50 55 60

Asn Arg Ile Asn Glu Glu Lys His Glu Lys Lys His Val Leu Ser His

65 70 75 80

Asn Ser Tyr Glu Lys Thr Lys Asn Asn Glu Asn Asn Lys Phe Phe Asp

85 90 95

Lys Lys Glu Leu Thr Met Ser Asn Val Lys Asn Val Ser Gln Thr Asn

100 105 110

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

115 120 125

Lys Glu Asn Lys Leu Asn Lys Glu Gly Lys Leu Ile Glu His Ile Ile

130 135 140

Asn Asp Asp Asp Asp Lys Lys Tyr Ile Lys Gly Gln Asp Glu Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225	230	235	240
Lys Leu Gln Glu Gln Gln Ser Asp Leu Glu Gln Glu Arg Arg Ala Lys			
245	250	255	
Glu Lys Leu Gln Glu Gln Gln Ser Asp Leu Glu Gln Glu Arg Arg Ala			
260	265	270	
Lys Glu Lys Leu Gln Glu Gln Gln Ser Asp Leu Glu Gln Glu Arg Arg			
275	280	285	
Ala Lys Glu Lys Leu Gln Glu Gln Gln Arg Asp Leu Glu Gln Arg Lys			
290	295	300	
Ala Asp Thr Lys Lys Asn Leu Glu Arg Lys Glu His Gly Asp Val			
305	310	315	320
Leu Ala Glu Asp Leu Tyr Gly Arg Leu Glu Ile Pro Ala Ile Glu Leu			
325	330	335	
Pro Ser Glu Asn Glu Arg Gly Tyr Tyr Ile Pro His Gln Ser Ser Leu			
340	345	350	
Pro Gln Asp Asn Arg Gly Asn Ser Arg Asp Ser Lys Glu Ile Ser Ile			
355	360	365	
Ile Glu Lys Thr Asn Arg Glu Ser Ile Thr Thr Asn Val Glu Gly Arg			
370	375	380	
Arg Asp Ile His Lys Gly His Leu Glu Glu Lys Lys Asp Gly Ser Ile			
385	390	395	400
Lys Pro Glu Gln Lys Glu Asp Lys Ser Ala Asp Ile Gln Asn His Thr			
405	410	415	
Leu Glu Thr Val Asn Ile Ser Asp Val Asn Asp Phe Gln Ile Ser Lys			
420	425	430	
Tyr Glu Asp Glu Ile Ser Ala Glu Tyr Asp Asp Ser Leu Ile Asp Glu			
435	440	445	
Glu Glu Asp Asp Glu Asp Leu Asp Glu Phe Lys Pro Ile Val Gln Tyr			
450	455	460	
Asp Asn Phe Gln Asp Glu Glu Asn Ile Gly Ile Tyr Lys Glu Leu Glu			
465	470	475	480

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

485 490 495

Glu Lys Ser Ser Glu Glu Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Lys Gly Lys

500 505 510

Lys Tyr Glu Lys Thr Lys Asp Asn Asn Phe Lys Pro Asn Asp Lys Ser

515 520 525

Leu Tyr Asp Glu His Ile Lys Lys Tyr Lys Asn Asp Lys Gln Val Asn

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

Lys Tyr Phe Met Lys Leu

580

<210> 17

<211> 1731

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 9

<400> 17

atggactgga cctggattct gttcctggtg gccgctgcta caagagtgc a cagcaaccac	60
ctggcaacg tgaagtacct ggtgatcgta ttccatgtct ttttcgaccc gtttctggtg	120
aacggccggg acgtgcagaa caacatcgta gacgagatca agtaccggga ggaagtgtgc	180
aacgacgagg tggacctgta cctgctgtat gactgcagcg gcagcatcag acggcacaac	240
tgggtgaacc acgcccgtgcc cctggccatg aagctgatcc agcagctgaa cctgaacgag	300

aacgccccatcc acctgtacgt gaacgacttc agcaacaacg ccaaagagat catccggctg	360
cacagcgacg ccagcaagaa caaagagaag gccctgtatca tcatcaagag cctgctgagc	420
accaacctgc cctacggccg gaccaacctg tctgacgctc tgctgcaggt gcggaagcac	480
ctgaacgacc gatatcaaccc ggagaacgcc aaccagctgg tggtgatctt gaccgacggc	540
atccccgaca gcatccagga cagcctgaaa gagagccgga agctgaacga cagaggcgtg	600
aagatcgccg tggtcggcat cggccaggcc atcaacgtgg cttcaacag attcctggtg	660

ggctgtcacc ccagcgacgg caagtgcac acgtacgccc acagcgccctg ggagaacgtg 720

aagaatgtga tcggcccctt catgaaggcc gtgtgcgtgg aggtggagaa aaccgccagc 780
 tgcggcggtt gggatgagtg gagccctgc agcgtgacct gtggcaaggg caccagaagc
 cggaagcggg agatcctgca cgaggcgtgc accagcgagc tgcaggaaca gtgcgaagag
 gaacggtgcc ccccaagag ggaaccctg gacgtgcccc acgagcccga ggacgaccag
 cccagaccca gaggcgacaa ctgcgcgtg gagaagcccg aggaaaacat catcgacaac
 aaccccccagg aacccagccc caacccttag gaggcaagg gcgagaaccc caacggcttc
 gacctggacg agaaccggcga gaatcccccc aacccgaca tccccgagca ggaacccaac 1080
 1140

atccctgagg acagcgagaa agaggtgccc agcgacgtcc ccaagaatcc cgaggatgac 1200
 cgggaagaga acttcgacat ccccaagaag cctgagaaca agcacgacaa ccagaacaac
 ctgccccaaacg acaagagcga ccgtacatc ccctacagcc ccctgcccc caaggtgctg
 gacaacgagc ggaaggcagag cgaccccccag agccaggaca acaacggcaa ccggcacgtg
 cccaaacagcg aggaccggga gacaagaccc cacggccgga acaacgagaa ccgttctac
 aaccggaagt acaacgacac ccccaaggcac cccgagcggg aggaacacga gaaacccgac
 aacaacaaga agaagggcgg cagcgacaac aagtacaaga ttgccggcgg aatcgctggc 1500
 1560

ggactggccc tgctggcttg tgccggcctg gcctacaagt ttgtggtgcc tggcgccct 1620
 acaccitatg cggcgagcc tgcccccctt gacgagacac tggcgaaga ggacaaggac
 ctggatgagc ccgagcagtt ccggctgccc gaagagaacg agtggactg a 1680
 1731

<210> 18

<211> 576

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 9

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Phe Phe Asp Leu Phe Leu Val Asn Gly Arg Asp Val Gln Asn Asn

35 40 45

Ile Val Asp Glu Ile Lys Tyr Arg Glu Glu Val Cys Asn Asp Glu Val

50	55	60
Asp Leu Tyr Leu Leu Met Asp Cys Ser Gly Ser Ile Arg Arg His Asn		
65	70	75
Trp Val Asn His Ala Val Pro Leu Ala Met Lys Leu Ile Gln Gln Leu		
85	90	95
Asn Leu Asn Glu Asn Ala Ile His Leu Tyr Val Asn Asp Phe Ser Asn		
100	105	110
Asn Ala Lys Glu Ile Ile Arg Leu His Ser Asp Ala Ser Lys Asn Lys		
115	120	125
Glu Lys Ala Leu Ile Ile Ile Lys Ser Leu Leu Ser Thr Asn Leu Pro		
130	135	140
Tyr Gly Arg Thr Asn Leu Ser Asp Ala Leu Leu Gln Val Arg Lys His		
145	150	155
Leu Asn Asp Arg Ile Asn Arg Glu Asn Ala Asn Gln Leu Val Val Ile		
165	170	175
Leu Thr Asp Gly Ile Pro Asp Ser Ile Gln Asp Ser Leu Lys Glu Ser		
180	185	190
Arg Lys Leu Asn Asp Arg Gly Val Lys Ile Ala Val Phe Gly Ile Gly		
195	200	205
Gln Gly Ile Asn Val Ala Phe Asn Arg Phe Leu Val Gly Cys His Pro		
210	215	220
Ser Asp Gly Lys Cys Asn Leu Tyr Ala Asp Ser Ala Trp Glu Asn Val		
225	230	235
Lys Asn Val Ile Gly Pro Phe Met Lys Ala Val Cys Val Glu Val Glu		
245	250	255
Lys Thr Ala Ser Cys Gly Val Trp Asp Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val		
260	265	270
Thr Cys Gly Lys Gly Thr Arg Ser Arg Lys Arg Glu Ile Leu His Glu		
275	280	285
Gly Cys Thr Ser Glu Leu Gln Glu Gln Cys Glu Glu Glu Arg Cys Pro		
290	295	300

Pro Lys Arg Glu Pro Leu Asp Val Pro His Glu Pro Glu Asp Asp Gln
 305 310 315 320
 Pro Arg Pro Arg Gly Asp Asn Phe Ala Val Glu Lys Pro Glu Glu Asn
 325 330 335
 Ile Ile Asp Asn Asn Pro Gln Glu Pro Ser Pro Asn Pro Glu Glu Gly
 340 345 350
 Lys Gly Glu Asn Pro Asn Gly Phe Asp Leu Asp Glu Asn Pro Glu Asn
 355 360 365
 Pro Pro Asn Pro Asp Ile Pro Glu Gln Glu Pro Asn Ile Pro Glu Asp
 370 375 380
 Ser Glu Lys Glu Val Pro Ser Asp Val Pro Lys Asn Pro Glu Asp Asp
 385 390 395 400
 Arg Glu Glu Asn Phe Asp Ile Pro Lys Lys Pro Glu Asn Lys His Asp
 405 410 415
 Asn Gln Asn Asn Leu Pro Asn Asp Lys Ser Asp Arg Tyr Ile Pro Tyr
 420 425 430
 Ser Pro Leu Pro Pro Lys Val Leu Asp Asn Glu Arg Lys Gln Ser Asp
 435 440 445
 Pro Gln Ser Gln Asp Asn Asn Gly Asn Arg His Val Pro Asn Ser Glu
 450 455 460
 Asp Arg Glu Thr Arg Pro His Gly Arg Asn Asn Glu Asn Arg Ser Tyr
 465 470 475 480
 Asn Arg Lys Tyr Asn Asp Thr Pro Lys His Pro Glu Arg Glu Glu His
 485 490 495
 Glu Lys Pro Asp Asn Asn Lys Lys Lys Gly Ser Asp Asn Lys Tyr
 500 505 510
 Lys Ile Ala Gly Gly Ile Ala Gly Gly Leu Ala Leu Leu Ala Cys Ala
 515 520 525
 Gly Leu Ala Tyr Lys Phe Val Val Pro Gly Ala Ala Thr Pro Tyr Ala
 530 535 540
 Gly Glu Pro Ala Pro Phe Asp Glu Thr Leu Gly Glu Glu Asp Lys Asp

