(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0010642
(43) 공개일자 2025년01월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/005 (2006.01) *A61K 39/155* (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/005 (2013.01)
A61K 39/155 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7040979
(22) 출원일자(국제) 2023년05월11일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년12월10일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2023/062652
(87) 국제공개번호 WO 2023/217988
국제공개일자 2023년11월16일
(30) 우선권주장
22173131.8 2022년05월12일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
엠에스디 인터내셔널 비즈니스 게엠베하
스위스 6005 루체른 트립셴슈트라쎄 60
(72) 발명자
랑게다이크, 요하네스, 페트루스, 마리아
네덜란드 2333 씨엔 라이덴 아르히메데스베흐 4-6
바커스, 마르크, 요하네스, 헤라르두스
네덜란드 2333 씨엔 라이덴 아르히메데스베흐 4-6
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장덕순, 이상남

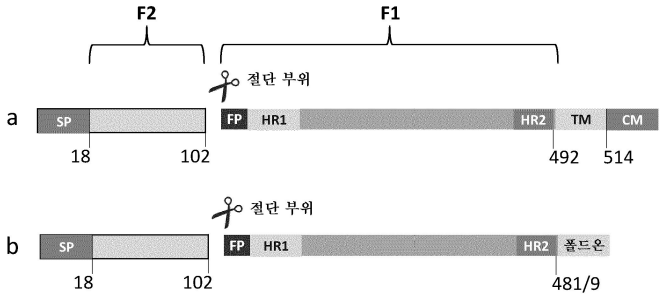
전체 청구항 수 : 총 46 항

(54) 발명의 명칭 **안정화된 융합-전 HMPV 융합 단백질**

(57) 요 약

본 발명은 안정화된 융합-전 인간 뉴모바이러스 (HMPV) F 단백질, 상기 HMPV F 단백질을 코딩하는 핵산 분자, 뿐만 아니라 그의 용도에 관한 것이다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 31/14 (2018.01)
C12N 2760/18322 (2013.01)
C12N 2760/18334 (2013.01)
(72) 발명자
리첼, 티나
네덜란드 2333 씨엔 라이덴 아르히메데스베흐 4-6
유라셰크, 야로슬라프
네덜란드 2333 씨엔 라이덴 아르히메데스베흐 4-6

명 세 서

청구범위

청구항 1

융합-전 인간 뉴모바이러스 (HMPV) F 전구체 (F0) 단백질로서, F1 및 F2 도메인을 포함하고, F1 및/또는 F2 도메인의 아미노산 서열에서의 적어도 1개의 변형을 포함하는 단백질.

청구항 2

제1항에 있어서, 적어도 1개의 변형이 융합-전 입체형태를 안정화시키고/거나 삼량체 형성을 증가시키는 것인 단백질.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 적어도 1개의 변형이 적어도 1개의 비-천연 절단 부위의 도입인 단백질.

청구항 4

제3항에 있어서, 단백질이 제1 절단 부위로부터 N-말단에 위치된 F2 도메인에 제2 비-천연 절단 부위를 추가로 포함하며, 여기서 스페이서 서열이 제1과 제2 비-천연 절단 부위 사이에 존재하는 것인 단백질.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, 제1 및/또는 제2 비-천연 절단 부위가 아미노산 서열 RXXR을 포함하는 것인 단백질.

청구항 6

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및/또는 제2 비-천연 절단이 서열 RX[K/R]R을 포함하는 것인 단백질.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, F1과 F2 도메인 사이에 RSV F 단백질의 p27 펩티드를 포함하는 단백질.

청구항 8

제7항에 있어서, p27 펩티드가 아미노산 서열 ELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRR (서열식별번호: 2), 또는 서열식별번호: 2와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인 단백질.

청구항 9

제7항에 있어서, p27 펩티드가 아미노산 서열 EAPQYMNYTINTTKNLNVSISKKRKRR (서열식별번호: 150), 또는 서열식별번호: 150과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 RSV B p27 펩티드의 아미노 서열을 포함하는 것인 단백질.

청구항 10

제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, p27 펩티드 서열에서의 1개 이상의 글리코실화 부위가 결실된 것인 단백질.

청구항 11

제10항에 있어서, p27 서열에서의 모든 글리코실화 부위가 결실된 것인 단백질.

청구항 12

제7항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, p27 펩티드 서열이 p27 펩티드 서열로부터의 1-11개의 아미노산 서열의 결실을 포함하는 것인 단백질.

청구항 13

제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, p27 펩티드가 서열식별번호: 185 및 서열식별번호: 186으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 단백질.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, C-말단에서 말단절단된 F2 도메인을 포함하는 단백질.

청구항 15

제14항에 있어서, F2 도메인이 위치 89에서의 아미노산 뒤에서 말단절단되는 것인 단백질.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, C-말단에서 말단절단된 F1 도메인을 포함하는 단백질.

청구항 17

제16항에 있어서, F1 도메인이 HMPV F 전구체 (F0) 단백질의 위치 489에서의 아미노산 잔기 뒤에서 말단절단되는 것인 단백질.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, HR2 도메인에 1개 이상의 안정화 아미노산 잔기를 포함하며, 상기 HR2 도메인은 HMPV F 전구체 (F0) 단백질의 아미노산 453 내지 484를 포함하는 것인 단백질.

청구항 19

제18항에 있어서, 1개 이상의 안정화 아미노산이 상이한 HMPV F 프로토머의 HR2 도메인에서 1개 이상의 아미노산 잔기 사이의 프로토머간 상호작용을 최적화하는 것인 단백질.

청구항 20

제18항 또는 제19항에 있어서, 위치 477에서의 아미노산이 I, V, L 또는 F 또는 M인 단백질.

청구항 21

제18항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 더욱이 위치 473에서의 아미노산 잔기가 I, F 또는 W이고/거나, 위치 474에서의 아미노산 잔기가 또는 I이고/거나, 위치 475에서의 아미노산 잔기가 R이고/거나, 위치 476에서의 아미노산 잔기가 K이고/거나, 위치 478에서의 아미노산 잔기가 D이고/거나, 위치 479에서의 아미노산 잔기가 E이고/거나, 위치 480에서의 아미노산 잔기가 L이고/거나, 위치 484에서의 아미노산 잔기가 I이고/거나, 위치 488에서의 아미노산 잔기가 I인 단백질.

청구항 22

제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 위치 473에서의 아미노산 잔기가 W이고, 위치 477에서의 아미노산 잔기가 I이고, 위치 484에서의 아미노산 잔기가 I인 단백질.

청구항 23

제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 위치 473에서의 아미노산 잔기가 W이고, 위치 476에서의 아미노산 잔기가 K이고, 위치 477에서의 아미노산 잔기가 F이고, 위치 484에서의 아미노산 잔기가 I인 단백질.

청구항 24

제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 위치 473에서의 아미노산 잔기가 W이고, 위치 475에서의 아미노산 잔기가 R이고, 위치 476에서의 아미노산 잔기가 K이고, 위치 477에서의 아미노산이 I이고, 위치 478에서의 아미

노산 잔기가 D이고, 위치 479에서의 아미노산 잔기가 E이고, 위치 484에서의 아미노산 잔기가 I인 단백질.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 위치 112에서의 아미노산 잔기가 R이고/거나, 위치 209에서의 아미노산 잔기가 E이고/거나, 위치 453에서의 아미노산 잔기가 P 또는 Q인 단백질.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 위치 149에서의 아미노산 잔기가 Y이고/거나, 위치 313에서의 아미노산 잔기가 W이고/거나, 위치 445에서의 아미노산 잔기가 Y인 단백질.

청구항 27

제26항에 있어서, 위치 112에서의 아미노산 잔기가 R이고, 위치 209에서의 아미노산 잔기가 E이고, 위치 453에서의 아미노산 잔기가 P 또는 Q인 단백질.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 위치 231에서의 아미노산 잔기가 I인 단백질.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 위치 404에서의 아미노산 잔기가 P인 단백질.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 위치 368에서의 아미노산 잔기가 N인 단백질.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 위치 69에서의 아미노산 잔기가 Y 또는 W이고/거나, 위치 73에서의 아미노산 잔기가 W이고/거나, 위치 185에서의 아미노산 잔기가 P이고/거나, 위치 191에서의 아미노산 잔기가 I이고/거나, 위치 116에서의 아미노산 잔기가 H이고/거나, 위치 342에서의 아미노산 잔기가 P인 단백질.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 1개 이상의 비-천연 프로토머내 또는 프로토머간 디술피드 결합을 추가로 포함하는 단백질.

청구항 33

제32항에 있어서, 1개 이상의 디술피드 결합이 아미노산 잔기 140과 147 사이의 프로토머내 디술피드 결합 및/또는 아미노산 잔기 141 또는 161 사이의 프로토머내 디술피드 결합, 및/또는 아미노산 잔기 360과 459 사이의 프로토머내 디술피드 결합으로부터 선택되는 것인 단백질.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 4-135, 서열식별번호: 151-159, 서열식별번호: 161-182 및 서열식별번호: 184로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 그의 단편을 포함하는 단백질.

청구항 35

제34항에 있어서, 서열식별번호: 111, 서열식별번호: 159, 서열식별번호: 180 또는 서열식별번호: 184의 아미노산 서열, 또는 그의 단편을 포함하는 단백질.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질이 1개 이상의 절단 부위에서 절단되었으며, 이는 1개 이상의 천연 디술피드 브릿지에 의해 공유 연결되는 F2 및 F1 도메인을 초래하고, 단백질이 삼량체성인 단백질.

청구항 37

제36항에 있어서, F1 도메인이 HMPV F0 단백질의 아미노산 103-489를 포함하고, F2 도메인이 HMPV F0 단백질의 아미노산 19-88을 포함하는 것인 단백질.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 따른 단백질을 코딩하는 핵산 분자.

청구항 39

제38항에 있어서, 핵산 분자가 DNA 또는 RNA인 핵산.

청구항 40

제38항 또는 제39항에 있어서, 서열식별번호: 4-135, 서열식별번호: 151-159, 서열식별번호: 161-182 및 서열식별번호: 184로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 단백질, 또는 그의 단편을 코딩하는 핵산.

청구항 41

제40항에 있어서, 서열식별번호: 111의 아미노산 서열, 서열식별번호: 159의 아미노산 서열, 서열식별번호: 180의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 184의 아미노산 서열을 포함하는 단백질을 코딩하는 핵산.

청구항 42

제38항 내지 제41항 중 어느 한 항에 따른 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 43

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 따른 단백질, 제38항 내지 제41항 중 어느 한 항에 따른 핵산 및/또는 제42항에 따른 벡터를 포함하는 제약 조성물.

청구항 44

대상체에게 제43항에 따른 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, HMPV에 대해 대상체를 백신접종하는 방법.

청구항 45

대상체에게 제43항에 따른 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 HMPV의 감염 및/또는 복제를 예방하는 방법.

청구항 46

제38항 내지 제41항 중 어느 한 항에 따른 핵산을 포함하는 단리된 숙주 세포.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 의료 분야에 관한 것이다. 본 발명은 특히 재조합체 융합-전 HMPV F 단백질 및 그의 단편 및 HMPV F 단백질 및 그의 단편을 코딩하는 핵산 분자, 및, 예를 들어 백신에서의 그의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 인간 메타뉴모바이러스 (HMPV)는 뉴모비리나에(Pneumovirinae) 과에 속하며 이는 또한 RSV를 포함한다. HMPV 단리물의 유전자 분석은 부착 단백질 (G) 및 융합 단백질 (F)의 다양성에 주로 기반하는 2개의 주 그룹 A 및 B 및 4개의 부 그룹 (A1, A2, B1 및 B2)을 밝혀냈다 (van Hoogen et al., Emerg. Infect Dis. 10(4): 658-666, 2004). 최근에 문헌 [Noa et al. (Microorganisms. 2020 Aug 21;8(9):1280.)]은 A2a 및 A2b로의 A2의 세분을 기재하였으며, 후자가 현재 유행하고 있다.

[0003] 숙주 세포를 감염시키기 위해, 다른 외피형 바이러스 예컨대 인플루엔자 바이러스, RSV 및 HIV와 같이, HMPV는 바이러스 막과 숙주 세포막의 융합을 요구한다. HMPV의 경우 보존된 융합 단백질 (HMPV F 단백질)이 바이러스 및 숙주 세포 세포막을 융합시킨다. HMPV F 단백질은 초기에 "융합-전" 입체형태로 폴딩한다. 이 준안정적인 구조는 최근에 해석되었다 (Battles et al., Nat Commun. Nov 16;8(1):1528, 2017). 세포 진입 동안, 융합전 입체형태는 재폴딩 및 그의 "융합-후" 입체형태로의 입체형태적 변화를 겪는다 (McLellan, J. Virol. 85(15): 7788-7796, 2010; Swanson, PNAS 108(23): 9619-9624, 2011). 따라서, HMPV F 단백질은 초기에 준안정적인 형태 (융합-전 입체형태)로 폴딩하며 후속적으로 보다 낮은 에너지 입체형태 (융합-후 입체형태)로의 별개/순차적 입체형태적 변화를 겪음으로써 비가역적인 단백질 재폴딩을 막 병치와 커플링시킴으로써 막 융합을 구동시키는 준안정적인 단백질이다.

[0004] HMPV는 2001년에 인간 호흡기 세포융합 바이러스 (RSV)의 것과 닮은 질환을 가졌으나 RSV가 확인될 수 없는 소아 환자로부터의 임상 샘플에서 처음 확인되었다 (van den Hoogen et al., Nat. Med. 7(6): 719-724, 2001). 후속 연구는 HMPV가 영아, 유아, 고령자 및 면역손상된 자 또는 기저 만성 의학적 상태를 갖는 자에서의 상기도 및 하기도 감염 둘 다의 주요 원인임을 제시하였다. HMPV 감염의 임상 징후는 RSV에 의해 초래된 것과 유사하며, 이는 경증 호흡기 질병 내지 세기관지염 및 폐렴의 범위이다. HPMV 감염은 5세까지 사실상 모든 아동이 혈청양성이기 때문에 아주 흔한 것으로 보인다. 이전 역학 연구는 HMPV 감염이 다른 건강한 영아의 5-15%에서 하기도 감염을 초래한다는 것을 시사하였다 (Falsey et al., J. Infect. Dis. 187: 785-790, 2003). 급성 호흡기 감염 또는 열로 입원한 5세보다 어린 아동 중에서, HMPV는 아동의 4.9%에서 검출되었으며, 집단은 인플루엔자의 것과 유사하고 파라인플루엔자 바이러스 유형 3 (PIV-3)의 것보다 더 높다 (Williams et al., J Infect Dis. 201(12): 1890-1898, 2010). 질환의 발병률은 0-6개월보다 어린 아동에 대해 가장 높다. HMPV로의 재발 감염이 또한 기재되었다.

[0005] 지금까지, 감염 데이터의 대부분은 아동에서의 연구로부터 유래되나, HMPV가 성인에서 또한 심각한 질병을 초래할 수 있다는 증거가 축적되었다. 인플루엔자 및 RSV에 대해, 성인에서의 감염은 고령자 및 만성 기저 의학적 상태를 갖는 환자에서 가장 중증이다. 성인 집단에서의 증상성 감염의 발병률은 대부분의 연구에서 전형적으로 5% 미만이다 (Falsey, Pediatr. Infect. Dis. J. 27: S80-83, 2008). 인플루엔자 A, 인플루엔자 B 및 RSV가 고령 성인 (>65세)에서 호흡기 질환의 주요한 바이러스 원인이며, 1000명의 입원 집단당 2.1 장애 보정 생존 연수 (DALY)에 기인한, HMPV가 이어진다는 것이 문헌 [Gaunt et al.]에 의해 정량화되었다 (Gaunt et al., J. Clin. Virol. 52(3): 215-221, 2011).

[0006] 현재 HMPV 감염의 관리를 위한 승인된 치료적 또는 예방적 치료는 없다. RSV 다음으로, HPMV가 급성 바이러스 기도 감염의 주요 원인을 나타내기 때문에, HMPV에 대한 효과적인 요법 또는 백신에 대한 필요가 있다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 재조합체 안정화된 삼량체성 융합-전 인간 뉴모바이러스 (HMPV) 융합 (F) 단백질, 즉 융합-전 입체형태에서 안정화되는 재조합체 HMPV F 단백질을 제공한다. 본 발명의 HMPV F 단백질은 F 단백질의 융합-전 입체형태에 특이적인 적어도 1개의 에피토프를 포함한다. 본 발명은 전장 HMPV F 단백질 및 가용성 HMPV F 단백질 둘 다를 제공한다. 특정 실시양태에서, 융합전 hMPV F 단백질은 가용성 단백질이다 (즉 막-결합되지 않고 막관통 및 세포질 영역이 결여됨). 본 발명은 또한 본 발명에 따른 융합-전 HMPV F 단백질을 코딩하는 핵산 분자 및 이러한 핵산 분자를 포함하는 벡터를 제공한다. 본 발명은 또한 본 발명에 따른 1개 이상의 HMPV F 단백질, 핵산 분자 및/또는 벡터를 포함하는 제약 조성물, 바람직하게는 백신 조성물, 및 HMPV F 단백질에 대한 면역 반응을 유도하는데 있어서 그의 용도, 특히 백신으로서의 그의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 대상체에게 유효량의 융합-전 HMPV F 단백질, 상기 HMPV F 단백질을 코딩하는 핵산 분자, 및/또는 상기 핵산 분자를 포함하는 벡터를 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 항-인간 뉴모바이러스 (HMPV) 면역 반응을 유도하는 방법에 관한 것이다. 바람직하게는, 유도된 면역 반응은 HMPV F에 대한 중화 항체, HMPV에 대한 T 세포 및/또는 보호 면역에 의해 특징화된다. 특정한 측면에서, 본 발명은 대상체에게 유효량의 융합-전 HMPV F 단백질, 상기 HMPV F 단백질을 코딩하는 핵산 분자, 및/또는 상기 핵산 분자를 포함하는 벡터를 포함하는 면역원성 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 중화 항-인간 뉴모바이러스 (HMPV) F 단백질 항체를 유도하는 방법에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0008] 본 발명의 상기 요약, 뿐만 아니라 하기 상세한 설명은 첨부된 도면과 함께 읽을 때 보다 잘 이해될 것이다.

본 발명은 도면에 제시된 정확한 실시양태에 제한되지 않는다는 것이 이해되어야 한다.

도 1. (a) 잔기 번호가 표시된 전장 HMPV F의 단순화된 도식 도면 및 (b) 폴드온 도메인에 융합된 F 엑토도메인에 기반하는 가용성 HMPV F. 미성숙 F0은 위치 103에서 시작하는, F1 도메인에서의 융합 펩티드 (FP)의 N-말단과 잔기 102 사이에서 TMPRSS2, 또는 다른/관련 프로테아제에 의해 F2 및 F1 단편으로 프로세싱된다. 신호 펩티드 (SP), HR1 도메인 (HR1), HR2 도메인 (HR2), 막관통 (TM) 및 세포질 부분 (CM)이 표시된다.

도 2. (A) 비-안정화된 HMPV F 변이체 (MPV201285) 및 안정화된 변이체 (MPV210531, MPV210502, MPV210500, MPV210507 및 MPV210509)에 대한 F2 (이탤릭체) 및 F1 (볼드체)의 경계에서의 HMPV F 절편의 정렬. 안정화된 변이체는 T69Y, A116H, A140C/A147C, D185P, H468N, E453Q 치환을 함유한다. 안정화된 변이체는 F2의 C-말단 절단 및/또는 추가적인 푸린 부위를 갖는다. (B) 환원된 SDS-PAGE에 이어 (A)에 따른 F2-F1 경계를 갖는 안정화된 가용성 HMPV F 엑토도메인에 상응하는 플라스미드로 형질감염된 HEK293 세포로부터의 상청액의 항-hMPV 폴리클로날 혈청을 사용한 웨스턴 블롯. 불완전한 프로세싱이 관측되고 F0으로 표지된다. (C) 세포 배양 상청액의 분석적 SEC 분석은 4.2 내지 4.4분의 체류 시간을 갖는 삼량체 피크 (좌측) 및 30분 동안 열 처리 후 삼량체 안정성 (우측)을 제시한다. (D) 융합-전 특이적 항체 ADI-14448 및 융합-후 특이적 항체 DS7 (비-preF 입체형태에 결합함)에 대한 결합을 제시하는 상청액 상에서의 옥텟을 사용하는 생물층 간섭계 (형질감염은 n=2로 수행된다. 풀이 분석적 SEC 상에서 분석되었다. 옥텟 상에서 개별 형질감염이 분석되었고 설계당 평균이 표준 편차를 나타내는 오차 막대와 함께 보고된다). 우측 패널에서의 파선은 정량화 하한을 나타낸다.

도 3. (A) F2에의 RSV p27 도메인 (이중 밑줄) 및 추가적인 푸린 부위 C-말단 (밑줄)의 삽입을 갖는 F2 (이탤릭체) 및 F1 (볼드체)의 경계에서의 HMPV F 서열의 정렬. (B) 환원된 SDS-PAGE에 이어 (A)에 따른 F2-F1 경계를 갖는 안정화된 가용성 HMPV F 엑토도메인에 상응하는 플라스미드로 형질감염된 HEK293 세포로부터의 상청액의 항-hMPV 폴리클로날 혈청을 사용한 웨스턴 블롯. 완전한 프로세싱이 F1에 의해 표시되고, 불완전한 프로세싱이 잔류 F0에 의해 표시된다. (C) 세포 배양 상청액의 분석적 SEC 분석은 삼량체 수준 (좌측) 및 30분 동안 열 처리 후 삼량체 안정성 (우측)을 제시한다. (D) 융합-전 특이적 항체 ADI-14448 및 융합-후 특이적 항체 DS7 (비-preF 입체형태에 결합함)에 대한 결합을 제시하는 상청액 상에서의 옥텟을 사용하는 생물층 간섭계. 우측 패널에서의 파선은 정량화 하한을 나타낸다.

도 4. 야생형 HR2 영역 및 폴드온을 갖는 HMPV F (MPV210751)가 폴드온 또는 HR2 변형이 없는 변이체 (MPV211241), 및 잔기 489에서 말단절단된 HR2 위치의 변형을 갖는 변이체 (MPV21142-MPV211292)와 비교된다. 표시된 HR2 영역과 함께 잔기 89에서 말단절단된 F2, 푸린 절단 부위 및 RSV p27을 갖는 HMPV F 변이체가 Expi-HEK 세포에서 발현되었다. 수거 후 및 4℃에서 6-8주 동안 저장 후 MPV210751 대비 삼량체 함량 (좌측). 4℃ 대조군 샘플과 비교된 열 스트레스 후 상대 삼량체 함량 (우측). 형질감염은 n=2로 수행된다. 설계당 평균이 표준 편차를 나타내는 오차 막대와 함께 보고된다.

도 5. (A) 야생형 HR2 영역 및 폴드온을 갖는 HMPV F (MPV210751)가 폴드온 또는 HR2 변형이 없는 변이체 (MPV211241), 및 잔기 489에서 말단절단된 HR2 위치의 변형을 갖는 변이체 (MPV211247, MPV211287, MPV211917 및 MPV211918)와 비교된다. 표시된 HR2 영역과 함께 잔기 89에서 말단절단된 F2, 푸린 절단 부위 및 RSV p27을 갖는 HMPV F 변이체가 Expi-HEK 세포에서 발현되었다. 상청액이 F 삼량체의 양 (중간 패널) 및 열 안정성 (우측 패널)에 대해 시험되었다. (B) 상청액은 추가로 옥텟 상에서 생물층 간섭계를 사용하여 융합-전 특이적 항체 ADI-14448, 정점 계면 결합제 MPV458 및 항체 DS7 (비-preF 입체형태에 결합함)에 대한 결합에 대해 평가되었다. 우측 패널에서의 파선은 정량화 하한을 나타낸다.

도 6. (A) 말단절단된 F2, 푸린 절단 부위 및 RSV p27 도메인, 안정화된 HR2 (I473W, S477I 및 A484I) 및 추가적인 안정화 치환 (E453Q 또는 E453P, V112R, D209E), 및 천연 변이 V231I를 갖는 HMPV F 변이체의 비교. 좌측 히스토그램은 분석적 SEC에 의해 측정된 바와 같이 표시된 F 변이체로 형질감염 후 HEK293 세포의 상청액에서의 삼량체의 양을 제시한다. 우측 패널은 58 또는 63℃에서 30분 동안 인큐베이션 후 4℃ 대비 삼량체의 열 안정성을 제시한다. (B) 상청액은 추가로 옥텟 상에서 생물층 간섭계를 사용하여 융합-전 특이적 항체 ADI-14448, 정점 계면 항체 MPV458 및 항체 DS7 (비-preF 입체형태에 결합함)에 대한 결합에 의해 평가되었다. 우측 패널에서의 파선은 정량화 하한을 나타낸다.

도 7. (A) 말단절단된 F2, 푸린 절단 부위 및 RSV p27 도메인, 안정화된 HR2 (L473W, D475R, Q476K, S477F, N478D, R479E, A484I) 및 추가적인 안정화 치환 (E453Q 또는 E453P, V112R, D209E) 및 천연 HMPV F 변이체에 기반하는 안정화 치환 (V231I)을 갖는 HMPV F 변이체의 비교. 좌측 히스토그램은 분석적 SEC에 의해 측정된 바와 같이 표시된 F 변이체로 형질감염 후 HEK293 세포의 상청액에서의 삼량체의 양을 제시한다. 우측 패널은 30

분 동안 58 또는 63℃에서 인큐베이션 후 4℃ 대비 삼량체의 열 안정성을 제시한다. (B) 상청액은 추가로 옥텟 상에서 생물층 간섭계를 사용하여 융합-전 특이적 항체 ADI-14448, 정점 계면 항체 MPV458 및 항체 DS7 (비-preF 입체형태에 결합함)에 대한 결합에 대해 평가되었다. 우측 패널에서의 파선은 정량화 하한을 나타낸다.

도 8. (A) 추가적인 안정화 치환 (E453Q, V112R, T69Y, S149Y, N313W, 및 S445Y) 및 천연 HMPV F 변이체에 기반하는 안정화 치환 (N404P)과 함께 말단절단된 F2, 푸린 절단 부위 및 RSV p27 도메인, 안정화된 HR2 (L473W, D475R, Q476K, S477F, N478D, R479E, A484I)를 갖는 HMPV F 변이체의 비교. 히스토그램은 분석적 SEC에 의해 측정된 바와 같이 표시된 F 변이체로 형질감염 후 HEK293 세포의 상청액에서의 삼량체의 양을 제시한다. (B) 상청액은 추가로 옥텟 상에서 생물층 간섭계를 사용하여 융합-전 특이적 항체 ADI-14448, 정점 계면 항체 MPV458 및 항체 DS7 (비-preF 입체형태에 결합함)에 대한 결합에 대해 평가되었다. 우측 패널에서의 파선은 정량화 하한을 나타낸다. (C) HEK293 세포의 상청액에서의 삼량체의 열 안정성에 대한 지표로서의 DSF에 의한 T_{m50}.

도 9. (A) 말단절단된 F2, 푸린 절단 부위 및 RSV p27 도메인, 안정화 치환 (E453P, V112R, D209E) 및 천연 변이 V231I에 기반하는 치환, 및 HR2 안정화 돌연변이 (위치 473, 474, 477, 484 및 485)를 갖는 HMPV F 변이체의 비교. 히스토그램은 분석적 SEC에 의해 측정된 바와 같이 표시된 F 변이체로 형질감염 후 HEK293 세포의 상청액에서의 삼량체의 양을 제시한다. (B) 상청액은 추가로 옥텟 상에서 생물층 간섭계를 사용하여 융합-전 특이적 항체 ADI-14448, 정점 계면 항체 MPV458 및 항체 DS7 (비-preF 입체형태에 결합함)에 대한 결합에 대해 평가되었다. 우측 패널에서의 파선은 정량화 하한을 나타낸다. (C) HEK293 세포의 상청액에서의 삼량체의 열 안정성에 대한 지표로서의 DSF에 의한 Tm50. 수직선은 Tm50의 검출을 나타낸다. 각각의 샘플에 대해 미분계수가 플롯팅되고, 지정된 융점이 ℃로 표시된다. MPV220123의 경우 Tm50이 지정될 수 없다.

도 10. (A) 말단절단된 F2, 푸린 절단 부위 및 RSV p27 도메인, 안정화 치환 (E453P, V112R, D209E), 천연 변이 V231I, 및 HR2 안정화 돌연변이 S477I 및 A484I 및 추가 안정화 돌연변이 T69W, S149Y, N313W, S445Y 및 N404P를 갖는 HMPV F 변이체의 비교. 히스토그램은 분석적 SEC에 의해 측정된 바와 같이 표시된 F 변이체로 형질감염 후 HEK293 세포의 상청액에서의 삼량체의 양을 제시한다. (B) 상청액은 추가로 옥텟 상에서 생물층 간섭계를 사용하여 융합-전 특이적 항체 ADI-14448, 정점 계면 항체 MPV458 및 항체 DS7 (비-preF 입체형태에 결합함)에 대한 결합에 대해 평가되었다. 우측 패널에서의 파선은 정량화 하한을 나타낸다. (C) HEK293 세포의 상청액에서의 삼량체의 열 안정성에 대한 지표로서의 DSF에 의한 Tm50. 수직선은 Tm50의 검출을 나타낸다. 각각의 샘플에 대해 미분계수가 플롯팅되고, 지정된 융점이 ℃로 표시된다.

도 11. (A). 정제된 HMPV F 단백질의 환원된 SDS-PAGE 쿠마시 염색. (B) 정제 및 4℃에서 저장 후 삼량체성 정제된 HMPV F 단백질의 분석적 SEC-MALS (삼량체보다 더 작은 종은 D로 표시됨). (C) 37℃에서 2 및/또는 8주 동안 열 스트레스 (응집체는 A로 표시됨). (D) 1, 5, 또는 10회의 순간 동결 사이클 후 분석적 SEC. (E) DSF에 의해 측정된 HMPV-F 단백질의 용융 온도. 각각의 샘플에 대해 미분계수가 플롯팅되고, 지정된 융점이 ℃로 표시된다. (F) 융합-전 특이적 항체 ADI-14448, 정점 계면 항체 MPV458 및 MPV465, preF 및 postF 결합 항체 ADI-18992 및 비-preF 특이적 항체 DS7에 대한 결합이 옥텟 상에서 생물층 간섭계를 사용하여 측정된다. (G) MPV212047의 음성 염색 EM 이미지의 2D 클래스 평균.

도 12. 폴드온 삼량체화 도메인이 없는 융합전 HMPV F MPV212047의 극저온(Cryo) EM 구조. 1개의 프로토머는 카툰 묘사로서 및 2개의 프로토머는 표면 묘사로서 도시된다.