545	550	555	560
Leu Asp Glu Pro Glu Gln Phe Arg Leu Pro Glu Glu Asn Glu Trp Asn			
565	570	575	
<210> 19			
<211> 600			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 10			
<400> 19			
atggactgga ctggattct gttcctggtg gccgcgtccca caagagtgc a cagcaacgcc			60
ctgccccggac tggccgtat ctgcaggatcc ctgggttttc tggtgttc ag caacgtgtcg			120
tgcttccggg gcaacaacgg ccacaacagc agcagcagcc tgtacaacgg cagccaggcc			180
atcgaggcgc tgaacaacag cttcaccagg gcctttctgg aaagccagag catgaacaag			240
atcgccgacg acctggccga gacaatcagc aacgagctgg tgtccgtgct gcagaagaac			300
agcccccacct tcctggaaag cagcttcgac atcaagagcg aagtgaagaa acacgccaag			360
agcatgctga aagaactgat caaagtgggc ctgcccagct tcgagaatct ggtcgccgag			420
aacgtgaagc ccccaaggt ggacctgtcc acatacggca tcatcgtgcc cgtgctgacc			480
agccctgttca acaaggtgga gacagccgtg ggcccaagg tgtccgacga gatctggAAC			540
tacaacagcc ccgacgtgtc cgagagcggag gaaaggctga gcgcacgactt cttcgactga			600
<210> 20			
<211> 199			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 10			
<400> 20			
Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val			
1	5	10	15
His Ser Asn Ala Leu Arg Arg Leu Pro Val Ile Cys Ser Phe Leu Val			
20	25	30	
Phe Leu Val Phe Ser Asn Val Leu Cys Phe Arg Gly Asn Asn Gly His			
35	40	45	
Asn Ser Ser Ser Ser Leu Tyr Asn Gly Ser Gln Phe Ile Glu Gln Leu			

50	55	60
Asn Asn Ser Phe Thr Ser Ala Phe Leu Glu Ser Gln Ser Met Asn Lys		
65	70	75
Ile Gly Asp Asp Leu Ala Glu Thr Ile Ser Asn Glu Leu Val Ser Val		
85	90	95
Leu Gln Lys Asn Ser Pro Thr Phe Leu Glu Ser Ser Phe Asp Ile Lys		
100	105	110
Ser Glu Val Lys Lys His Ala Lys Ser Met Leu Lys Glu Leu Ile Lys		
115	120	125
Val Gly Leu Pro Ser Phe Glu Asn Leu Val Ala Glu Asn Val Lys Pro		
130	135	140
Pro Lys Val Asp Pro Ala Thr Tyr Gly Ile Ile Val Pro Val Leu Thr		
145	150	155
160		
Ser Leu Phe Asn Lys Val Glu Thr Ala Val Gly Ala Lys Val Ser Asp		
165	170	175
Glu Ile Trp Asn Tyr Asn Ser Pro Asp Val Ser Glu Ser Glu Ser		
180	185	190
Leu Ser Asp Asp Phe Phe Asp		
195		
<210> 21		
<211> 1917		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 11		
<400> 21		
atggactgga catggattct gttcctggtg gctgctgcta ctagagtgcata ttcaagaaaa		60
ctgtattgcg tgctgctgct gagcgcccttc gagttcacct atatgatcaa ctgcggaaagg		120
ggccagaatt actgggagca cccctatcg aactctgacg tgtaccgacc tattaatgaa		180
caccgggagc atcccaagga gtacgaatat cctctgcacc aggaacatac atatcagcag		240
gaggacagcg gggaggatga aaacactctg cagcacgcct accaatcga ccatgaagga		300
gctgagccag cacccagga gcagaatctg tttagctcca tcgaaattgt ggagcgcagt		360
aactacatgg gcaatccctg gaccgagta atggccaagt atgatatcga ggaagtccac		420

gggtccggaa ttgcgtgga cctggcgaa gatgccgagg tcgctggac acagtatcga	480
ctgccttcg gcaaattgcc agtgttcggc aaggggatca ttatcgagaa ctctaatacc acatttctga cccccgtggc cacaggaaac cagtacctga aggacggcgg attcgcttt ccccctactg aaccctgtat gtctcctatg accctggacg agatgaggca cttctacaag gataacaat acgtcaagaa tctggacgag ctgactctgt gtcacgcca tgctggaaac atgatcccag acaacgataa gaacagcaac tacaagtatc ccgcagtgtc cgacgataag gacaagaat gtcacatcct gtatattgcc gctcaggaaa acaatggccc ccggtaactgc aacaaagatg agtctaagag aaacagtatg ttctgttca ggcctgcaaa agacatcagt	540 600 660 720 780 840 900
ttccagaact acacatatct gtcaaagaac gtggcgata attggagaa agtgtgcccc agaaagaacc tgcaaatgc taagttggg ctgtgggtcg acggaaactg cgaagatatc ccacacgtga atgagttccc cgcaattgac ctgttgaat gtaacaagct ggtgttcgag ctgtccgcct ctgatcagcc taagcagttac gagcagcatc tgacagacta tgaaaagatc aaagaggcct ttaagaacaa aaacgcata atgatcaaga ggccttcct gccaactggg gccttcaagg ccgataggtt caaaagccac ggaaaggcct acaactgggg aaactataat acagaaactc agaaatgcga gatcttcaat gtcaagccca cctgtctgtat caacaattct	960 1020 1080 1140 1200 1260 1320
agttacatcg ctactaccgc actgtctcat cctattgagg tgaaaaacaa tttccatgc agtctgtaca aagacgaaat catgaaggag attgaaaggg agagcaaacg catcaagctg aacgataatg acgtgaggg gaacaagaaa attatgcgc ctcgaatctt cattccgac gataaaagact ctctgaagtccctgtat ccagagatgg ttagtaattt aacctgtcgc ttctttgtct gcaagtgcgt ggaacggaga gccgagggtga catccaacaa tgaggtggc gtgaaagagg aatacaagga cgaatatgcc gatatcccag agcacaagcc cacttacgac aagatgaaaa ttatcattgc ttcaagcgca gccgtcgccg tgctggctac cattctgtat	1380 1440 1500 1560 1620 1680 1740
gtgtacctgt ataagagaaa agggaaacgcc gaaaaatacg acaagatgga tgaggctcag gattatggca aaagcaactc ccggaaatgac gaaatgctgg accccgaggg tagctttgg ggcgaggaaa agagagcatc ccataccacc cccgtctga tgaaaaagcc ttactat	1800 1860 1917
<210> 22	
<211> 639	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 11	
<400> 22	

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

245	250	255
Tyr Asp Asp Lys Asp Lys Lys Cys His Ile Leu Tyr Ile Ala Ala Gln		
260	265	270
Glu Asn Asn Gly Pro Arg Tyr Cys Asn Lys Asp Glu Ser Lys Arg Asn		
275	280	285
Ser Met Phe Cys Phe Arg Pro Ala Lys Asp Ile Ser Phe Gln Asn Tyr		
290	295	300
Thr Tyr Leu Ser Lys Asn Val Val Asp Asn Trp Glu Lys Val Cys Pro		
305	310	315
Arg Lys Asn Leu Gln Asn Ala Lys Phe Gly Leu Trp Val Asp Gly Asn		
325	330	335
Cys Glu Asp Ile Pro His Val Asn Glu Phe Pro Ala Ile Asp Leu Phe		
340	345	350
Glu Cys Asn Lys Leu Val Phe Glu Leu Ser Ala Ser Asp Gln Pro Lys		
355	360	365
Gln Tyr Glu Gln His Leu Thr Asp Tyr Glu Lys Ile Lys Glu Gly Phe		
370	375	380
Lys Asn Lys Asn Ala Ser Met Ile Lys Ser Ala Phe Leu Pro Thr Gly		
385	390	395
Ala Phe Lys Ala Asp Arg Tyr Lys Ser His Gly Lys Gly Tyr Asn Trp		400
405	410	415
Gly Asn Tyr Asn Thr Glu Thr Gln Lys Cys Glu Ile Phe Asn Val Lys		
420	425	430
Pro Thr Cys Leu Ile Asn Asn Ser Ser Tyr Ile Ala Thr Thr Ala Leu		
435	440	445
Ser His Pro Ile Glu Val Glu Asn Asn Phe Pro Cys Ser Leu Tyr Lys		
450	455	460
Asp Glu Ile Met Lys Glu Ile Glu Arg Glu Ser Lys Arg Ile Lys Leu		
465	470	475
Asn Asp Asn Asp Asp Glu Gly Asn Lys Lys Ile Ile Ala Pro Arg Ile		480
485	490	495

Phe Ile Ser Asp Asp Lys Asp Ser Leu Lys Cys Pro Cys Asp Pro Glu

500 505 510

Met Val Ser Asn Ser Thr Cys Arg Phe Val Cys Lys Cys Val Glu

515 520 525

Arg Arg Ala Glu Val Thr Ser Asn Asn Glu Val Val Val Lys Glu Glu

530 535 540

Tyr Lys Asp Glu Tyr Ala Asp Ile Pro Glu His Lys Pro Thr Tyr Asp

545 550 555 560

Lys Met Lys Ile Ile Ala Ser Ser Ala Ala Val Ala Val Leu Ala

565 570 575

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

580 585 590

Tyr Asp Lys Met Asp Glu Pro Gln Asp Tyr Gly Lys Ser Asn Ser Arg

595 600 605

Asn Asp Glu Met Leu Asp Pro Glu Ala Ser Phe Trp Gly Glu Glu Lys

610 615 620

Arg Ala Ser His Thr Thr Pro Val Leu Met Glu Lys Pro Tyr Tyr

625 630 635

<210> 23

<211> 1134

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 12

<400> 23

atggactgga cctggattct gttcctggtg gccgcgtgccca cacgggtgca cagcatgcgg 60

aagctggcta tcctgagcgt gtccagcttc ctgttcgtgg aggcctgtt ccaagagtac 120

cagtgtacg gcagcagcag caacacaaga gtgctgaacg agctgaacta cgacaacgcc 180

ggcaccaacc tgtacaacga gctggaaatg aactactacg gcaaggcagga aaactggtag 240

agcctgaaga agaacagccg gtccctgggc gagaacgacg acggcaacaa caacaacggc 300

gacaacggca gagagggcaa ggacgaggac aagcgggatg gcaacaacga ggacaacgag 360

aagctgcggca agcccaagca caagaagctg aagcagcccg gcgacggcaa ccccgacccc 420

aacgccaacc ccaacgtgga ccccaatgcc aatcctaatt tcgatccaa cgctaaccca 480

aatgtcgacc ctaacgcaaa tcctaacfcc aatcccaatg caaacctaa tgccaaacca 540

aatgctaattc ccaaagcaaa ccccaatgt aaccccaacg ctaaccctaa tgcaaattcc 600

aatgccaacc ccaacgcca cccaaacgccc aatcccaacg ctaatccctaa cgctaacccc 660

aacgccaatc ctaacgcca cccaaacgct aaccccaatg ccaaccccaa tgcaaattcc 720

aatgctaattc ctaacgctaa tccaaatgca aatccaaaca agaacaacca gggcaacggc 780

cagggccaca acatgcccac cgaccccaac cggaacgtgg acgagaatgc caatgccaac 840

aacggcgtga agaacaacaa caatgaggaa cccagcgaca agcacatcga gcagtagtaccc 900

aagaagatcc agaacagcct gagcaccgag tggagccccct gtagcgtgac ctgcggcaac 960

ggcatccaag tccggatcaa gcccggcagc gccaaacaagc ccaaggacga gctggattac 1020

gagaacgaca tcgagaagaa aatctgcaag atggaaaagt gcagcagcgt gttcaacgtg 1080

gtcaacagca gcatcgccct gatcatggtg ctgagcttc tggccctaa ctga 1134

<210> 24

<211> 377

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 12

<400> 24

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

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

His Ser Met Arg Lys Leu Ala Ile Leu Ser Val Ser Ser Phe Leu Phe

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

Val Glu Ala Leu Phe Gln Glu Tyr Gln Cys Tyr Gly Ser Ser Ser Asn

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

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

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

Tyr Asn Glu Leu Glu Met Asn Tyr Tyr Gly Lys Gln Glu Asn Trp Tyr

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

Ser Leu Lys Lys Asn Ser Arg Ser Leu Gly Glu Asn Asp Asp Gly Asn

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

Asn Asn Asn Gly Asp Asn Gly Arg Glu Gly Lys Asp Glu Asp Lys Arg

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

Lys Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser Ser Ile Gly Leu Ile

355

360

365

Met Val Leu Ser Phe Leu Phe Leu Asn

370

375

<210> 25

<211> 1317

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 13

<400> 25

atggactgga cctggattct gttcctggtg gccgctgccca cacgggtgca cagcatgcgg	60
--	----

aagctggcta tcctgagcgt gtccagcttc ctgttcgtgg agggcctgtt ccaagagtac	120
---	-----

cagtgctacg gcagcagcag caacacaaga gtgctgaacg agctgaacta cgacaacgcc	180
---	-----

ggcaccaacc tgtacaacga gctggaaatg aactactacg gcaaggcagga aaactggtag	240
--	-----

agcctgaaga agaacagccg gtccctgggc gagaacgcacg acggcaacaa caacaacggc	300
--	-----

gacaacggca gagagggcaa ggacgaggac aagcgggatg gcaacaacga ggacaacgag	360
---	-----

aagctgcgga agcccaagca caagaagctg aagcagcccg gcgacggcaa ccccgacccc	420
---	-----

aacgccaacc ccaacgtgga ccccaatgcc aatcctaattg tcgatcccaa cgctaacc	480
--	-----

aatgtcgacc ctaacgcaaa tcctaacfcc aatccaaatg caaacccctaa tgccaa	540
--	-----

aatgctaattc caaacgcaaa ccccaatgt aaccccaacg ctaaccctaa tgcaa	600
--	-----

aatgccaacc ccaacgccaa cccaaacgccc aatccaaacg ctaatccaa cgctaa	660
---	-----

aacgccaatc ctaacgccaa cccaaacgct aacccaaatg ccaacccaa tgcaa	720
---	-----

aatgctaattc ctaacgctaa tccaaatgca aatccaaacg ctaatccaa tgccaa	780
---	-----

aacgcaaacc ccaacgcaaa tccaaatgt aacccaaatg caaatccaa cgccaa	840
---	-----

aacgcaaatc caaatgccaa tcctaattgca aaccctaaatg caaatccaa tgcta	900
---	-----

aatgctaattc caaacaagaa caaccaggc aacggccagg gccaacat gcccac	960
---	-----

cccaaccgga acgtggacga gaatgcaat gccaacaacg ccgtgaagaa caaca	1020
---	------

gaggaacccca gcgacaagca catcgagcag tacctaaga agatccagaa cagc	1080
---	------

accgagtggc gcccctgttag cgtgacctgc ggcaacggca tccaagtccg gat	1140
---	------

ggcagcgcca acaagccaa ggacgagctg gattacgaga acgacatcga gaaga	1200
---	------

tgcaagatgg aaaagtgcag cagcgtgttc aacgtggta acagcagcat cggc	1260
--	------

atgggtgctga gctttctgtt cctcaactac ccctacgacg tgcccgacta cgccctga 1317

<210> 26

<211> 438

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 13

<400> 26

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

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

His Ser Met Arg Lys Leu Ala Ile Leu Ser Val Ser Ser Phe Leu Phe

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

Val Glu Ala Leu Phe Gln Glu Tyr Gln Cys Tyr Gly Ser Ser Ser Asn

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

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

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

Tyr Asn Glu Leu Glu Met Asn Tyr Tyr Gly Lys Gln Glu Asn Trp Tyr

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

Ser Leu Lys Lys Asn Ser Arg Ser Leu Gly Glu Asn Asp Asp Gly Asn

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

Asn Asn Asn Gly Asp Asn Gly Arg Glu Gly Lys Asp Glu Asp Lys Arg

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

Asp Gly Asn Asn Glu Asp Asn Glu Lys Leu Arg Lys Pro Lys His Lys

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

Lys Leu Lys Gln Pro Gly Asp Gly Asn Pro Asp Pro Asn Ala Asn Pro

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

Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro

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

Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

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

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

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

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
 195 200 205
 Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
 210 215 220
 Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
 225 230 235 240

 Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
 245 250 255
 Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
 260 265 270
 Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
 275 280 285
 Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
 290 295 300

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

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

 Asp Val Pro Asp Tyr Ala

435

<210> 27

<211> 1779

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 14

<400> 27

atggactgga cctggattct gttcctcgta gcagctgcca ccagagtgc a cagcaagcac	60
atccgttaca tcagcttcta cttcatcctg gtgaacctgc t gatcttcca catcaacggc	120
aagatcatca agaacagcga gaaggacgag atcatcaaaa gcaacctgca gagcggcagc	180
agcaacagcc ggaaccggat caacgaggaa aagcacgaga agaaacacgt gctgagccac	240
aacagctacg aaaagaccaa gaacaatgag aacaacaagt tttcgacaa ggacaaagaa	300

ctgaccatga gcaacgtgaa gaacgtgtcc cagaccaact tcaagagcct gctgcggAAC	360
ctggcggtga gcgagaacat cttctgaaa gagaacaagc tgaacaaaga gggcaagctg	420
atcgagcaca tcatcaacga cgacgacgat aagaagaagt acatcaaggg ccaggacgag	480
aaccggcagg aagatctgga agagaaggcc gccaaagaga cactgcagg ccagcagAGC	540
gacctggaac aggaacggct ggccaaagaa aagctgcagg aacagcagt c cgacagcgg	600
cagggaaagac tggctaaaga gaaactccaa gagcagcagt ctgacttgga gcaggaacgc	660
ctcgcaaaag agaagttgca agagcaacag tccgatctgg aacaagagcg cctcgctaaa	720

gaaaaacttc aggaacaaca gagcgattt g gaccaagagc ggagagccaa agagaaattt	780
cagggaaac aatctgacct cgaacaggaa agaaggccca aagagaagct tcaagaacaa	840
caaagtgacc ttgagcaaga gaggcggct aaagaaaaat tgcaagaaca gcagcggat	900
ctcgaacagc ggaaggccga caccaagaag aacctggaac ggaagaaaga acacggcgc	960
gtgctggccg aggacctgta cggcagactg gaaatccccg ccatcgagct gcccagcgg	1020
aacgagcggg gctactacat cccccaccag agcagcctgc cccaggacaa ccggggcaac	1080
agcagagaca gcaaagagat cagcatcatc gaaaaacaa accggagag catcaccacc	1140

aacgtggagg gcagacggga catccacaag ggccacctgg aaaaaagaa ggacggcagc	1200
atcaagcccg agcagaaaga ggacaagagc gccgacatcc agaaccacac cctggaaacc	1260
gtgaacatca ggcacgtgaa cgacttccag atcagcaagt acgaggatga gatcagcgcc	1320
gagtagcactg acagcctgat cgacgaggaa gaggacgacg aggacctgg cgaggtaag	1380
cccatcggtgc agtacgacaa cttccaggac gaggaaaaca tcggcatcta caaagagctg	1440
gaagatctga tcgagaagaa cgagaacctg gatgatctgg acgaggcat cgagaagtcc	1500

agcgaggaac tgagcgagga aaagatcaag aaggcaga aactaaggac 1560

aacaacttca agccaacga caagagcctg tacgtgagc acatcaagaa gtacaaaaac 1620

gacaaacagg tgaacaaaga aaaagagaag ttcatcaagt ccctgttcca catttcgac 1680

ggcgacaacg agatcctgca gatcgtggat gagctgtccg aggacatcac caagtacttc 1740

atgaagctgt accctacga cgtccccgac tacgcctga 1779

<210> 28

<211> 591

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 14

<400> 28

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

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

His Ser Lys His Ile Leu Tyr Ile Ser Phe Tyr Phe Ile Leu Val Asn

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

Leu Leu Ile Phe His Ile Asn Gly Lys Ile Ile Lys Asn Ser Glu Lys

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

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

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

Asn Arg Ile Asn Glu Glu Lys His Glu Lys Lys His Val Leu Ser His

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

Asn Ser Tyr Glu Lys Thr Lys Asn Asn Glu Asn Asn Lys Phe Phe Asp

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

Lys Lys Glu Leu Thr Met Ser Asn Val Lys Asn Val Ser Gln Thr Asn

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

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

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

Lys Glu Asn Lys Leu Asn Lys Glu Gly Lys Leu Ile Glu His Ile Ile

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

Asn Asp Asp Asp Asp Lys Lys Tyr Ile Lys Gly Gln Asp Glu Asn

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

Arg Gln Glu Asp Leu Glu Glu Lys Ala Ala Lys Glu Thr Leu Gln Gly
 165 170 175
 Gln Gln Ser Asp Leu Glu Gln Glu Arg Leu Ala Lys Glu Lys Leu Gln
 180 185 190
 Glu Gln Gln Ser Asp Ser Glu Gln Glu Arg Leu Ala Lys Glu Lys Leu
 195 200 205

 Gln Glu Gln Gln Ser Asp Leu Glu Gln Glu Arg Leu Ala Lys Glu Lys
 210 215 220
 Leu Gln Glu Gln Gln Ser Asp Leu Glu Gln Glu Arg Leu Ala Lys Glu
 225 230 235 240
 Lys Leu Gln Glu Gln Gln Ser Asp Leu Glu Gln Glu Arg Arg Ala Lys
 245 250 255
 Glu Lys Leu Gln Glu Gln Gln Ser Asp Leu Glu Gln Glu Arg Arg Ala
 260 265 270

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

 Pro Ser Glu Asn Glu Arg Gly Tyr Tyr Ile Pro His Gln Ser Ser Leu
 340 345 350
 Pro Gln Asp Asn Arg Gly Asn Ser Arg Asp Ser Lys Glu Ile Ser Ile
 355 360 365
 Ile Glu Lys Thr Asn Arg Glu Ser Ile Thr Thr Asn Val Glu Gly Arg
 370 375 380
 Arg Asp Ile His Lys Gly His Leu Glu Glu Lys Lys Asp Gly Ser Ile
 385 390 395 400

 Lys Pro Glu Gln Lys Glu Asp Lys Ser Ala Asp Ile Gln Asn His Thr

405	410	415
Leu Glu Thr Val Asn Ile Ser Asp Val Asn Asp Phe Gln Ile Ser Lys		
420	425	430
Tyr Glu Asp Glu Ile Ser Ala Glu Tyr Asp Asp Ser Leu Ile Asp Glu		
435	440	445
Glu Glu Asp Asp Glu Asp Leu Asp Glu Phe Lys Pro Ile Val Gln Tyr		
450	455	460

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

Leu Tyr Asp Glu His Ile Lys Lys Tyr Lys Asn Asp Lys Gln Val Asn		
530	535	540
Lys Glu Lys Glu Lys Phe Ile Lys Ser Leu Phe His Ile Phe Asp Gly		
545	550	555
Asp Asn Glu Ile Leu Gln Ile Val Asp Glu Leu Ser Glu Asp Ile Thr		
565	570	575
Lys Tyr Phe Met Lys Leu Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala		
580	585	590