도 13. 제0일 및 제21일에 표시된 용량 AS01B-아주반트 결합된 융합전 (PreF: MPV212047) 또는 융합후 (PostF: MPV190470) HMPV F 단백질로 면역화된 후 제42일에 10^5 PFU HMPV A2로 챌린지되고 제46일에 희생된 나이브 코튼 래트. 음성 대조군은 PBS로 2회 면역화되었고, 양성 대조군은 제0일에 10^4 PFU HMPV A2로 1회 챌린지되었다. (A) ELISA에서의 제42일의 HMPV 융합전 F 결합 항체 역가. (B) HMPV A2-GFP VNA에서의 제42일의 HMPV A2 중화 항체 역가. (C) 플라크 감소 중화 시험 (PRNT)에 의해 측정된 바와 같은 제46일의 코 바이러스 로드. 모든 점은 개별 동물의 값을 도시하고, 수평선은 그룹의 중앙값 반응을 나타낸다. 점선은 검출 하한 (LLoD)을 나타낸다.

도 14. (A) 정제된 HMPV F 삼량체의 분석적 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 프로파일. (B) 정량적 옥텟을 사용하는 융합전 (ADI-14448) 및 정점 계면 (MPV458 및 MPV465) HMPV F 항체에 대한 정제된 HMPV F 삼량체 결합. 초기 결합 속도가 플롯팅된다. (C) 제0일 및 제28일에 표시된 용량 AS01B-아주반트 결합된 융합전 개방 (MPV220215) 또는 폐쇄된 (MPV212047) HMPV F 단백질로 면역화된 Balb/c 마우스. 음성 대조군은 PBS로 2회 면

역화되었다. (C) ELISA에서의 제42일의 HMPV 융합전 F 결합 항체 역가. (D) HMPV A2-GFP VNA에서의 제42일의 HMPV A2 중화 항체 역가. 모든 점은 개별 동물의 값을 도시하고, 수평선은 그룹의 중앙값 반응을 나타낸다. 점선 수평선은 검출 하한 (LLoD)을 나타낸다. 다중 비교를 위해 본페로니 보정을 사용한 토빗 모델에 의해 결정된 바와 같이, 용량에 걸쳐 유의한 차이가 그룹 상에 나타났다.

도 15. 제0일에 적어도 $1x10^3$ 내지 $3x10^5$ PFU HMPV A2로 사전-노출된 후, 제12주에 15 μg 아주반트 결합되지 않은 융합전 HMPV F 단백질 (MPV212047)로 면역화된 Balb/c 마우스. ELISA에서의 제14주 및 제16주의 HMPV 융합전 F 결합 항체 역가. 모든 점은 개별 동물의 값을 도시하고, 수평선은 그룹의 중앙값 반응을 나타낸다. 점선은 검출 하한 (LLoD)을 나타낸다.

도 16. (A) 각각 분석적 SEC 및 시차 주사 형광측정법 (DSF)에 의해 결정된 바와 같은, HMPV A2 F 단백질을 발현하는 세포 배양 상청액의 삼량체 피크 높이 (흑색 막대) 및 용융 온도 (Tm50) (회색 막대). 막대는 n=2 복제 측정의 평균 +SD를 도시한다. (B) HMPV F 변이체의 아형, 균주 식별자 및 진뱅크(Genbank) ID를 기재하는 표. (C) (B)로부터의 HMPV A2, B1, 및 B2 F 단백질을 발현하는 세포 배양 상청액의 분석적 SEC. 삼량체는 'T'로, 단량체는 'M'으로 표시된다. (D) DSF에 의해 결정된 바와 같은 (C)로부터의 세포 배양 상청액의 Tm50. 막대는 n=3 복제 측정의 평균 +SD를 도시한다. (E) 정량적 옥텟을 사용하는 (C)로부터의 세포 배양 상청액에서의 융합전 (ADI-61026), 정점 계면 (MPV458), 및 비-융합전 (DS7) HMPV F 항체 결합. 초기 결합 속도가 플롯팅된다.

도 17. (A) 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같은 세포 배양 상청액에서의 HMPV F MPV220759 및 MPV221190 삼량체의 발현 수준. (B) 정제된 HMPV F 삼량체의 분석적 SEC 프로파일. (C) MALS 신호에 기반하는 HMPV F 삼량체의 특징화. (D) DSF에 의해 결정된 바와 같은 정제된 HMPV F 삼량체의 용융 온도 (Tm50). N=3 복제 측정, 및 개별 및 평균 값이 각각 회색 및 흑색 실선으로 보고된다. (E) 정량적 옥텟을 사용하는 융합전 (ADI-14448 및 ADI-61026), 정점 계면 (MPV458), 및 비-융합전 (DS7) HMPV F 항체에 대한 정제된 HMPV F 삼량체 결합. 초기 결합 속도가 n=3-6 측정의 평균 +SD로 플롯팅된다. (F) 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같은 액체 질소에서의 1-10회의 순간 동결 (SF) 사이클 및 -20℃를 향한 과냉각 스트레스를 받은 HMPV F 삼량체의 정규화된 삼량체 피크. 비처리된 삼량체는 100%로 설정되었다. 막대는 n=5 과냉각 샘플의 평균 ±SD를 도시하거나 또는 SF 샘플의 n=1을 도시한다. 빈 원은 개별 측정을 도시한다. (G) 제0일 및 제28일에 1.5, 5, 또는 15 μg AS01B-아주반트 결합된 융합전 HMPV F 단백질 또는 PBS로 근육내로 면역화된 Balb/c 마우스. 제43일의 HMPV 융합전 F 결합 항체 역가 ELISA. 모든 점은 개별 동물의 값을 도시하고, 수평선은 그룹의 중앙값 반응을 나타낸다.

도 18. (A) 분석적 SEC에 의해 결정된 바와 같은 세포 배양 상청액에서의 HMPV F MPV221190 및 MPV220552 삼량체의 발현 수준. 삼량체 피크는 MPV221190의 경우 흑색 화살표로, 및 MPV220552의 경우 회색 화살표로 표시된다. (B) MALS 신호에 기반하는 MPV220552 삼량체의 특징화. (C) DSF에 의해 결정된 바와 같은 MPV220552 삼량체의 용융 온도 (Tm50). N=3 복제 측정, 및 개별 및 평균 값이 각각 회색 및 흑색 실선으로 보고된다. (D) 정량적 옥텟을 사용하는 융합전 (ADI-14448 및 ADI-61026), 정점 계면 (MPV458), 및 비-융합전 (DS7) HMPV F 항체에 대한 HMPV F 삼량체 결합. 초기 결합 속도가 플롯팅된다. (E) 정제 후 (t=0), 4℃에서 2주 동안 또는 37℃에서 2주 동안 저장 후 정제된 MPV221190 및 MPV220552 삼량체의 분석적 SEC 프로파일.

도 19. (A) 백본 MPV220847 및 위치 477에서의 치환을 보유하는 변이체를 발현하는 세포 배양 상청액의 분석적 SEC. (B) DSF에 의해 결정된 바와 같은 (A)로부터의 세포 배양 상청액의 용융 온도 (Tm50). N=3 복제 측정, 및 개별 및 평균 값이 각각 회색 및 흑색 실선으로 보고된다. (C) 정량적 옥텟을 사용하는 (A)로부터의 세포 배양 상청액에서의 융합전 (ADI-14448) 및 비-융합전 (DS7) HMPV F 항체 결합. 초기 결합 속도가 플롯팅된다.

도 20. 백본 MPV211241 및 위치 477에서의 치환을 보유하는 변이체를 발현하는 세포 배양 상청액의 분석적 SEC. 흑색선은 수거 시 (4℃) 및 회색선은 58℃에서 30-분 인큐베이션 후 상청액을 도시한다. HMPV F 삼량체 체류 시간은 T'로, 단량체는 'M'으로 표시된다.

도 21. 유세포 분석에 의해 결정된 바와 같은, 세포 표면-발현된 전장 HMPV F 단백질에 결합하는 융합전 (ADI-61026) 및 비-융합전 (DS7) 항체의 중앙값 형광 강도.

도 22. (A) HMPV F p27 변이체의 정렬. 글리코실화 부위는 밑줄쳐져 있고, N에서 Q로의 돌연변이는 볼드체이다. 결실은 파선에 의해 표시된다. (B) 20% 푸린과 공동-형질감염된 (회색) 또는 없는 (흑색), (A)로부터의 HMPV F 단백질을 발현하는 세포 배양 상청액의 분석적 SEC. (C) 환원된 SDS-PAGE에 이어 (B)로부터의 선택된 상청액의 항-hMPV 폴리클로날 혈청을 사용한 웨스턴 블롯.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0009] 인간 뉴모바이러스 (HMPV 또는 hMPV)의 융합 단백질 (F)은 감염에 요구되는, 바이러스 막과 숙주 세포막의 융합에 수반된 삼량체성 부류 I 융합 단백질이다. HPMV F mRNA는 F0으로 지정된 539개의 아미노산 전구체 단백질로 번역되며, 이는 N-말단에 소포체에서 신호 펩티다제에 의해 제거되는 신호 펩티드 서열 (즉 서열식별번호(SEQ ID NO): 1의 아미노산 잔기 1-18)을 함유한다 (Ulbrandt et al., Journal of General Virology (2008), 89, 3113-3118).

[0010] 활성화되기 위해, 전구체 형태 F0은 세포 프로테아제에 의해 단백질 가수분해 절단 (프로세싱)되어, 준안정적인, 디술피드-연결된 이종이량체 (F1+F2)의 2개의 도메인 (F1 및 F2)을 생성한다. F1의 새로 형성된 N 말단은 융합 펩티드인 것으로 여겨진다. 3개의 F2-F1 이량체가 회합하여 성숙 F 단백질을 형성하며, 이는 표적 세포막과의 접촉 시 입체형태적 변화를 겪도록 유발되는 준안정적인 전융합성 ("융합전") 입체형태를 채택한다. 이 입체형태적 변화는 융합 펩티드를 노출시키며, 이는 숙주 세포막과 회합하고 바이러스, 또는 감염된 세포의 막과 표적 세포막의 융합을 촉진시킨다. 각각 HR1 및 HR2인 2개의 헵타드 반복부 (HR) 영역이 융합 펩티드 및 막관통 도메인에 바로 인접한다 (도 1 참조). 절단되면, HMPV F는 융합-전 형태에서 융합-후 상태로 본질적으로 비가역적이고 에너지상 유리한 입체형태적 변화를 겪도록 유발될 수 있으며 방출된 위치 에너지는 막 융합을 구동시킨다.

[0011] F1 도메인 (서열식별번호: 1의 아미노산 잔기 103-539에 상응함)은 그의 N-말단에 23개의 소수성 융합 펩티드 (서열식별번호: 1의 아미노산 103-126에 상응함), 재폴딩 영역 2 (RR2) (서열식별번호: 1의 아미노산 426-491에 상응함)를 함유하며, HR2는 아미노산 453 내지 484를 포함하고, C-말단은 막관통 영역 (TM) (서열식별번호: 1의 아미노산 잔기 492-513에 상응함) 및 세포질 영역 (아미노산 잔기 514 - 539에 상응함)을 함유한다 (Ulbrandt et al., Journal of General Virology (2008), 89, 3113-3118).

[0012] 절단 후, F2 도메인 (서열식별번호: 1의 아미노산 잔기 19-102에 상응함)은 2개의 디술피드 브릿지에 의해 F1에 공유 연결된다 (Ulbrandt et al., Journal of General Virology (2008), 89, 3113-3118). F1-F2 이종이량체는 비리온에서 동종삼량체로서 조립된다.

[0013] HMPV 감염에 대한 백신은 현재 이용가능하지 않으나 요구되고 있다. 백신을 생산하는 것에 대한 하나의 잠재적인 접근법은 정제된 HMPV F 단백질에 기반하는 아단위 백신이다. 그러나, 이 접근법의 경우 정제된 HMPV F 단백질은 HMPV F 단백질의 융합-전 상태의 입체형태를 닮고, 시간 경과에 따라 안정하고, 충분한 양으로 생산될 수 있는 입체형태인 것이 바람직하다. 추가적으로, 아단위-기반 백신의 경우, HMPV F 단백질은 가용성 분비된 F 단백질 (F 또는 sF)을 생성하기 위해 막관통 (TM) 및 세포질 영역의 결실에 의해 말단절단될 필요가 있다. TM 영역은 막 앵커링 및 삼량체화를 담당하기 때문에, 앵커 없는 가용성 F 단백질은 전장 단백질보다 상당히 더 불안정하고 융합-후 최종-상태로 용이하게 재폴딩될 것이다. 높은 발현 수준 및 높은 안정성을 나타내는 안정한 융합-전 입체형태의 가용성 F 단백질을 수득하기 위해, 융합-전 입체형태는 따라서 안정화될 필요가 있다. 또한 전장 (막-결합된) HMPV F 단백질은 준안정적이기 때문에, 융합-전 입체형태의 안정화가 또한, 예를 들어 임의의 생 약독화된, 벡터-기반 백신 접근법, 또는 RNA 백신에 대해, 즉 TM 및 세포질 영역을 포함하는, 전장 HMPV F 단백질에 바람직하다.

[0014] 본 발명은 삼량체성 재조합체 융합-전 HMPV F 단백질, 즉 융합-전 입체형태에서 안정화되는 HMPV F 단백질을 제공한다. 본 발명을 야기한 연구에서, 야생형 HMPV F 단백질의 아미노산 서열, 특히 서열식별번호: 1의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산의 여러 변형, 예컨대 돌연변이, 결실, 삽입, 및/또는 융합이 상기 안정한 융합-전 HMPV F 단백질을 수득하기 위해 도입되었다. 본 발명의 안정한 융합-전 HMPV F 단백질은 융합-전 입체형태이고, 즉 이들은 융합-전 입체형태 F 단백질에 특이적인 적어도 1개의 에피토프를 포함 (디스플레이)한다. 융합-전 입체형태 F 단백질에 특이적인 에피토프는 융합-후 입체형태에 존재하지 않는 에피토프이다. 어떠한 특정한 이론에도 얽매이지 않으면서, HMPV F 단백질의 융합-전 입체형태는 천연 HMPV 비리온 상에 발현된 HMPV F 단백질 상에 존재하는 것과 동일한 에피토프를 함유할 수 있고, 그러므로 보호 중화 항체를 도출하는데 있어서 이점을 제공할 수 있는 것으로 여겨진다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 단백질은 융합-전 특이적 항-HMPV 모노클로날 항체에 의해 인식되는 적어도 1개의 에피토프를 포함한다. 이러한 융합-전 HMPV 항체의 예는 MPE8 (Corti et al., Nature 50(7467): 439-443, 2013) 및 ADI-14448 (Gilman et al., Sci Immunol. 2016 Dec 16;1(6):eaaj1879. doi: 10.1126/SciImmunol.aaj1879. Epub 2016 Dec 9)이다. 특정 실시양태에서, 재조합체 융합-전 HMPV F 단백질은 상기 기재된 바와 같이, 적어도 1개의 융합-전 특이적 모노클로날 항체에 의해 인식되는 적어도 1개의 에피토프를 포함하고, 삼량체성이다. 특정 실시양태에서, 본 발명에 따른 안정한 융합-전

HMPV F 단백질은 가용성이고 따라서 말단절단된 F1 도메인을 포함한다 (즉 막관통 및 세포질 영역은 (부분적으로) 결실되었음).

[0015] 본 발명은 특히 융합-전 인간 뉴모바이러스 (HMPV) F 전구체 F0 단백질로서, F1 및 F2 도메인을 포함하고, F1 및/또는 F2 도메인의 아미노산 서열에서의 적어도 1개의 변형을 포함하는 단백질을 제공한다.

[0016] 특정 실시양태에서, 적어도 1개의 변형은 융합-전 입체형태를 안정화시키고/거나 HMPV F 단백질의 삼량체 형성 및/또는 (열) 안정성을 증가시킨다.

[0017] HMPV F0 단백질의 1차 아미노산 서열과 관련하여, 하기 용어가 F 단백질의 구조적 특색을 기재하는데 이용된다. 용어 F0은 전장 번역된 HMPV F 단백질 전구체를 지칭한다. 성숙 동안, F0 폴리펩티드는 F2와 F1 사이에, 즉 위치 102와 103에서의 아미노산 사이에 위치된 절단 부위에서 단백질 가수분해 절단을 겪는다.

[0018] 본원에 사용된 바와 같은, F2 도메인은 적어도 아미노산 19-102의 일부를 포함하고, F1 도메인은 적어도 아미노산 103-539의 일부를 포함한다. 가용성 F 단백질은 HMPV F 단백질의 F2 도메인 및 F1 도메인을 포함하고 HMPV F 단백질의 막관통 도메인을 포함하지 않는다. F1 도메인의 가용성 부분은 F0 단백질의 아미노산 103-491의 적어도 일부, 및 최대 전부를 포함한다. 상기 표시된 바와 같이, 이들 아미노산 위치 (및 본원에 지정된 모든 후속 아미노산 위치)는 서열식별번호: 1의 예시적인 HMPV F 단백질 전구체 폴리펩티드 (F0)를 참조하여 제공된다.

[0019] 본 발명에 따라, HMPV F 단백질은, HMPV F 단백질이 F 단백질의 융합전 입체형태의 적어도 1개의 면역우세 에피토프를 보유하고/거나 HMPV F 단백질의 삼량체 형성 및/또는 (열) 안정성을 증가시키도록, F 단백질의 융합전 입체형태를 안정화시키는 적어도 1개의 변형을 포함한다.

[0020] 특정 실시양태에서, 적어도 1개의 변형은 적어도 1개의 비-천연 절단 부위의 도입이다. 따라서, 특정 실시양태에서, 본 발명은 안정화된 융합-전 인간 뉴모바이러스 (HMPV) F 전구체 (F0) 단백질로서, F1 및 F2 도메인을 포함하고, F1과 F2 도메인 사이에, 예를 들어 F2 도메인의 C-말단 단부에 제1 비-천연 절단 부위를 포함하는 단백질을 제공한다.

[0021] 추가적으로, 또는 대안적으로, F2 도메인은 C-말단에서 말단절단될 수 있다. 따라서, 특정 실시양태에서, 제1 비-천연 절단 부위는 말단절단된 F2 도메인의 C-말단 단부에 위치되고, 예를 들어, F2 도메인은 위치 89 뒤에서 C-말단에서 말단절단될 수 있고, 제1 비-천연 절단 부위는 위치 89에서의 C-말단 아미노산 잔기 뒤에 위치된다. 본 발명을 야기한 연구에서, 절단 부위는 잔기 92-93 사이임이 제시되었다. 따라서, 예를 들어 4개의 잔기를 함유하는 푸린 부위가 잔기 89 뒤에 부가되는 경우에, 말단의 위치는 ~ 92이나, C-말단에서의 마지막 잔기는 천연이 아니다.

[0022] 본 발명에 따라, F1과 F2 도메인 사이에 비-천연 절단 부위를 도입함으로써, HMPV F0 단백질의 프로세싱 (절단)은 천연 절단 부위를 갖는 HMPV F 단백질과 비교하여, 개선된다는 것이 제시되었다. 본 발명에 따라 개선된 프로세싱은 HMPV F 단백질의 안정성 및 항원성을 증가시켰다는 것이 제시되었다.

[0023] 본 발명에 따라, 용어 비-천연 절단 부위는 천연 발생 HMPV의 F 단백질에 존재하지 않는 절단 부위를 지칭한다.

[0024] 절단 부위는 부류 I 유형 바이러스 융합 단백질, 예컨대 HMPV F를 포함하는, 다양한 전구체 단백질을 활성화시키는 세포 프로테아제에 의해 이용된 단백질 가수분해 부위이다. 따라서, 단백질 가수분해 활성화 공정을 촉매하는, 다양한 세포 프로테아제, 예컨대 푸린, TMPRSS2, 카텝신, 및 다른 막관통 세린 프로테아제는 숙주 세포로의 바이러스 진입에 요구되는, 다양한 바이러스 세포 표면 단백질을 절단하는 것으로 공지되어 있다. 절단 부위는 전형적으로 세포 프로테아제에 의해 인식되는 특이적 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 그로 이루어진다. 프로테아제는 따라서 폴리펩티드 쇄를 따라 그가 아미노산의 특이적 서열을 통해 커팅하는 곳에 관한 부위를 인식한다. 예를 들어, 푸린-유사 프로테아제는 바람직하게는 염기성 아미노산 표적 서열 (정규적으로, Arg-X-(Arg/Lys) -Arg) 바로 뒤 단백질을 절단한다. 본 발명에 따라, 비-천연 절단 부위는 천연 절단 부위로부터 N-말단에, 즉 천연 절단 부위에 더하여 도입될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 제1 비-천연 절단 부위는 천연 절단 부위를 대체한다.

[0025] 특정 실시양태에서, 본 발명의 단백질은 F2 도메인에 제2 비-천연 절단 부위를 추가로 포함한다. 본 발명에 따라, 제2 비-천연 절단 부위는 제1 비-천연 절단 부위로부터 N-말단에 위치된 F2 도메인에 도입되며, 여기서 스페이서 서열이 제1과 제2 비-천연 절단 부위 사이에 존재한다. 따라서, 제2 비-천연 절단 부위는 제1 천연 또는 비-천연 절단 부위로부터 N-말단에 위치된, F2 도메인 내에 도입되고 스페이서 서열이 제1과 제2 비-천연 절단 부위 사이에 존재하고, 즉 제1 및 제2 절단 부위는 스페이서 서열에 의해 분리되고 직접적으로 인접하지 않

는다. 스페이서 서열은 F2 도메인의 천연 서열의 일부일 수 있거나 또는 제1 및 제2 비-천연 절단 부위를 분리하는 이종성 서열일 수 있다.

[0026] 특정 실시양태에서, 제2 비-천연 절단 부위는 F2 도메인의 아미노산 잔기 88 뒤에, 또는 아미노산 잔기 89 뒤에, 또는 F2 도메인의 아미노산 잔기 90 뒤에 위치되고, 제1 비-천연 절단 부위는 F2 도메인의 C-말단 위치에 위치된다. 바람직한 실시양태에서, 제2 비-천연 절단 부위는 F2 도메인의 아미노산 88 또는 89 뒤 위치이다. 바람직한 실시양태에서, 제2 비-천연 절단 부위는, 그가 잔기 92 또는 93 뒤에서 절단되도록, F2 도메인의 아미노산 88 또는 89 뒤 위치이다.

[0027] 특정 실시양태에서, 제1 비-천연 절단 부위는 아미노산 서열 RX_1X_2R을 포함하며, 여기서 X_1 및 X_2는 임의의 아미노산일 수 있다.

[0028] 바람직한 실시양태에서, 제1 비-천연 절단은 서열 RX_1[K/R]R을 포함하는 푸린 절단 부위이다.

[0029] 특정 바람직한 실시양태에서, F0 단백질은 F1과 (말단절단된) F2 도메인 사이에 RSV F 단백질의 p27 펩티드를 포함하며, 여기서 p27 펩티드는 그의 C-말단 단부에 제1 절단 부위를 포함한다. 이 경우에, 스페이서 서열은 따라서 p27 펩티드 서열(의 일부)이다. p27 펩티드는 임의의 RSV F 단백질의 임의의 p27 펩티드, 또는 그의 변이체일 수 있다. 특정한 실시양태에서, p27 펩티드는 RSV A로부터의 것이고 아미노산 서열 ELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRR (서열식별번호: 2, 절단 부위 밑줄), 또는 서열식별번호: 2와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, p27 펩티드는 서열식별번호: 2와 적어도 90%, 바람직하게는, 적어도 95%, 보다 바람직하게는 적어도 97%, 더욱 더 바람직하게는 적어도 98%, 가장 바람직하게는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 이들 실시양태에서, p27 펩티드는 그의 C-말단에 제1 비-천연 절단 부위를 포함하고, 제2 비-천연 절단 부위는 p27 펩티드로부터 N-말단에 위치된다. 다시, F2 도메인은 그의 C-말단 측에서 말단절단될 수 있다. F 도메인은 위치 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 101에서의 아미노산 잔기 뒤에서 말단절단될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, F2 도메인은 위치 89에서의 아미노산 잔기 뒤에서 말단절단되며, F2 C-말단의 위치 91에서의 Arg의 포함을 초래하는 절단 부위가 이어진다.

[0030] 다른 실시양태에서, p27 펩티드는 RSV B로부터의 것이고 아미노산 서열 EAPQYM**N**YTI**N**TTKNL**N**VSISKKRKRR (서열식별번호: 150), 또는 서열식별번호: 150과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, p27 펩티드는 서열식별번호: 150과 적어도 90%, 바람직하게는, 적어도 95%, 보다 바람직하게는 적어도 97%, 더욱 더 바람직하게는 적어도 98%, 가장 바람직하게는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다.

[0031] 특정 실시양태에서, F0 단백질은 F1과 (말단절단된) F2 도메인 사이에 위치된 RSV F 단백질의 p27 펩티드의 최적화된 변이체를 포함하며, 여기서 p27 펩티드는 그의 C-말단 단부에 제1 절단 부위를 포함한다.

[0032] 특정 실시양태에서, p27 펩티드는 p27 펩티드 서열에서 글리코실화 부위 중 1개 이상을 결실함으로써 변형되었다. p27 펩티드는 전형적으로 2 또는 3개의 N-연결된 글리코실화 부위를 갖는다. 글리코실화 부위는 전형적으로 포유류 세포에서 N-연결된 글리코실화를 허용하는 'NXS/T' 모티프이다. 모티프는 짧은 링커 (Gly/Ser)에 의해 플랭킹될 수 있거나 또는 그렇지 않을 수 있다. 바람직하게는, p27 서열에서의 모든 글리코실화 부위가 결실되었다. 글리코실화 부위의 결실은 글리코실화 부위가 더 이상 존재하지 않도록, NXS/T 모티프에서의 특정 아미노산의 돌연변이에 의해, 또는 글리코실화 부위가 더 이상 존재하지 않도록, 1개 이상의 아미노산을 결실함으로써 수행될 수 있다.

[0033] 본 발명에 따라 p27 펩티드의 탈글리코실화된 변이체를 사용하여, 절단은 푸린을 부가할 필요 없이 개선된다는 것이 제시되었다.

[0034] 다른 실시양태에서, p27 펩티드는 p27 서열로부터의 1-11개의 아미노산, 바람직하게는 9 또는 11개의 아미노산의 결실에 의해 변형되었다.

[0035] 특정 바람직한 실시양태에서, p27 펩티드는 서열식별번호: 185 및 186으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0036] 특정 실시양태에서, 제2 비-천연 절단 부위는 서열 RX_1X_2R을 포함하며, 여기서 X_1 및 X_2는 임의의 아미노산일 수 있다 (https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054290).

[0037] 바람직한 실시양태에서, 제2 비-천연 절단은 서열 $RX_1[K/R]R$, 바람직하게는 RRRR을 포함하는 푸린 절단 부위이다.

[0038] 추가적으로, 또는 대안적으로, 단백질은 C-말단에서 말단절단된 F1 도메인을 포함할 수 있다. 따라서, 가용성 F 단백질을 수득하기 위해, TM 및 세포질 영역은 HMPV F 엑토도메인을 제공하기 위해 제거될 수 있다. 따라서, 특정 실시양태에서, 단백질은 말단절단된 F1 도메인을 포함한다. 특정한 실시양태에서, 말단절단된 F1 도메인은 막관통 및 세포질 영역을 포함하지 않는다. F1 도메인은 위치 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488 또는 489에서의 아미노산 뒤에서 말단절단될 수 있다. 특정 실시양태에서, F1 도메인은 위치 481 또는 489에서의 아미노산 잔기 뒤에서 말단절단된다. 바람직하게는, F1 도메인은 위치 489에서의 아미노산 잔기 뒤에서 말단절단된다. 바람직한 실시양태에서, 말단절단된 F1 도메인은 따라서 HMPV F 단백질의 아미노산 103-481 또는 103-489, 바람직하게는 HMPV F 단백질의 아미노산 103-489를 포함하거나, 또는 그로 이루어진다.

[0039] 본 출원 전반에 걸쳐 사용된 바와 같은, 아미노산 잔기의 위치 (또는 아미노산 위치)는 서열식별번호: 1의 HMPV F 단백질의 서열을 참조하여 제공된다. 본 발명에 사용된 바와 같은, 단어 "HMPV F 단백질의 위치 예를 들어 88에서의 아미노산 잔기"는 따라서 서열식별번호: 1의 HMPV F 단백질에서 위치 88에서의 아미노산에 상응하는 아미노산을 의미한다. 본 출원 전반에 걸쳐 사용된 넘버링 시스템에서, 1은 즉 신호 펩티드를 포함하는, 미성숙 F0 단백질 (서열식별번호: 1)의 N-말단 아미노산을 지칭한다는 것을 유의한다. 서열식별번호: 1의 균주 TN/00/3-14 이외의 HMPV 균주가 사용될 때, F 단백질의 아미노산 위치는 다른 HMPV 균주의 서열을 필요에 따라 갭의 삽입과 함께 서열식별번호: 1의 F 단백질과 정렬함으로써, 서열식별번호: 1의 균주의 F 단백질의 넘버링을 참조하여 넘버링되어야 한다. 서열 정렬은 관련 기술분야에 널리 공지된 방법을 사용하여, 예를 들어 CLUSTALW, Bioedit 또는 CLC Workbench에 의해 수행될 수 있다.

[0040] 본 발명에 따른 아미노산은 20개의 천연 발생 (또는 '표준' 아미노산) 또는 그의 변이체, 예컨대 예를 들어 D-아미노산 (키랄 중심을 갖는 아미노산의 D-거울상이성질체), 또는 단백질에서 천연 발견되지 않는 임의의 변이체, 예컨대 예를 들어 노르류신 중 임의의 것일 수 있다. 표준 아미노산은 이들의 특성에 기반하여 여러 그룹으로 나누어질 수 있다. 중요한 인자는 전하, 친수성 또는 소수성, 크기 및 작용기이다. 이들 특성은 단백질 구조 및 단백질-단백질 상호작용에 중요하다. 일부 아미노산은 특별한 특성을 가지며 예컨대 시스테인은 다른 시스테인 잔기에 대한 공유 디술피드 결합 (또는 디술피드 브릿지)을 형성할 수 있고, 프롤린은 단백질 백본의 턴을 유도하고, 글리신은 다른 아미노산보다 더 가요성이다. 표 2는 표준 아미노산의 약어 및 특성을 제시한다. 통상적인 분자 생물학 절차에 의해 단백질에 돌연변이가 만들어질 수 있다는 것이 통상의 기술자에 의해 인식될 것이다.