<210> 29

<211> 1758

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 15

<400> 29

atggactgga cctggattct gttcctggtg gccgctgcta caagagtgc a cagcaaccac	60
ctggcaacg tgaagtacct ggtgatcgta ttccctgatct tcttcgacct gtttctggtg	120
aacggccggg acgtgcagaa caacatcgta gacgagatca agtaccggga ggaagtgtgc	180

aacgacgagg tggacctgta cctgctgatg gactgcagcg gcagcatcag acggcacaac	240
tgggtgaacc acgcgtgcc cctggccatg aagctgatcc agcagctgaa cctgaacgag	300
aacgcccattcc acctgtacgt gaacgacttc agcaacaacg ccaaagagat catccggctg	360
cacagcgacg ccagcaagaa caaagagaag gccctgatca tcatcaagag cctgctgagc	420
accaacctgc cctacggccg gaccaacctg tctgacgctc tgctgcaggt gcggaagcac	480
ctgaacgacc ggatcaacccg ggagaacgcc aaccagctgg tggtgatcct gaccgacggc	540
atccccgaca gcatccagga cagcctgaaa gagagccgga agctgaacga cagaggcgtg	600
aagatcgccg tttcgccat cggccaggc atcaacgtgg cttcaacag attcctggtg	660
ggctgtcacc ccagcgacgg caagtgcaac ctgtacgccc acagcgcctg ggagaacgtg	720
aagaatgtga tcggccctt catgaaggcc gtgtgcgtgg aggtggagaa aaccgccagc	780
tgcggcgtgt gggatgagtg gagccctgc agcgtgaccc gtggcaaggg caccagaagc	840
cggaagcggg agatcctgca cgagggctgc accagcgagc tgcaagaaaca gtgcgaagag	900
gaacgggtcc cccccaagag ggaacccctg gacgtgcccc acgagcccga ggacgaccag	960
cccgaccca gaggcgacaa cttcgccgtg gagaagcccg aggaaaacat catcgacaac	1020
aaccccccagg aaccagccc caaccctgag gaaggcaagg gcgagaaccc caacggcttc	1080
gacctggacg agaaccggca gaatccccca aaccccgaca tcccgagca ggaacccaaac	1140
atccctgagg acagcgagaa agaggtgccc agcgacgtcc ccaagaatcc cgaggatgac	1200
cgggaagaga acttcgacat ccccaagaag cctgagaaca agcacgacaa ccagaacaac	1260
ctgccccaaacg acaagagcga cgggtacatc ccctacagcc ccctgcccc caaggtgctg	1320
gacaacgagc ggaagcagag cgaccccccag agccaggaca acaacggcaa cggcacgtg	1380
cccaacagcg aggacccggg gacaagaccc cacggccgga acaacgagaa cgggtctac	1440
aaccggaaagt acaacgacac ccccaagcac cccgagcggg aggaacacga gaaacccgac	1500
aacaacaaga agaagggcgg cagcgacaaac aagtacaaga ttgccggcgg aatcgctggc	1560
ggactggccc tgctggcttg tgccggctg gcctacaagt ttgtggtgcc tggcggcgct	1620
acaccttatg cggcgagcc tgccccctt gacgagacac tggcgaaaga ggacaaggac	1680
ctggatgagc cggcgcgtt cggctgccc gaagagaacg agtggacta cccctacgac	1740
gtgccccact acgcctga	1758

<210> 30

<211> 585

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 15

<400> 30

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Phe Phe Asp Leu Phe Leu Val Asn Gly Arg Asp Val Gln Asn Asn

35 40 45

Ile Val Asp Glu Ile Lys Tyr Arg Glu Glu Val Cys Asn Asp Glu Val

50 55 60

Asp Leu Tyr Leu Leu Met Asp Cys Ser Gly Ser Ile Arg Arg His Asn

65 70 75 80

Trp Val Asn His Ala Val Pro Leu Ala Met Lys Leu Ile Gln Gln Leu

85 90 95

Asn Leu Asn Glu Asn Ala Ile His Leu Tyr Val Asn Asp Phe Ser Asn

100 105 110

Asn Ala Lys Glu Ile Ile Arg Leu His Ser Asp Ala Ser Lys Asn Lys

115 120 125

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

130 135 140

Tyr Gly Arg Thr Asn Leu Ser Asp Ala Leu Leu Gln Val Arg Lys His

145 150 155 160

Leu Asn Asp Arg Ile Asn Arg Glu Asn Ala Asn Gln Leu Val Val Ile

165 170 175

Leu Thr Asp Gly Ile Pro Asp Ser Ile Gln Asp Ser Leu Lys Glu Ser

180 185 190

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

195 200 205

Gln Gly Ile Asn Val Ala Phe Asn Arg Phe Leu Val Gly Cys His Pro

210 215 220

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

225	230	235	240
Lys Asn Val Ile Gly Pro Phe Met Lys Ala Val Cys Val Glu Val Glu			
245	250	255	
Lys Thr Ala Ser Cys Gly Val Trp Asp Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val			
260	265	270	
Thr Cys Gly Lys Gly Thr Arg Ser Arg Lys Arg Glu Ile Leu His Glu			
275	280	285	
Gly Cys Thr Ser Glu Leu Gln Glu Gln Cys Glu Glu Glu Arg Cys Pro			
290	295	300	
Pro Lys Arg Glu Pro Leu Asp Val Pro His Glu Pro Glu Asp Asp Gln			
305	310	315	320
Pro Arg Pro Arg Gly Asp Asn Phe Ala Val Glu Lys Pro Glu Glu Asn			
325	330	335	
Ile Ile Asp Asn Asn Pro Gln Glu Pro Ser Pro Asn Pro Glu Glu Gly			
340	345	350	
Lys Gly Glu Asn Pro Asn Gly Phe Asp Leu Asp Glu Asn Pro Glu Asn			
355	360	365	
Pro Pro Asn Pro Asp Ile Pro Glu Gln Glu Pro Asn Ile Pro Glu Asp			
370	375	380	
Ser Glu Lys Glu Val Pro Ser Asp Val Pro Lys Asn Pro Glu Asp Asp			
385	390	395	400
Arg Glu Glu Asn Phe Asp Ile Pro Lys Lys Pro Glu Asn Lys His Asp			
405	410	415	
Asn Gln Asn Asn Leu Pro Asn Asp Lys Ser Asp Arg Tyr Ile Pro Tyr			
420	425	430	
Ser Pro Leu Pro Pro Lys Val Leu Asp Asn Glu Arg Lys Gln Ser Asp			
435	440	445	
Pro Gln Ser Gln Asp Asn Asn Gly Asn Arg His Val Pro Asn Ser Glu			
450	455	460	
Asp Arg Glu Thr Arg Pro His Gly Arg Asn Asn Glu Asn Arg Ser Tyr			
465	470	475	480

Asn Arg Lys Tyr Asn Asp Thr Pro Lys His Pro Glu Arg Glu Glu His

485 490 495

Glu Lys Pro Asp Asn Asn Lys Lys Gly Gly Ser Asp Asn Lys Tyr

500 505 510

Lys Ile Ala Gly Gly Ile Ala Gly Gly Leu Ala Leu Leu Ala Cys Ala

515 520 525

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

530 535 540

Gly Glu Pro Ala Pro Phe Asp Glu Thr Leu Gly Glu Glu Asp Lys Asp

545 550 555 560

Leu Asp Glu Pro Glu Gln Phe Arg Leu Pro Glu Glu Asn Glu Trp Asn

565 570 575

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

580 585

<210> 31

<211> 627

<212> DNA

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 16

<400> 31

atggactgga cctggattct gttcctggtg gccgctgccca caagagtgc a cagcaacgcc	60
ctgcggagac tgcccggtat ctgcagcttc ctgggtttc tgggtttagt caacgtgctg	120
tgcttccggg gcaacaacgg ccacaacagg agcagcagcc tgtacaacgg cagccatgttcc	180
atcgagcgc tgaacaacag cttcaccagg gccttctgg aaagccagag catgaacaag	240
atcgccgacg acctggccga gacaatcagc aacgagctgg tgtccgtgt gcagaagaac	300
agccccacct tcctggaaag cagttcgac atcaagagcg aagtgaagaa acacgccaag	360

agcatgctga aagaactgat caaagtggc ctgcccagct tcgagaatct ggtcgccgag	420
aacgtgaagc ccccaaggt ggaccctgcc acatacggca tcatcggtcc cgtgctgacc	480
agcctgttca acaaggtgga gacagccgtg ggcccaagg tgtccgacga gatctggAAC	540
tacaacagcc ccgacgtgtc cgagagcgag gaaagcctga ggcacgactt cttcgactac	600
ccctacgacg tgcccgacta cgcctgta	627

<210> 32

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 16

<400

> 32

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

1 5 10 15

His Ser Asn Ala Leu Arg Arg Leu Pro Val Ile Cys Ser Phe Leu Val

20 25 30

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

35 40 45

Asn Ser Ser Ser Ser Leu Tyr Asn Gly Ser Gln Phe Ile Glu Gln Leu

50 55 60

Asn Asn Ser Phe Thr Ser Ala Phe Leu Glu Ser Gln Ser Met Asn Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser Glu Val Lys Lys His Ala Lys Ser Met Leu Lys Glu Leu Ile Lys

115 120 125

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

130 135 140

Pro Lys Val Asp Pro Ala Thr Tyr Gly Ile Ile Val Pro Val Leu Thr

145 150 155 160

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

165 170 175

Glu Ile Trp Asn Tyr Asn Ser Pro Asp Val Ser Glu Ser Glu Ser

180 185 190

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

195 200 205

<210> 33

<211> 1944

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 17

<400> 33

atggactgga catggattct gttcctgggt gctgctgcta ctagagtgc ttcaagaaaa	60
ctgttattgcg tgctgctgct gagcgccttc gagttcaccc atatgatcaa cttcgaaagg	120
ggccagaatt actgggagca cccctatcg aactctgacg tgtaccgacc tattaatgaa	180
caccgggagc atcccaagga gtacgaatat cctctgcacc aggaacatac atatcagcag	240

gaggacagcg gggaggatga aaacactctg cagcaegcct acccaatcga ccatgaagga	300
gctgagccag cacccagga gcagaatctg tttagctcca tcgaaattgt ggagcgcagt	360
aactacatgg gcaatccctg gaccgagttac atggcaagt atgatatcga ggaagtccac	420
gggtccggaa ttccgtgga cctggcgaa gatgccgagg tcgctggac acagtatcga	480
ctgcctccg gcaaatgccc agtgttcggc aaggggatca ttatcgagaa ctctaatacc	540
acatttctga cccccgtggc cacaggaaac cagttacatcg aggacggcgg attcgcttt	600
ccccctactg aaccctgtatg gtctcctatg accctggacg agatgaggca cttctacaag	660

gataacaaat acgtcaagaa tctggacgag ctgactctgt gtcacgcca tgctggaaac	720
atgatcccg acaacgataa gaacagcaac tacaagtatc ccgcagtgta cgacgataag	780
gacaagaataat gtcacatct gtatattgcc gtcaggaaa acaatggccc ccggtaactgc	840
aacaaagatg agtctaagag aaacagtatg ttctgtttca ggcctgcaaa agacatcagt	900
ttccagaact acacatatct gtcaaagaac gtggcgtata attgggagaa agtgtgcgg	960
agaaagaacc tgcaaatgc taagttggg ctgtgggtcg acggaaactg cgaagatatc	1020
ccacacgtga atgagttccc cgcaattgac ctgttgaat gtaacaagct ggtttcag	1080

ctgtccgcct ctgatcagcc taagcagttac gagcagcatc tgacagacta tgaaaagatc	1140
aaagagggtt ttaagaacaa aaacgcatac atgatcaaga ggccttc gccaactgg	1200
gccttcaagg ccgataggtt caaaagccac ggaaaggctt acaactgggg aaactataat	1260
acagaaactc agaaatgcga gatcttcaat gtcaagccca cctgtctgtat caacaattct	1320
agttacatcg ctactaccgc actgtctcat cctattgagg tggaaaacaa tttccatgc	1380
agtctgtaca aagacgaaat catgaaggag attgaaaggg agagcaaacg catcaagctg	1440
aacgataatg acgatgaggg gaacaagaaa attatgcggc ctcgaatctt cattccgac	1500

gataaaagact ctctgaagtgc cccttgtat ccagagatgg tcagtaattc aacctgtcg	1560
ttctttgtct gcaagtgcgt ggaacggaga gccgagggtga catccaacaa tgaggtggtc	1620
gtgaaaagagg aatacaagga cgaatatgcc gatatcccag agcacaagcc cacttacgac	1680
aagatgaaaa ttatcattgc tcaagcgca gccgtcgccg tgctggctac cattcigatg	1740
gtgtacctgt ataagagaaa aggaaacgcc gaaaaatacg acaagatgga tgaggctcag	1800
gattatggca aaagcaactc ccggaatgac gaaatgctgg accccgaggc tagctttgg	1860
ggcgaggaaa agagagcatc ccataccacc cccgtcctga tggaaaagcc ttactattac	1920