[0041] 상기 기재된 바와 같이, 특정 실시양태에서 (예를 들어 가용성 F 단백질의 경우에), 본 발명의 단백질은 말단절단된 F1 도메인을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 "말단절단된" F1 도메인은 전장 F1 도메인이 아닌 F1 도메인을 지칭하며, 즉 여기서 C-말단에서 1개 이상의 아미노산 잔기가 결실되었다. 특정 실시양태에서, 적어도 막관통 도메인 및 세포질 도메인이 가용성 엑토도메인으로서의 발현을 허용하기 위해 결실되었다. TM 영역은 막 앵커링 및 삼량체화를 담당하기 때문에, "앵커 없는" (즉 TM 및 세포질 도메인이 없는) 가용성 F 단백질은 단량체성이고 낮은 발현을 나타낸다. 안정한 융합-전 입체형태의 가용성 삼량체성 F 단백질을 수득하기 위해, 융합-전 입체형태는 따라서 안정화될 필요가 있다. 삼량체화를 촉진시키기 위해 TM/CT 영역을 이종성 삼량체화 도메인, 예컨대 폴드온 도메인으로 대체하는 것이 공지되어 있다.

[0042] 본 발명에 따라, 가용성 삼량체성 HMPV 융합-전 F 단백질은 이종성 삼량체화 도메인이 없이 제공된다. 따라서, 특정 실시양태에서, 본 발명에 따른 단백질은 HR2 도메인에 1개 이상의 안정화 아미노산 잔기를 포함하며, 상기 HR2 도메인은 HMPV F 전구체 (F0) 단백질의 아미노산 453 내지 484를 포함한다. 본 발명에 따라, 놀랍게도 HR2 도메인에서의 안정화 돌연변이 중 1개 이상의 존재에 의해, 비록 이종성 삼량체화 도메인이 존재하지 않더라도, HR2 도메인에 1개 이상의 안정화 돌연변이가 없는 HMPV F 단백질과 비교하여, 삼량체 함량이 증가된다는 것이 발견되었다.

[0043] 상기 표시된 바와 같이, HMPV F 단백질은 전형적으로 동종삼량체, 즉 3개의, 통상적으로 비-공유 결합된, 단백질 단량체 (또는 프로토머)에 의해 형성된 거대분자 복합체이다. 특정한 실시양태에서, HR2 도메인에서의 1개 이상의 안정화 아미노산은 삼량체에서의 상이한 HMPV F 프로토머의 HR2 도메인에서 1개 이상의 아미노산 잔기 사이의 프로토머간 상호작용을 최적화한다.

[0044] 바람직한 실시양태에서, 위치 477에서의 아미노산은 I, V, L 또는 F 또는 M이다.

[0045] 특정 실시양태에서, 더욱이 위치 473에서의 아미노산 잔기는 I, F 또는 W이고/거나, 위치 474에서의 아미노산 잔기는 또는 I이고/거나, 위치 475에서의 아미노산 잔기는 R이고/거나, 위치 476에서의 아미노산 잔기는 K이고/거나, 위치 478에서의 아미노산 잔기는 D이고/거나, 위치 479에서의 아미노산 잔기는 E이고/거나, 위치 480에서의 아미노산 잔기는 L이고/거나, 위치 484에서의 아미노산 잔기는 I이고/거나, 위치 488에서의 아미노산 잔기는 I이다.

[0046] 바람직한 실시양태에서, 위치 473에서의 아미노산 잔기는 W이고, 위치 477에서의 아미노산 잔기는 I이고, 위치 484에서의 아미노산 잔기는 I이다.

[0047] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 위치 473에서의 아미노산 잔기는 W이고, 위치 476에서의 아미노산 잔기는 K이고, 위치 477에서의 아미노산 잔기는 F이고, 위치 484에서의 아미노산 잔기는 I이다.

[0048] 또 다른 특정한 실시양태에서, 위치 477에서의 아미노산은 I, V, L 또는 F 또는 M이고, 위치 473에서의 아미노산 잔기는 I, F 또는 W이고, 위치 475에서의 아미노산 잔기는 R이고, 위치 476에서의 아미노산 잔기는 K이고, 위치 478에서의 아미노산 잔기는 D이고, 위치 479에서의 아미노산 잔기는 E이고, 위치 484에서의 아미노산 잔기는 I이다.

[0049] 삼량체성 융합-전 HMPV F 단백질을 추가로 안정화시키기 위해, 특정 실시양태에서, 위치 112에서의 아미노산 잔기는 R이고/거나, 위치 209에서의 아미노산 잔기는 E이고/거나, 위치 453에서의 아미노산 잔기는 P 또는 Q이다.

[0050] 추가 실시양태에서, 위치 149에서의 아미노산 잔기는 Y이고/거나, 위치 313에서의 아미노산 잔기는 W이고/거나, 위치 445에서의 아미노산 잔기는 Y이다.

[0051] 바람직한 실시양태에서, 위치 112에서의 아미노산 잔기는 R이고, 위치 209에서의 아미노산 잔기는 E이고, 위치 453에서의 아미노산 잔기는 P 또는 Q이다.

[0052] 본 발명에 따라, HMPV F 단백질은 1개 이상의 아미노산의 1개 이상의 변형, 예컨대 부가, 결실 또는 치환을 도입함으로써 (삼량체성 융합전 입체형태에서) 안정화된다. 1개의 이러한 안정화 변형은 HMPV F0 단백질의 아미노산 서열에서의 적어도 1개의 비-천연 절단 부위의 부가이다.

[0053] 또 다른 안정화 변형은 HR2 도메인에서의 1개 이상의 안정화 아미노산의 도입이다.

[0054] 본 발명에 따라, 융합-전 입체형태의 안정화된 삼량체성 HMPV 단백질이 따라서 제공된다. 본 발명에 따른 변형은 바람직하게는 이들 변형(들)을 포함하지 않는 HMPV F 단백질과 비교하여 HMPV F 삼량체의 융합-전 입체형태의 증가된 안정화를 초래한다. 본 발명에 따른 변형은 바람직하게는 변형을 함유하지 않는 HMPV F 단백질과 비교하여, 융합-후 입체형태에 대한 지시된 항체 (예컨대 DS7)에 대한 감소된 결합 및/또는 정점 계면 결합 항체 MPV458 및 MPV465에 대한 감소된 결합과 함께, 안정한 "폐쇄된" 융합-전 F 삼량체를 초래한다. 추가적으로, 또는 대안적으로, 본 발명에 따른 변형은 이들 변형(들)을 포함하지 않는 HMPV F 단백질과 비교하여, 4℃에서 및/또는 37℃에서 2주 동안 저장 후 또는 순간 동결 사이클 후 증가된 삼량체 함량, 용융 온도 및/또는 삼량체 안정성을 초래한다. 특히, 본 발명에 따른 변형은 이들 변형(들)을 포함하지 않는 HMPV F 단백질과 비교하여 4℃에서 적어도 6개월 동안 저장 후 증가된 삼량체 함량 및 삼량체 안정성을 초래한다.

[0055] 추가적으로, 또는 대안적으로, 본 발명의 변형(들)은 이들 변형(들)을 포함하지 않는 HMPV F 단백질과 비교하여, 융합-전 HMPV F 삼량체의 증가된 발현 수준을 초래한다.

[0056] 본 발명에 따라 따라서 표시된 위치에서의 특정 아미노산의 존재는 융합-전 입체형태의 삼량체성 단백질의 안정성을 증가시킨다는 것이 입증되었다. 본 발명에 따라, 특정 아미노산은 (예를 들어 HMPV F 단백질의 천연 발생 변이체에서) 표시된 위치에 이미 존재할 수 있거나, 또는 본 발명에 따른 특정 아미노산 잔기로의 해당 위치에서의 아미노산의 치환 (돌연변이)에 의해 도입될 수 있다. 본 발명에 따라, 단백질은 이들의 아미노산 서열에 1개 이상의 돌연변이를 포함하고, 즉 표시된 위치에서의 1개 이상의 천연 발생 아미노산은 또 다른 아미노산으로 치환되었다.

[0057] 천연 발생 HMPV F 단백질에서 발생하는 특정 안정화 아미노산 잔기는 231I, 404P, 및 368N을 포함한다. 따라서, 특정 실시양태에서 위치 231에서의 아미노산 잔기는 I이고/거나, 위치 404에서의 아미노산 잔기는 P이고/거나, 위치 368에서의 아미노산 잔기는 N이다.

[0058] 본 발명에 따른 단백질은 1개 이상의 추가적인 안정화 돌연변이, 예를 들어 동시-계류 특허 출원 EP21215259에 기재된 안정화 돌연변이 중 1개 이상을 추가로 포함할 수 있다. 따라서, 특정 실시양태에서, 위치 69에서의 아

미노산 잔기는 Y 또는 W이고/거나, 위치 73에서의 아미노산 잔기는 W이고/거나, 위치 185에서의 아미노산 잔기는 P이고/거나, 위치 191에서의 아미노산 잔기는 I이고/거나, 위치 116에서의 아미노산 잔기는 H이고/거나, 위치 342에서의 아미노산 잔기는 P이다.

[0059] 추가적으로, 또는 대안적으로, 단백질은 EP21215259에 기재된 바와 같이, 1개 이상의 비-천연 프로토머내 또는 프로토머간 디술피드 결합을 추가로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 1개 이상의 디술피드 결합은 아미노산 잔기 140과 147 사이의 프로토머내 디술피드 결합 및/또는 아미노산 잔기 141 또는 161 사이의 프로토머내 디술피드 결합, 및/또는 아미노산 잔기 360과 459 사이의 프로토머내 디술피드 결합으로부터 선택된다.

[0060] 임의의 및/또는 모든 안정화 변형은 본 발명에 따른 HMPV F 단백질을 생산하기 위해 개별적으로 및/또는 본원에 개시된 다른 안정화 변형 중 임의의 것과 조합되어 사용될 수 있다. 예시적인 실시양태에서 HMPV F 단백질은 적어도 1개의 비-천연 절단 부위를 포함한다. 추가적으로, 또는 대안적으로, HMPV F 단백질은 HR2 도메인에 1개 이상의 안정화 돌연변이를 포함한다. 추가적으로, 또는 대안적으로, HMPV F 단백질은 위치 112에서의 아미노산 잔기가 R이고/거나, 위치 209에서의 아미노산 잔기가 E이고/거나, 위치 453에서의 아미노산 잔기가 P 또는 Q이고/거나, 위치 149에서의 아미노산 잔기가 Y이고/거나, 위치 313에서의 아미노산 잔기가 W이고/거나, 위치 445에서의 아미노산 잔기가 Y인 아미노산 서열을 포함한다.

[0061] 다시 아미노산 잔기의 위치에 대해 서열식별번호: 1을 참조한다는 것을 유의한다. 통상의 기술자는 다른 HMPV 균주의 F 단백질에서의 상응하는 아미노산 잔기를 결정할 수 있을 것이다.

[0062] 상기 기재된 바와 같이, 특정 실시양태에서 (예를 들어 가용성 F 단백질의 경우에), 본 발명의 단백질은 말단절단된 F1 도메인을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 "말단절단된" F1 도메인은 전장 F1 도메인이 아닌 F1 도메인을 지칭하며, 즉 여기서 C-말단에서 1개 이상의 아미노산 잔기가 결실되었다. 특정 실시양태에서, 적어도 막관통 도메인 및 세포질 도메인이 가용성 엑토도메인으로서의 발현을 허용하기 위해 결실되었다. 특정 실시양태에서, F1 도메인은 아미노산 잔기 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488 또는 489 뒤에서 말단절단된다.

[0063] 바람직한 실시양태에서 말단절단된 F1 도메인은 HMPV F 단백질의 아미노산 103-489를 포함하거나, 또는 그로 이루어진다.

[0064] 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 가용성 단백질은 이종성 삼량체화 도메인을 함유하지 않는다. 그러나, 본 발명에 따라, 이종성 삼량체화 도메인은 목적하는 경우, 임의로 연결 서열을 통해, 말단절단된 F1 도메인에 연결될 수 있다. 특정 다른 실시양태에서, 이종성 삼량체화 도메인은 아미노산 서열 GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL (서열식별번호: 136)을 포함하는 폴드온 도메인이다.

[0065] 바람직한 실시양태에서, HMPV F0 단백질은 서열식별번호: 4-135, 서열식별번호: 151-159, 서열식별번호: 161-182 및 서열식별번호: 184로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 그의 단편을 포함한다. 특히 바람직한 실시양태에서, HMPV F0 단백질은 서열식별번호: 30, 70, 81,82, 83, 96, 111, 119, 131, 132, 133, 134, 135, 155, 156, 159, 170, 180 및 184의 아미노산 서열 또는 그의 단편을 포함한다. 특히 바람직한 실시양태에서, HMPV F0 서열은 서열식별번호: 111, 159, 180 또는 184의 아미노산 서열, 또는 그의 단편을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, HMPV F0 서열은 서열식별번호: 111의 아미노산 서열, 또는 그의 단편을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, HMPV F0 서열은 서열식별번호: 159의 아미노산 서열, 또는 그의 단편을 포함한다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, HMPV F0 서열은 서열식별번호: 180의 아미노산 서열, 또는 그의 단편을 포함한다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, HMPV F0 서열은 서열식별번호: 184의 아미노산 서열, 또는 그의 단편을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 아미노산 서열은 임의의 이종성 C-말단 태그 서열을 포함하지 않는다.

[0066] 본 발명은 더욱이 F1 및/또는 F2 도메인의 아미노산 서열에서의 적어도 1개의 변형을 포함하는 HMPV F 단백질을 제공하며, 여기서 단백질은 1개 이상의 절단 부위에서 절단되었으며, 이는 1개 이상의 천연 디술피드 브릿지에 의해 공유 연결되는 F2 및 F1 도메인을 초래하고, 여기서 단백질은 삼량체성이다. 상기 기재된 바와 같이, 본 발명은 미성숙 (또는 불활성) HMPV F0 단백질을 제공한다. 발현 후, 활성화되기 위해, 단백질은 전형적으로 프로테아제에 의해 절단 (또는 프로세싱)된다. 본 발명은 또한 프로세싱된 HMPV F 단백질, 즉 절단 (또는 프로세싱) 후 HMPV F 단백질을 포함한다. 따라서, 본 발명은 또한 상기 기재된 바와 같은 HMPV F0 단백질에 기반하는, 프로세싱된 HMPV F 단백질을 제공하며, 여기서 프로세싱된 단백질은 1개 이상의 절단 부위에서 절단되었으며, 이는 1개 이상의 디술피드 브릿지에 의해 공유 연결되는 (말단절단된) F2 도메인 및 (말단절단된) F1 도메인을 포함하는 HMPV F 단백질을 초래하고, 따라서 F1-F2 이량체를 형성한다. 3개의 F1-F2 이량체 (각각의 F1-F2 이량체가 프로토머임)가 이어서 동종삼량체를 형성한다. 불활성 F0 단백질이 제2 비-천연 절단 부위를

포함하는 실시양태에서, 제1과 제2 비-천연 부위 사이의 스페이서 서열은 절단에 의해 제거된다는 것이 이해될 것이다.

[0067] 또한 성숙 HMPV F 단백질은 신호 서열을 포함하지 않을 것임이 이해될 것이다.

[0068] 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 프로세싱된 HMPV F 단백질은 HMPV F0 단백질의 아미노산 103-481, 바람직하게는 아미노산 103-489를 포함하는, F1 도메인, 및 HMPV F0 단백질의 아미노산 19-88을 포함하는 F2 도메인을 포함한다. 특히 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 프로세싱된 HMPV F 단백질은 HMPV F0 단백질의 아미노산 103-489를 포함하는, F1 도메인, 및 HMPV F0 단백질의 아미노산 19-89를 포함하는 F2 도메인을 포함한다.

[0069] 특정한 실시양태에서, F1 도메인은 HMPV F0 단백질의 아미노산 103-489로 이루어지고, F2 도메인은 HMPV F0 단백질의 아미노산 19-89로 이루어진다. 본 발명에 따라, F1 및/또는 F2 도메인의 아미노산 서열은 야생형 HMPV F 단백질의 F1 및/또는 F2 도메인의 아미노산 서열과 비교하여 1개 이상의 변형을 함유한다.

[0070] 본 발명에 따라, F2 도메인이 아미노산 19-89를 함유할 때, (절단 후) 위치 91에서의 아미노산은 R인 (천연 서열에서와 같음) 것이 바람직하다는 것이 발견되었다. 따라서, 특정 실시양태에서, 위치 89+2에서의 아미노산은 R이다: F2 도메인은 위치 89에서의 아미노산 뒤에서 말단절단되었으나 비-천연 절단 부위 (RRRR와 같음)의 부가가 바람직하게는 위치 91에서의 R의 보존을 초래한다.

[0071] 특정 실시양태에서, 프로세싱된 HMPV F 단백질은 서열식별번호: 4-135, 서열식별번호: 151-159, 서열식별번호: 161-182 및 서열식별번호: 184로 이루어진 군으로부터 선택된 HMPV F0 서열로부터 유래되고, 즉 서열식별번호: 4-135, 서열식별번호: 151-159, 서열식별번호: 161-182 및 서열식별번호: 184로 이루어진 군으로부터 선택된 F0 서열로부터의 F1 및 F2 도메인을 포함한다.

[0072] 특히 바람직한 실시양태에서, 프로세싱된 HMPV F 단백질은 서열식별번호: 30, 70, 81,82, 83, 96, 111, 119, 131, 132, 133, 134, 135, 155, 156, 159, 170, 180 및 184로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 아미노산 121-507을 포함하는, F1 도메인, 및 아미노산 1-89, 바람직하게는 아미노산 19-89를 포함하는 F2 도메인을 포함한다. 특히 바람직한 실시양태에서, HMPV F 단백질은 서열식별번호: 111, 159, 180 또는 184의 아미노산 서열의 아미노산 121-507을 포함하는, F1 도메인, 및 아미노산 1-89, 바람직하게는 19-89를 포함하는 F2 도메인을 포함한다.

[0073] 본 출원 전반에 걸쳐 사용된 바와 같은 뉴클레오티드 서열은 관련 기술분야의 관습과 같이, 5'에서 3' 방향으로, 아미노산 서열은 N-말단에서 C-말단으로 제공된다. 통상적인 분자 생물학 절차에 의해 단백질에 돌연변이가 만들어질 수 있다는 것이 통상의 기술자에 의해 인식될 것이다.

[0074] 상기 기재된 바와 같이, 본 발명에 따라, HMPV F 단백질은 본 발명의 변형이 없는 HMPV F 단백질과 비교하여, 예를 들어 융합-후 특이적 HMPV F 항체, 예컨대 DS7에 대한 결합의 감소, 및/또는 개방 정점 계면 결합제, 예컨대 MPV458 및 MPV465의 결합에서의 감소에 의해 측정된 바와 같이, 융합-전 입체형태에서 안정화된다.

[0075] 추가적으로, 또는 대안적으로, 본 발명에 따른 HMPV F 단백질의 삼량체 함량은, 예를 들어 분석적 SEC에 의해 검출된 상청액에서의 증가된 삼량체 함량 또는 정제된 단백질의 삼량체 수율에 의해 측정된 바와 같이, 본 발명의 변형이 없는 HMPV F 단백질과 비교하여 증가된다.

[0076] 추가적으로, 또는 대안적으로, HMPV F 단백질의 열 안정성은, 예를 들어 열 스트레스 후 삼량체 함량 또는 상청액에서의 용융 온도 또는 정제된 단백질의 용융 온도에 의해 측정된 바와 같이, 본 발명의 변형이 없는 HMPV F 단백질과 비교하여 증가된다.

[0077] 본 발명은 본 발명에 따른 HMPV F 단백질을 코딩하는 핵산 분자를 추가로 제공한다. 핵산 분자는 DNA 또는 RNA 폴리뉴클레오티드일 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 단백질을 코딩하는 핵산 분자는 포유류 세포, 바람직하게는 인간 세포에서의 발현을 위해 코돈-최적화된다. 코돈-최적화 방법은 공지되어 있고 이전에 기재되었다 (예를 들어 WO 96/09378). 서열은 야생형 서열과 비교하여 적어도 1개의 바람직하지 않은 코돈이 보다 바람직한 코돈에 의해 대체되는 경우에 코돈-최적화된 것으로 간주된다. 본원에서, 바람직하지 않은 코돈은 동일한 아미노산을 코딩하는 또 다른 코돈보다 유기체에서 덜 빈번히 사용되는 코돈이고, 보다 바람직한 코돈은 바람직하지 않은 코돈보다 유기체에서 더 빈번히 사용되는 코돈이다. 특정 유기체에 대한 코돈 사용량의 빈도는, 예컨대 http://www.kazusa.or.jp/codon에서의 코돈 빈도 표에서 찾아볼 수 있다. 바람직하게는 1개 초과의 바람직하지 않은 코돈, 바람직하게는 대부분의 또는 모든 바람직하지 않은 코돈이 더 바람직한 코돈에 의

해 대체된다. 바람직하게는 유기체에서 가장 빈번히 사용된 코돈이 코돈-최적화된 서열에 사용된다. 바람직한 코돈에 의한 대체는 일반적으로 보다 높은 발현을 야기한다.

[0078] 수많은 상이한 폴리뉴클레오티드 및 핵산 분자는 유전자 코드의 축퇴의 결과로서 동일한 단백질을 코딩할 수 있다는 것이 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다. 또한 통상의 기술자는, 통상적인 기술을 사용하여, 단백질이 발현되어야 하는 임의의 특정한 숙주 유기체의 코돈 사용량을 반영하기 위해 핵산 분자에 의해 코딩된 단백질 서열에 영향을 미치지 않는 뉴클레오티드 치환을 할 수 있다는 것이 이해된다. 그러므로, 달리 명시되지 않는 한, "아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 또는 핵산 분자"는 서로의 축퇴 버전이고 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 모든 뉴클레오티드 서열 또는 핵산 분자를 포함한다. 단백질 및 RNA를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 인트론을 포함할 수 있거나 또는 그렇지 않을 수 있다.

[0079] 특정 실시양태에서, 본 발명에 따른 핵산 분자는 서열식별번호: 4-135, 서열식별번호: 151-159, 서열식별번호: 161-182 및 서열식별번호: 184로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 단백질 또는 그로부터 유래된 프로세싱된 HMPV F 단백질 또는 그의 단편을 코딩한다. 특히 바람직한 실시양태에서, 핵산 분자는 서열식별번호: 30, 70, 81,82, 83, 96, 111, 119, 131, 132, 133, 134, 135, 155, 156, 159, 170, 180 및 184의 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 단백질, 또는 그로부터 유래된 프로세싱된 HMPV F 단백질, 또는 그의 단편을 코딩한다. 특히 바람직한 실시양태에서, 핵산은 서열식별번호: 111, 159, 180 또는 184의 아미노산 서열을 포함하는 단백질, 또는 그로부터 유래된 프로세싱된 HMPV F 단백질을 코딩한다. 바람직한 실시양태에서, 핵산은 서열식별번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 단백질, 또는 그로부터 유래된 프로세싱된 HMPV F 단백질을 코딩한다. 바람직한 실시양태에서, 핵산은 서열식별번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 단백질, 또는 그로부터 유래된 프로세싱된 HMPV F 단백질을 코딩한다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 핵산은 서열식별번호: 180의 아미노산 서열을 포함하는 단백질, 또는 그로부터 유래된 프로세싱된 HMPV F 단백질을 코딩한다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 핵산은 서열식별번호: 184의 아미노산 서열을 포함하는 단백질, 또는 그로부터 유래된 프로세싱된 HMPV F 단백질을 코딩한다.

[0080] 핵산 서열은 통상적인 분자 생물학 기술을 사용하여 클로닝되거나, 또는 DNA 합성에 의해 새로 생성될 수 있으며, 이는 DNA 합성 및/또는 분자 클로닝의 분야에서 사업을 하는 서비스 회사 (예를 들어 진아트(GeneArt), 진스크립트(GenScripts), 인비트로젠(Invitrogen), 유로핀즈(Eurofins))에 의해 통상적인 절차를 사용하여 수행될 수 있다.

[0081] 상기 기재된 바와 같이, 본원에 기재된 바와 같은 핵산 분자는 RNA 폴리뉴클레오티드 (또는 RNA)일 수 있다. RNA는 mRNA, 변형된 mRNA, 자기-복제 RNA, 또는 원형 mRNA일 수 있다.

[0082] 바람직한 RNA는 자기-복제이다. 자기-복제 RNA 분자 (레플리콘)는, 심지어 어떠한 단백질도 없는 척추동물 세포로 전달될 때, (그 자체로부터 생성하는 안티센스 카피를 통해) 그 자체로부터의 전사에 의해 다중 딸 RNA의 생산을 야기할 수 있다. 자기-복제 RNA 분자는 전형적으로 세포로의 전달 후 직접적으로 번역될 수 있는 +-가닥 분자이고, 이 번역은 이어서 전달된 RNA로부터 안티센스 및 센스 전사체 둘 다를 생산하는 RNA-의존적 RNA 폴리머라제를 제공한다. 따라서 전달된 RNA는 다중 딸 RNA의 생산을 야기한다. 이들 딸 RNA, 뿐만 아니라 동일선상의 서브게놈 전사체는 자체적으로 번역되어 코딩된 면역원의 계내 발현을 제공할 수 있거나, 또는 전사되어 면역원의 계내 발현을 제공하도록 번역되는 전달된 RNA와 동일한 센스를 갖는 추가 전사체를 제공할 수 있다. 이 전사 서열의 전체적인 결과는 도입된 레플리콘 RNA의 수에서의 막대한 증폭이고 따라서 코딩된 면역원은 세포의 주요 폴리펩티드 산물이 된다.

[0083] 자기-복제를 달성하기 위한 하나의 적합한 시스템은 알파바이러스-기반 RNA 레플리콘을 사용하는 것이다. 이들 +-가닥 레플리콘은 세포로의 전달 후 번역되어 레플리카제 (또는 레플리카제-트랜스크립타제)를 제공한다. 레플리카제는 자가-절단하는 폴리단백질로서 번역되어 +-가닥 전달된 RNA의 게놈-가닥 카피를 생성하는 복제 복합체를 제공한다. 이들 가닥 전사체는 자체적으로 전사되어 +-가닥 모 RNA의 추가 카피를 제공하고 또한 면역원을 코딩하는 서브게놈 전사체를 제공할 수 있다. 서브게놈 전사체의 번역은 따라서 감염된 세포에 의한 면역원의 계내 발현을 야기한다. 적합한 알파바이러스 레플리콘은 신드비스 바이러스, 셈리키 삼림 바이러스, 동부 말 뇌염 바이러스, 베네수엘라 말 뇌염 바이러스 등으로부터의 레플리카제를 사용할 수 있다. 돌연변이체 또는 야생형 바이러스 서열이 사용될 수 있고 예를 들어 VEEV의 약독화된 TC83 돌연변이체가 레플리콘에 사용되어 왔다.

[0084] 바람직한 자기-복제 RNA 분자는 따라서 (i) 자기-복제 RNA 분자로부터 RNA를 전사할 수 있는 RNA-의존적 RNA 폴리머라제 및 (ii) 본 발명에 따른 HPMV F 단백질을 코딩한다. 폴리머라제는 예를 들어 알파바이러스 단백질

nsP1, nsP2, nsP3 및 nsP4 중 1개 이상을 포함하는 알파바이러스 레플리카제일 수 있다.

[0085] 천연 알파바이러스 게놈은 비-구조적 레플리카제 폴리단백질에 더하여 구조적 비리온 단백질을 코딩하는 반면에, 본 발명의 자기-복제 RNA 분자는 알파바이러스 구조적 단백질을 코딩하지 않는 것이 바람직하다. 따라서, 바람직한 자기-복제 RNA는 세포에서 그 자체의 게놈 RNA 카피의 생산을 야기할 수 있으나, RNA-함유 비리온의 생산은 그렇지 않다. 이들 비리온을 생산할 수 없는 불능은, 야생형 알파바이러스와 달리, 자기-복제 RNA 분자가 그 자체를 감염성 형태로 영속시킬 수 없다는 것을 의미한다. 야생형 바이러스에서의 영속화에 필요한 알파바이러스 구조적 단백질은 본 발명의 자기-복제 RNA에 부재하고 이들의 위치는 서브게놈 전사체가 구조적 알파바이러스 비리온 단백질보다는 오히려 면역원을 코딩하도록, 관심 면역원을 코딩하는 유전자(들)에 의해 차지된다.

[0086] 따라서, 본 발명에 유용한 자기-복제 RNA 분자는 2개의 오픈 리딩 프레임을 가질 수 있다. 제1 (5') 오픈 리딩 프레임은 레플리카제를 코딩하고; 제2 (3') 오픈 리딩 프레임은 면역원을 코딩한다. 일부 실시양태에서 RNA는 예를 들어 추가 면역원 (하기 참조) 코딩하거나 또는 부수적인 폴리펩티드를 코딩하는 추가적인 {예를 들어 하류) 오픈 리딩 프레임을 가질 수 있다.

[0087] 자기-복제 RNA 분자는 코딩된 레플리카제와 상용성인 5' 서열을 가질 수 있다. 자기-복제 RNA 분자는 다양한 길이를 가질 수 있으나 이들은 전형적으로 5000-25000개의 뉴클레오티드 길이 예를 들어 8000-15000개의 뉴클레오티드, 또는 9000-12000개의 뉴클레오티드이다.

[0088] 본 발명에 유용한 RNA 분자는 5' 캡 {예를 들어 7-메틸구아노신)을 가질 수 있다. 이 캡은 RNA의 생체내 번역을 증진시킬 수 있다. 본 발명에 유용한 RNA 분자의 5' 뉴클레오티드는 5' 트리포스페이트 기를 가질 수 있다. 캡핑된 RNA에서 이는 5'에서 5'로의 브릿지를 통해 7-메틸구아노신에 연결될 수 있다.

[0089] RNA 분자는 3' 폴리-A 테일을 가질 수 있다. 이는 또한 그의 3' 단부 근처 폴리-A 폴리머라제 인식 서열 {예를 들어 AAUAAA)을 포함할 수 있다. 본 발명에 유용한 RNA 분자는 전형적으로 단일-가닥일 것이다. 단일-가닥 RNA는 일반적으로 TLR7, TLR8, RNA 헬리카제 및/또는 PKR에 결합함으로써 아주반트 효과를 개시할 수 있다. 이중-가닥 형태로 전달된 RNA (dsRNA)는 TLR3에 결합할 수 있고, 이 수용체는 또한 단일-가닥 RNA의 복제 동안 또는 단일-가닥 RNA의 2차 구조 내에 형성되는 dsRNA에 의해 유발될 수 있다.

[0090] 본 발명에 유용한 RNA 분자는 편리하게 시험관내 전사 (IVT)에 의해 제조될 수 있다. IVT는 박테리아에서 플라스미드 형태로 생성되고 증식되거나, 또는 합성적으로 (예를 들어 유전자 합성 및/또는 폴리머라제 연쇄-반응 조작 방법에 의해) 생성된 (cDNA) 주형을 사용할 수 있다. 예를 들어, DNA-의존적 RNA 폴리머라제 (예컨대 박테리오파지 T7, T3 또는 SP6 RNA 폴리머라제)가 DNA 주형으로부터 RNA를 전사하는데 사용될 수 있다. (비록 레플리콘의 폴리-A가 통상적으로 DNA 주형 내에 코딩되지만) 적절한 캡핑 및 폴리-A 부가 반응이 필요에 따라 사용될 수 있다. 이들 RNA 폴리머라제는 전사된 5' 뉴클레오티드(들)에 대한 엄격한 요건을 가질 수 있고 일부 실시양태에서 이들 요건은 IVT -전사된 RNA가 그의 자기-코딩된 레플리카제에 대한 기질로서 효율적으로 기능할 수 있는 것을 보장하기 위해, 코딩된 레플리카제의 요건과 매치되어야 한다.

[0091] 자기-복제 RNA는 (임의의 5' 캡 구조에 더하여) 변형된 핵염기를 갖는 1개 이상의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 따라서 RNA는 m5C (5-메틸시티딘), m5U (5-메틸우리딘), m6A (N6-메틸아데노신), s2U (2-티오우리딘), Um (2'-O-메틸우리딘), m1A (1-메틸아데노신); m2A (2-메틸아데노신); Am (2'-O-메틸아데노신); ms2m6A (2-메틸티오-N6-메틸아데노신); i6A (N6-이소펜테닐아데노신); ms2i6A (2-메틸티오-N6이소펜테닐아데노신); io6A (N6-(시스-히드록시이소펜테닐)아데노신); ms2io6A (2-메틸티오-N6-(시스-히드록시이소펜테닐) 아데노신); g6A (N6-글리시닐카르바모일아데노신); t6A (N6-트레오닐 카르바모일아데노신); ms2t6A (2-메틸티오-N6-트레오닐 카르바모일아데노신); m6t6A (N6-메틸-N6-트레오닐카르바모일아데노신); hn6A(N6.-히드록시노르발릴카르바모일아데노신); ms2hn6A (2-메틸티오-N6-히드록시노르발릴 카르바모일아데노신); Ar(p) (2'-O-리보실아데노신 (포스페이트)); I (이노신); mi l (1-메틸이노신); m'lm (l,2'-O-디메틸이노신); m3C (3-메틸시티딘); Cm (2T-O-메틸시티딘); s2C (2-티오시티딘); ac4C (N4-아세틸시티딘); f5C (5-폰닐시티딘); m5Cm (5,2-O-디메틸시티딘); ac4Cm (N4아세틸2TO메틸시티딘); k2C (리시딘); m1G (1-메틸구아노신); m2G (N2-메틸구아노신); m7G (7-메틸구아노신); Gm (2'-O-메틸구아노신); m22G (N2,N2-디메틸구아노신); m2Gm (N2,2'-O-디메틸구아노신); m22Gm (N2,N2,2'-O-트리메틸구아노신); Gr(p) (2'-O-리보실구아노신 (포스페이트)) ; yW (위부토신); o2yW (퍼옥시위부토신); OHyW (히드록시위부토신); OHyW* (저변형된(undermodified) 히드록시위부토신); imG (와이오신); mimG (메틸구아노신); Q (퀘오신); oQ (에폭시퀘오신); galQ (갈락토실-퀘오신); manQ (만노실-퀘오신); preQo (7-시아노-7-데아자구아노신); preQi (7-아미노메틸-7-데아자구아노신); G* (아르케오신); D (디히드로우리딘);

m5Um (5,2'-O-디메틸우리딘); s4U (4-티오우리딘); m5s2U (5-메틸-2-티오우리딘); s2Um (2-티오-2'-O-메틸우리딘); acp3U (3-(3-아미노-3-카르복시프로필)우리딘); ho5U (5-히드록시우리딘); mo5U (5-메톡시우리딘); cmo5U (우리딘 5-옥시아세트산); mcmo5U (우리딘 5-옥시아세트산 메틸 에스테르); chm5U (5-(카르복시히드록시메틸)우리딘)); mchm5U (5-(카르복시히드록시메틸)우리딘 메틸 에스테르); mcm5U (5-메톡시카르보닐 메틸우리딘); mcm5Um (S-메톡시카르보닐메틸-2-O-메틸우리딘); mcm5s2U (5-메톡시카르보닐메틸-2-티오우리딘); nm5s2U (5-아미노메틸-2-티오우리딘); mnm5U (5-메틸아미노메틸우리딘); mnm5s2U (5-메틸아미노메틸-2-티오우리딘); mnm5se2U (5-메틸아미노메틸-2-셀레노우리딘); ncm5U (5-카르바모일메틸 우리딘); ncm5Um (5-카르바모일메틸-2'-O-메틸우리딘); cmnm5U (5-카르복시메틸아미노메틸우리딘); cnmm5Um (5-카르복시메틸아미노메틸-2-L-O메틸우리딘); cmnm5s2U (5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오우리딘); m62A (N6,N6-디메틸아데노신); Tm (2'-O-메틸이노신); m4C (N4-메틸시티딘); m4Cm (N4,2-O-디메틸시티딘); hm5C (5-히드록시메틸시티딘); m3U (3-메틸우리딘); cm5U (5-카르복시메틸우리딘); m6Am (N6,T-O-디메틸아데노신); rn62Am (N6,N6,O-2-트리메틸아데노신); m2'7G (N2,7-디메틸구아노신); m2'2'7G (N2,N2,7-트리메틸구아노신); m3Um (3,2T-O-디메틸우리딘); m5D (5-메틸디히드로우리딘); f5Cm (5-포르밀-2'-O-메틸시티딘); m1Gm (1,2'-O-디메틸구아노신); m'Am (1,2-O-디메틸아데노신) 이리노메틸우리딘); tm5s2U (S-타우리노메틸-2-티오우리딘)); imG-14 (4-데메틸 구아노신); imG2 (이소구아노신); 또는 ac6A (N6-아세틸아데노신), 하이포크산틴, 이노신, 8-옥소-아데닌, 그의 7-치환된 유도체, 디히드로우라실, 슈도우라실, 2-티오우라실, 4-티오우라실, 5-아미노우라실, 5-(C1-C6)-알킬우라실, 5-메틸우라실, 5-(C2-C6)-알케닐우라실, 5-(C2-C6)-알키닐우라실, 5-(히드록시메틸)우라실, 5-클로로우라실, 5-플루오로우라실, 5-브로모우라실, 5-히드록시시토신, 5-(C1-C6)-알킬시토신, 5-메틸시토신, 5-(C2-C6)-알케닐시토신, 5-(C2-C6)-알키닐시토신, 5-클로로시토신, 5-플루오로시토신, 5-브로모시토신, N2-디메틸구아닌, 7-데아자구아닌, 8-아자구아닌, 7-데아자-7-치환된 구아닌, 7-데아자-7-(C2-C6)알키닐구아닌, 7-데아자-8-치환된 구아닌, 8-히드록시구아닌, 6-티오구아닌, 8-옥소구아닌, 2-아미노퓨린, 2-아미노-6-클로로퓨린, 2,4-디아미노퓨린, 2,6-디아미노퓨린, 8-아자퓨린, 치환된 7-데아자퓨린, 7-데아자-7-치환된 퓨린, 7-데아자-8-치환된 퓨린, 또는 무염기 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 예를 들어, 자기-복제 RNA는 1개 이상의 변형된 피리미딘 핵염기, 예컨대 슈도우리딘 및/또는 5-메틸시토신 잔기를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 그러나, RNA는 변형된 핵염기를 포함하지 않고, 변형된 뉴클레오티드를 포함하지 않을 수 있고 즉 RNA에서의 뉴클레오티드가 모두 (7'-메틸구아노신을 포함할 수 있는, 임의의 5' 캡 구조를 제외하고는) 표준 A, C, G 및 U 리보뉴클레오티드이다. 다른 실시양태에서, RNA는 7'-메틸구아노신을 포함하는 5' 캡을 포함할 수 있고, 처음 1, 2 또는 3개의 5' 리보뉴클레오티드는 리보스의 2' 위치에서 메틸화될 수 있다. 본 발명에 사용된 RNA는 이상적으로 뉴클레오시드 사이에 오직 포스포디에스테르 연결만을 포함하나, 일부 실시양태에서 이는 포스포르아미데이트, 포스포로티오에이트, 및/또는 메틸포스포네이트 연결을 함유할 수 있다. 이상적으로, 리포솜은 RNA의 10종 미만의 상이한 종 예를 들어 5, 4, 3, 또는 2종의 상이한 종을 포함하고; 가장 바람직하게는, 리포솜은 단일 RNA 종을 포함하고 즉 리포솜에서의 모든 RNA 분자는 동일한 서열 및 동일한 길이를 갖는다.

[0092] 특정 실시양태에서, 핵산 분자는 본 발명에 따른 HPMV F 단백질, 또는 그의 단편을 코딩하는 오픈 리딩 프레임을 갖는 RNA 폴리뉴클레오티드이고, 양이온성 지질 나노입자, 양이온성 나노-에멀젼 또는 중합체-기반 제제 또는 임의의 조합 또는 인간을 포함하는 상이한 종에서 인간 또는 동물 세포 내로 saRNA를 시험관내 또는 생체내 운반하는데 적합한 대안적인 제제로 제제화될 수 있다.

[0093] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 RNA 레플리콘은 하나 이상의 리포솜, 리포플렉스, 및/또는 지질 나노입자를 사용하여 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 리포솜 또는 지질 나노입자 제제는 다가양이온성 조성물을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 다가양이온성 조성물을 포함하는 제제는 본원에 기재된 RNA 레플리콘의 생체내 및/또는 시험관외 전달에 사용될 수 있다.

[0094] 본 발명은 따라서 재조합체 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편을 코딩하는 RNA 레플리콘을 추가로 제공하며, 여기서 HMPV F 단백질은 서열식별번호: 180 또는 184로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그의 단편 또는 변이체를 포함한다.

[0095] 특정 측면에서, RNA 레플리콘은 5'-에서 3' 단부로, 하기를 포함한다:

[0096] (1) RNA 바이러스의 비구조적 단백질-매개된 증폭에 요구된 5' 비번역된 영역 (5'-UTR);

[0097] (2) RNA 바이러스의 비-구조적 단백질 중 적어도 하나, 바람직하게는 모두를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열;

[0098] (3) RNA 바이러스의 서브게놈 프로모터;

[0099] (4) 재조합체 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열; 및

[0100] (5) RNA 바이러스의 비구조적 단백질-매개된 증폭에 요구된 3' 비번역된 영역 (3'-UTR).

[0101] 특정 측면에서, RNA 레플리콘은 5'-에서 3'-단부로, 하기를 포함한다:

[0102] (1) 알파바이러스 5' 비번역된 영역 (5'-UTR),

[0103] (2) 알파바이러스 비-구조적 유전자 nsp1의 5' 복제 서열,

[0104] (3) 바이러스 종의 하류 루프 (DLP) 모티프,

[0105] (4) 오토프로테아제 펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열,

[0106] (5) 알파바이러스 비-구조적 단백질 nsp1, nsp2, nsp3 및 nsp4를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열,

[0107] (6) 알파바이러스 서브게놈 프로모터,

[0108] (7) 재조합체 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열,

[0109] (8) 알파바이러스 3' 비번역된 영역 (3' UTR), 및

[0110] (9) 임의로, 폴리 아데노신 서열.

[0111] 특정 측면에서, 5'-에서 3'-단부로, 하기를 포함하는 RNA 레플리콘이 본원에 제공된다:

[0112] (1) 서열식별번호: 136의 폴리뉴클레오티드 서열을 갖는 5'-UTR,

[0113] (2) 서열식별번호: 137의 폴리뉴클레오티드 서열을 갖는 5' 복제 서열,

[0114] (3) 서열식별번호: 138의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DLP 모티프,

[0115] (4) 서열식별번호: 139의 P2A 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열,

[0116] (5) 각각 서열식별번호: 140, 서열식별번호: 141, 서열식별번호: 142 및 서열식별번호: 143의 핵산 서열을 갖는 알파바이러스 비-구조적 단백질 nsp1, nsp2, nsp3 및 nsp4를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열,

[0117] (6) 서열식별번호: 144의 폴리뉴클레오티드 서열을 갖는 서브게놈 프로모터,

[0118] (7) 서열식별번호: 180 및 서열식별번호: 184로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 융합-전 HMPV F 단백질, 또는 그의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열, 및

[0119] (8) 서열식별번호: 145의 폴리뉴클레오티드 서열을 갖는 3' UTR.

[0120] 특정 측면에서 (a) P2A 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 146을 포함하고, RNA 레플리콘은 폴리 아데노신 서열을 추가로 포함하고, 바람직하게는 폴리 아데노신 서열은 레플리콘의 3'-단부에서, 서열식별번호: 147을 갖는다.

[0121] 특정 측면에서, RNA 레플리콘은 서열식별번호: 187 또는 188의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 서열식별번호: 187의 폴리뉴클레오티드 서열 7972-9649는 HMPV F 단백질 (정지 코돈을 포함함), 특히 서열식별번호: 184의 HMPV 단백질에 대한 코딩 서열이다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 서열식별번호: 188의 폴리뉴클레오티드 서열 7972-9500은 HMPV F 단백질 (정지 코돈을 포함함), 특히 서열식별번호: 184의 HMPV 단백질에 대한 코딩 서열이다.

[0122] 또한 본원에 기재된 RNA 레플리콘을 코딩하는 DNA 서열을 포함하는 핵산이 제공되며, 바람직하게는, 핵산은 DNA 서열의 5'-단부에 작동가능하게 연결된, T7 프로모터를 추가로 포함하고, 보다 바람직하게는, T7 프로모터는 서열식별번호: 148의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0123] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "단편"은 아미노-말단 및/또는 카르복시-말단 및/또는 내부 결실을 가지나, 나머지 아미노산 서열이 HMPV F 단백질의 서열, 예를 들어, HMPV F 단백질의 전장 서열에서의 상응하는 위치와 동일한 단백질 또는 (폴리)펩티드를 지칭한다. 면역 반응을 유도하기 위해 및 일반적으로 백신접종 목적을 위해, 단백질은 전장일 필요가 없고 그의 야생형 기능을 모두 가질 필요도 없고, 단백질의 단편은 동등하게 유용하다는 것이 인식될 것이다.

[0124] 본 발명에 따른 단편은 면역학적으로 활성인 단편이고, 전형적으로 HMPV F 단백질의 적어도 15개의 아미노산,

또는 적어도 30개의 아미노산을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이는 HMPV F 단백질의 적어도 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 또는 550개의 아미노산을 포함한다.

[0125] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 또한, 예를 들어, 통상적인 분자 생물학 절차를 사용하여, 예를 들어, 아미노산 치환, 결실, 부가 등에 의해, 단백질에 변화가 만들어질 수 있다는 것을 인식할 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 폴리펩티드의 기능 또는 면역원성의 손실 없이 적용될 수 있다. 이는 통상의 기술자에게 널리 공지된 통상적인 절차에 따라 용이하게 체크될 수 있다.

[0126] 수많은 상이한 핵산은 유전자 코드의 축퇴의 결과로서 동일한 폴리펩티드 또는 단백질을 코딩할 수 있다는 것이 통상의 기술자에 의해 이해된다. 또한 통상의 기술자는, 통상적인 기술을 사용하여, 폴리펩티드가 발현되어야 하는 임의의 특정한 숙주 유기체의 코돈 사용량을 반영하기 위해, 핵산에 의해 코딩된 아미노산 서열에 영향을 미치지 않는 뉴클레오티드 치환을 할 수 있다는 것이 이해된다. 그러므로, 달리 명시되지 않는 한, "아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열"는 서로의 축퇴 버전이고 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 모든 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 RNA는 인트론을 포함할 수 있다.

[0127] 핵산 서열은 통상적인 분자 생물학 기술을 사용하여 클로닝되거나, 또는 DNA 합성에 의해 새로 생성될 수 있으며, 이는 DNA 합성 및/또는 분자 클로닝의 분야에서 사업을 하는 서비스 회사 (예를 들어 진아트, 진스크립트, 인비트로젠, 유로핀즈)에 의해 통상적인 절차를 사용하여 수행될 수 있다.

[0128] 본 발명은 또한 상기 기재된 바와 같은 핵산 분자를 포함하는 벡터를 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명에 따른 핵산 분자는, 따라서, 벡터의 일부이다. 이러한 벡터는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 방법에 의해 용이하게 조작될 수 있고 예를 들어 원핵 및/또는 진핵 세포에서 복제할 수 있도록 설계될 수 있다. 추가적으로, 많은 벡터가 진핵 세포의 형질전환에 사용될 수 있고 이러한 세포의 게놈 내로 전체 또는 일부가 통합할 것이며, 이는 이들의 게놈에 목적하는 핵산을 포함하는 안정한 숙주 세포를 초래한다. 사용된 벡터는 DNA 클로닝에 적합하고 관심 핵산의 전사에 사용될 수 있는 임의의 벡터일 수 있다.

[0129] 바람직하게는, 벡터는 자기-복제 RNA 레플리콘이다.

[0130] "자기-증폭 RNA 분자" 또는 "RNA 레플리콘" 또는 "레플리콘 RNA" 또는 "saRNA"와 상호교환적으로 사용되는, 본원에 사용된 바와 같은, "자기-복제 RNA 분자"는 허용 세포 내에서 자체 증폭 또는 자기-복제를 지시하는데 요구된 유전 정보를 모두 함유하는 플러스-가닥 RNA 바이러스의 게놈으로부터 조작된 RNA 분자를 지칭한다. 자기-복제 RNA 분자는 mRNA와 닮아 있다. 이는 단일-가닥이고, 5'-캡핑되고, 3'-폴리-아데닐화되고 양성 배향의 것이다. 자체 복제를 지시하기 위해, RNA 분자는 1) 바이러스 또는 숙주 세포-유래된 단백질, 핵산 또는 리보핵단백질과 상호작용하여 RNA 증폭 공정을 촉매할 수 있는 폴리머라제, 레플리카제, 또는 다른 단백질을 코딩하고; 2) 서브게놈 레플리콘-코딩된 RNA의 복제 및 전사에 요구된 시스-작용 RNA 서열을 함유한다. 따라서, 전달된 RNA는 다중 딸 RNA의 생산을 야기한다. 이들 딸 RNA, 뿐만 아니라 동일선상의 서브게놈 전사체는 자체적으로 번역되어 관심 유전자의 계내 발현을 제공할 수 있거나, 또는 전사되어 관심 유전자의 계내 발현을 제공하도록 번역되는 전달된 RNA와 동일한 센스를 갖는 추가 전사체를 제공할 수 있다. 이 전사 서열의 전체적인 결과는 도입된 레플리콘 RNA의 수에서의 막대한 증폭이고 따라서 관심 코딩된 유전자는 세포의 주요 폴리펩티드 산물이 된다.

[0131] 특정 실시양태에서, 본 출원의 RNA 레플리콘은 5'-에서 3'-단부 순서로, 하기를 포함한다: (1) RNA 바이러스의 비구조적 단백질-매개된 증폭에 요구된 5' 비번역된 영역 (5'-UTR); (2) RNA 바이러스의 비-구조적 단백질 중 적어도 하나, 바람직하게는 모두를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열; (3) RNA 바이러스의 서브게놈 프로모터; (4) 재조합체 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열; 및 (5) RNA 바이러스의 비구조적 단백질-매개된 증폭에 요구된 3' 비번역된 영역 (3'-UTR).

[0132] 특정 실시양태에서, 자기-복제 RNA 분자는 RNA-의존적 RNA-폴리머라제 기능, 헬리카제, 캡핑, 및 폴리-아데닐화 활성을 포함하는 자기-증폭을 위한 효소 복합체 (레플리카제 폴리단백질)를 코딩한다. 서브게놈 프로모터의 제어 하인, 레플리카제의 하류의 바이러스 구조적 유전자는 본원에 기재된 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편 또는 변이체에 의해 대체될 수 있다. 형질감염 시, 레플리카제는 즉시 번역되고, 게놈 RNA의 5' 및 3' 말단과 상호작용하고, 상보적 게놈 RNA 카피를 합성한다. 이들은 신규 양성-가닥이고, 캡핑되고, 폴리-아데닐화된 게놈 카피, 및 서브게놈 전사체의 합성을 위한 주형으로서 작용한다. 증폭은 결국 세포당 최대 2 × 105개 카피의 매우 높은 RNA 카피 수를 야기한다. 따라서, 종래의 mRNA와 비교하여 훨씬 더 적은 양의 saRNA가 효과적인 유전자 전달 및 보호 백신접종을 달성하기에 충분하다 (Beissert et al., Hum Gene Ther. 2017, 28(12): 1138-

1146).

[0133] 서브게놈 RNA는 그가 유래된 게놈 RNA보다 더 작은 길이 또는 크기의 RNA 분자이다. 바이러스 서브게놈 RNA는 내부 프로모터로부터 전사될 수 있으며, 이의 서열은 게놈 RNA 또는 그의 상보체 내에 있다. 서브게놈 RNA의 전사는 숙주 세포-코딩된 단백질, 리보핵단백질(들), 또는 이들의 조합과 연관된 바이러스-코딩된 폴리머라제(들)에 의해 매개될 수 있다. 수많은 RNA 바이러스는 이들의 3'-근위 유전자의 발현을 위한 서브게놈 mRNA(sgRNA)를 생성한다.

[0134] 본 개시내용의 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편은 서브게놈 프로모터의 제어 하에 발현된다. 특정 실시양태에서, 천연 서브게놈 프로모터 대신에, 서브게놈 RNA는 뇌심근염 바이러스 (EMCV), 소 바이러스성 설사 바이러스 (BVDV), 폴리오바이러스, 구제역 바이러스 (FMD), 엔테로바이러스 71, 또는 C형 간염 바이러스로부터 유래된 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)의 제어 하에 배치될 수 있다. 서브게놈 프로모터는 24개의 뉴클레오티드 (신드비스 바이러스) 내지 100개 초과의 뉴클레오티드 (비트 괴사성 황색 잎맥 바이러스) 범위이고, 통상적으로 전사 시작의 상류에서 발견된다.

[0135] 일부 실시양태에서, RNA 레플리콘은 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 또는 적어도 4개의 비구조적 바이러스 단백질 (예를 들어, nsP1, nsP2, nsP3, nsP4)에 대한 코딩 서열을 포함한다. 알파바이러스 게놈은 비-구조적 단백질 nsP1, nsP2, nsP3, 및 nsP4를 코딩하며, 이는 때때로 P1234 (또는 nsP1-4 또는 nsP1234)로 지정된, 단일 폴리단백질 전구체로서 생산되고, 단백질 가수분해 프로세싱을 통해 성숙 단백질로 절단된다. nsP1은 약 60 kDa 크기일 수 있고 메틸트랜스퍼라제 활성을 갖고 바이러스 캡핑 반응에 수반될 수 있다. nsP2는 약 90 kDa 크기를 갖고 헬리카제 및 프로테아제 활성을 가질 수 있는 한편 nsP3은 약 60 kDa이고 하기 3개의 도메인을 함유한다: 거대도메인, 중심 (또는 알파바이러스 고유) 도메인, 및 초가변 도메인 (HVD). nsP4는 약 70 kDa 크기이고 코어 RNA-의존적 RNA 폴리머라제 (RdRp) 촉매 도메인을 함유한다. 감염 후 알파바이러스 게놈 RNA는 P1234 폴리단백질을 생성하도록 번역되며, 이는 개별 단백질로 절단된다. 본원에서 핵산 또는 폴리펩티드 서열, 예를 들어 nsP1, nsP2, nsP3, nsP4의 서열을 개시하는데 있어서, 또한 원래의 서열에 기반하거나 또는 그로부터 유래된 것으로 간주된 서열이 개시된다.

[0136] 일부 실시양태에서, RNA 레플리콘은 적어도 1개의 비구조적 바이러스 단백질의 일부에 대한 코딩 서열을 포함한다. 예를 들어, RNA 레플리콘은 적어도 1개의 비구조적 바이러스 단백질에 대한 코딩 서열의, 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, 또는 이들 값 중 임의의 2개 사이의 범위를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, RNA 레플리콘은 적어도 1개의 비구조적 바이러스 단백질의 실질적인 부분에 대한 코딩 서열을 포함할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은, 비구조적 바이러스 단백질을 코딩하는 핵산 서열의 "실질적인 부분"은 충분한 비구조적 바이러스 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 포함하여, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의한 서열의 수동 평가, 또는 알고리즘 예컨대 BLAST를 사용하는 컴퓨터-자동화 서열 비교 및 식별에 의해, 해당 단백질의 추정되는 식별을 제공한다 (예를 들어, 문헌 ["Basic Local Alignment Search Tool"; Altschul S F et al., J. Mol. Biol. 215:403-410, 1993] 참조). 일부 실시양태에서, RNA 레플리콘은 적어도 1개의 비구조적 단백질에 대한 전체 코딩 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, RNA 레플리콘은 천연 바이러스 비구조적 단백질에 대한 실질적으로 모든 코딩 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 1개 이상의 비구조적 바이러스 단백질은 동일한 바이러스로부터 유래된다. 다른 실시양태에서, 1개 이상의 비구조적 단백질은 상이한 바이러스로부터 유래된다.

[0137] RNA 레플리콘은 임의의 적합한 플러스-가닥 RNA 바이러스, 예컨대 알파바이러스 또는 플라비바이러스로부터 유래될 수 있다. 바람직하게는, RNA 레플리콘은 알파바이러스로부터 유래된다. 용어 "알파바이러스"는 토가비리다에(Togaviridae) 과의 외피형 단일-가닥 양성 센스 RNA 바이러스를 기재한다. 알파바이러스 속은 대략 30종의 구성원을 함유하며, 이는 인간 뿐만 아니라 다른 동물을 감염시킬 수 있다. 알파바이러스 입자는 전형적으로 70 nm 직경을 갖고, 구형 또는 약간 다형인 경향이 있고, 40 nm 이소메트릭 뉴클레오캡시드를 갖는다. 알파바이러스의 총 게놈 길이는 11,000 내지 12,000개의 뉴클레오티드 범위이고 5' 캡 및 3' 폴리-A 테일을 갖는다. 비-구조적 (ns) 및 구조적인, 2개의 오픈 리딩 프레임 (ORF)이 게놈에 있다. ns ORF는 바이러스 RNA의 전사 및 복제에 필요한 단백질 (nsP1-nsP4)을 코딩한다. 구조적 ORF는 하기 3개의 구조적 단백질을 코딩한다: 코어 뉴클레오캡시드 단백질 C, 및 이종이량체로서 회합하는 외피 단백질 P62 및 E1. 바이러스 막-앵커링된 표면 당단백질은 수용체 인식 및 막 융합을 통한 표적 세포 내로의 진입을 담당한다. 4개의 ns 단백질 유전자는 게놈의 5' 2/3에서 유전자에 의해 코딩되는 한편, 3개의 구조적 단백질은 게놈의 3' 1/3과 동일선상의 서브게놈 mRNA로부터 번역된다.

[0138] 일부 실시양태에서, 본 발명에 유용한 자기-복제 RNA는 알파바이러스 종으로부터 유래된 RNA 레플리콘이다. 일부 실시양태에서, 알파바이러스 RNA 레플리콘은 VEEV/EEEV 그룹, 또는 SF 그룹, 또는 SIN 그룹에 속하는 알파바이러스의 것이다. SF 그룹 알파바이러스의 비-제한적인 예는 셈리키 삼림 바이러스, 오'뇽-뇽 바이러스, 로스 강 바이러스, 미델버그 바이러스, 치군군야 바이러스, 바마 삼림 바이러스, 게타 바이러스, 마야로 바이러스, 사기야마 바이러스, 베바루 바이러스, 및 우나 바이러스를 포함한다. SIN 그룹 알파바이러스의 비-제한적인 예는 신드비스 바이러스, 거드우드 S. A. 바이러스, 남아프리카 아르보바이러스 86번, 오켈보 바이러스, 아우라 바이러스, 바반키 바이러스, 와타로아 바이러스, 및 키질라가크 바이러스를 포함한다. VEEV/EEEV 그룹 알파바이러스의 비-제한적인 예는 동부 말 뇌염 바이러스 (EEEV), 베네수엘라 말 뇌염 바이러스 (VEEV), 에버글레이즈 바이러스 (EVEV), 무캄보 바이러스 (MUCV), 픽수나 바이러스 (PIXV), 미들버그 바이러스 (MIDV), 치군군야 바이러스 (CHIKV), 오'뇽-뇽 바이러스 (ONNV), 로스 강 바이러스 (RRV), 바마 삼림 바이러스 (BF), 게타 바이러스 (GET), 사기야마 바이러스 (SAGV), 베바루 바이러스 (BEBV), 마야로 바이러스 (MAYV), 및 우나 바이러스 (UNAV)를 포함한다.

[0139] 알파바이러스 종의 비-제한적인 예는 동부 말 뇌염 바이러스 (EEEV), 베네수엘라 말 뇌염 바이러스 (VEEV), 에버글레이즈 바이러스 (EVEV), 무캄보 바이러스 (MUCV), 셈리키 삼림 바이러스 (SFV), 픽수나 바이러스 (PIXV), 미들버그 바이러스 (MIDV), 치군군야 바이러스 (CHIKV), 오'뇽-뇽 바이러스 (ONNV), 로스 강 바이러스 (RRV), 바마 삼림 바이러스 (BF), 게타 바이러스 (GET), 사기야마 바이러스 (SAGV), 베바루 바이러스 (BEBV), 마야로 바이러스 (MAYV), 우나 바이러스 (UNAV), 신드비스 바이러스 (SINV), 아우라 바이러스 (AURAV), 와타로아 바이러스 (WHAV), 바반키 바이러스 (BABV), 키질라가크 바이러스 (KYZV), 웨스턴 말 뇌염 바이러스 (WEEV), 하이랜드 J 바이러스 (HJV), 포트 모건 바이러스 (FMV), 엔두무 (NDUV), 및 버기 크릭 바이러스를 포함한다. 병원성 및 비병원성 알파바이러스 균주는 둘 다 적합하다. 일부 실시양태에서, 알파바이러스 RNA 레플리콘은 신드비스 바이러스 (SIN), 셈리키 삼림 바이러스 (SFV), 로스 강 바이러스 (RRV), 베네수엘라 말 뇌염 바이러스 (VEEV), 또는 동부 말 뇌염 바이러스 (EEEV)의 것이다. 일부 실시양태에서, 알파바이러스 RNA 레플리콘은 베네수엘라 말 뇌염 바이러스 (VEEV)의 것이다.

[0140] 특정 실시양태에서, 자기-복제 RNA 분자는 1개 이상의 비구조적 단백질 nsp1-4를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 서브게놈 프로모터, 예컨대 26S 서브게놈 프로모터, 및 본원에 기재된 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편을 코딩하는 관심 유전자를 포함한다.