ccctacgatg tgcccgatta cgca 1944

<210> 34

<211> 648

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 17

<400> 34

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

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

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

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

Thr Tyr Met Ile Asn Phe Gly Arg Gly Gln Asn Tyr Trp Glu His Pro

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

Tyr Gln Asn Ser Asp Val Tyr Arg Pro Ile Asn Glu His Arg Glu His

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

Pro Lys Glu Tyr Glu Tyr Pro Leu His Gln Glu His Thr Tyr Gln Gln

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

Glu Asp Ser Gly Glu Asp Glu Asn Thr Leu Gln His Ala Tyr Pro Ile

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

Asp His Glu Gly Ala Glu Pro Ala Pro Gln Glu Gln Asn Leu Phe Ser

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

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

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

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

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

Arg Val Asp Leu Gly Glu Asp Ala Glu Val Ala Gly Thr Gln Tyr Arg
 145 150 155 160
 Leu Pro Ser Gly Lys Cys Pro Val Phe Gly Lys Gly Ile Ile Ile Glu
 165 170 175
 Asn Ser Asn Thr Thr Phe Leu Thr Pro Val Ala Thr Gly Asn Gln Tyr
 180 185 190
 Leu Lys Asp Gly Gly Phe Ala Phe Pro Pro Thr Glu Pro Leu Met Ser
 195 200 205
 Pro Met Thr Leu Asp Glu Met Arg His Phe Tyr Lys Asp Asn Lys Tyr
 210 215 220
 Val Lys Asn Leu Asp Glu Leu Thr Leu Cys Ser Arg His Ala Gly Asn
 225 230 235 240
 Met Ile Pro Asp Asn Asp Lys Asn Ser Asn Tyr Lys Tyr Pro Ala Val
 245 250 255
 Tyr Asp Asp Lys Asp Lys Cys His Ile Leu Tyr Ile Ala Ala Gln
 260 265 270
 Glu Asn Asn Gly Pro Arg Tyr Cys Asn Lys Asp Glu Ser Lys Arg Asn
 275 280 285
 Ser Met Phe Cys Phe Arg Pro Ala Lys Asp Ile Ser Phe Gln Asn Tyr
 290 295 300
 Thr Tyr Leu Ser Lys Asn Val Val Asp Asn Trp Glu Lys Val Cys Pro
 305 310 315 320
 Arg Lys Asn Leu Gln Asn Ala Lys Phe Gly Leu Trp Val Asp Gly Asn
 325 330 335
 Cys Glu Asp Ile Pro His Val Asn Glu Phe Pro Ala Ile Asp Leu Phe
 340 345 350
 Glu Cys Asn Lys Leu Val Phe Glu Leu Ser Ala Ser Asp Gln Pro Lys
 355 360 365
 Gln Tyr Glu Gln His Leu Thr Asp Tyr Glu Lys Ile Lys Glu Gly Phe
 370 375 380
 Lys Asn Lys Asn Ala Ser Met Ile Lys Ser Ala Phe Leu Pro Thr Gly

385	390	395	400
Ala Phe Lys Ala Asp Arg Tyr Lys Ser His Gly Lys Gly Tyr Asn Trp			
405	410	415	
Gly Asn Tyr Asn Thr Glu Thr Gln Lys Cys Glu Ile Phe Asn Val Lys			
420	425	430	
Pro Thr Cys Leu Ile Asn Asn Ser Ser Tyr Ile Ala Thr Thr Ala Leu			
435	440	445	
Ser His Pro Ile Glu Val Glu Asn Asn Phe Pro Cys Ser Leu Tyr Lys			
450	455	460	
Asp Glu Ile Met Lys Glu Ile Glu Arg Glu Ser Lys Arg Ile Lys Leu			
465	470	475	480
Asn Asp Asn Asp Asp Glu Gly Asn Lys Ile Ile Ala Pro Arg Ile			
485	490	495	
Phe Ile Ser Asp Asp Lys Asp Ser Leu Lys Cys Pro Cys Asp Pro Glu			
500	505	510	
Met Val Ser Asn Ser Thr Cys Arg Phe Phe Val Cys Lys Cys Val Glu			
515	520	525	
Arg Arg Ala Glu Val Thr Ser Asn Asn Glu Val Val Val Lys Glu Glu			
530	535	540	
Tyr Lys Asp Glu Tyr Ala Asp Ile Pro Glu His Lys Pro Thr Tyr Asp			
545	550	555	560
Lys Met Lys Ile Ile Ile Ala Ser Ser Ala Ala Val Ala Val Leu Ala			
565	570	575	
Thr Ile Leu Met Val Tyr Leu Tyr Lys Arg Lys Gly Asn Ala Glu Lys			
580	585	590	
Tyr Asp Lys Met Asp Glu Pro Gln Asp Tyr Gly Lys Ser Asn Ser Arg			
595	600	605	
Asn Asp Glu Met Leu Asp Pro Glu Ala Ser Phe Trp Gly Glu Glu Lys			
610	615	620	
Arg Ala Ser His Thr Thr Pro Val Leu Met Glu Lys Pro Tyr Tyr Tyr			
625	630	635	640

Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

645

<210> 35

<211> 1161

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus nucleic acid sequence 18

<400> 35

atggactgga cctggattct gttcctggtg gccgctgcc aacgggtgca cagcatgcgg	60
aagctggcta tccctgagcgt gtccagcttc ctgttcgtgg agggccctgtt ccaagagtac	120

cagtgctacg gcagcagcag caacacaaga gtgctgaacg agctgaacta cgacaacgcc	180
ggcaccaacc tgtacaacga gctggaaatg aactactacg gcaaggcagga aaactggtag	240
agcctgaaga agaacagccg gtccctgggc gagaacgacg acggcaacaa caacaacggc	300
gacaacggca gagagggcaa ggacgaggac aagcgggatg gcaacaacga ggacaacgag	360
aagctgcgga agcccaagca caagaagctg aagcagcccg ggcacggcaa ccccgacccc	420
aacgccaacc ccaacgtgga ccccaatgcc aatcctaattg tcgatcccaa cgctaaccct	480
aatgtcgacc ctaacgcaaa tcctaacgcc aatcccaatg caaacccctaa tgccaaaccc	540

aatgctaattc caaacgcaaa ccccaatgct aaccccaacg ctaaccctaa tgcaaattca	600
aatgccaacc ccaacgccaa cccaaacgcc aatcccaacg ctaatcctaa cgctaaccct	660
aacgccaatc ctaacgccaa cccaaacgct aaccccaatg ccaaccccaa tgcaaattct	720
aatgctaattc ctaacgctaa tc当地atgca aatccaaacaca agaacaacca gggcaacggc	780
cagggccaca acatgccccaa cgaccccaac cggaacgtgg acgagaatgc caatgccaac	840
aacggcgtga agaacaacaa caatgaggaa cccagcgaca agcacatcga gcagtagctc	900
aagaagatcc agaacagcct gagcaccgag tggagccct gtagcgtgac ctgcggcaac	960

ggcatccaag tccggatcaa gcccggcagc gccacaacaagc ccaaggacga gctggattac	1020
gagaacgaca tc当地agaagaa aatctgcaag atggaaaagt gcagcagcgt gttcaacgtg	1080
gtcaacagca gcatcgccct gatcatggtg ctgagcttc tggccctaa ctaccctac	1140
gacgtgccccg actacgcctg a	1161

<210> 36

<211> 386

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen consensus amino acid sequence 18

<400> 36

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

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

His Ser Met Arg Lys Leu Ala Ile Leu Ser Val Ser Ser Phe Leu Phe

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

Val Glu Ala Leu Phe Gln Glu Tyr Gln Cys Tyr Gly Ser Ser Ser Asn

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

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

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

Tyr Asn Glu Leu Glu Met Asn Tyr Tyr Gly Lys Gln Glu Asn Trp Tyr

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

Ser Leu Lys Lys Asn Ser Arg Ser Leu Gly Glu Asn Asp Asp Gly Asn

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

Asn Asn Asn Gly Asp Asn Gly Arg Glu Gly Lys Asp Glu Asp Lys Arg

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

Asp Gly Asn Asn Glu Asp Asn Glu Lys Leu Arg Lys Pro Lys His Lys

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

Lys Leu Lys Gln Pro Gly Asp Gly Asn Pro Asp Pro Asn Ala Asn Pro

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

Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro

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

Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

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

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

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

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

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

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

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

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

225 230 235 240

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Lys Asn Asn

245 250 255

Gln Gly Asn Gly Gln Gly His Asn Met Pro Asn Asp Pro Asn Arg Asn

260 265 270

Val Asp Glu Asn Ala Asn Ala Asn Asn Ala Val Lys Asn Asn Asn

275 280 285

Glu Glu Pro Ser Asp Lys His Ile Glu Gln Tyr Leu Lys Lys Ile Gln

290 295 300

Asn Ser Leu Ser Thr Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val Thr Cys Gly Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

Glu Leu Asp Tyr Glu Asn Asp Ile Glu Lys Lys Ile Cys Lys Met Glu

340 345 350

Lys Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser Ser Ile Gly Leu Ile

355 360 365

Met Val Leu Ser Phe Leu Phe Leu Asn Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp

370 375 380

Tyr Ala

385

<210> 37

<211> 3584

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> plasmid 1

<

400> 37

gctgcttcgc gatgtacggg ccagatatac gcgttgacat tgattattga ctgtttatta	60
atagtaatca attacgggtt cattagttca tagcccatat atggagttcc gcgttacata	120
acttacggta aatggcccgcc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat tgacgtcaat	180
aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggacttgc cattgacgtc aatgggtgga	240
gtattnacgg taaactgccct acttggcagt acatcaagtgt tatcatatgc caagtacccc	300

ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccgat acatgaccc atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgcttata ccatggtgat	360 420
gcgggtttgg cagtacatca atggcgtgg atagcggtt gactcacggg gatttccaag tctccacccc attgacgtca atgggagttt gtttggcac caaaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg ccccatttgcac gcaaattggc ggttaggcgtg tacggtggga ggtctatata agcagagctc tctggctaac tagagaaccc actgcttact ggcttatcga aattaatacg actcactata gggagaccca agctggctag cgttttaact taagcttgg accgagctcg gatccggccac catggactgg acctggattc tgcccttgtt ggccgctgcc acaagagtgc acagcaacgc cctgcggaga ctgcccgtga tctgcagctt cctgggttt	480 540 600 660 720 780 840
ctgggtttca gcaacgtgct gtgcttccgg ggcaacaacg gccacaacag cagcagcagc ctgtacaacg gcagccagtt catcgagcag ctgaacaaca gtttccaccag cgccttctg gaaagccaga gcatgaacaa gatcggcgac gacctggccg agacaatcag caacgagctg gtgtccgtgc tgcaagaagaa cagccccacc ttccctggaaa gcagcttcga catcaagagc gaagtgaaga aacacgccaa gagcatgtg aaagaactga tcaaagtgg cctgcccagc ttcgagaatc tggtcggcga gaacgtgaag cccccaagg tggaccctgc cacatacggc atcatgtgc ccgtgtgtac cagcctgttc aacaagggtgg agacagccgt gggcgccaag	900 960 1020 1080 1140 1200 1260
gtgtccgacg agatctggaa ctacaacagc cccgacgtgt ccgagagcga ggaaggccgt agcgacgact tcttcgacta cccctacgac gtgcccggact acgcctgtatc actcgagct agagggcccg tttaaaccgg ctgatcagcc tcgactgtgc ttcttagttt ccagccatct gttggggccgt gccttccttg accctggaaag gtgccactcc cactgtcctt tcctataaaa atgaggaaat tgcatcgat tgcgtgat ggtgtcattt tattctgggg ggtgggggtgg ggcaggacag caagggggag gattggaaag acaatagcag gcatgctgg gatgcgggtgg gctctatggc ttctactggg cgggtttatg gacagcaagc gaaccggaaat	1320 1380 1440 1500 1560 1620 1680
tgccagctgg ggcgcctct ggttaagggtt ggaaggccgtg caaagtaaac tggatggctt tcttgccgcc aaggatctga tggcgcagg gatcaagctc tgcgttgc acaggatgag gatcgtttcg catgattgaa caagatggat tgcacgcagg ttctccggcc gcttgggtgg agaggctatt cggctatgac tggcacaac agacaatcgg ctgcgtat gcccgggt tccggctgtc agcgcagggg cgcccggttc tttttgtcaa gaccgaccc tccggtgccc tgaatgaact gcaagacgag gcagcgcggc tatcggtggt ggccacgacg ggcgttcctt	1740 1800 1860 1920 1980 2040