[0141] 자기-복제 RNA 분자는 5' 캡 (예를 들어, 7-메틸구아노신)을 가질 수 있다. 이 캡은 RNA의 생체내 번역을 증진시킬 수 있다.

[0142] 본 발명에 유용한 자기-복제 RNA 분자의 5' 뉴클레오티드는 5' 트리포스페이트 기를 가질 수 있다. 캡핑된 RNA에서 이는 5'에서 5'로의 브릿지를 통해 7-메틸구아노신에 연결될 수 있다. 5' 트리포스페이트는 RIG-I 결합을 증진시킬 수 있다.

[0143] 자기-복제 RNA 분자는 3' 폴리-A 테일을 가질 수 있다. 이는 또한 그의 3' 단부 근처 폴리-A 폴리머라제 인식 서열 (예를 들어, AAUAAA)을 포함할 수 있다.

[0144] 본 개시내용의 실시양태 중 임의의 것에서, RNA 레플리콘은 구조적 바이러스 단백질 (예를 들어, 뉴클레오캡시드 단백질 C, 및 외피 단백질 P62, 6K, 및 E1) 중 적어도 하나 (또는 전부)의 코딩 서열(들)이 결여될 (또는 이를 함유하지 않을) 수 있다. 이들 실시양태에서, 1개 이상의 구조적 유전자를 코딩하는 서열은 1개 이상의 이종성 서열 예컨대, 예를 들어, 본원에 기재된 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편에 대한 코딩 서열로 치환될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, RNA 레플리콘은 구조적 바이러스 단백질(들)에 대한 모든 코딩 서열(들)이 결여된다 (또는 이를 함유하지 않음).

[0145] 특정 실시양태에서, 본 출원의 자기-복제 RNA 벡터는 선천적 면역계에 의한 번역 억제에 대한 저항성을 부여하거나 또는 달리 GOI (예를 들어, 본원에 기재된 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편 또는 변이체)의 발현을 증가시키는 1개 이상의 특색을 포함한다.

[0146] 특정 실시양태에서, RNA 서열은 번역 효율을 개선시키기 위해 코돈 최적화될 수 있다. RNA 분자는, 예를 들어, 적어도 30개의 아데노신 잔기의 폴리A 테일을 부가함으로써; 및/또는 RNA 합성 동안 혼입되거나 또는 RNA 전사 후 효소로 조작될 수 있는, 변형된 리보뉴클레오티드, 예를 들어, 7-메틸구아노신 캡으로 5-단부를 캡핑함으로써, 안정성 및/또는 번역을 증진시키도록 본 개시내용의 관점에서 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 변형될 수 있다.

[0147] 특정 실시양태에서, 본 출원의 RNA 레플리콘은 5'-에서 3'-단부 순서로, (1) 알파바이러스 5' 비번역된 영역 (5'-UTR), (2) 알파바이러스 비-구조적 유전자 nsp1의 5' 복제 서열, (3) 바이러스 종의 하류 루프 (DLP) 모티프, (4) 오토프로테아제 펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열, (5) 알파바이러스 비-구조적 단백질 nsp1, nsp2, nsp3 및 nsp4를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열, (6) 알파바이러스 서브게놈 프로모터, (7) 재조합체 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편 또는 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열, (8) 알파바이러스 3' 비번역된 영역 (3' UTR), 및 (9) 임의로, 폴리 아데노신 서열을 포함한다.

[0148] 특정 실시양태에서, 본 출원의 자기-복제 RNA 벡터는 바이러스 종의 하류 루프 (DLP) 모티프를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은, "하류 루프" 또는 "DLP 모티프"는 적어도 1개의 RNA 스템-루프를 포함하는 폴리뉴클레오티드 서열을 지칭하며, 이는 오픈 리딩 프레임 (ORF)의 시작 코돈의 하류에 배치될 때 DLP 모티프가 없는 다른 동일한 구축물과 비교하여 ORF의 증가된 번역을 제공한다. 예로서, 알파바이러스 속의 구성원은 바이러스 26S 전사체 내에 존재하는 현저한 RNA 구조에 의한 항바이러스 RNA-활성화된 단백질 키나제 (PKR)의 활성화에 저항할 수 있으며, 이는 이들 mRNA의 eIF2-독립적 번역 개시를 허용한다. 하류 루프 (DLP)로 불리는, 이 구조는 SINV 26S mRNA에서 AUG로부터 하류에 위치된다. DLP는 또한 셈리키 삼림 바이러스 (SFV)에서 검출된다. 유사한 DLP 구조가 신대륙 (예를 들어, MAYV, UNAV, EEEV (NA), EEEV (SA), AURAV) 및 구대륙 (SV, SFV, BEBV, RRV, SAG, GETV, MIDV, CHIKV, 및 ONNV) 구성원을 포함하는 알파바이러스 속의 적어도 14종의 다른 구성원에 존재하는 것으로 보고되었다. 이들 알파바이러스 26S mRNA의 예측된 구조는 SHAPE (선택적 2'-히드록실 아실화 및 프라이머 연장) 데이터에 기반하여 구축되었다 (Toribio et al., Nucleic Acids Res. May 19; 44(9):4368-80, 2016), 그 내용은 본원에 참조로서 포함됨). 안정한 스템-루프 구조가 CHIKV 및 ONNV를 제외하고는 모든 경우에 검출된 반면에, MAYV 및 EEEV는 더 낮은 안정성의 DLP를 나타냈다 (Toribio et al., 2016 supra). 신드비스 바이러스의 경우, DLP 모티프는 신드비스 서브게놈 RNA의 처음 150 nt에서 발견된다. 헤어핀은 신드비스 캡시드 AUG 개시 코돈 (AUG는 신드비스 서브게놈 RNA의 nt 50에서 수집됨)의 하류에 위치된다. 서열 비교 및 구조적 RNA 분석의 이전 연구는 SINV에서의 DLP의 진화적 보존을 밝혀냈고 알파바이러스 속의 많은 구성원에서의 동등한 DLP 구조의 존재를 예측하였다 (예를 들어, 문헌 [Ventoso, J. Virol. 9484-9494, Vol. 86, September 2012] 참조). DLP 모티프를 포함하는 자기-복제 RNA 벡터의 예는 미국 특허 출원 공개 US2018/0171340 및 국제 특허 출원 공개 WO2018106615에 기재되어 있으며, 그 내용은 그 전문이 본원에 참조로서 포함된다. 일부 실시양태에서, 본 출원의 레플리콘 RNA는 서열식별번호: 138에 제시된 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 나타내는 DLP 모티프를 포함한다.

[0149] 하나의 실시양태에서, 자기-복제 RNA 분자는 또한 DLP 모티프의 하류 및 비구조적 단백질 (예를 들어, nsp1-4 중 1개 이상)의 코딩 서열의 상류에 작동가능하게 연결된 오토프로테아제 펩티드에 대한 코딩 서열, 또는 관심 유전자 (예를 들어, 본원에 기재된 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편)에 대한 코딩 서열을 함유한다. 오토프로테아제 펩티드의 예는 돼지 테스코바이러스-1 2A (P2A), 구제역 바이러스 (FMDV) 2A (F2A), 말 비염 A 바이러스 (ERAV) 2A (E2A), 토세아 아시그나 바이러스 2A (T2A), 세포질 다각체병 바이러스 2A (BmCPV2A), 연화병 바이러스 2A (BmIFV2A), 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 펩티드 서열을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 본 출원의 레플리콘 RNA는 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 P2A에 대한 코딩 서열을 포함한다. 바람직하게는, 코딩 서열은 서열식별번호: 146에 제시된 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 나타낸다.

[0150] 본 발명의 레플리콘 중 임의의 것은 또한 5' 및 3' 비번역된 영역 (UTR)을 포함할 수 있다. UTR은 야생형 신대륙 또는 구대륙 알파바이러스 UTR 서열, 또는 이들 중 임의의 것으로부터 유래된 서열일 수 있다. 다양한 실시양태에서 5' UTR은 임의의 적합한 길이, 예컨대 약 60 nt 또는 50-70 nt 또는 40-80 nt의 것일 수 있다. 일부 실시양태에서 5' UTR은 또한 보존된 1차 또는 2차 구조 (예를 들어, 1개 이상의 스템-루프(들))를 가질 수 있고 알파바이러스 또는 레플리콘 RNA의 복제에 참여할 수 있다. 일부 실시양태에서 3' UTR은 최대 수백 개의 뉴클레오티드일 수 있고, 예를 들어 이는 50-900 또는 100-900 또는 50-800 또는 100-700 또는 200 nt-700 nt일 수 있다. '3 UTR은 또한 2차 구조, 예를 들어, 스템 루프를 가질 수 있고, 폴리아데닐레이트 트랙 또는 폴리-A 테일이 이어질 수 있다. 본 발명의 실시양태 중 임의의 것에서 5' 및 3' 비번역된 영역은 레플리콘에 의해 코딩된 다른 서열 중 임의의 것에 작동가능하게 연결될 수 있다. UTR은 다른 코딩된 서열의 인식 및 전사에 필요한 서열 및 간격을 제공함으로써 프로모터 및/또는 이종성 단백질 또는 펩티드를 코딩하는 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 임의의 폴리아데닐화 신호가 본 개시내용의 관점에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 폴리아데닐화 신호는 SV40 폴리아데닐화 신호, LTR 폴리아데닐화 신호, 소 성

장 호르몬 (bGH) 폴리아데닐화 신호, 인간 성장 호르몬 (hGH) 폴리아데닐화 신호, 또는 인간 β-글로빈 폴리아데닐화 신호일 수 있다.

[0151] 또 다른 실시양태에서, 본 출원의 자기-복제 RNA 레플리콘은 변형된 5' 비번역된 영역 (5'-UTR)을 포함하고, 바람직하게는 RNA 레플리콘은 적어도 바이러스 구조적 단백질을 코딩하는 핵산 서열의 일부가 결여된다. 예를 들어, 변형된 5'-UTR은 위치 1, 2, 4, 또는 이들의 조합에서 1개 이상의 뉴클레오티드 치환을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 변형된 5'-UTR은 위치 2에서 뉴클레오티드 치환을 포함하고, 보다 바람직하게는, 변형된 5'-UTR은 위치 2에서 U->G 또는 U->A 치환을 갖는다. 이러한 자기-복제 RNA 분자의 예는 미국 특허 출원 공개 US2018/0104359 및 국제 특허 출원 공개 WO2018075235에 기재되어 있으며, 그 내용은 그 전문이 본원에 참조로서 포함된다. 일부 실시양태에서, 본 출원의 레플리콘 RNA는 서열식별번호: 136에 제시된 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 나타내는 5'-UTR을 포함한다.

[0152] 일부 실시양태에서, 본 출원의 RNA 레플리콘은 신호 펩티드 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 바람직하게는, 신호 펩티드 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열의 5'-단부의 상류 또는 이에 위치된다. 신호 펩티드는 전형적으로 단백질의 국부화를 지시하고/거나, 그가 생산되는 세포로부터의 단백질의 분비를 촉진하고/거나, 항원 발현 및 항원-제시 세포에 교차-제시를 개선시킨다. 신호 펩티드는 레플리콘으로부터 발현될 때 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편의 N-말단에 존재할 수 있으나, 예를 들어, 세포로부터 분비 시 신호 펩티다제에 의해 절단된다. 신호 펩티드가 절단된 발현된 단백질은 보통 "성숙 단백질"로 지칭된다. 관련 기술분야에 공지된 임의의 신호 펩티드가 본 개시내용의 관점에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 신호 펩티드는 시스타틴 S 신호 펩티드; 이뮤노글로불린 (Ig) 분비 신호, 예컨대 Ig 중쇄 감마 신호 펩티드 SPIgG, Ig 중쇄 엡실론 신호 펩티드 SPIgE, 또는 HMPV의 짧은 리더 펩티드 서열일 수 있다. 신호 펩티드를 코딩하는 예시적인 핵산 서열은 서열식별번호: 149에 제시된다.

[0153] 다양한 실시양태에서 본원에 개시된 RNA 레플리콘은 조작된, 합성, 또는 재조합체 RNA 레플리콘일 수 있다. 비-제한적인 예로서, RNA 레플리콘은 하기 중 1개 이상일 수 있다: 1) 예를 들어, 화학적 핵산 합성의 사용, 또는 핵산 분자의 복제, 중합, 엑소핵산분해 소화, 엔도핵산분해 소화, 라이게이션, 역전사, 전사, 염기 변형 (예를 들어, 메틸화를 포함함), 또는 재조합 (상동성 재조합 및 부위-특이적 재조합을 포함함)을 위한 효소의 사용에 의해, 예를 들어, 화학적 또는 효소적 기술을 사용하여, 시험관내 합성되거나 또는 변형됨; 2) 천연에서 결합되지 않는 뉴클레오티드 서열이 결합됨; 3) 천연 발생 뉴클레오티드 서열에 대해 1개 이상의 뉴클레오티드가 결여되도록 분자 클로닝 기술을 사용하여 조작됨; 및 4) 천연 발생 뉴클레오티드 서열에 대해 1개 이상의 서열 변화 또는 재배열을 갖도록 분자 클로닝 기술을 사용하여 조작됨.

[0154] RNA 레플리콘의 성분 또는 서열 중 임의의 것은 임의의 다른 성분 또는 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다. RNA 레플리콘의 성분 또는 서열은 숙주 세포 또는 치료된 유기체에서의 관심 유전자의 발현 및/또는 자기-복제하는 레플리콘의 능력을 위해 작동가능하게 연결될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "작동가능하게 연결된"은 그의 가장 넓은 합리적인 맥락에서 이해되어야 하고 기능적 관계에서 폴리뉴클레오티드 요소의 연결을 지칭한다. 폴리뉴클레오티드는 그가 또 다른 폴리뉴클레오티드와 기능적 관계로 배치될 때 "작동가능하게 연결된다". 예를 들어, 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터 또는 UTR은 적절한 효소가 존재할 때 코딩 서열의 전사 및 발현을 초래할 수 있다. 프로모터는 그가 그의 발현을 지시하는 기능하는 한, 코딩 서열과 인접할 필요가 없다. 따라서, 이종성 단백질 또는 펩티드를 코딩하는 RNA 서열과 조절 서열 (예를 들어, 프로모터 또는 UTR) 사이의 작동가능한 연결은 관심 폴리뉴클레오티드의 발현을 허용하는 기능적 연결이다. 작동가능하게 연결된은 또한 서열 예컨대 RdRp (예를 들어, nsP4), nsP1-4, UTR, 프로모터를 코딩하는 서열, 및 RNA 레플리콘을 코딩하는 다른 서열이 이들이 융합-전 HMPV F 단백질의 전사 및 번역 및/또는 레플리콘의 복제가 가능하게 하도록 연결되는 것을 지칭할 수 있다. UTR은 다른 코딩된 서열의 리보솜에 의한 인식 및 번역에 필요한 서열 및 간격을 제공함으로써 작동가능하게 연결될 수 있다.

[0155] RNA 레플리콘에 의해 발현된 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편 또는 변이체의 면역원성은 본 개시내용의 관점에서 통상의 기술자에게 공지된 다수의 검정에 의해 결정될 수 있다.

[0156] 본 출원의 또 다른 일반적인 측면은 본 출원의 RNA 레플리콘을 코딩하는 DNA 서열을 포함하는 핵산에 관한 것이다. 핵산은, 예를 들어, DNA 플라스미드 또는 선형화된 DNA 플라스미드의 단편일 수 있다. 바람직하게는, 핵산은 프로모터, 예컨대 DNA 서열의 5'-단부에 작동가능하게 연결된, T7 프로모터를 추가로 포함한다. 보다 바

람직하게는, T7 프로모터는 서열식별번호: 148의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 핵산은 본 개시내용의 관점에서 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 본 출원의 RNA 레플리콘의 생산에 사용될 수 있다. 예를 들어, RNA 레플리콘은 핵산의 생체내 또는 시험관내 전사에 의해 수득될 수 있다.

[0157] 본 출원의 RNA 레플리콘 또는 RNA 레플리콘을 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포가 또한 본 발명의 일부를 형성한다. HMPV F 단백질 또는 그의 단편 또는 변이체는 숙주 세포, 예를 들어, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, 종양 세포주, BHK 세포, 인간 세포주 예컨대 HEK293 세포, PER.C6 세포, 또는 효모, 진균, 곤충 세포 등, 또는 트랜스제닉 동물 또는 식물에서의 분자의 발현을 수반하는 재조합체 DNA 기술을 통해 생산될 수 있다. 특정 실시양태에서, 세포는 다세포 유기체로부터의 것이고, 특정 실시양태에서 이들은 척추동물 또는 무척추동물 기원의 것이다. 특정 실시양태에서, 세포는 포유류 세포, 예컨대 인간 세포, 또는 곤충 세포이다. 일반적으로, 숙주 세포에서의 본 발명의 HMPV F 단백질 또는 그의 단편 또는 변이체와 같은, 재조합체 단백질의 생산은 숙주 세포 내로의 발현가능한 포맷의 단백질을 코딩하는 이종성 핵산 분자의 도입, 핵산 분자의 발현에 도움이 되는 제어 하에 세포를 배양하는 것 및 상기 세포에서의 단백질 또는 그의 단편 또는 변이체의 발현을 허용하는 것을 포함한다. 발현가능한 포맷의 단백질을 코딩하는 핵산 분자는 발현 카세트의 형태일 수 있고, 통상적으로 핵산의 발현을 유발할 수 있는 서열, 예컨대 인핸서(들), 프로모터, 폴리아데닐화 신호 등을 요구한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 다양한 프로모터가 숙주 세포에서 유전자의 발현을 수득하는데 사용될 수 있다는 것을 알고 있다. 프로모터는 구성적이거나 또는 조절될 수 있고, 바이러스, 원핵생물, 또는 진핵생물 공급원을 포함하는, 다양한 공급원으로부터 수득되거나, 또는 인공적으로 설계될 수 있다.

[0158] 본 발명의 특정 실시양태에서, 벡터는 아데노바이러스 벡터이다. 본 발명에 따른 아데노바이러스는 아데노비리다에(Adenoviridae) 과에 속하고, 바람직하게는 매스트아데노바이러스(Mastadenovirus) 속에 속하는 것이다. 이는 인간 아데노바이러스 뿐만 아니라, 다른 종을 감염시키는 아데노바이러스일 수 있으며, 이는 소 아데노바이러스 (예를 들어, 소 아데노바이러스 3, BAdV3), 개 아데노바이러스 (예를 들어, CAdV2), 돼지 아데노바이러스 (예를 들어, PAdV3 또는 5), 또는 시미안 아데노바이러스 (이는 원숭이 아데노바이러스 및 유인원 아데노바이러스, 예컨대 침팬지 아데노바이러스 또는 고릴라 아데노바이러스를 포함함)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 아데노바이러스는 인간 아데노바이러스 (HAdV, 또는 AdHu), 또는 시미안 아데노바이러스 예컨대 침팬지 또는 고릴라 아데노바이러스 (ChAd, AdCh, 또는 SAdV), 또는 레서스 원숭이 아데노바이러스 (RhAd)이다. 본 발명에서, 종의 표시 없이 Ad로 지칭되는 경우에 인간 아데노바이러스가 의미되고, 예를 들어, 간단한 표기 "Ad26"은 인간 아데노바이러스 혈청형 26인, HAdV26과 동일한 것을 의미한다. 또한 본원에 사용된 바와 같은, 표기 "rAd"는 재조합체 아데노바이러스를 의미하고, 예를 들어, "rAd26"은 재조합체 인간 아데노바이러스 26을 지칭한다.

[0159] 가장 진보된 연구는 인간 아데노바이러스를 사용하여 수행되었고, 인간 아데노바이러스는 본 발명의 특정 측면에 따라 바람직하다. 특정 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 재조합체 아데노바이러스는 인간 아데노바이러스에 기반한다. 바람직한 실시양태에서, 재조합체 아데노바이러스는 인간 아데노바이러스 혈청형 5, 11, 26, 34, 35, 48, 49, 50, 52 등에 기반한다. 본 발명의 특히 바람직한 실시양태에 따라, 아데노바이러스는 혈청형 26의 인간 아데노바이러스이다. 이들 혈청형의 이점은 인간 집단에서의 낮은 혈청유병률 및/또는 낮은 기존 중화 항체 역가, 및 임상 시험에서의 인간 대상체의 사용 경험을 포함한다. 일부 실시양태에서, 아데노바이러스는, 예를 들어, 그가 게놈의 E1 영역에서의 결실을 함유하기 때문에, 복제 결핍이다. 비-그룹 C 아데노바이러스로부터 유래되는 아데노바이러스, 예컨대 Ad26 또는 Ad35의 경우, 아데노바이러스의 E4-orf6 코딩 서열을 인간 아그룹 C의 아데노바이러스 예컨대 Ad5의 E4-orf6으로 교환하는 것이 전형적이다. 이는 Ad5의 E1 유전자를 발현하는 널리 공지된 보완 (또는 패키징) 세포주, 예컨대 예를 들어 293 세포, PER.C6 세포 등에서의 이러한 아데노바이러스의 증식을 허용한다 (예를 들어, 문헌 [Havenga, et al., 2006, J Gen Virol 87: 2135-43]; WO 03/104467 참조). 그러나, 이러한 아데노바이러스는 Ad5의 E1 유전자를 발현하지 않는 비-보완 세포에서 복제할 수 없을 것이다.

[0160] 융합-전 HMPV F 단백질을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포가 또한 본 발명의 일부를 형성한다. 융합-전 HMPV F 단백질은 숙주 세포, 예를 들어 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, 종양 세포주, BHK 세포, 인간 세포주 예컨대 HEK293 세포, PER.C6 세포, 또는 효모, 진균, 곤충 세포 등, 또는 트랜스제닉 동물 또는 식물에서의 분자의 발현을 수반하는 재조합체 DNA 기술을 통해 생산될 수 있다. 특정 실시양태에서, 세포는 다세포 유기체로부터의 것이고, 특정 실시양태에서 이들은 척추동물 또는 무척추동물 기원의 것이다. 특정 실시양태에서, 세포는 포유류 세포이다. 특정 실시양태에서, 세포는 인간 세포이다. 일반적으로, 숙주 세포에서의 본 발명의 융합-전 HMPV F 단백질과 같은, 재조합체 단백질의 생산은 숙주 세포 내로의 발현가능한 포맷의

단백질을 코딩하는 이종성 핵산 분자의 도입, 핵산 분자의 발현에 도움이 되는 제어 하에 세포를 배양하는 것 및 상기 세포에서의 단백질의 발현을 허용하는 것을 포함한다. 발현가능한 포맷의 단백질을 코딩하는 핵산 분자는 발현 카세트의 형태일 수 있고, 통상적으로 핵산의 발현을 유발할 수 있는 서열, 예컨대 인핸서(들), 프로모터, 폴리아데닐화 신호 등을 요구한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 다양한 프로모터가 숙주 세포에서 유전자의 발현을 수득하는데 사용될 수 있다는 것을 알고 있다. 프로모터는 구성적이거나 또는 조절될 수 있고, 바이러스, 원핵생물, 또는 진핵생물 공급원을 포함하는, 다양한 공급원으로부터 수득되거나, 또는 인공적으로 설계될 수 있다.

[0161] 세포 배양 배지는 다양한 판매처로부터 입수가능하고, 적합한 배지는 통상적으로 숙주 세포가 여기서 융합-전 HMPV F 단백질인, 관심 단백질을 발현하도록 선택될 수 있다. 적합한 배지는 혈청을 함유할 수 있거나 또는 그렇지 않을 수 있다.

[0162] "이종성 핵산 분자" (또한 본원에서 '트랜스진'으로 지칭됨)는 숙주 세포에 천연 존재하지 않는 핵산 분자이다. 이는 예를 들어 표준 분자 생물학 기술에 의해 벡터 내로 도입된다. 트랜스진은 일반적으로 발현 제어 서열에 작동가능하게 연결된다. 이는 예를 들어 프로모터의 제어 하에 트랜스진(들)을 코딩하는 핵산을 배치함으로써 수행될 수 있다. 추가 조절 서열이 부가될 수 있다. 많은 프로모터가 트랜스진(들)의 발현에 사용될 수 있고, 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 예를 들어 이들은 바이러스, 포유류, 합성 프로모터 등을 포함할 수 있다. 진핵 세포에서 발현을 수득하는데 적합한 프로모터의 비-제한적인 예는 CMV-프로모터 (US 5,385,839), 예를 들어 CMV 극초기 유전자 인핸서/프로모터로부터의 nt. -735 내지 +95를 포함하는, 예를 들어 CMV 극초기 프로모터이다. 폴리아데닐화 신호, 예를 들어 소 성장 호르몬 폴리A 신호 (US 5,122,458)는 트랜스진(들) 뒤에 존재할 수 있다. 대안적으로, 여러 널리 사용된 발현 벡터는 관련 기술분야에서 및 상업적 공급원, 예를 들어 인비트로젠의 pcDNA 및 pEF 벡터 시리즈, BD 사이언시스(BD Sciences)로부터의 pMSCV 및 pTK-Hyg, 스트라타진(Stratagene)으로부터의 pCMV-Script 등으로부터 입수가능하며, 이는 관심 단백질을 재조합적으로 발현하거나, 또는 적합한 프로모터 및/또는 전사 종결자 서열, 폴리A 서열 등을 수득하는데 사용될 수 있다.

[0163] 세포 배양은 부착성 세포 배양, 예를 들어 배양 용기의 표면 또는 마이크로캐리어에 부착된 세포, 뿐만 아니라 현탁 배양을 포함하는, 임의의 유형의 세포 배양일 수 있다. 대부분의 대규모 현탁 배양은 작동하고 규모확대하는데 가장 수월하기 때문에 회분식 또는 유가식 공정으로 작동된다. 오늘날에는, 관류 원리에 기반하는 연속적인 공정이 보다 흔해지고 있고 또한 적합하다. 적합한 배양 배지는 또한 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있고 일반적으로 상업적 공급원으로부터 대량으로 수득되거나, 또는 표준 프로토콜에 따라 맞춤-제작될 수 있다. 배양은 회분식, 유가식, 연속식 시스템 등을 사용하여, 예를 들어 디쉬, 롤러 병 또는 생물반응기에서 수행될 수 있다. 세포를 배양하는데 적합한 조건은 공지되어 있다 (예를 들어 문헌 [Tissue Culture, Academic Press, Kruse and Paterson, editors (1973)], 및 [R.I. Freshney, Culture of animal cells: A manual of basic technique, fourth edition (Wiley-Liss Inc., 2000, ISBN 0-471-34889-9) 참조).

[0164] 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은, 융합-전 HMPV F 단백질, 및/또는 그의 단편, 및/또는 핵산 분자, 및/또는 벡터를 포함하는 제약 조성물을 추가로 제공한다. 본 발명은 따라서 HMPV F 단백질의 융합-전 입체형태에 존재하나 융합-후 입체형태에 부재하는 에피토프를 디스플레이하는 융합-전 HMPV F 단백질, 또는 그의 단편을 포함하는 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한 이러한 융합-전 HMPV F 단백질 또는 단편을 코딩하는, 핵산 분자 및/또는 벡터를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 발명은 특히 상기 기재된 바와 같은, 융합-전 HMPV F 단백질, HMPV F 단백질 단편, 및/또는 핵산 분자, 및/또는 벡터 및 1종 이상의 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물, 예를 들어 백신 조성물을 제공한다.

[0165] 본 발명은 또한 HMPV에 대해 대상체를 백신접종하기 위한, 본 발명에 따른, 안정화된 융합-전 HMPV F 단백질 (단편), 핵산 분자, 및/또는 벡터의 용도를 제공한다.

[0166] 본 발명은 또한 대상체에서 본 발명에 따라 HMPV F 단백질에 대한 면역 반응을 유도하기 위한, 안정화된 융합-전 HMPV F 단백질 (단편), 핵산 분자, 및/또는 벡터의 용도를 제공한다. 추가로 대상체에게 본 발명에 따른, 융합-전 HMPV F 단백질 (단편), 및/또는 핵산 분자, 및/또는 벡터를 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 HMPV F 단백질에 대한 면역 반응을 유도하는 방법이 제공된다. 추가로 대상체에서 HMPV F 단백질에 대한 면역 반응을 유도하는데 사용하기 위한 의약의 제조를 위한 본 발명에 따른 융합-전 HMPV F 단백질 (단편), 및/또는 핵산 분자, 및/또는 벡터의 용도가 제공된다. 본 발명은 특히 백신으로서 사용하기 위한 본 발명에 따른 융합-전 HMPV F 단백질 (단편), 및/또는 핵산 분자, 및/또는 벡터를 제공한다.

[0167] 본 발명의 융합-전 HMPV F 단백질 (단편), 핵산 분자, 또는 벡터는 HMPV 감염의 예방 (예방) 및/또는 치료에 사

용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 예방 및/또는 치료는 HMPV 감염에 감수성인 환자 그룹에 표적화될 수 있다. 이러한 환자 그룹은 예를 들어, 고령자 (예를 들어 ≥ 50세, ≥ 60세, 및 바람직하게는 ≥ 65세), 아이 (예를 들어 ≤ 5세, ≤ 1세), 임산부 여성 (모체 면역화를 위함), 및 입원 환자 및 항바이러스 화합물로 치료되었으나 부적합한 항바이러스 반응을 나타낸 환자를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0168] 본 발명에 따른 융합-전 HMPV F 단백질, 단편, 핵산 분자 및/또는 벡터는 HMPV에 의해 초래된 질환 또는 상태의 독립형 치료 및/또는 예방에, 또는 다른 예방적 및/또는 치료적 치료, 예컨대 (기존 또는 향후) 백신, 항바이러스 작용제 및/또는 모노클로날 항체와 조합되어 사용될 수 있다.

[0169] 본 발명은 본 발명에 따른 융합-전 HMPV F 단백질 또는 그의 단편, 핵산 분자 및/또는 벡터를 이용하는 대상체에서 HMPV 감염을 예방하고/거나 치료하는 방법을 추가로 제공한다. 특정 실시양태에서, 대상체에서 HMPV 감염을 예방하고/거나 치료하는 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 상기 기재된 바와 같은, 융합-전 HMPV F 단백질 (단편), 핵산 분자 및/또는 벡터를 투여하는 것을 포함한다. 치료 유효량은 HMPV에 의한 감염으로 인한 질환 또는 상태를 예방하고/거나, 호전시키고/거나 치료하는데 효과적인 단백질, 핵산 분자 또는 벡터의 양을 지칭한다. 예방은 HMPV의 확산을 억제하거나 또는 감소시키는 것 또는 HMPV에 의한 감염과 연관된 증상 중 1개 이상의 발병, 발달 또는 진행을 억제하거나 또는 감소시키는 것을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 호전은 HMPV 감염의 가시적인 또는 인지가능한 질환 증상, 바이러스혈증, 또는 임의의 다른 측정가능한 징후의 감소를 지칭할 수 있다.