ggcgcgtgt gctcgacgtt gtcactgaag cgggaaggga ctggctgcta ttggcgaag 2100

tgccgggca ggatctcctg tcatctcacc ttgctcctgc cgagaaagta tccatcatgg 2160
 ctgatgcaat gcccggctg catacgctt atccggctac ctgccattc gaccaccaag 2220
 cgaacatcg catcgagcga gcacgtactc ggatgaaagc cggcttgatc gatcaggatg 2280
 atctggacga agagcatcg gggctcgcc cagccgaact gttcgccagg ctcaaggcga 2340
 gcatgccga cggcgaggat ctgcgtga cccatggcga tgccctgtt ccgaatatca 2400
 tggtgaaaaa tggccctt tctggattca tcgactgtgg cggctgggt gtggcggacc 2460
 gctatcagga catagcgtt gctacccgtt atattgttga agagcttgc ggcgaatggg 2520

ctgaccgctt cctcgtgctt tacggtatcg ccgcctccga ttgcgcgcgc atgccttct 2580
 atcgccttct tgacgagttc ttctgaatta ttaacgctta caatttcctg atgcggatt 2640
 ttctccttac gcatctgtgc ggtatttac accgcattcag gtggcactt tcggggaaat 2700
 gtgcgcggaa cccctatttgc ttatatttcaaaatatttcaaataatgtt tccgcctatg 2760
 agacaataac cctgataaat gcttcaataa tagcacgtgc taaaacttca ttttaattt 2820
 aaaaggatct aggtgaagat ctttttgcatttcatgc cccaaatccc ttaacgttag 2880
 ttttcgttcc actgagcgtc agacccgtt gaaaagatca aaggatcttgc ttgagatcct 2940

tttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa aaaaaaaaaac caccgcattt accgggtgtt 3000
 tgtttgcgg atcaagagct accaactt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg 3060
 cagataccaa atactgttct tcttagttagt ccgttagttttagt gccaccactt caagaactct 3120
 gtagcaccgc ctacataacctt ccgtctgttca atccgttac cagtggctgc tgccagttgc 3180
 gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgcagcgg 3240
 tcgggctgaa cgggggggttc gtgcacacag cccagttgg agcgaacgc acacccgaa 3300
 ctgagatacc tacagcgtt gctatgagaa agcgccacgc ttcccaagg gagaaaggcg 3360

gacaggtatc cggttaagcgg cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga gcttccagg 3420
 ggaaacgcct ggtatcttta tagtccgttc gggttcgcc acctctgact tgagcgttca 3480
 ttttgttgcgtt gctcgtcagg gggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccccc 3540
 ttacgggttcc tggcttttgc ttggcctttt gctcacatgt tctt 3584

<210> 38

<211> 4274

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> plasmid 2

<400> 38

gctgttcgc gatgtacggg ccagatatac gcgttgacat tgattattga ctgttatta	60
atagtaatca attacgggtt cattagttca tagcccatat atggagttcc gcgttacata	120
acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat tgacgtcaat	180
aatgacgtat gtcccatag taacgccaat agggacttgc cattgacgtc aatgggtgga	240
gtatttacgg taaaactgccc acttggcagt acatcaagt tatcatatgc caagtacgcc	300
ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgccctggcat tatgcccagt acatgacctt	360
atggacttt cctacttggc agtacatcta cgtatttagtc atcgcttata ccatggtgat	420
gcgggtttgg cagtagatca atggcgtgg atagcggtt gactcacggg gatttccaag	480
tctccacccc attgacgtca atggagttt gtttggcac caaatcaac gggactttcc	540
aaaatgtcgt aacaactccg ccccattgac gcaaattggc ggtaggcgtg tacggtgga	600
gtcttatata agcagagctc tctggctaac tagagaaccc actgcttact ggcttatcga	660
aattaatacg actcactata gggagaccca agctggctag cgttaaact taagcttggt	720
accgagctcg gatcgccac catggactgg acctggattc tggccctggt ggccgctgcc	780
acacgggtgc acagcatgctg gaagctggct atcctgagcg tgtccagctt cctgttcgtg	840
gaggccctgt tccaagagta ccagtgtac ggcaggagca gcaacacaag agtgcgtgaac	900
gagctgaact acgacaacgc cggcaccaac ctgtacaacg agctggaaat gaactactac	960
ggcaaggcagg aaaaactggta cagcctgaag aagaacagcc ggtccctggg cgagaacgac	1020
gacgcaaca acaacaacgg cgacaacggc agagagggca aggacgagga caagcgggat	1080
ggcaacaacg aggacaacga gaagctgcgg aagcccaagc acaagaagct gaagcagccc	1140
ggcgcacggca accccgaccc caacgccaac cccaaacgtgg accccaaatgc caatcctaatt	1200
gtcgatccca acgctaaccc aaatgtcgac cctaacgcaa atcctaacgc caatccaaat	1260
gcaaaacccta atgccaaccc aaatgctaatt ccaaacgcaa accccaaatgc taacccaaac	1320
gctaacccta atgcaaatcc aaatgccaac cccaaacgcca accccaaacgc caatccaaac	1380
gctaattccta acgctaaccc caacgccaat cctaacgcca accccaaacgc taacccaaat	1440
gccaacccca atgcaaatcc taatgctaatt cctaacgcta atccaaatgc aaatccaaac	1500
gctaattccta atgccaaccc taacgcaaac cccaaacgcaa atccaaatgc taacccaaat	1560
gcaaaatccca acgccaatcc aaacgcaaatt ccaaatgcca atcctaattgc aaaccctaaat	1620
gcaaaatccca atgctaattcc taatgctaatt ccaaacaaga acaaccaggg caacggccag	1680
ggccacaaca tggccaaacgca ccccaacccgg aacgtggacg agaatgccaat tgccaaacaac	1740

gccgtgaaga aacaacaacaa tgaggaaccc agcgacaagg acatcgagca gtacctcaag	1800
aagatccaga acagcctgag caccgagtgg agcccctgt a gcgtgacctg cgccaacggc	1860
atccaagtcc ggtcaagcc cggcagcgc aacaagccca aggacgagct ggattacgag	1920
aacgacatcg agaagaaaat ctgcaagatg gaaaagtgc a gcagcgtgtt caacgtggc	1980
aacagcagca tcggcctgat catggtgct agcttctgt tccacta cccctacgac	2040
gtgcccact acgcctgatg actcgagtct agagggcccg tttaaaccgc ctgatcagcc	2100
tgcactgtgc ctcttagttt ccagccatct gttgttgcc cctccccgt gccttccttgc	2160
acccttggaaag gtgccactcc cactgtcctt tcctaataaaa atgagggaaat tgcatcgat	2220
tgtctgagta ggtgtcattt tattctgggg ggtggggtgg ggcaggacag caagggggag	2280
gattgggaag acaatagcag gcatgctggg gatgcgggtgg gctctatggc ttctactggg	2340
cggtttatg gacagcaagc gaaccggaaat tgccagctgg ggcgcctct ggttaaggttg	2400
ggaagccctg caaagtaaac tggatggctt tcttgcgcc aaggatctga tggcgaggg	2460
gatcaagctc tcatcaagag acaggatgag gatcgttcg catgattgaa caagatggat	2520
tgcacgcagg ttctccggcc gtttgggtgg agaggctatt cggctatgac tggcacaac	2580
agacaatcgg ctgtctgat gccggctgt tccggctgtc agcgcagggg cgccgggttc	2640
tttttgtcaa gaccgacctg tccgggtgcc tgaatgaact gcaagacgag gcagcgcggc	2700
tatcgiggct gcccacgacg ggcgttcctt ggcgcagctgt gctcgacgtt gtcactgaag	2760
cgggaaggga ctggctgcta ttggcgaag tgccgggca ggtatctctg tcatctacc	2820
ttgctctgc cgagaaagta tccatcatgg ctgatgcaat gggcggtcg catacgcttgc	2880
atccggctac ctgcccattt gaccaccaag cgaaacatcg catcgacgca gcacgtactc	2940
ggatggaagc cggcttgctc gatcaggatg atctggacga agagcatcag gggctcgcg	3000
cagccgaact gttcgccagg ctcaaggcga gcatgcccga cggcgaggat ctcgtcgtga	3060
cccatggcga tgcctgcttgc cgaatatca tggggaaaa tggccgttt tctggattca	3120
tcgactgtgg cggcgtgggt gtggcggacc gctatcagga catagcgtt gctacccgt	3180
atattgtga agagcttggc ggcgaatggg ctgaccgtt cctcgatgt tacggatcg	3240
ccgcctccga ttgcagcgc atgccttct atgccttct tgacgagttc ttctgaatta	3300
ttaacgctta caatttcctg atgcggattt ttctccttac gcatctgtgc ggtatccac	3360
accgcattcag gtggcacttt tcggggaaat gtgcggaa cccctatttgc ttatccatc	3420
taaatacatt caaatatgtt tccgctcatg agacaataac cctgataaaat gcttcaataa	3480

tagcacgtgc taaaacttca ttttaattt aaaaggatct aggtgaagat ccttttgat	3540
aatctcatga cccaaatccc ttaacgttag tttcggtcc actgagcgtc agacccgta	3600
gaaaagatca aaggatctt ttgagatct tttttctgc gcgtaatctg ctgctgcaa	3660
acaaaaaaac caccgttacc agcgggttt tggttgcgg atcaagagct accaacttt	3720
tttccgaagg taactggctt cagcagageg cagataccaa atactgttct tctagtgtag	3780
cgtagtttag gccaccactt caagaactct gtagcaccgc ctacataacct cgctctgcta	3840
atcctgttac cagtggctgc tgccagtgcc gataagtct gtcttaccgg gttggactca	3900

agacgatagt taccggataa ggccgcgg tcgggctgaa cgggggttc gtgcacacag	3960
cccgacgtgg agcgaacgac ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa	4020
agcgcacgc ttcccgagg gagaaaggcg gacaggtatc cggttaagcgg cagggtcgga	4080
acaggagagc gcacgaggga gttccagggg ggaaacgcct ggtatctta tagtcgtc	4140
gggttgcac acctctgact tgagcgtca ttttgtat gctcgtcagg gggcggagc	4200
ctatggaaa acgccagcaa cgccgcctt ttacggttcc tggcctttt ctggccttt	4260
gctcacatgt tctt	4274