[0170] 대상체, 예컨대 인간에게 투여하기 위해, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 융합-전 HMPV F 단백질 (단편), 핵산 분자 및/또는 벡터, 및 제약상 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물을 이용할 수 있다. 본 맥락에서, 용어 "제약상 허용되는"은 이용된 투여량 및 농도에서의, 담체 또는 부형제가 이들이 투여되는 대상체에서 어떠한 원치 않거나 또는 해로운 효과를 초래하지 않을 것임을 의미한다. 이러한 제약상 허용되는 담체 및 부형제는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다 (문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. R. Gennaro, Ed., Mack Publishing Company [1990]]; [Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins, S. Frokjaer and L. Hovgaard, Eds., Taylor & Francis [2000]]; 및 [Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd edition, A. Kibbe, Ed., Pharmaceutical Press [2000]] 참조). HMPV F 단백질, 또는 핵산 분자는 비록 동결건조된 제제를 이용하는 것이 또한 가능할 수 있지만 바람직하게는 멸균 용액으로서 제제화되고 투여된다. 멸균 용액은 멸균 여과 또는 관련 기술분야에 그 자체로 공지된 다른 방법에 의해 제조된다. 용액은 이어서 동결건조되거나 또는 제약 투여 용기 내로 채워진다. 용액의 pH는 일반적으로 pH 3.0 내지 9.5, 예를 들어 pH 5.0 내지 7.5의 범위이다. HMPV F 단백질은 전형적으로 적합한 제약상 허용되는 완충제를 갖는 용액 중에 있고, 조성물은 또한 염을 함유할 수 있다. 임의로 안정화제, 예컨대 알부민이 존재할 수 있다. 특정 실시양태에서, 세제가 첨가된다. 특정 실시양태에서, HMPV F 단백질은 주사가능한 제제로 제제화될 수 있다.

[0171] 특정 실시양태에서, 본 발명에 따른 조성물은 1종 이상의 아주반트를 추가로 포함한다. 아주반트는 적용된 항원성 결정인자에 대한 면역 반응을 추가로 증가시키기는 것으로 관련 기술분야에 공지되어 있다. 용어 "아주반트" 및 "면역 자극제"는 본원에서 상호교환적으로 사용되고 면역계의 자극을 초래하는 1종 이상의 물질로 정의된다. 이 맥락에서, 아주반트는 본 발명의 HMPV F 단백질에 대한 면역 반응을 증진시키기 데 사용된다. 적합한 아주반트의 예는 알루미늄 염 예컨대 수산화알루미늄 및/또는 인산알루미늄; 스쿠알렌-물 에멀전, 예컨대 MF59를 포함하는, 오일-에멀젼 조성물 (또는 수중유 조성물) (예를 들어 WO 90/14837 참조); 사포닌 제제, 예컨대 예를 들어 QS21 및 면역자극 복합체 (ISCOMS) (예를 들어 US 5,057,540; WO 90/03184, WO 96/11711, WO 2004/004762, WO 2005/002620 참조); 박테리아 또는 미생물 유도체 (그 예는 모노포스포릴 지질 A (MPL), 3-O-탈아실화된 MPL (3dMPL), 올리고뉴클레오티드를 함유하는 CpG-모티프, ADP-리보실화 박테리아 독소 또는 그의 돌연변이체, 예컨대 이. 콜라이(E. coli) 열 불안정성 엔테로톡신 LT, 콜레라 독소 CT 등임); 수용자 세포와 상호작용 시 면역 반응을 자극하는, 진핵생물 단백질 ((예를 들어, 항원 그 자체 또는 CD1a, CD3, CD7, CD80에 대해 지시된) 예를 들어 항체 또는 그의 단편, 및 수용체에 대한 리간드 (예를 들어 CD40L, GMCSF, GCSF 등))을 포함한다. 특정 실시양태에서 본 발명의 조성물은 용량당 0.05 - 5 mg, 예를 들어 0.075-1.0 mg의 알루미늄 함량의 농도로, 예를 들어 수산화알루미늄, 인산알루미늄, 알루미늄 칼륨 포스페이트, 또는 이들의 조합의 형태의, 아주반트로서 알루미늄을 포함한다.

[0172] 다른 실시양태에서, 조성물은 아주반트를 포함하지 않는다.

[0173] 특정 실시양태에서, 본 발명은 본 발명에 따른 HMPV F 단백질 (단편), 핵산 또는 벡터를 제공하는 단계 및 이를

제약상 허용되는 조성물로 제제화하는 단계를 포함하는, 호흡기 세포융합 바이러스 (HMPV)에 대한 백신을 제조하는 방법을 제공한다. 용어 "백신"은 대상체에서 특정 병원체 또는 질환에 대한 소정의 면역을 유도하는데 효과적인 활성 성분을 함유하는 작용제 또는 조성물을 지칭하며, 이는 병원체 또는 질환에 의한 감염과 연관된 증상의 중증도, 지속기간 또는 다른 징후의 적어도 감소 (최대 완전한 부재)를 초래할 것이다. 본 발명에서, 백신은 유효량의 융합-전 HMPV F 단백질 (단편) 및/또는 융합-전 HMPV F 단백질을 코딩하는 핵산 분자, 및/또는 상기 핵산 분자를 포함하는 벡터를 포함하며, 이는 HMPV에 대한 효과적인 면역 반응을 초래한다. 이는 대상체에서 입원을 야기하는 심각한 하기도 질환을 예방하고 HMPV 감염 및 복제로 인한 합병증 예컨대 폐렴 및 세기관지염의 빈도를 감소시키는 방법을 제공한다. 본 발명에 따른 용어 "백신"은 그가 제약 조성물이고, 따라서 전형적으로 제약상 허용되는 희석제, 담체 또는 부형제를 포함한다는 것을 암시한다. 이는 추가 활성 성분을 포함할 수 있거나 또는 그렇지 않을 수 있다. 특정 실시양태에서 이는 예를 들어 HMPV의 다른 단백질 및/또는 다른 감염체, 예를 들어 RSV, HMPV 및/또는 인플루엔자에 대한 면역 반응을 유도하는 다른 성분을 추가로 포함하는 조합 백신일 수 있다. 추가 활성 성분의 투여는 예를 들어 별개의 투여에 의해 또는 본 발명의 백신 및 추가 활성 성분의 조합 제품을 투여함으로써 수행될 수 있다.

[0174] 본 발명에 따른 조성물의 투여는 표준 투여 경로를 사용하여 수행될 수 있다. 비-제한적인 실시양태는 근육내 주사를 포함한다.

[0175] 본원에 사용된 바와 같은 대상체는 바람직하게는 포유동물, 예를 들어 설치류, 예를 들어 마우스, 코튼 래트, 또는 비-인간-영장류, 또는 인간이다. 바람직하게는, 대상체는 인간 대상체이다.

[0176] 추가적으로, 본 발명의 단백질은 진단 도구로서, 예를 들어 본 발명의 단백질에 결합할 수 있는 항체가 개체의 혈청에 있는 지 여부를 확립함으로써 이러한 개체의 면역 상태를 시험하는데 사용될 수 있다. 본 발명은 따라서 또한 a) 환자로부터 수득된 생물학적 샘플을 본 발명에 따른 단백질과 접촉시키는 단계; 및 b) 항체-단백질 복합체의 존재를 검출하는 단계를 포함하는, 상기 환자에서 HMPV 감염의 존재를 검출하는 시험관내 진단 방법에 관한 것이다.

[0177] 본 발명은 추가로 하기 실시예에 예시된다. 실시예는 본 발명을 어떠한 방식으로도 제한하지 않는다. 이들은 단지 본 발명을 명확하게 하는 역할을 한다.

[0178] **실시예**

[0179] 실시예 1: *비-천연 F2-F1 절단 부위 도입*

[0180] 전장 및 가용성 HMPV F (HMPV F 엑토도메인)의 도식 구조가 각각 도 1 a 및 b에 제시된다 (넘버링의 경우 서열식별번호: 1을 참조). 가용성 변이체에서의 F1 도메인은 C-말단에서 말단절단되고 (임의로) 많은 다른 가용성 삼량체성 바이러스 융합 단백질과 유사한 F 엑토도메인에 융합된 폴드온 삼량체화 도메인 (GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL; 서열식별번호: 2)을 갖는다.

[0181] 야생형 HMPV 균주 TN/00/3-14의 F 단백질 (서열식별번호: 1)에 기반하여, hMPV 단백질에 대한 DNA 단편 코딩이 합성되고 (진스크립트, 뉴저지주 피스카타웨이) pcDNA2004 발현 벡터 (증진된 CMV 프로모터를 갖는 변형된 pcDNA3 플라스미드)에서 클로닝되었다.

[0182] HEK293 세포가 도 2A에 정의된 바와 같은 F2 C-말단과 함께 C-말단 폴드온 도메인 및 4개의 안정화 돌연변이 및 동시-계류 출원 EP21215259에 기재된 바와 같은 비-천연 디술피드 브릿지 (T69Y, A116H, A140C, A147C, D185P 및 E453Q) 및 천연 변이체 H368N (TN/85/6-3에서 발견된 바와 같음; 진뱅크 ID ACJ53577.1)를 갖는 균주 TN/00/3-14의 HMPV F 엑토도메인에 상응하는 플라스미드로 형질감염되었다. 천연 TMPRSS2 절단 부위 (*RQSR*)를 비-천연 폴리염기성 푸린 부위 (*RRRR*)로 변화시키는 것 및 F2 C-말단의 말단절단 (위치 90 뒤)이 HMPV F0 단백질의 절단 효율을 증가시키기 위해 적용되었다. 추가적으로, 단백질의 일부에서 제2 비-천연 폴리염기성 푸린 부위 (RRRR) 절단 부위가 F2 도메인에 도입되고, 제1 절단 부위로부터 N-말단에 위치되고 F2 도메인으로부터 1개 이상의 아미노산 잔기의 스페이서 서열에 의해 분리되었다.

[0183] 사용된 발현 플랫폼은 96-웰 포맷의 Expi293F 발현 시스템 (써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific), 미국 월섬)이었다. HMPV F 코딩 플라스미드는 5:1 HMPV F - 푸린 DNA 비율로 푸린을 코딩하는 플라스미드와 공동-형질감염되었다. 구축물은 이중 또는 사중으로 형질감염되었다.

[0184] 3일 후, 상청액이 수거되고 절단의 효능을 검출하기 위해 환원 조건 하에 SDS-PAGE 4-12% (w/v) Bis-Tris NuPAGE 겔, 1 x MOPS (라이프 테크놀로지스(Life Technologies))에 이어 웨스턴 블롯에 의해 분석되었다 (도

2B). 웨스턴 블롯 분석이 하기와 같이 수행되었다: iBlot2: 프로그램 P0으로 제조업체의 권장에 따라 수행된 반-건조 블롯팅. 오디세이(Odyssey) 차단 완충제 중에 1시간 동안 차단, 오디세이 차단 완충제 중 1차 항체 (진스크립트, 뉴저지주 피스카타웨이에서의 토끼의 폴리클로날 혈청) 1:10.000 1시간 동안 인큐베이션 2차 항체 (오디세이 차단 완충제 중 α-토끼 IRDYE CW800 (록랜드 이뮤노케미칼스, 인크.(Rockland Immunochemicals, Inc.), 미국 펜실베니아주 리머릭) 1:5000) 1시간 동안 인큐베이션. 모든 인큐베이션은 실온에서 롤러 플랫폼 상에서 수행되었다. 1차 및 2차 항체 후, 블롯은 각각의 세척에 대해 50 ml TBS/0.05% Tween20을 사용하여, 5분 동안 3x 세척된 후, 50 ml의 1x PBS를 사용하여 최종 세척되었다. 블롯은 700CW 및 800CW 채널 둘 다를 사용하여, 오디세이 스캐너 상에서 스캔함으로써 시각화되었다.

[0185] 수거된 조 세포 상청액은 또한 세팍스(Sepax) 유닉스(Unix)-C SEC-300 4.6X150mm 1.8 μm 칼럼 (세팍스(231300-4615), 주사 부피 20μL, 유동 0.35mL/분)을 사용한 밴퀴시(Vanquish) 시스템 (써모피셔 사이언티픽, 미국 월섬)을 사용하는 초고성능 액체 크로마토그래피 (UHPLC) 시스템에서의 분석적 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 상에서 열 스트레스 후 삼량체 함량 및 삼량체 안정성에 대해 분석되었다. 열 안정성은 4℃ 대조군 대비 열 스트레스 후 퍼센트 삼량체로서 보고된다. 이중 또는 사중으로 형질감염된 구축물은 SEC 분석을 위해 풀링되었다. 용리는 UV 검출기에 의해 모니터링되었다. SEC 프로파일이 Chromeleon 소프트웨어 버전 (버전 7.2.7, 써모 피셔 사이언티픽)에 의해 분석되었다. 플롯이 GraphPad Prism (버전 9.0.0, GraphPad 소프트웨어)에 플롯팅되었다. (도 2C).

[0186] 조 세포 상청액에서의 HMPV F 단백질의 항원성이 또한 옥텟 (포르테바이오(ForteBio), 영국 포츠머스) 상에서 생물층 간섭계를 사용하고 모노클로날 항체 ADI-14448 (Gilman et al., Sci Immunol. 2016 Dec 16;1(6):eaaj1879. doi: 10.1126/sciimmunol.aaj1879. Epub 2016 Dec 9.) 및 DS7 (Wen et al., Nat Struct Mol Biol . 2012 Mar 4;19(4):461-3. doi: 10.1038/nsmb.2250.))를 사용하여 평가되었다 (도 2D). ADI-14448은 RSV 및 HMPV에 대한 교차 중화 항체로서 기재되었고, 이는 융합-전 특이적이고 RSV preF의 항원성 부위 III에 결합한다. ADI-14448 결합은 따라서 융합-전 입체형태를 나타낸다. HMPV 융합 단백질과 복합체의 MAb DS7의 X-선 구조가 기재되었다 (Wen et al., Nat Struct Mol Biol. 2012 Mar 4;19(4):461-3. doi: 10.1038/nsmb.2250.). HMPV F + DS7의 복합체는 베타-시트 22가 이동되기 때문에 재폴딩 영역 2 (RR2)의 일부인 헵타드 반복부 2 (HR2)가 비-preF 입체형태이며 이는 융합전 입체형태보다 융합-후 입체형태를 더 연상시킨다는 것을 나타낸다. DS7 결합은 따라서 비-융합-전 또는 융합-후 입체형태를 나타낸다.

[0187] 본 발명에 따른 바람직한 융합-전 HPMV F 단백질에 대해, DS7 결합은 따라서 바람직하지 않다. 옥텟 검정을 위해 항체는 항-인간 Fc 바이오센서 (포르테바이오, 영국 포츠머스) 상에 고정화되었다. 600s 동안 동적 (kinetic) 완충제 (포르테바이오, 영국 포츠머스) 중에 센서의 평형화 후 센서는 5 ug/ml의 목적하는 항체를 함유한 동적 완충제로 이동되었다. 후속적으로, 또 다른 평형화 단계가 모의 세포 배지에 포함되었다. 마지막으로 센서는 융합-전 HMPV F 단백질을 함유하는 세포 배양 상청액의 용액으로 이동되었다. 초기 기울기 (또한 회합 단계로 지칭됨; 곡선 맞춤이 초기 300초에 수행되었음) 및 300초에서의 결합 (nm)이 보고된다. 데이터 분석이 포르테바이오 데이터 분석 8.2 소프트웨어 (포르테바이오, 영국 포츠머스)를 사용하여 수행되었다. 막대 플롯이 GraphPad Prism (버전 9.0.0, GraphPad 소프트웨어)에 플롯팅되었다.

[0188] 모든 단백질은 발현을 나타냈고 (도 2B) 분석적 SEC에 따라 삼량체성이었다 (도 2C). 모든 단백질의 프로세싱은 웨스턴 블롯에 의해 검출된 바와 같이 불완전하다 (도 2B).

[0189] 안정화 돌연변이의 도입 및 RR로의 QS의 치환에 의한 비-천연 푸린 절단 부위로의 천연 TMPRSS2 유사 절단 부위의 변화로, MPV210531의 발현 수준 (도 2C, 좌측 히스토그램 패널) 및 열 안정성 (도 2C, 우측 히스토그램 패널)은 안정화 돌연변이가 없는 MPV201285와 비교하여 증가되었다. 보다 짧은 (말단절단된) F2-C 말단을 갖는 단백질 (MPV210502, MPV210500, MPV210507 및 MPV210509)에 대한 발현 수준은 MPV210531과 비교하여 감소되었다. 60℃에서의 짧은 F2 C-말단을 갖는 MPV210500, MPV210507 및 MPV210509의 열 안정성은 긴 F2 C-말단을 갖는 MPV210531과 비교하여 증가되었다.

[0190] 옥텟에서, 단백질은 항 pre-F (ADI-14448에 대한 결합) 및 항 비-pre-F 결합 (DS7에 대한 결합) 둘 다를 나타냈으며 이는 단백질이 완전히 융합전 삼량체성 입체형태가 아님을 나타낸다 (도 2D). 항 비-pre-F 결합은 말단절단된 F2 C-말단 및 2개의 비-천연 절단 부위를 갖는 설계 (MPV210500, MPV210507 및 MPV210509)에 대해 감소되었다.

[0191] 말단절단된 F2 C-말단 및 추가적인 푸린 절단 부위를 갖는 안정화된 HMPV 설계는 F0의 개선된 절단 (도 2B), 개

선된 열 안정성 (도 2C) 및 postF-특이적 MAb DS7에 대한 보다 낮은 결합 (도 2D)을 나타냈다.

[0192] 실시예 2: *F0의 최적화된 프로세싱*

[0193] 개선된 프로세싱 및 F2 C-말단의 말단절단이 HMPV 융합전 F 단백질의 안정성 및 품질 (예를 들어 F0의 개선된 절단, 개선된 열 안정성, post-F 특이적 항체 DS7에 대한 보다 낮은 결합)을 증가시켰기 때문에, F2 C-말단은 위치 102 내지 88에서 체계적으로 말단절단되었다. 추가적으로, p27 펩티드 (제1 비-천연 절단 부위를 포함함) 및 제2 비-천연 절단 부위가 (말단절단된) F2 도메인과 F1 도메인 사이에 도입되었다.

[0194] RSV F의 p27 영역, 즉 아미노산 서열 ELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRR (서열식별번호: 2; 절단 부위 밑줄)을 사용하여 F0의 프로세싱을 개선시켰다는 것이 제시되었다. RSV F의 p27 펩티드는 푸린-유사 프로테아제에 의해 매우 효율적으로 절단되는 것으로 공지되어 있다 (Krarup et al. Nat Commun. 2015 Sep 3;6:8143. doi: 10.1038/ncomms9143.; Gonzales-Reyes et al. 2001, Proc Natl Acad Sci USA 98:9859-9864).

[0195] 본 발명에 따라, 푸린 부위 RRRR 및 RSV F p27 도메인이 둘 다 도 3A에 열거된 설계에 따라 (말단절단된) F2 도메인과 F1 도메인 사이에 도입되었다. HEK293 세포가 도 3A에 따른 F2 말단절단과 함께 실시예 1에 기재된 바와 같은 HMPV F 엑토도메인에 상응하는 플라스미드로 형질감염되었다. 도입된 푸린 부위에의 RSV p27 도메인의 C-말단에서의 부가는 환원된 SDS-PAGE 후 웨스턴 블롯에 따라 HMPV F의 절단에서의 매우 효율적인 증가를 나타냈다 (도 3B). 분석적 SEC에 따라, 60℃에서의 MPV210498 및 MPV210751의 열 안정성이 열 스트레스 후 나머지 삼량체 함량에 의해 측정된 바와 같이 가장 높았고 (도 3C 우측) 또한 이들 2개의 변이체에 대한 항원성 품질 (즉 융합-전 입체형태)이 이들이 옥텟에서 postF-특이적 Mab DS7과의 가장 낮은 결합을 나타냈기 때문에 가장 높았다 (도 3D).

[0196] 결론: F1과 F2 사이의 제2 푸린 절단 부위 및 RSV-p27 도메인 (제1 비-천연 절단 부위를 포함함)의 도입은 성공적인 완전한 프로세싱을 초래하였다. 추가적으로, (4개의 아르기닌 (R)의 제2 푸린 절단 부위 및 RSV-p27 도메인에 더하여) 잔기 89 또는 90 뒤 F2 C-말단의 말단절단은 낮은 DS7 결합에 의해 표시된 바와 같이, 가장 높은 융합-전 품질을 갖는 가장 안정한 HMPV preF 단백질을 초래하였다.

[0197] 실시예 3: *HR2 영역 안정화*

[0198] 이종성 삼량체화 도메인, 예컨대 폴드온으로 가용성 HMPV 융합전 F 엑토도메인을 삼량체화하는 것이 공지되어 있다. 그러나, 폴드온을 부가하는 것은 F 삼량체화를 제외하고는 백신 면역원에 대한 추가적인 이익이 없는 추가적인 이종성 단백질 도메인을 도입한다. 다른 백신에서의 면역원 또는 다른 백신 성분이 또한 삼량체화에 폴드온을 사용할 수 있기 때문에, 바람직한 백신 성분은 오직 바이러스 단백질에 기반하고 어떠한 추가적인 이종성 비-바이러스 단백질 도메인도 함유하지 않는다. 본 발명은 F 단백질의 융합-전 스템의 HR2 영역에서의 상호작용의 최적화에 의해, 폴드온이 없는, 가용성 HMPV 단백질의 삼량체성 입체형태를 제공한다. HR2 스템 영역의 안정화에 의한 preF 삼량체의 안정화가 최적 절단을 위해 최적화된 F2 말단절단 (아미노산 잔기 89 뒤), 말단절단된 F2 말단에서의 도입된 푸린 절단 부위 및 RSV F p27 도메인을 가진 변이체에서 평가되었다. 추가로, F1 C-말단은 위치 481 또는 489 뒤에서 말단절단되었다. 단백질은 또한 정제 목적을 위해 링커 및 C-태그를 가졌다. 폴드온 도메인이 결실되었을 때 (MPV211241), 삼량체가 분석적 SEC에서 거의 검출되지 않았다 (도 4A 좌측 히스토그램 패널, 5A 좌측 히스토그램 패널). HR2에서의 여러 상이한 안정화 전략 (도 4 및 5A에서의 돌연변이에 따름)은, 그러나, 폴드온 없이 삼량체 발현을 회복시키고 심지어 개선시켰다. 폴드온이 없는 삼량체는 4℃에서 6 내지 8주 동안 저장 (도 4 좌측 히스토그램 패널) 및 58℃에서 30분 동안 가열 (도 4 우측 히스토그램 패널 및 도 5A 우측 히스토그램 패널) 후 여전히 비교적 안정하였다.

[0199] 항원성 품질을 측정하기 위해, 상청액이 항-preF (ADI-14448), 항-postF (DS7) 및 오직 삼량체가 개방이거나 또는 '호흡'할 수 있을 (일시적으로 개방 또는 부분적으로 개방) 경우에만 인식될 수 있는 융합-전 F 정점의 계면에 대해 지시된 MAb (MPV458; Huang et al., PLoS Pathog. 2020 Oct 9;16(10):e1008942. doi: 10.1371/journal.ppat.1008942. eCollection 2020 Oct.)를 사용한 옥텟을 사용하여 시험되었다. 안정화된 HR2을 갖는 HMPV F 변이체는 항 pre-F, 항-정점 계면 (MPV458) 결합을 나타냈고 항 비-pre-F 결합 (DS7에 대한 결합)을 거의 나타내지 않았다 (도 5B).

[0200] 결론: HR2 안정화 돌연변이는 폴드온이 없는 삼량체화를 증가시키고 심지어 삼량체 발현을 증가시킨다.

[0201] 실시예 4: *HMPV 융합전 입체형태를 안정화시키는 치환*

[0202] 이 실시예에서, 대안적인 안정화 돌연변이가 MPV211287 및 MPV211918의 설계에 상응하나 안정화 치환 T69Y,

A116H, 디술피드 A140C+A147C 및 D185P (동시-계류 출원 EP21215259에 기재된 바와 같은 돌연변이)가 없는 백본에서 평가되었다. 백본은 또한 푸린 절단 부위를 포함하여, 아미노산 위치 89 뒤에 F2 말단절단, 도입된 푸린 절단 부위, 및 RSV의 p27을 갖는다. 단백질은 H368N, 안정화 돌연변이 E453Q, 및 HR2 안정화 치환 (L473W, D475R, Q476K, S477F, N478D, R479E, A484I) 또는 HR2 안정화 치환 (L473W, S477I, A484I), 링커 및 C-태그를 추가로 포함하였다. 1개의 안정화 치환 (V231I)은 균주 B2/3817/04, (진뱅크 ID AGL74059.1)로부터 수득되었다. 1개의 신규 안정화 치환 (E453P)이 안정화 치환 E453Q (이전에 동시-계류 출원 EP21215259에 기재됨)를 대체하였다. 2개의 다른 신규 안정화 치환은 V112R 및 D209E였다. 위치 69, 116, 140, 147 및 185에서의 이전 안정화 치환 (동시-계류 출원 EP21215259에 기재됨)이 야생형으로 다시 돌연변이되었을 때 (도 6A에서의 MPV211940 및 MPV211942 (도 7A)), preF 삼량체 발현은 손실되었다. Q453P를 제외하고는 모든 단일 안정화 치환, 특히 V112R은 삼량체 발현을 증가시켰다. 치환의 조합, 특히 D209E 치환의 부가는 발현을 추가로 증가시키고 열 안정성을 개선시켰다 (도 6A, 7A). 옥텟 분석은 신규 안정화 치환을 갖는 변이체가 참조 MPV211940 및 MPV211942와 비교하여 DS7에 대한 비교적 더 낮은 결합과 함께 개선된 항원성 품질을 가졌다는 것을 제시하였다 (도 6B, 7B). 본 발명에 따라, 개선된 항원성 품질은 pre-F 특이적 항체 (예를 들어 ADI-14448)의 증가된 결합 및 post-F 결합 항체 (예를 들어 DS7) 및 항-계면 항체 (예를 들어 MPV458)의 감소된 결합에 의해 측정된 바와 같은, 융합-전 품질을 지칭한다. 이들 마지막 2개의 항체는 매우 낮은 중화 활성을 갖는다.

[0203] DS7 또는 MPV458에 대한 결합 중 일부가 또한 세포 배양 상청액에서의 불순물에 의해 초래될 수 있기 때문에, 여러 HMPV F 단백질은 보다 높은 규모에서 생산되고 철저한 추가 분석을 위해 정제되었다 (실시예 8 참조).

[0204] 실시예 5: *HMPV 융합전 입체형태를 안정화시키는 추가적인 치환*

[0205] 추가적인 안정화 돌연변이 T69W, S149Y, N313W, 및 S445Y, 및 천연 변이체 N404P가 오직 안정화 돌연변이 V112R, 아미노산 위치 89 뒤에 F2 말단절단, 푸린 부위 + RSV의 p27, 야생형 변이체 H368N, 안정화 돌연변이 E453Q, HR2 안정화 (L473W, D475R, Q476K, S477F, N478D, R479E, A484I), 및 링커 및 C-태그만을 함유한 MPV212033 백본에서의 도입에 의해 평가되었다. 치환의 조합은 발현을 추가로 증가시키고 열 안정성을 개선시켰다 (도 8 A 및 C) (방법에 대해 실시예 1 참조). 세포 배양 상청액의 시차 주사 형광측정법 (DSF)은 N404P를 제외하고는 모든 추가적인 치환이 DSF에 의해 측정된 바와 같이 HMPV F의 용융 온도 (Tm50)를 증가시켰다는 것을 제시하였다 (방법 세부 사항에 대해 실시예 4 참조). 옥텟 분석은 추가적인 치환 S149Y, T69W, S445Y 및 N313W를 갖는 변이체가 참조 MPV212033과 비교하여 DS7에 대한 비교적 더 낮은 결합과 함께 개선된 항원성 품질을 가졌다는 것을 제시하였다 (도 8B).

[0206] DS7에 대한 결합 중 일부가 또한 세포 배양 상청액에서의 불순물에 의해 초래될 수 있기 때문에, 여러 HMPV F 단백질은 보다 높은 규모에서 생산되고 추가 분석을 위해 정제되었다 (실시예 8 참조).

[0207] 실시예 6: *V112R, D209E, V231I 및 E453P를 갖는 백본에서의 HR2 변이*

[0208] 추가 HR2 변이체가 아미노산 위치 89 뒤에 F2 말단절단, 도입된 푸린 절단 부위, RSV의 p27, 아미노산 위치 489 뒤에 F1 말단절단을 가졌고 폴드온이 없는 백본에서 평가되었다. 단백질은 H368N, V112R, D209E, V231I 및 E453P 돌연변이를 추가로 포함하였다.

[0209] 모든 시험된 변이체는 MPV210571과 비교하여 증가된 삼량체 발현을 나타냈다 (도 9A) (방법에 대해 실시예 1 참조). HR2 안정화 돌연변이 L473W, D475R, Q476K, S477F, N478D, R479E, A484I를 갖는 MPV212047과 비교하여 (실시예 3 참조) MPV212032 (L473W, S477I, A484I), MPV220115 (S477I), MPV220120 (L473Y, S477I, A484I) 및 MPV220121 (L473I, S477I, A484I)의 삼량체 함량은 유사한 범위였다. 옥텟에서의 결합 프로파일은 MPV210751 및 MPV212047과 비교할 만하였다 (도 9B). 세포 배양 상청액의 시차 주사 형광측정법 (DSF)은 모든 HR2 설계 (Tm50이 낮은 신호로 인해 정의될 수 없는, MPV220123 제외)가 MPV210571과 비교하여, 상청액에서의 DSF에서의 용융 온도로서 기재된 개선된 열 안정성을 가졌다는 것을 제시하였다 (방법 세부 사항에 대해 실시예 4 참조).

[0210] **결론:**

[0211] MPV212032 (L473W, S477I, A484I), MPV220115 (S477I), MPV220120 (L473Y, S477I, A484I) 및 MPV220121 (L473I, S477I, A484I)에서의 HR2 안정화 돌연변이는 MPV210751과 비교하여 삼량체 함량 및 열 안정성을 개선시켰다. DS7에 대한 결합 중 일부가 또한 세포 배양 상청액에서의 불순물에 의해 초래될 수 있기 때문에, 여러 HMPV F 단백질은 보다 높은 규모에서 생산되고 추가 분석을 위해 정제되었다 (실시예 8 참조).

[0212] 실시예 7: *S477I 및 A484I를 갖는 HR2 변이체의 추가 안정화*

[0213] 폴드온이 없고, HR2 안정화 돌연변이 S477I, A484I, 및 아미노산 위치 89 뒤에 F2 말단절단, 도입된 푸린 절단 부위, RSV의 p27, 뿐만 아니라 돌연변이 H368N, V112R, D209E, V231I 및 E453P (+ 링커 및 C-태그)를 갖는 MPV220116이 추가적인 안정화 돌연변이 T69W, S149Y, N313W, 및 S445Y, 및 천연 변이체 N404P를 시험하기 위해 선택되었다.

[0214] 치환의 조합은 발현을 추가로 증가시켰다 (도 10A) (방법에 대해 실시예 1 참조). 옥텟 분석은 추가적인 치환 S149Y, T69W, S445Y 및 N313W를 갖는 변이체가 참조 MPV220116과 비교하여 DS7에 대한 비교적 더 낮은 결합과 함께 개선된 항원성 품질을 가졌다는 것을 제시하였다 (도 10B). 세포 배양 상청액의 시차 주사 형광측정법 (DSF)은 모든 추가적인 치환이 상청액에서의 DSF에서의 용융 온도로서 기재된 HMPV F 열 안정성의 용융 온도 (Tm50)를 개선시켰다는 것을 제시하였다 (방법 세부 사항에 대해 실시예 4 참조) (도 10C).

[0215] **결론:**

[0216] 추가적인 치환 S149Y, T69W, S445Y 및 N313W는 삼량체 함량, 항원성 품질 및 열 안정성을 개선시켰다. DS7에 대한 결합 중 일부가 또한 세포 배양 상청액에서의 불순물에 의해 초래될 수 있기 때문에, 여러 HMPV F 단백질은 보다 높은 규모에서 생산되고 추가 분석을 위해 정제되었다 (실시예 8 참조).

[0217] 실시예 8: *선택된 단백질의 생산 및 정제*

[0218] 생산 및 정제

[0219] 표 1에 따른 여러 HMPV 단백질이 생산되고 정제되었다. 대부분의 선택된 HMPV F 단백질은 이전 실시예에 기재되었다: MPV210530 (도 3), MPV210751 (도 4), MPV211918 (도 4), MPV212017, MPV212047 (도 6), MPV212043 (도 6), MPV212044 (도 6), MPV212045 (도 6), MPV212046 (도 6), MPV220087 및 MPV220092.

[0220] 300ml-규모에서 세포가 제조업체의 설명서에 따라 엑스피펙타민(ExpiFectamine) 293 (써모 피셔 사이언티픽, 미국 월섬) 사용하여 일시적으로 형질감염되고 진탕 인큐베이터에서 37℃ 및 10% CO2에서 5일 동안 배양되었다. 배양 상청액이 수거되고, 600rpm에서 10분 동안 원심분리되고 0.22μm PVDF 필터 상에서 여과되어 세포 및 세포 파편을 제거하였다.

[0221] 단백질이 2- 또는 3-단계 프로토콜에 의해 정제되었다. 먼저, 수거되고 정화된 배양 상청액이 사전-패킹된 C-태그XL 5-ml 칼럼 (써모 피셔 사이언티픽, cat# 494307205, 미국 월섬) 상에 로딩되었다. 이 칼럼은 아가로스 기반 비드 상에 고정화된, C-태그 특이적 단일 도메인 항체로 이루어진 친화도 수지 (캡처 셀렉트(Capture Select))로 사전-패킹되었다. 이 수지는 C-태그를 갖는 결합 단백질에 고도로 특이적이다. C-태그부착된 단백질의 용리가 2M MgCl2를 함유하는 TRIS 완충제를 사용하여 수행되었다. UV 신호 (A280)에 기반하여 용리된 분획은 풀링되고 아미콘 울트라셀(Amicon Ultracel) 50kDa MWCO 원심분리 필터 장치 (머크 밀리포어(Merck Millipore), cat# UFC805024, 독일 다름슈타트)를 사용하여 농축되었다. 단백질이 2- 또는 3-단계 프로토콜에 의해 정제되었다. 먼저, 수거되고 정화된 배양 상청액이 사전-패킹된 캡쳐셀렉트 C-태그XL 5 ml 칼럼 (써모 피셔 사이언티픽, cat# 494307205, 미국 월섬) 상에 로딩되었다. 이 칼럼은 아가로스 기반 비드 상에 고정화된, C-태그 특이적 단일 도메인 항체로 이루어진 친화도 수지 (캡쳐 셀렉트)로 사전-패킹되었다. 이 수지는 C-태그를 갖는 결합 단백질에 고도로 특이적이다. C-태그부착된 단백질의 용리가 2M MgCl2를 함유하는 TRIS 완충제를 사용하여 수행되었다. UV 신호 (A280)에 기반하여 용리된 분획은 풀링되고 아미콘 울트라셀 50kDa MWCO 원심분리 필터 장치 (머크 밀리포어, cat# UFC805024, 독일 다름슈타트)를 사용하여 농축되었다. 후속적으로, 농축된 수집된 용리 피크가 폴리싱 목적, 즉 최소 양의 다량체성 및 단량체성 단백질을 제거하기 위해 전개 완충제 (20mM Tris, 150mM NaCl, pH7.4) 중에서 평형화된 슈퍼덱스(Superdex)200 증가 10/300 칼럼 (씨티바(Cytiva), cat# 28-9909-44, 미국 매사추세츠주 말버러)에 적용되었다. 3 단계 프로토콜은 C-태그 풀 (오직 MPV210751, MPV211918, MPV212017 및 MPV212047에만 적용됨) 상의 슈퍼로스 6 증가 10/300 칼럼 (씨티바, cat#29-0915-96, 미국 매사추세츠주 말버러) 상에, 슈퍼덱스200 전에 추가적인 전개를 포함하였다. 설계의 정제 후 품질은 이 단계가 보다 큰 응집체의 결여로 인해 필요하지 않고 그러므로 이는 다른 정제에 적용되지 않았다는 것을 나타냈다.

[0222] 추가적으로, 문헌 [Mas et al., PLoS Pathog. 2016 Sep 9;12(9):e1005859. doi: 10.1371/journal.ppat.1005859. eCollection 2016 Sep.]에 의해 기재된 바와 같은 postF hMPV 단백질 (서열식별번호: 3)이 생산되고 정제되었다. 재조합체 융합-후 hMPV F 단백질을 코딩하는 발현 플라스미드가 실시예 2에 기재된 바와 같이 제조되었다. 300 ml-규모에서 세포가 일시적으로 형질감염되고 후속적으로 2-단계 프로토콜에 의해 정제되었다 (상기 세부 사항 참조). 후속적으로, TEV 절단이 폴드온 및 c-태그를 제거하기 위해 수

행되었다. 15 μg의 단백질에 대해 1 μL의 TEV (10000 단위/mL)가 사용되었다. 단백질-TEV 혼합물은 밤새 4℃에서 인큐베이션되었다. TEV-His 프로테아제가 Ni 세파로스 엑셀(Sepharose excel) 비드 (GE 헬스케어(GE Healthcare), 17-3712-03) 풀 다운에 의해 단백질 샘플로부터 제거되었다. Ni 세파로스 엑셀 비드가 단백질-TEV 혼합물에 첨가되고 2시간 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 통과액이 마이크로 바이오-스핀(bio-spin) 칼럼 (바이오 래드(Bio Rad), 7326204)을 통해 수집되었다. 절단된 단백질 샘플은 30분 동안 45℃에서 열-충격받았다 (Hsieh et al., Nat Commun 2022 Mar 14;13(1):1299. doi: 10.1038/s41467-022-28931-3.). 후속적으로, 단백질 샘플은 폴리싱 목적, 즉 최소 양의 다량체성 및 단량체성 단백질을 제거하기 위해 전개 완충제 (20mM Tris, 150mM NaCl, pH7.4) 중에 평형화된 슈퍼로스 6 증가 10/300 칼럼 (GE 헬스케어, 미국 시카고)에 적용되었다.

[0223] 단백질은 후속적으로 환원 조건 하에 소듐 도데실 술페이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 (SDS-PAGE) (도 11A) 상에서 분석되었다. 단백질은 인스턴트 블루(Instant Blue)로 염색 시 겔 상에서 시각화되었다.

[0224] **결과 및 결론**

[0225] 상이한 변이체의 수율은 표 1에 제시된다. F2 C-말단의 말단절단은 수율을 감소시켰고, HR2 안정화 및 폴드온의 결실은 수율을 증가시켰다. 발현에서의 개선은 V112R, D209E, V231I 및 E453P를 도입함으로써 (MPV212047) 수득되었다. 추가로 S149Y, N404P (MPV220087) 및 후속적으로 S445P, N313W (MPV220092)가 도입되었으며, 이는 MPV220092에 대한 증가된 발현을 초래한다. 환원된 SDS-PAGE 상의 주요 밴드는 잔류 F0이 없는 F1 도메인 (도 11A)에 상응하며 이는 완전히 프로세싱된 단백질을 나타낸다.

[0226] **표 1**: 실시예 8의 정제된 단백질

| | 아미노산 위치 | | |

[0233] 결론적으로, 모든 정제된 단백질은 삼량체성이고 (도 11B 및 표 1) MPV212047은 4℃에서 7주 후 높은 삼량체 함량을 나타낸다.

[0234] 37℃에서의 안정성

[0235] 정제된 단백질이 분취되었고, 분취량은 37℃에서 인큐베이션되고 (모든 단백질 및 시점에서의 대조군 샘플은 4℃에서 유지되었음) 후속적으로 SEC-MALS로 분석되었다 (방법에 대해 상기 섹션 참조). 대조군 샘플과 비교된 37℃에서 저장된 샘플에 대한 상대 삼량체 함량은 표 1에 열거된다. 크로마토그램이 Graph Pad Prism (버전 9.0.0, GraphPad 소프트웨어)에 플롯팅되었다.

[0236] **결과 및 결론**

[0237] 대조군 샘플 및 37℃에서 2주 동안 저장된 샘플의 크로마토그램은 각각의 정제된 단백질에 대해 겹쳐져 있다 (도 11C). MPV210530은, 89 뒤에 말단절단된 F2를 갖는 설계와 비교하여, 감소된 삼량체 피크 및 응집체를 반영하는 추가적인 피크에 의해 표시된 37℃에서 2주 후 감소된 삼량체 안정성을 나타낸다. 위치 89 뒤에 말단절단된 F2 C-말단을 갖는 모든 단백질은 대조군과 비교하여 37℃ 저장 후 동일한 삼량체 함량을 나타냈다. 모든 단백질은 적어도 2주 동안 37℃에서 안정하였다.

[0238] 동결 안정성

[0239] 단백질이 1, 5 또는 10회 순간 동결되었다. 해동 후 삼량체 함량이 SEC-MALS에 의해 비-동결된 샘플과 비교되었다 (방법에 대해 상기 섹션 참조). 대조군 샘플에 대한 스트레스 샘플의 상대 삼량체 함량은 표 1에 열거된다. 크로마토그램이 Graph Pad Prism (버전 9.0.0, GraphPad 소프트웨어)에 플롯팅되었다.

[0240] **결과 및 결론**

[0241] 단백질이 극저온-보호제가 없는 완충제 (완충제 조성: 20mM Tris, 150mM NaCl, pH7.4) 중에서 시험되었고 1회의 순간 동결 후 모든 단백질은 여전히 고도로 삼량체성이었다. 10회의 순간 동결-해동 사이클 후 (도 11D) 동결 안정성에서의 구별이 관측될 수 있다. 동결/해동 안정성을 증가시키는 돌연변이는 하기 순서 D209E > V112R > V321I > Q453P로 순위가 매겨질 수 있다. MPV212044의 경우 일부 응집체가 검출되었다. 결론적으로, 본 발명의 HMPV F 단백질은 높은 동결 안정성을 나타낸다.

[0242] 단백질의 열안정성

[0243] 정제된 융합-전 HMPV F 단백질의 열-안정성이 96 웰 광학 qPCR 플레이트에서 사이프로(Sypro) 오렌지 염료 (써모피셔 사이언티픽)의 형광 방출을 모니터링함으로써 시차 주사 형광측정법 (DSF)에 의해 결정되었다. 15μl의 66.67μg/ml 단백질 용액이 웰당 사용되었다 (실시예 2에 기재된 바와 같은 완충제) (도 11E). 각각의 웰에, 5μl의 20x 사이프로 오렌지 용액이 첨가되었다. 25℃에서 95℃로 (0.015℃/s), 온도의 점진적인 증가 시, 펼쳐진 단백질 및 형광 염료가 노출된 소수성 잔기에 결합하며 이는 방출에서의 특징적인 변화를 야기한다. 용융 곡선이 ViiA7 실시간 PCR 기기 (어플라이드 바이오시스템즈(Applied BioSystems))를 사용하여 측정되었다. 3개의 개별 샘플 (기술적 삼중)의 형광 신호 (a.u.) 대 온도 (℃)의 1차 미분계수, 뿐만 아니라 평균 용융 곡선이 Graphpad Prism 소프트웨어 (미국 캘리포니아주 댄 디에고)에 플롯팅되었다. 평균 용융 곡선으로부터, Tm50이 추론되었다 (곡선 상의 가장 낮은 지점). Tm50 값은 단백질의 50%가 펼쳐져 있는 온도를 나타내고 따라서 단백질의 온도 안정성에 대한 척도이다.

[0244] **결과 및 결론**

[0245] 푸린 부위, 및 RSV p27, 및 T69Y, A116H, A140C, A147C, D185P, H368N, E453Q를 추가로 포함한 89에서 말단절단된 F2 C-말단을 갖는 설계 (MPV210751)는 긴 F2 C-말단을 갖는 설계 MPV210530과 비교하여 각각 ~5℃의 용융 온도에서의 증가를 나타냈다 (도 11E). MPV211918에서의 폴드온의 제거 및 HR2 안정화 돌연변이의 도입은 MPV210751과 비교하여 약 3℃만큼 용융 온도를 감소시켰다. 안정화 치환 V112R, D209E, V231I 및 453P의 도입 (MPV212017)은 MPV211918과 비교하여 약 10℃만큼 용융 온도를 증가시켰다. 디술피드 브릿지 140-147 및 안정화 치환 T69Y, A116H 및 D185P는 추가적인 안정화 효과를 갖지 않았고 제거는 용융 온도를 감소시키지 않았다 (MPV212047을 MPV212017과 비교함).

[0246] 결론: HR2의 안정화 및 신규 안정화 돌연변이의 부가와 조합되어, 말단절단된 F2 C-말단을 갖는 HMPV F는 폴드온 도메인의 부재 하에 고도로 안정한 삼량체의 높은 수율을 초래하였다.

[0247] 시험관내 항원성

[0248] 선택된 정제된 단백질의 시험관내 항원성 품질이 옥텟을 사용한 생물층 간섭계 기술을 사용하여 시험되었다 (도 11F). 실시예 2에 기재된 항체에 더하여, 또한 항-정점 계면 결합제 MPV465 (Huang et al., PLoS Pathog. 2020 Oct 9;16(10):e1008942. doi: 10.1371/journal.ppat.1008942. eCollection 2020 Oct.) 및 preF 및 postF 입체형태를 인식하고 부위 IV에 결합하는 것으로 기재된, 항체 ADI-18992가 사용되었다 (Gilman et al. Sci Immunol. 2016 Dec 16;1(6):eaaj1879. doi: 10.1126/sciimmunol.aaj1879. Epub 2016 Dec 9.). 항체는 실시예 2에 기재된 바와 같이 고정화되었다. 600s 동안 동적 완충제 (포르테바이오) 중에 센서의 평형화 후 센서는 5 ug/ml의 목적하는 항체를 함유한 동적 완충제로 이동되었다. 후속적으로 또 다른 평형화 단계가 동적 완충제에 포함되었다. 마지막으로 센서는 단백질의 용액 (1xKB 중 20 μg/mL)으로 이동되었다. 분석이 실시예 2에 기재된 바와 같이 수행되었다.

[0249] **결과 및 결론**

[0250] F2 C-말단이 말단절단되지 않는 HMPV F 변이체 (MPV210530)에 대해, 비 preF 항체 및 항-계면 항체에 대한 결합은 F2 말단절단을 갖는 정제된 단백질과 비교하여 더 높았다. 신규 안정화 돌연변이를 갖는 안정화된 융합전 F 단백질 MPV212017 및 MPV212047은 가장 유리한 결합 및 오직 결합된 preF-특이적 항체를 나타냈으며 이는 예를 들어 도 5B에서 관측된 MPV212047에 대한 상청액에서의 보다 낮은 항원성 품질이 불순물에 의해 초래되었다는 것을 확인한다.

[0251] nsTEM에 의한 구조적 특징화

[0252] 정제된 단백질이 음성 염색 전파 전자 현미경 (nsTEM)에 의해 분석되었다 (도 11G).

[0253] 연속적인 탄소 그리드 (구리, EMS)가 이지글로우(easiglow) 플라스마 클리너에서 30초 동안 글로우 방전되었다. 5 내지 25 μg/ml 범위의 농도로 희석된 4 마이크로리터의 샘플 (20mM Tris, 150mM NaCl, pH7.4)이 글로우-방전된 그리드에 적용되고 1분 동안 인큐베이션되었다. 샘플 용액은 온화한 측면 블롯팅에 의해 부분적으로 흡수되었고, 그리드는 이를 총 1분 동안 2% (w/v) 우라닐 아세테이트 용액의 40 μl 방울 상에 침전시킴으로써 즉시 염색되었다. 염색 후, 그리드는 건조 블롯팅되고 이미지화 전에 실온에서 저장되었다. 제조된 그리드는 세타 카메라가 구비된 탈로스(Talos) L120C TEM (써모 피셔 사이언티픽)에서 이미지화되었다. 생성된 픽셀은 이미지화 상태에 따라 픽셀당 2.4 내지 2.8 ang 범위이다. 콘트라스트 전달 함수 (CTF)의 파라미터가 CTFFIND4를 사용하여 각각의 현미경사진 상에서 추정되었고 프로세싱 나머지 (선택 및 2D 분류)가 RELION (버전 3 또는 4)에서 수행되었다.

[0254] **결과 및 결론**

[0255] 정제된 MPV212047의 산성 염색을 사용하여, 음성-염색된 샘플의 전자 현미경 (EM) 분석에 의해 수득된 2-차원 (2D) 클래스 평균은 규칙적인 균질 폐쇄된 삼량체를 밝혀냈다 (도 11G).

[0256] 극저온 전자 현미경에 의한 MPV212047의 구조적 특징화

[0257] HMPV F 설계 MPV212047의 극저온 전자 현미경 (극저온-EM) 구조가 이 단백질의 정확한, 삼량체성 융합전 입체형태를 확인하기 위해 해석되었다 (도 12). 이를 위해, 3.5 μL의 0.8-1.0 mg/ml 정제된 preF 단백질 (MPV212047) 복합체는 플라스마-세정된 (가탄 솔라루스(Gatan Solarus)) 콴티포일(Quantifoil) 1.2/1.3 다공성 금 그리드에 적용되었고, 후속적으로 비트로봇 마크(Vitrobot Mark) IV (FEI 컴퍼니(FEI Company))를 사용하여 유리화되었다. 극저온 그리드가 팔콘(Falcon) IV 직접 전자 검출기를 갖는 200 keV에서 나노프로브로 작동하는 글라시오스(Glacios) 전파 전자 현미경 (써모피셔 사이언티픽) 내로 로딩되었다. 이미지가 0.948 Å의 픽셀 크기 및 -1.8 내지 -1.2 μm의 공칭 디포커스 범위를 갖는 카운팅 모드에서 EPU로 기록되었다. 이미지가 $Å^2$당 ~40 전자의 총 용량에 상응하는 EER 포맷에서 5.7 s 노출로 기록되었다. 영상은 빔-유도된 모션 보정, 콘트라스트 전달 함수 (CTF) 파라미터 추정, 자동화된 참조 입자 선택, 280 픽셀의 박스 크기로의 입자 추출, 및 데이터 취득 동안 CryoSPARC live에서의 2-차원 (2D) 분류를 받았다. 명확한 HA 특색을 갖는 입자 이미지가 병합되고 순이론적 3D 재구축에 이어 CryoSPARC에서 C3 대칭으로의 3D 불균질 개선을 받았다. 입자는 이어서 C3 대칭을 사용한 CryoSPARC 내에서 비-균일 (UN) 개선을 사용하여 개선되었다. 시각화 전에, 모든 밀도 맵은 자동화된 절차를 사용하여 상이한 음성 온도 인자를 적용함으로써 선명해졌고, 반쪽 맵과 함께, 모델 구축에 사용되었다. 로컬 해상도가 ResMap를 사용하여 결정되었다. HMPV F 삼량체의 초기 주형이 SWISS-모델로부터 유래되었다. 모델은 Chimera를 사용하여 EM 밀도 맵으로 도킹된 후 COOT를 사용하여 수동으로 조정되었다. 모델 기하학은

추가로 Rosetta를 사용하여 개선되었다. 최종 모델의 기하학 파라미터가 COOT에서 MolProbity 및 EMRinger을 사용하여 검증되었다. 이들 개선은 추가 개선이 관측되지 않을 때까지 반복하여 수행되었다. 모델 과적합이 하나의 극저온-EM 반쪽 맵에 대한 그의 개선을 통해 평가되었다. FSC 곡선은 생성된 모델과 작업 반쪽 맵 사이뿐만 아니라 생성된 모델과 교차-검증을 위한 자유 반쪽 및 전체 맵 사이에서 계산되었다. 도면이 PyMOL을 사용하여 생산되었다 (도 12). 1개의 프로토머는 카툰 묘사로서 및 2개의 프로토머는 표면 묘사로서 도시된다.

[0258] 초기 SEC-MALS, BLI, 및 nsTEM 데이터의 확증으로 (도 11), MPV212047 설계의 극저온-EM 분석은 폐쇄된 입체형태에 존재하는 정점 (HR2에 대해 원위)을 갖는 융합전 삼량체의 존재를 확인하였다.

[0259] 실시예 9: *폐쇄된 융합전 HMPV F 단백질 MPV212047의 면역원성.*

[0260] 아주반트 결합된 HMPV 융합전 F 단백질은 나이브 코튼 래트에서 융합후 HMPV F보다 더 면역원성이고 효과적이다.

[0261] 융합전 HMPV F (preF) MPV212047의 면역원성은 나이브 코튼 래트를 동물당 50 μL AS01B와 아주반트 결합된, 16, 3 또는 0.6 μg preF 또는 10 μg postF 단백질로 근육내로 면역화시킴으로써 융합후 HMPV F (postF) MPV190470과 비교되었다 (용량당 n=8). 단백질이 실시예 8에 기재된 바와 같이 정제되었다. 대조군으로서, 코튼 래트는 포스페이트 완충 염수 (PBS) (음성 대조군, n=8) 또는 10^4 플라크 형성 단위 (PFU) HMPV A2 (양성 대조군, n=6)로 근육내로 주사되었다. 동물은 제0일 및 제21일에 표시된 용량으로 2회 면역화되었다. 양성 대조군 그룹은 제0일에 1회 면역화되었다. 동물은 제42일에 10^5 PFU HMPV A2로 챌린지되었고 제46일에 희생되었다. ELISA 결합 항체 역가가 제42일에 단리된 혈청에서의 HMPV preF (부위-특이적 비오티닐화 MPV212047: MPV220554)에 대해 결정되었다 (도 13A). 역가는 상대 역가의 log10으로서 디스플레이된다. 검정은 탐구적이고, LLoD는 모든 예상된 음성 샘플을 사용하는 99% 분위수 한계에 기반한다. 모든 점은 개별 동물의 값을 도시하고, 수평선은 그룹의 중앙값 반응을 나타낸다. 중화 항체 역가가 플라크 감소 중화 시험 (PRNT)에 의해 제42일에 단리된 혈청에서의 HMPV A2 (TN/94-49)에 대해 결정되었다 (도 13B). 역가는 50% 억제 농도 (IC50)의 log2로서 디스플레이된다. 모든 점은 개별 동물의 값을 도시하고, 수평선은 그룹의 중앙값 반응을 나타낸다. HMPV A2 바이러스 로드가 감염 후 4일 (제46일)에 플라크 검정에 의해 코 균질액에서 측정되었고 조직의 그램당 log10 pfu로서 표현된다 (도 13C). 모든 점은 개별 동물을 도시하고 그룹당 중앙값 반응은 수평선으로 표시된다. 빈 부호는 제42일 혈청에서 검출가능한 수준의 preF 결합 항체가 없는 동물을 나타낸다.

[0262] HMPV preF 결합 항체의 수준은 10 μg postF 단백질 그룹과 비교하여 3 μg preF 단백질로 면역화된 동물에서 유의하게 더 높았으며, 이는 유의하게 더 높은 수준의 중화 항체와 상응한다 (도 13A,B). 추가적으로, 코에서의 HMPV A2 바이러스에 대한 보호는 동물이 PreF 단백질과 비교하여 postF 단백질로 면역화되는 경우에 유의하게 더 낮았다 (도 13C).

[0263] 요약하면, 아주반트 결합된 HMPV preF 단백질은 나이브 코튼 래트에서 HMPV postF 단백질보다 더 면역원성이고 효과적이다.

[0264] 아주반트 결합된 폐쇄된 융합전 HMPV F 단백질은 개방 융합전 HMPV F 단백질보다 더 면역원성이다.

[0265] 폐쇄된 융합전 HMPV F MPV212047 (폐쇄된 F)의 생체내 면역원성이 개방 입체형태를 갖는 HMPV F 단백질 (MPV220215; 개방 F)과 비교되었다. 이를 위해, MPV220215 HMPV F 삼량체가 C-태그 친화도 정제 및 SEC에 의해 정제되었고 HMPV F 삼량체가 실시예 8에 기재된 바와 같이 특징화되었다. MPV220215는 폴드온 삼량체화 도메인 및 안정화 치환 V112R, S149Y, V231I, 및 E453P를 보유하는 단일-쇄 구축물로서 설계되었다. 삼량체성 입체형태가 SEC-MALS 분석에 의해 확인되었으며, 이는 161 kDa의 크기로 대략 4분 체류 시간에 용리된다 (도 14A). MPV220215의 개방 융합전 입체형태가 ADI-14448 융합전-특이적 항체 결합의 검출 및 폐쇄된 MPV212047 HMPV F와 비교하여 증진된 MPV458 및 MPV465 정점-계면 결합에 의해 BLI에서 확인되었다 (도 14B).

[0266] 정제된 개방 MPV220215 및 폐쇄된 MPV212047 HMPV 융합전 F 삼량체의 면역원성이 제0일 및 제28일에 동물당 10 μL AS01B와 아주반트 결합된, 1.5, 5, 또는 15 μg 단백질로의 암컷 Balb/C 마우스 (n=5)의 근육내 면역화, 또는 PBS-면역화된 음성 대조군 그룹 (n=3)에 의해 평가되었다. ELISA 결합 항체 역가가 제2 면역화 후 2주 (제42일)에 상기 기재된 바와 같이 단리된 혈청에서의 HMPV preF에 대해 결정되었다 (도 14C). HMPV preF 결합 항체의 수준에서의 용량-의존적 증가가 두 단백질로의 면역화 시 관측되고 개방 MPV220215 변이체보다 폐쇄된 MPV212047 단백질에 대해 유의하게 더 높은 수준에 도달하였다. 게다가, 유의하게 더 높은 HMPV A2 중화 역가가 개방 MPV220215와 비교하여 폐쇄된 융합전 HMPV F로의 면역화 시 검출되었다 (도 14D).

[0267] 이들 결과는 폐쇄된 융합전 HMPV F 입체형태가 마우스에서 개방 입체형태의 HMPV F 단백질보다 더 강력한 중화 항체를 유도한다는 것을 입증한다.

[0268] 사전-노출된 마우스에서의 HMPV 융합전 F의 면역원성.

[0269] HMPV 융합전 F (MPV212047)의 면역원성이 HMPV A2 사전-노출된 환경에서 실시예 8에 기재된 바와 같이 정제된, 15 μg 아주반트 결합되지 않은 MPV212047 단백질로의 암컷 Balb/C 마우스 (n=7)의 근육내 면역화에 의해 평가되었다. 마우스는 제0일에 적어도 $1x10^3$ 내지 $3x10^5$ PFU HMPV HMPV A2로 사전-노출되고 제12주에 MPV212047로 면역화되었다. ELISA 결합 항체 역가가 면역화 후 2- 및 4-주 (제14주 및 제16주)에 실시예 9에 상기 기재된 바와 같이 단리된 혈청에서의 HMPV preF에 대해 결정되었다 (도 15). HMPV preF 결합 항체의 수준이 역가에서의 186-배 기하평균 증가와 함께 MPV212047로의 면역화에 의해 극적으로 증진되었으며, 이는 사전-노출된 환경에서의 아주반트 결합되지 않은 HMPV 융합전 F의 생체내 면역원성을 입증한다.

[0270] 실시예 10: *HMPV F A2, B1, 및 B2 균주 변이체로의 안정화 치환의 전달.*

[0271] 최소 아미노산 치환을 갖는 융합전 HMPV 아형 A2 (2000) F 단백질.

[0272] 최소 HR2 안정화 치환을 갖는 HMPV 융합전 F 단백질을 생성하기 위해, 여러 HR2 아미노산이 안정화된 백본 MPV212047에서 야생형으로 복귀되었다. 생성된 구축물 MPV220558은 HR2 치환 L473W, Q476K, S477F 및 A484I를 보유하였으나, 야생형 아미노산 D475, N478, 및 R479를 가졌다. 추가적으로, 변이체 MPV220558로부터의, 표면-노출된 H368N 치환이 야생형으로 복귀되어, MPV220647을 생성하였다. 요약하면, MPV220647은 HMPV A2 균주 TN/00/3-14 (A2 2000)에 기반하고, p27 펩티드를 보유하였고, F2 도메인은 아미노산 89에서 말단절단되었고, 하기 세트의 안정화 돌연변이를 함유하였다: 4개의 안정화 HR2 돌연변이 L473W, Q476K, S477F, 및 A484I와 조합된, V112R, D209E, V231I 및 E453P.

[0273] HMPV F 삼량체 발현이 실시예 1에 기재된 바와 같이, MPV212047, MPV220558, 및 MPV220647의 일시적인 발현 시 평가되었다. 상청액에서의 HMPV F 삼량체의 용융 온도 (Tm50)가 시차 주사 형광측정법 (DSF)에 의해 결정되었다. 이를 위해, 용액 중에 HMPV F 단백질에 첨가된 사이프로 오렌지 염료의 형광 방출 (써모피셔 사이언티픽)이 모니터링되었다. 측정은 25℃의 시작 온도 및 95℃의 최종 온도 (시간당 54℃ 증가)로 수행되었다. 용융 곡선이 ViiA7 실시간 PCR 기기 (어플라이드 바이오시스템즈)를 사용하여 측정되었고, Tm50 값은 이전에 기재된 바와 같이 음성 1차 미분계수로부터 유래되었다 (Rutten et al. (2020) Cell Rep 30:4540-4550).