<210> 39

<211> 4736

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> plasmid 3

<400> 39

gctgcttcgc gatgtacggg ccagatatac gcgttacat tgattattga ctgttatta	60
atagtaatca attacgggt cattagttca tagccatat atggagttcc gcgttacata	120
acttacggta aatggccgc ctggctgacc gcccaacgac cccgcctat tgacgtcaat	180
aatgacgtat gttccatag taacgccaat agggacttcc cattgacgtc aatgggtgga	240
gtatCACGG taaaACTGCCG acttggcagt acatcaagt tatcatatgc caagtaccc	300
ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt acatgacctt	360

atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgcttata ccatgggtat	420
gcgggtttgg cagtacatca atggcgtgg atagcggtt gactcacggg gatttccaag	480
tctccacccc atigacgtca atgggagttt gtttggcac caaatcaac gggacttcc	540
aaaatgtcgt aacaactccg ccccattgac gcaaattggc ggtaggcgt tacgggtggaa	600
ggcttatata agcagagctc tctggctaac tagagaaccc actgcttact ggcttatcga	660
aattaaatacg actcactata gggagaccca agctggctag cgttaaact taagcttgg	720

accgagctcg gatccgccac catggactgg acctggattc ttttcctcgt cgca	780
accagagtgc acagcaagca catcctgtac atcagcttct acttcatacct ggtgaacctg	840
ctgatcttcc acatcaacgg caagatcatc aagaacagcg agaaggacga gatcatcaa	900
agcaacactgc ggagcggcag cagcaacagc cgaaaccgga tcaacgagga aaagcacgag	960
aagaaacacg tgctgagcca caacagctac gaaaagacca agaacaatga gaacaacaag	1020
ttcttcgaca aggacaaaga actgaccatg agcaacgtga agaacgtgtc ccagaccaac	1080
ttcaagagcc tgctgcccga cctggcgtg agcgagaaca ttttcctgaa agagaacaag	1140
ctgaacaaag agggcaagct gatcgagcac atcatcaacg acgacgacga taagaagaag	1200
tacatcaagg gccaggacga gaaccggcag gaagatctgg aagagaaggc cgccaaagag	1260
acactgcagg gccagcagag cgacctggaa caggaacggc tggccaaaga aaagctgcag	1320
gaacagcagt ccgacagcga gcagggaaaga ctggctaaag agaaactcca agagcagcag	1380
tctgacttgg agcaggaacg cctcgaaaa gagaagttgc aagagcaaca gtccgatctg	1440
gaacaagagc gcctcgctaa agaaaaactt caggaacaac agagcgtt ggagcaagag	1500
cggagagcca aagagaaatt gcaggaacaa caatctgacc tcgaacagga aagaaggcc	1560
aaagagaagc ttcaagaaca acaaagtgc cttgagcaag agaggcggc taaagaaaa	1620
ttgcaagaac agcagcggga tctcgaacag cgaaaggccg acaccaagaa gaacctggaa	1680
cggaagaaag aacacggcga cgtgctggcc gaggacgt acggcagact ggaatcccc	1740
gccatcgagc tgcccagcga gaacgagcgg ggctactaca tccccacca gagcagcctg	1800
ccccaggaca accggggcaa cagcagagac agcaagaga tcagcatcat cgagaaaaaca	1860
aaccggaga gcatcaccac caacgtggag ggcagacggg acatccacaa gggccacctg	1920
gaagaaaaaga aggacggcag catcaagccc gagcagaaag aggacaagag cgccgacatc	1980
cagaaccaca ccctggaaac cgtgaacatc agcgacgtga acgacttcca gatcagcaag	2040
tacgaggatg agatcagcgc cgagtacgac gacagcctga tcgacgagga agaggacgac	2100
gaggacctgg acgagttcaa gcccattgtc cagtaacgaca acttccagga cgaggaaaac	2160
atcggcatct acaaagagct ggaagatctg atcgagaaga acgagaacct ggtatgtctg	2220
gacgaggcga tcgagaagtc cagcggaggaa ctgagcgggg aaaagatcaa gaagggcaag	2280
aagtacgaga aaactaagga caacaacttc aagcccaacg acaagagcct gtacgtgag	2340
cacatcaaga agtacaaaaa cgacaaacag gtgaacaaag aaaaagagaa gttcatcaag	2400
tccctgttcc acatttcga cggcgacaaac gagatcctgc agatcgtgga tgagctgtcc	2460

gaggacatca ccaagtactt catgaagctg taccctacg acgtccccga ctacgcctga	2520
tgactcgagt cttagggcc cgtttaaaccc cgctgatcag cctcgactgt gccttctagt	2580
tgccagccat ctgtgtttg cccctcccc gtgccttcct tgaccctgga aggtgccact	2640
cccacigtcc tticctaata aaatgaggaa attgcacgc attgtcttag taggtgtcat	2700
tctattctgg ggggtgggt gggcaggac agcaaggggg aggattggga agacaatagc	2760
aggcatgctg gggatgcggt gggctctatg gcttctactg ggccgttttta tggacagcaa	2820
gcgaaccgga attgccagct gggcgccct ctggtaaggt tggaaagccc tgcaaagtaa	2880
actggatggc ttcttgccg ccaaggatct gatggcgcag gggatcaagc tctgatcaag	2940
agacaggatg aggatcgttt cgcatgatig aacaagatgg attgcacgcgca gtttctccgg	3000
ccgcttgggt ggagaggcta ttggctatg actggcaca acagacaatc ggctgctcg	3060
atgccgcgt gttccggctg tcagcgcagg ggcccccgt tcttttgtc aagaccgacc	3120
tgtccgggtc cctgaatgaa ctgcaagacg aggcagcgcg gctatcgtgg ctggcacga	3180
cggcgttcc ttgcgcagct gtgctcgacg ttgtcactga agcggaaagg gactggctgc	3240
tattggcga agtgcgggg caggatctcc tgtcatctca cttgccttc gccgagaaag	3300
tatccatcat ggctgatgca atgcggcggc tgcatacgct tgcatacgct acctgcccatt	3360
tcgaccacca agcggaaacat cgcatcgagg gagcacgtac tcggatggaa gccggcttg	3420
tcgatcagga tgcattggac gaagagcatc aggggctcgc gccagccgaa ctgtcgcca	3480
ggctcaaggc gaggatgccc gacggcgagg atctcgctg gacccatggc gatgcctgct	3540
tgccaatat catgtggaa aatggccgtt ttctggatt catgactgt ggccggctgg	3600
gtgtggcgga ccgctatcg gacatagctg tggctaccg tgatattgtc gaagagcttgc	3660
gcggcgaatg ggctgaccgc ttctcggtc ttacggtat cgccgcctcc gattcgcagc	3720
gcatgcctt ctatgcctt ctgcgtcgat tcttcgtat tataacgct tacaattcc	3780
tgcattgcgtt ttctccctt acgcattgtt gcggtatttc acaccgcattt aggtggact	3840
tttcggggaa atgtgcggg aacccttatt tgtttatttt tctaaataca ttcaaatatg	3900
tatccgtca tgagacaata accctgataa atgcgtcaat aatagcacgt gctaaaactt	3960
cattttat taaaaggat ctggatggaa atccttttgcataatctcat gaccaaaatc	4020
ccttaacgtg agtttcgtt ccactgagcg tcagaccccg tagaaaagat caaaggatct	4080
tcttggatc ctttttctt ggcgtatc tgctgcttc aaacaaaaaa accaccgcta	4140
ccagcgggtgg ttgtttgcc ggatcaagag ctaccaactc ttttccgaa ggtactggc	4200
ttcagcagag cgccagatacc aaatactgtt cttctagttt agccgttagtt aggccaccac	4260
ttcaagaact ctgttagcacc gcctacatac ctgcgtctgc taatcctgtt accagtggt	4320

gctgccagt gcgataagtc gtgtcttacc gggttggact caagacgata gttaccggat	4380
aaggcgcagc ggtcgggctg aacgggggt tcgtcacac agccagctt ggagcgaacg	4440
acctacaccg aactgagata cctacagcgt gagctatgag aaagcggcac gcttcccga	4500
gggagaagg cgacaggtt tccgttaagc ggcagggtcg gaacaggaga gcgcacgagg	4560
gagcttccag gggaaacgc ctggtatctt tatagtcctg tcgggtttcg ccacctctga	4620
cttgagcgtc gattttgtg atgctcgta gggggcgga gcctatgaa aaacgcccac	4680
aacgcggcct tttacggtt cctggcctt tgctggcctt ttgctcacat gttctt	4736
<210> 40	
<211> 4715	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> plasmid 4	
<400> 40	
gctgcttcgc gatgtacggg ccagatatac gcgttgacat tgattattga ctagttatta	60
atagaatca attacgggtt cattagttca tagcccatat atggagttcc gcgttacata	120
acttacggta aatggccgcg ctggctgacc gcccaacgac cccggccat tgacgtcaat	180
aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggacttgc cattgacgtc aatgggtgga	240
gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc caagtacgcc	300
ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgccctggcat tatgcccagt acatgacctt	360
atggactttt cctacttggc agtacatcta cgtatttagtc atcgcttata ccatgggtgat	420
gcgggtttgg cagtagatca atgggcgtgg atagcggtt gactcacggg gatttccaag	480
tctccacccc attgacgtca atggagttt gtttggcac caaaatcaac gggacttcc	540
aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac gcaaattggc ggtaggcgtg tacggtgga	600
ggtctatata agcagagctc tctggctaac tagagaaccc actgcttact ggcttatcga	660
aattaatacg actcaactata gggagaccca agctggctag cgttaaact taagcttgg	720
accgagctcg gatccggccac catggactgg acctggattc ttttcctggt ggccgctgct	780
acaagagtgc acagcaacca cctggcaac gtgaagtacc tggtgatcgt gttcctgatc	840
ttcttcgacc ttttctggt gaacggccgg gacgtgcaga acaacatcgt ggacgagatc	900
aagtaccggg aggaagtgtg caacgacgag gtggacctgt acctgctgat ggactgcagc	960
ggcagcatca gacggcacaa ctgggtgaac cacggcgtgc ccctggccat gaagctgatc	1020
cagcagctga acctgaacga gaacgcccac cacctgtacg tgaacgactt cagcaacaac	1080

gccaaagaga tcatccggct gcacagcgac gccagcaaga acaaagagaa ggccctgatc	1140
atcatcaaga gcctgcttag caccaacctg ccctacggcc ggaccaacct gtctgacgct	1200
ctgctgcagg tgccgaagca cctgaacgac cggatcaacc gggagaacgc caaccagctg	1260
gtggtgatcc tgaccgacgg catccccgac agcatccagg acagccitaa agagagccgg	1320
aagctgaacg acagaggcgt gaagatcgcc gtgttccgca tcggccaggg catcaacgtg	1380
gccttcaaca gattccttgtt gggctgtcac cccagcgacg gcaagtgcaa cctgtacgcc	1440
gacagcgccct gggagaacgt gaagaatgtg atcggcccct tcatgaaggc cgtgtgcgtg	1500
gaggtggaga aaaccgcccag ctgcggcgtg tggatgagt ggagccctg cagcgtgacc	1560
tgtggcaagg gcaccagaag ccggaaagcgg gagatcctgc acgaggcgtg caccagcgag	1620
ctgcaggaac agtgcgaaga ggaacgggtgc cccccaaga gggAACCCCT ggacgtgccc	1680
cacgagcccg aggacgacca gcccagaccc agaggcgaca acttcggcgt ggagaagccc	1740
gaggaaaaca tcatcgacaa caaccccccag gaacccagcc ccaaccctga ggaaggcaag	1800
ggcgagaacc ccaacggctt cgacctggac gagaaccccg agaatcccc caaccccgac	1860
atccccgagc aggaacccaa catccctgag gacagcgaga aagaggtgcc cagcgacgtc	1920
cccaagaatc ccgaggatga ccgggaagag aacttcgaca tccccaagaa gcctgagaac	1980
aagcacgaca accagaacaa cctgcccac gacaagagcg accggatcat cccctacagc	2040
ccctgcccc ccaaggtgct ggacaacgag cggaagcaga ggcacccca gagccaggac	2100
aacaacggca accggcacgt gcccaacagc gaggaccggg agacaagacc ccacggccgg	2160
aacaacgaga accggtccta caaccggaag tacaacgaca ccccaagca ccccgagcgg	2220
gaggaacacg agaaacccga caacaacaag aagaagggcg gcagcgacaa caagtacaag	2280
attgccggcg gaatcgctgg cggactggcc ctgctggctt gtgccggcct ggcctacaag	2340
tttgtggtgc ctggcgccgc tacaccttat gccggcgagc ctgccccctt tgacgagaca	2400
ctggcggaag aggacaagga cctggatgag cccgagcgt tccggctgcc cgaagagaac	2460
gagtggaact accctacga cgtggccgac tacgcctgtat gactcgagtc tagagggccc	2520
gtttaaaccc gctgatcagc ctcgactgtg ccttctagtt gccagccatc tggtgttgc	2580
ccctcccccg tgccttcctt gaccctggaa ggtgccactc ccactgtcct ttccataaa	2640
aatgaggaaa ttgcatcgca ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg gggtggggtg	2700
gggcaggaca gcaaggggaa ggattggaa gacaatagca ggcattgtgg ggtatcggtg	2760
ggctctatgg ctctactgg gcggtttat ggacagcaag cgaacccgaa ttgccagctg	2820
gggcgcctc tgtaagggtt ggaaagccct gcaaagtaaa ctggatggct ttcttgcgc	2880
caaggatctg atggcgcagg ggatcaagct ctgatcaaga gacaggatga ggatcgttc	2940

gcatgattga acaagatgga ttgcacgcag gttctccggc cgcttgggtg gagaggctat	3000
tcgctatga ctgggcacaa cagacaatcg gctgctctga tgccgcgtg ttccggctgt	3060
cagcgcaggg gcgcccggtt cttttgtca agaccgacct gtccggtgcc ctgaatgaac	3120
tgcaagacga ggcagcgcgg ctatcgtggc tggccacgac gggcgttcct tgcgcagctg	3180
tgctcgacgt tgtcaactgaa gcgggaaggg actggctgct attggcgaa gtgcggggc	3240
aggatctcct gtcatctcac ctgctcctg ccgagaaagt atccatcatg gctgatgcaa	3300
tcgcggcgt gcatacgctt gatccggcta cctgccatt cgaccaccaa gcgaaacatc	3360
gcatcgagcg agcacgtact cggatggaag ccggcttgt cgatcaggat gatctggacg	3420
aagagcatca ggggctcgcg ccagccgaac tggccag gctcaaggcg agcatgccc	3480
acggcgagga tctcgtcgtg acccatggcg atgcctgctt gccgaatatac atggtgaaa	3540
atggccgctt ttctggattc atcgactgtg gccggctgg tgtggccgac cgctatcagg	3600
acatagcgtt ggctaccgt gatattgctg aagagcttg cggcgaatgg gctgaccgt	3660
tcctcgtgct ttacggtacg cccgctcccg attcgcagcg catgccttc tatgccttc	3720
ttgacgagtt ctctgaatt attaacgctt acaattcct gatgcgttat ttctcctta	3780
cgcacatgtg cggattttca caccgcata ggtggactt ttggggaaa tgtgcggaa	3840
accctatattt gtttattttt ctaatacat tcaaataatgt atccgctcat gagacaataa	3900
ccctgataaa tgttcaata atagcacgtg ctaaaacttc attttaatt taaaaggatc	3960
taggtgaaga tccttttga taatctcatg accaaaatcc ctaacgtga gtttcgttc	4020
cactgagcgt cagacccgt agaaaaagatc aaaggatctt cttagatcc tttttctg	4080
cgcgtaatct gctgcttgca aaaaaaaaaa ccaccgctac cagcggtggt ttgttgcgg	4140
gatcaagagc taccaactt tttccgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca	4200
aatactgttc ttcttagtcta gccgtagttt ggccaccact tcaagaactc tgttagcaccg	4260
cctacataacc tcgctctgct aatctgtta ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtgc	4320
tgtcttaccg gtttgactc aagacgatag ttaccggata aggccgcgcg gtcgggctga	4380
acgggggggtt cgtgcacaca gcccagctt gaggcgaacga cctacaccga actgagatac	4440
ctacagcgtg agtatgaga aagcgccacg cttccgaag ggagaaaggc ggacaggat	4500
ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg gggaaacgcc	4560
tggtatcttt atagtcgtt cgggttcgc cacctctgac ttgagcgtcg atttttgtga	4620
tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acggccctt ttacggttc	4680
ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctt	4715

<211> 4118

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> plasmid 5

<400> 41

gctgttcgc gatgtacggg ccagatatac gcgttgacat tgattattga cttagtatta	60
atagtaatca attacgggt cattagttca tagcccatat atggagttcc gcgttacata	120
acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat tgacgtcaat	180
aatgacgtat gtccccatag taacgccaat agggacttgc cattgacgtc aatgggtgga	240
gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagt tatcatatgc caagtacgcc	300
cccttattgac gtcaatgacg gttaatggcc cgcttggcat tatgcccagt acatgacctt	360
atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgcttata ccatgggtat	420
gcgggtttgg cagtacatca atggcgtgg atagcggtt gactcacggg gatttccaag	480
tctccacccc attgacgtca atggagttt gtttggcac caaaatcaac gggacttcc	540
aaaatgtcgt aacaactccg ccccatgtac gcaaattggc ggtaggcgtg tacggggaa	600
ggcttatata agcagagctc tctggctaac tagagaaccc actgcttact ggcttatcga	660
aattaatacg actcactata gggagaccca agctggctag cgttaaact taagcttgg	720
accgagctcg gatccgcccac catggactgg acctggatc tggccctggt ggccgctgcc	780
acacgggtgc acagcatgctg gaagctggct atcctgagcg tgtccagctt cctttcgtg	840
gaggccctgt tccaagagta ccagtgtac ggcagcagca gcaacacaag agtgcgtac	900
gagctgaact acgacaacgc cggcaccaac ctgtacaacg agctggaaat gaactactac	960
ggcaagcagg aaaactggta cagcctgaag aagaacagcc ggtccctggg cgagaacgac	1020
gacggcaaca acaacaacgg cgacaacggc agagagggca aggacgagga caagcggat	1080
ggcaacaacg aggacaacga gaagctgcgg aagcccaagc acaagaagct gaaggcagccc	1140
ggcgacggca accccgaccc caacgccaac cccaaacgtgg accccaaatgc caatccta	1200
gtcgatccca acgtaaccc aaatgtcgac cctaacgcaa atcctaacgc caatccaaat	1260
gcaaacccta atgccaaccc aaatgcta at ccaaacgcaa accccaaatgc taacccaaac	1320
gctaacccta atgcaaatacc aaatgccaac cccaaacgca accccaaacgc caatccaaac	1380
gctaataccta acgtaaccc caacgccaat cctaacgca accccaaacgc taacccaaat	1440
gccaacccca atgcaaatacc taatgcta at cctaacgca atccaaatgc aaatccaaac	1500
aagaacaacc agggcaacgg ccagggccac aacatgccc acgacccaa ccggAACGTG	1560

gacgagaatg ccaatgccaa caacggcgtg aagaacaaca acaatgagga acccagcgac	1620
aagcacatcg agcagtacct caagaagatc cagaacagcc tgagcaccga gtggagcccc	1680
tgttagcgtga cctgcggcaa cgccatccaa gtccggatca agcccggcag cgccaacaag	1740
cccaaggacg agctggatta cgagaacgac atcgagaaga aaatctgcaa gatggaaaag	1800
tgcagcagcg tttcaacgt ggtcaacagc agcatggcc tggatcatggt gctgagctt	1860
ctgttcctca actacccta cgacgtgccc gactacgcct gatgactcga gtctagaggg	1920
cccgtttaaa cccgctgatc agcctcgact gtgcctctta gttgccagcc atctgttgtt	1980
tgccctccc ccgtgccttc ctggaccctg gaaggtgccca ctcccactgt ctttcctaa	2040
taaaatgagg aaattgcata gcattgtctg agtaggtgtc attctattct ggggggtgg	2100
gtggggcagg acagcaaggg ggaggattgg gaagacaata gcaggcatgc tggggatgcg	2160
gtgggcctta tggcttctac tggcggttt tatggacagc aagcgaaccg gaattgccag	2220
ctggggcgcc ctctggtaag gttgggaagc cctgcaaagt aaactggatg gctttcttgc	2280
cgc当地aggat ctgatggcgc agggatcaa gctctgatca agagacagga tgaggatcgt	2340
ttcgcatgat tgaacaagat ggattgcacg caggttctcc ggccgcttgg gtggagaggc	2400
tattcggcta tgactggca caacagacaa tcggctgctc tggatgccgc gtgtccggc	2460
tgtcagcgcga gggcgccccg gtttttttgc tcaagaccga cctgtccggc gccctgaatg	2520
aactgcaaga cgaggcagcg cggctatcggt ggctggccac gacggcggtt cttgcgcag	2580
ctgtgctcga cttgtcact gaagcggaa gggactggct gctattggc gaagtgcgg	2640
ggcaggatct cctgtcatct cacttgctc ctggcgagaa agtatccatc atggctgatg	2700
caatgcggcg gctgcatacg cttgatccgg ctacgtcccc attcgaccac caagcgaac	2760
atcgcatcga gcgagcacgt actcgatgg aagccggct tggatcgatc gatgtctgg	2820
acgaagagca tcagggcgtc ggcgcagccg aactgttcgc caggctcaag gcgagcatgc	2880
ccgacggcga ggtatcgctc gtgaccatcg gctatcgatc cttggccaaatc atcatgg	2940
aaaaatggcccg ctttctgga ttcatcgact gtggccggct ggggtggc gaccgtatc	3000
aggacatagc gttggctacc cgtgatattt ctgaagatc tggcgccaa tggctgacc	3060
gcttcctcggt gcttacggt atcgccgtc cggatcgca ggcgcatcgcc ttctatcgcc	3120
ttcttgacga gttttctga attattaacg cttacaattt cctgatcggtt tattttctcc	3180
ttacgcatct gtgcggattt tcacaccgca tcaggtggca ctttccggg aaatgtgcgc	3240
ggaaccctta ttgtttattttctaaata cattcaaaata tgtatccgt catgagacaa	3300

taaccctgat aaatgcttca ataatagcac gtgctaaaac ttcatttttta atttaaaagg	3360
atcttaggtga agatccttt tgataatctc atgacccaaa tcccttaacg tgagtttcg	3420
ttccactgag cgtcagaccc cgtagaaaag atcaaaggat ctcttgaga tccttttt	3480
ctgcgcgtaa tctgtgtctt gcaaacaaaa aaaccaccgc taccagcggt ggttgtttg	3540
ccggatcaag agctaccaac tcttttccg aaggtaactg gcttcagcag agcgcagata	3600
ccaaatactg ttttctagt gtagccgtag ttaggccacc acttcaagaa ctctgttagca	3660
ccgcctacat acctcgctct gctaattcctg ttaccagtttgc ctgctgccag tggcgataag	3720
tcgtgtctta ccgggttgga ctcaagacga tagttaccgg ataaggcgca gcggtcggc	3780
tgaacggggg gttcgtgcac acagcccagc ttggagcgaa cgacctacac cgaactgaga	3840
tacctacagc gtgagctatg agaaagcgcc acgctcccg aaggagaaaa ggcggacagg	3900
tatccggtaa gcggcagggt cgaaacagga gagcgcacga gggagcttcc agggggaaac	3960
gcctggatc ttatagtcc tgcgggtt cgccacctct gacttgagcg tcgattttg	4020
tgtatgtcgat cagggggcgc gagcctatgg aaaaacgcca gcaacgcggc cttttacgg	4080
ttcctggctt ttgtggcc tttgctcac atgttctt	4118

<210> 42

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Immunogen amino acid sequence #19

<400> 42

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

1 5 10 15

His Ser