[0274] 삼량체 피크 높이에 대한 영향이 3개의 HR2 안정화 치환의 후속 역전 및 야생형으로의 H368N 역전에 의해 관측되었다 (도 16A, 흑색 막대). 그러나, 3개의 HMPV F 단백질의 용융 온도는 각각 MPV212047, MPV220558, 및 MPV220647에 대한 72.3℃, 73.2℃, 및 73.5℃의 평균 Tm50에 의해 입증된 바와 같이 부정적인 영향을 받지 않았다 (도 16A, 회색 막대).

[0275] HMPV F 균주 변이체로의 안정화 치환의 전달.

[0276] 다음에, 보다 최근의 A2 균주 뿐만 아니라 최근의 아형 B1 및 B2 균주로의 MPV220647에서의 안정화 치환의 전달이 상기 기재된 바와 같이 평가되었다 (도 16B). 이들 돌연변이의 안정화 영향은 안정화된 B2 변이체 MPV220641에 대한 야생형 B2 (MPV23362)의 비교에 의해 입증되었다. 야생형 HMPV F B2는 분석적 SEC에서 예상된 단량체 체류 시간에 용리된 한편 (도 16C, 회색선), 안정화된 HMPV F B2 MPV220641은 상당히 더 높은 수준으로 발현하고 거의 대략 4.5분 체류 시간에 삼량체로서 용리되었다 (도 16C, 흑색선). 일치하게, 야생형 HMPV F B2의 평균 용융 온도는 DSF에 의해 결정된 바와 같이, 안정화된 MPV220641에 대해 57.9℃에서 72.7℃로 증가하였다 (도 16D). 마지막으로, 융합전 HMPV F의 안정화가 실시예 1에 기재된 바와 같이 HMPV F 융합전 (ADI-61026), 정점 계면 (MPV458), 및 비-융합전 (DS7) 항체를 사용한 정량적 옥텟을 사용하는 생물층 간섭계 (BLI) 측정에서 확인되었다.

[0277] 야생형 HMPV F B2와 비교하여, 안정화된 HMPV F B2 MPV220641은 융합전-특이적 ADI-61026에 대한 개선된 결합 및 정점 계면 MPV458 및 비-융합전 DS7 항체에 대한 감소된 결합을 나타냈다 (도 16E).

[0278] 삼량체성 발현 패턴이 또한 비록 A2 2000 (MPV220647)과 비교하여 약간 감소된 발현 수준이지만, 안정화된 HMPV F A2 2019 (MPV220639) 및 HMPV F B1 2020 (MPV220640)에 대해 관측되었다. 최근의 HMPV F A2 및 B1 균주의 용융 온도는 MPV220639와 비교할 만하거나 또는 이보다 더 높았다 (각각 MPV220640 및 MPV22647에 대해 73.6℃ 및 75.8℃) (도 16D). 모든 안정화된 HMPV F 단백질은 옥텟에서 낮은 MPV458 및 DS7 결합과 조합되어, ADI-

61026 융합전 항체 결합에 의해 확인된 바와 같이 융합전 입체형태로 발현되었다 (도 16E).

[0279] 결론적으로, HMPV A2 (2000) 백본에서 발견된 안정화 HMPV F 치환은 다른, 보다 최근의 HMPV 아형으로 성공적으로 전달되어, 안정한, 삼량체성 융합전 HMPV F 단백질을 생성하였다.

[0280] 실시예 11. *HMPV 아형 A2 (2019) 융합전 F 단백질의 안정화, 정제, 및 면역원성.*

[0281] 추가로 안정화된 태그-무함유 HMPV F 변이체 MPV221190의 개선된 삼량체 발현.

[0282] 실시예 10으로부터의 안정화된 HMPV 아형 A2 (2019) 융합전 F 변이체 MPV220639가 C-태그 정제 태그 없이 생성되어, 변이체 MPV220759를 생성하였다. 이 백본에서, 추가적인 치환 S149Y 및 N404P가 도입되어, 변이체 MPV221190을 생성하였고, 삼량체 발현에 대한 이들의 효과가 실시예 1에 기재된 바와 같이 Expi293F 세포에서의 일시적인 형질감염 후 평가되었다. 세포-배양 상청액의 분석적 SEC는 백본 MPV220759 대비, S149Y 및 N404P 둘 다를 보유하는, MPV221190에 대한 증가된 삼량체 발현을 입증하였다 (도 17A).

[0283] 태그-무함유 MPV220759 및 MPV221190 HMPV F 삼량체의 정제 및 특징화.

[0284] 다음에, MPV220759 및 MPV221190 HMPV F 변이체가 둘 다 제조업체의 설명서에 따라 엑스피펙타민 (라이프 테크놀로지스)을 사용하여 Expi293F 세포에서 일시적으로 형질감염되고 37℃ 및 10% CO2에서 5일 동안 배양되었다. 배양 상청액이 수거되고 10분 동안 600 g에서 회전되어 세포 및 세포 파편을 제거하였고, 이어서 0.22 μm 진공 필터를 사용하여 멸균-여과되었다. HMPV F 단백질은 pH 5.0에서의 이온 교환 (양이온) 정제 및 슈퍼덱스 200 16/600 pg 칼럼을 사용하는 크기 배제 크로마토그래피를 통한 폴리싱을 포함하는 2-단계 정제 프로토콜을 사용하여 정제되었다. 삼량체성 분획은 풀링되고 추가로 초고성능 액체 크로마토그래피 시스템 (밴퀴시, 써모 사이언티픽) 및 직렬 나노스타 DLS 판독기 (와이어트)와 조합된, Optilab μT-rEX 굴절률 검출기 (와이어트)에 커플링된 μDAWN TREOS 기기 (와이어트)를 사용하는 분석적 SEC-MALS에 의해 특징화되었다. 단백질이 전개 완충제 (150 mM 인산나트륨, 50 mM NaCl, pH 7.0) 중에 평형화된 상응하는 가드 칼럼 (세팍스 테크놀로지스)을 사용한 유닉스-C SEC-300 15 cm 칼럼 (세팍스 테크놀로지스) 상으로 0.35 mL/분으로 로딩되었다. 분석적 SEC 데이터가 Chromeleon 7.2.8.0 소프트웨어 패키지를 사용하여 분석되었고, HMPV F 삼량체의 분자량이 Astra 소프트웨어에 의해 계산되고 계산된 중량과 비교되었으며, 이는 삼량체성 입체형태를 확인한다 (도 17B, C).

[0285] 정제된 HMPV F 삼량체의 용융 온도 (Tm50)가 실시예 10에 기재된 바와 같이 DSF에 의해 결정되었다. 치환 S149Y 및 N404P를 보유하는 MPV221190은 이들 치환이 없는 MPV220759의 73.5℃의 Tm50과 비교하여 75.5℃의 더 높은 용융 온도를 가졌다 (도 17D).

[0286] 정제된 HMPV F 단백질의 융합전 입체형태가 HMPV F 융합전 (ADI-14448 및 ADI-61026), 정점 계면 (MPV458), 및 비-융합전 (DS7) 항체를 사용한 정량적 옥텟을 사용하는 생물층 간섭계 (BLI) 측정에서 확인되었다. 항체는 5 μg/ml의 농도로 항-인간 IgG 센서에 고정화되었고, 300초 회합 동안 20 μg/ml에서의 HMPV F의 초기 결합 속도가 3-6회의 개별 측정의 평균 +SD로서 플롯팅되었다 (도 17E). 융합전-특이적 ADI-14448 및 ADI-61026 항체에 대한 두 HMPV F 단백질의 결합 뿐만 아니라 정점 계면 결합 항체 MPV458 및 비-융합전 DS7에 대한 결합의 부재가 확인되었다.

[0287] 액체 질소에서의 반복된 순간 동결 (SF) 사이클, 및 -20℃를 향한 과냉각 스트레스에 대한 정제된 HMPV F 단백질 MPV220759 및 MPV221190 둘 다의 스트레스 회복력이 비-처리된 단백질과 비교하여 분석적 SEC에서 상대 삼량체 함량을 측정함으로써 평가되었다 (도 17F). 증가하는 SF 스트레스가 두 단백질에 대한 삼량체 함량을 감소시켰으나 MPV221190에 대해 덜 현저하였다 (도 17F, 채워진 막대). 이에 따라, 5회의 과냉각 스트레스 측정의 삼량체 함량에서의 평균 감소는 MPV220759의 경우 23%, 및 MPV221190의 경우 11%였다 (도 17F, 빈 막대).

[0288] 결론적으로, A2 (2019) 서열에 기반하는 2개의 안정한 삼량체성 HMPV 융합전 F 단백질이 삼량체화 도메인 또는 정제 태그 없이 생산되었다. 추가적인 안정화 치환 S149Y 및 N404P를 갖는 변이체 MPV221190은 MPV220759와 비교하여 더 높은 삼량체 발현 및 개선된 온도 스트레스 회복력을 디스플레이하였다.

[0289] HMPV 융합전 F MPV220759 및 MPV221190의 면역원성.

[0290] 정제된 MPV220759 및 MPV221190 HMPV 융합전 F 삼량체의 생체내 면역원성이 15 μg AS01B-아주반트 결합된 MPV212047 (n=8) 또는 PBS-면역화된 대조군 그룹 (n=3)과 비교하여 제0일 및 제28일에 동물당 10 μL AS01B와 아주반트 결합된 1.5, 5, 또는 15 μg 단백질로 암컷 Balb/C 마우스 (n=8)의 근육내 면역화에 의해 평가되었다. ELISA 결합 항체 역가가 제2 면역화 후 2주 (제43일)에 실시예 9에 기재된 바와 같이 단리된 혈청에서의 HMPV preF에 대해 결정되었다 (도 17G). HMPV preF 결합 항체의 수준에서의 용량-의존적 증가가 MPV220759 및

MPV221190로의 면역화 시 관측되고 15-μg 단백질 용량에서 MPV212047과 비교할 만한 수준에 도달하였으며, 이는 마우스에서의 이들 HMPV 융합전 F 단백질의 면역원성을 설명한다.

[0291] 실시예 12. *상이하게 안정화된 HMPV 융합전 F 단백질의 시험관내 비교.*

[0292] 융합전-안정화된 HMPV F 단백질이 문헌 [Hsieh *et al.* (Nat Commun. 2022 Mar 14;13(1):1299)]에 의해 기재되었다. 이 소위 DS-CavEs2 설계 (MPV220552)의 발현이 실시예 1에 기재된 바와 같이 Expi293F 세포에서의 일시적인 형질감염 후 MPV221190과 비교되었다. DS-CavEs2 (MPV220552)는 폴드온 삼량체화 도메인을 갖고 대략 4분 체류 시간 후 용리된 한편, 폴드온-무함유 MPV221190은 이후에 대략 4.5분 체류 시간에 용리되고 강하게 증가된 삼량체 발현을 입증하였다 (도 18A).

[0293] 다음에, MPV220552 삼량체가 스트렙태그(StrepTag) 친화도 크로마토그래피 (GE 헬스케어, 28-9075)에 이어 슈퍼로스 6 (GE 헬스케어) 칼럼을 사용하는 크기 배제 크로마토그래피를 통한 폴리싱을 사용함으로써 실시예 11에 기재된 바와 같이 Expi293F 세포에서의 일시적인 발현 후 정제되었다. 삼량체성 분획은 풀링되고 실시예 11에 기재된 바와 같이, SEC-MALS, DSF, 및 옥텟에 의해 추가로 특징화되었다. 이전 보고와 비교할 만하나 (Hsieh *et al.*, 2022), 대안적으로 안정화된 HMPV F MPV221190보다 더 낮은, 71.1℃의 용융 온도를 갖는 DS-CavEs2 설계의 삼량체성 입체형태가 확인되었다 (도 17D, 18B,C). 두 단백질은 ADI-14448 및 ADI-61026 융합전 항체에 결합하였으나 비-융합전 DS7에 결합하지 않았다. 그러나, MPV220552는 정점 계면 항체 MPV458에 대한 높은 결합을 입증하였으며, 이는 MPV221190과 비교하여 더 개방 정점 구조를 나타낸다 (도 18D).

[0294] 두 정제된 단백질의 안정성이 4℃ 또는 37℃에서 장기간 인큐베이션에 이어, 분석적 SEC에 의해 평가되었다. HMPV F 용리 패턴의 검사는 MPV221190에 대한 안정한 삼량체성 피크를 입증한 한편, 감소된 삼량체 피크가 37℃에서 2주 저장 시 4.5-5분 체류 시간에 용리되는 보다 작은 종의 출현과 동시에, MPV220552에 대해 관측되었다 (도 18E).

[0295] 요약하면, MPV221190 HMPV 융합전 F 안정화된 삼량체는 이전에 공개된 DS-CavEs2 (MPV220552) HMPV 융합전 F와 비교하여 더 높은 발현 수준, BLI에 의해 결정된 바와 같은 더 폐쇄된 삼량체성 구조, 및 DSF 및 스트레스 회복력에 의해 결정된 바와 같은 증진된 안정성을 갖는다.

[0296] 실시예 13. *이종성 삼량체화 도메인이 없고 HR2 영역의 안정화가 없는 HMPV 융합전 F 삼량체의 안정화.*

[0297] HMPV 융합전 F 단백질의 삼량체 발현이 헤드 도메인에서의 다수의 대안적인 안정화 치환의 존재 하에 HR2 안정화의 요건을 조사하기 위해, 이종성 삼량체화 도메인이 없고 HR2 영역에서의 안정화 치환이 없는 백본에서 평가되었다. 이 백본은 7개의 HR2 치환의 도입을 제외하고는, MPV212047과 비교할 만하였다. 요컨대, 백본 MPV220847은 또한 푸린 절단 부위 및 위치 489에서의 C-말단 절단을 포함하여, 아미노산 위치 89 뒤에 F2 말단 절단, 도입된 푸린 절단 부위 및 RSV의 p27을 가졌다. 변이체는 치환 V112R, D209E, V231I, H368N, E453P, 링커 및 C-태그를 추가로 포함하였다.

[0298] MPV220847의 삼량체 발현은 HR2 영역에 S477I (MPV220115) 또는 S477L (MPV220851) 치환을 보유하는 2개의 변이체와 비교되었으며, 이는 이전에 HMPV F의 삼량체 함량을 개선시키는 것으로 제시되었다 (도 4). Expi293F 세포에서의 일시적인 발현 시, 실시예 1에 기재된 바와 같이, 모든 3개의 HMPV F 변이체는 대략 4.5분 체류 시간에 용리되는 삼량체성 피크를 나타냈으며 (도 19A), 이는 충분한 대안적인 치환이 도입될 때 HR2 안정화가 요구되지 않는다는 것을 나타낸다. 그러나, 비록 모든 3개의 HMPV F 변이체에 대한 단일 용융 사례가 대략 70℃즈음에 측정되었지만, S447I 및 S477L 치환의 안정화 효과는 DSF에서 백본 MPV220847과 비교하여, MPV220115 및 MPV220851의 증가된 용융 온도에 의해 여전히 명백하였다 (도 19B). 모든 3개의 HMPV F 변이체의 융합전 입체형태가 BLI에서, 융합전-특이적 항체 ADI-14448의 결합 및 비-융합전 항체 DS7에 대한 결합의 부재에 의해 확인되었다 (도 19C) (DSF 및 BLI은 실시예 11에 기재된 바와 같이 수행됨).

[0299] 결론적으로, 삼량체성 HMPV 융합전 F 단백질은 이종성 삼량체화 도메인의 요건 없이 및 HR2 영역의 안정화에 대한 필요 없이 안정화될 수 있지만, 후자가 HMPV F 단백질의 온도 안정성의 측면에서 명확한 이익을 제공한다.

[0300] 실시예 14. *위치 477에서의 HR2 영역의 안정화를 통한 이종성 삼량체화 도메인이 없는 HMPV 융합전 F 삼량체의 안정화.*

[0301] HR2 스템 영역 최적화를 통한 융합전 HMPV F의 안정화는 안정화를 위한 적합한 표적으로서의 위치 S477을 확인하였다 (도 4). 소수성 아미노산 치환의 영향은 백본 MPV211241에서 체계적으로 평가되었으며, 이는 이전에 삼량체성 HMPV F를 거의 발현하지 않는 것으로 입증되었다 (도 4A 좌측 히스토그램 패널, 5A 좌측 히스토그램 패

널). 이를 위해, 야생형 S477, 또는 S477I, S477L, S477F, S477V, S477M, S477Y 또는 S477W를 보유하는 HMPV F 변이체가 Expi293F 세포에서 발현되고 실시예 1에 기재된 바와 같이 분석되었다. HMPV F 삼량체 발현의 안정성을 평가하기 위해, 배양 상청액이 58℃에서 30-분 인큐베이션을 받고 분석적 SEC에서 평가되었다. 이전에 입증된 바와 같이, 야생형 S477을 보유하는 백본 MPV211241은 HMPV F 삼량체를 발현하지 않았으나 HMPV F 단량체에 상응하는, 4.5-5분의 체류 시간으로 용리되었다 (도 20, 흑색선). 열 스트레스 시, 응집체가 대략 3분의 체류 시간으로 나타났다 (도 20, 회색선). 치환 S477I, S477L, S477F, S477V, S477M (각각 MPV211247, MPV211249, MPV23278, MPV211248, MPV23279)은 HMPV F 삼량체 발현을 회복시키는데 성공적이었고, 치환 S477Y 및 S477W (MPV23280 및 MPV23281)는 HMPV F 삼량체 발현을 부분적으로 회복시켰으며, 이는 삼량체 및 단량체의 혼합물로서 발현한다 (도 20, 흑색선). 58℃ 열 스트레스 시, S477I 또는 S477L 치환을 보유하는 변이체로부터 발현된 HMPV F 삼량체는 여전히 삼량체성이었지만 (MPV211247 및 MPV211249, 도 20, 회색선; 도 4A), 모든 다른 S477 변이체는 영향을 받았으며, 이는 감소된 삼량체 함량을 갖고 응집체의 존재를 나타낸다 (도 20, 회색선).

[0302] 요약하면, HMPV F의 HR2 영역에서 위치 477에서의 소수성 아미노산 잔기의 도입은 삼량체 발현을 증진시키는 것으로 입증되었으며, S477I 및 S477L 치환이 가장 안정한 삼량체를 생성하였다.

[0303] 실시예 15. *전장 HMPV 융합전 F 삼량체의 안정화.*

[0304] 전장 HMPV F의 헤드 도메인 (여기서 '헤드 도메인'은 HR2 스템 영역의 N-말단인 성숙, 프로세싱된 단백질의 일부로 정의됨) 및 HR2 영역에서의 안정화 치환의 영향이 유세포 분석에 의해 평가되었다. 이를 위해, 또한 푸린 절단 부위를 포함하여, 아미노산 위치 89 뒤에 F2 말단절단, 도입된 푸린 절단 부위 및 RSV의 p27을 갖는 전장 야생형 HMPV A2 (2019) F가 설계되었다 (MPV221364). 이 야생형 백본은 MPV221376과 비교되었으며, 이는 4개의 HR2 치환, L473W, Q476K, S477F, 및 A484I를 추가적으로 보유하였다. 마찬가지로, 야생형 백본은 MPV221371과 비교되었으며, 이는 헤드 도메인 치환 V112R, D209E, V231I 및 E453P를 보유하였으나, HR2 안정화는 그렇지 않았다. 마지막으로, 변이체 MPV221377은 상기 기재된 바와 같이 헤드 및 HR2 안정화 둘 다를 보유하였다.

[0305] HMPV F 코딩 플라스미드는 HMPV F: 푸린: GFP 플라스미드 DNA의 3:2:5 비율로 Expi293F 세포에서 공동-형질감염되었다. 형질감염-후 2일에, 세포가 수집되고, 세척되고, 염색되고, 유세포 분석 (FACS 칸토(FACS Canto) II, 벡톤 디킨슨(Becton Dickinson))을 받기 전에 고정되었다. 염색 단계는 살아있는/사멸된 바이올렛 염색 (써모피셔) 및 HMPV F 항체 AD-61026 및 DS7에 이어, 알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 647-표지된 항-인간 IgG 검출 항체로의 염색을 포함하였다. HMPV F 항체 신호의 중앙값 형광 강도 (MFI)가 단일 세포, 살아있는, GFP-양성 세포 게이트를 적용함으로써 결정되었다. HMPV 융합전 F-특이적 항체 ADI-61026이 모든 4개의 HMPV F 변이체에 대해 비교할 만한 수준으로 검출되었으며, 이는 전장 막-발현된 프로세싱된 HMPV F가 형질감염된 Expi293F 세포의 표면 상에서 융합전 입체형태로 존재한다는 것을 입증한다 (도 21). 그러나, HMPV 비-융합전 F의 존재가 또한 이들 세포에서 확인되었으며, 가장 높은 DS7 결합이 야생형 백본 MPV221364에 대해 검출되었다. HR2 치환의 도입은 헤드 도메인 치환의 도입이 그러한 바와 같이, DS7 결합을 감소시켰다. 헤드 도메인 및 HR2 영역 치환 둘 다의 조합은 DS7 결합에서의 가장 강한 감소를 생성하였으며, 이는 전장 HMPV F에서 두 HMPV F 단백질 영역에서의 치환의 안정화 효과를 확인한다 (도 21).

[0306] 실시예 16. *대안적인 p27 서열은 외인성 푸린 공동-발현에 대한 필요 없이 HMPV F 프로세싱을 개선시킨다.*

[0307] HMPV에서의 F1과 F2 사이의 제2 푸린 절단 부위 및 RSV p27 도메인의 도입은 푸린과 공동-형질감염될 때 F0의 완전한 프로세싱을 초래하였다 (실시예 2). 외인성 푸린 공동-형질감염에 대한 요건을 무효화하면서 완전한 프로세싱을 달성하기 위해, RSV p27 서열이 최적화되었다.

[0308] RSV p27의 변이는 대표적인 RSV A (MPV23259) 또는 B (MPV23260) 서열에 기반하는 서열을 포함하였으며, 이는 안정화된 백본 MPV221190에 도입되었다 (도 22A). HMPV F 코딩 플라스미드는 실시예 1에 기재된 바와 같이 5:1 HMPV F:푸린 DNA 비율로 (20% 푸린) 푸린을 코딩하는 플라스미드와, 또는 5:1 HMPV F:담체 DNA 비율로 (0% 푸린) 담체 플라스미드를 코딩하는 플라스미드와 공동-형질감염되었고, 삼량체 발현이 실시예 1에 기재된 바와 같이 분석적 SEC에 의해 평가되었다. 백본 MPV221190 뿐만 아니라 p27 RSV A 및 RSV B 변이체 (각각 MPV23259 및 MPV232660)가 20% 푸린과 공동-형질감염될 때 대략 4.5분 체류 시간에 삼량체로서 용리되었다 (도 22B, 회색선). 그러나, 푸린 공동-형질감염 없이, 용리 패턴은 보다 짧은 체류 시간으로 이동하였고 (도 22B, 흑색선), 이는 비-완전한 프로세싱된 HMPV F를 나타낸다. 후자는 실시예 1에 기재된 바와 같이, 환원 조건 하에 세포 용해물의 웨스턴 블롯 분석에 의한 HMPV F1 및 F2의 검출에 의해 확인되었다. 푸린 공동-형질감염 없이, 추가적

인 밴드가 F1과 F2 단편 사이에 검출되었으며, 이는 부착된 p27 단편을 갖는 F2에 상응할 가능성이 있다. 이 추가적인 밴드는 20% 푸린과 공동-형질감염된 HMPV F 세포 용해물에 부재하였다 (도 22C).

[0309] RSV p27 단편에 대한 추가적인 변이는 p27 RSV A 서열을 갖는, 백본 MPV23259에 기반하였고, 도 22A에 표시된 바와 같이 p27 서열에서의 글리코실화 부위의 체계적인 결실(들) (MPV23261-MPV23267), 및 p27 서열 결실 (MPV23268, MPV23269)을 포함하였다. 이들 변이체가 상기 기재된 바와 같이 평가되었으며, 이는 20% 푸린과 공동-형질감염될 때 비교할 만한 삼량체 용리 패턴 (도 22B, 회색선)을 나타내나, 추가적인 푸린 없이 형질감염될 때 상이한 용리 프로파일 (도 22C, 흑색선)을 나타낸다. 푸린 공동-형질감염이 없는 p27 변이체의 발현은 1 또는 2개 글리칸 결실을 갖는 변이체의 경우 HMPV F의 비-완전한 프로세싱을 초래하였다 (MPV23261-MPV23266) (도 22B,C). 그러나, MPV23267에서의 모든 3개의 글리코실화 부위의 제거는 이 변이체가 푸린과 공동-형질감염되었든 아니든 동일한 삼량체 체류 시간을 생성하였고 (도 22B) 외인성 푸린 발현을 위한 요건 없이 웨스턴 블롯 상에서 완전한 HMPV F 프로세싱을 나타냈다 (도 22C). 비교할 만한 효과가 변이체 MPV23269에서의 p27 서열로부터의 'NNTKNTNVTLS'의 제거에 의해 관측되었지만, MPV23268에서의 'LPRFMNYTL'의 제거는 성공적이지 않았다.

[0310] 결론적으로, 완전한 HMPV F 프로세싱은 HMPV F의 F1과 F2 사이에 삽입되는 RSV p27 서열의 최적화에 의해 외인성 푸린 발현의 요건 없이 달성될 수 있다.

[0311] **표 2.** 표준 아미노산, 약어 및 특성

아미노산	3-문자	1-문자	측쇄 극성	측쇄 전하 (pH 7.4)
알라닌	Ala	A	비-극성	중성
아르기닌	Arg	R	극성	양성
아스파라긴	Asn	N	극성	중성
아스파르트산	Asp	D	극성	음성
시스테인	Cys	C	비-극성	중성
글루탐산	Glu	E	극성	음성
글루타민	Gln	Q	극성	중성
글리신	Gly	G	비-극성	중성
히스티딘	His	H	극성	양성(10%) 중성(90%)
이소류신	Ile	I	비-극성	중성
류신	Leu	L	비-극성	중성
리신	Lys	K	극성	양성
메티오닌	Met	M	비-극성	중성
페닐알라닌	Phe	F	비-극성	중성
프롤린	Pro	P	비-극성	중성
세린	Ser	S	극성	중성
트레오닌	Thr	T	극성	중성
트립토판	Trp	W	비-극성	중성
티로신	Tyr	Y	극성	중성
발린	Val	V	비-극성	중성

[0312]

서열

SEQ ID NO: 1 hMPV A2 융합 단백질 (TN/00/3-14) 전장 (신호 펩티드 볼드체; 야생형 절단 부위 영역 이탤릭체, F2 도메인 밑줄)

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALRE

LKTVSADQLAREEQIENP*RQSR*FVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNALKTTNEAVSTLGNGVRVL

ATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNM

PTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWY

CQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPISMVALSPLGALVACYK

GVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPIKFPEDQFNVALDQVF

ENIENSQALVDQSNRILSSAEKGNTGFIIVIILIAVLGSSMILVSIFIIIKKTKKPTGAPPELSGVTNNGFIPHS

SEQ ID NO: 2: p27 RSV F

ELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRR

SEQ ID NO: 3 MPV190470 (postF); 최적화된 푸린 절단 부위 볼드체; 링커 이탤릭체; TEV CS 볼드체 이탤릭체; 폴드온 볼드체 밑줄; 스트렙 태그 밑줄 이탤릭체; C-태그 밑줄

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE

LRTVSADQLAREEQIENPRQS**KKRKRR**VATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNALKKTNEAVSTLGNGVRVLATA

VRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIADLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTS

AGQIKLMLENRAMVRRKGFGFLIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKENYACLLREDQGWYCQN

AGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPISMVALSPLGALVACYKGVSC

SIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPVKFPEDQFNVALDQVFESIE

NSQALVDQSNRILSSAEKGNT*GG**RENLYFQ**GGGGS***GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTF**AA*WSHPQFEK*GA

*A*EPEA

[0313]

SEQ ID NO 4: MPV201285 (481 뒤에서 말단절단된 F1, 링커 이펠릭체; 폴드온 밑줄; C-태그 볼드체)

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL
KTVSADQLAREEQIENPRRRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNALKTTNEAVSTLGNGVRVLA
TAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMP
TSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYC
QNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPISMVALSPLGALVACYKG
VSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPIKFPEDQFNVALDQVFE
NIENSQALVDQSNRIL*SGGG*<u>GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL</u>*GGS***EPEA**

SEQ ID NO 5: MPV210498

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLARARRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKN
CLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPA
ISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCS
EKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRN
PISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSF
DPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 6: MPV210500

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLARRRREEQIENPRRRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCLKTTNECVSTLGNGVR
VLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSN
MPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGW
YCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPISMVALSPLGALVACYK

[0314]

GVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPIKFPQDQFNVALDQV

FENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 7: MPV210502

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLARRRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKD

FVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKL

MLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTV

YYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSN

RVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQA

LVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 8: MPV210505

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLARRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNC

LKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAI

SLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCS

EKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRN

PISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSF

DPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 9: MPV210507

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLARRRRIENPRRRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLA

TAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMP

TSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYC

[0315] QNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPISMVALSPLGALVACYKG

VSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFE

NIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 10: MPV210509

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQRRRREQIENPRRRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLA

TAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMP

TSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYC

QNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPISMVALSPLGALVACYKG

VSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFE

NIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 11: MPV210530

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLAREEQIENPRARRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLE

SEVTAIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFS

DNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWI

VKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYP

CKVSTGRNPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIK

GRPVSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGG

SEPEA

SEQ ID NO 12: MPV210531

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLAREEQIENPRRRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLA

TAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMP

[0316] TSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYC

QNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPISMVALSPLGALVACYKG
VSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFE
NIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 13: MPV210742

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLAREEQIENPRQSRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTI
RLESEVTAIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVR
QFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTP
CWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTT
NYPCKVSTGRNPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQ
HVIKGRPVSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLST
FLGGSEPEA

SEQ ID NO 14: MPV210743

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLAREEQIENPRQRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIR
LESEVTAIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQ
FSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPC
WIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTN
YPCKVSTGRNPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQH
VIKGRPVSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL
GGSEPEA

SEQ ID NO 15: MPV210744

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
[0317] KTVSADQLAREEQIENPRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLES

EVTAIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSD
NAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIV
KAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPC
KVSTGRNPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKG
RPVSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGS
EPEA

SEQ ID NO 16: MPV210745

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLAREEQIENRRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESE
VTAIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDN
AGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVK
AAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCK
VSTGRNPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGR
PVSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSE
PEA

SEQ ID NO 17: MPV210746

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLAREEQIERRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEV
TAIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNA
GITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKA
APSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVS
TGRNPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRP
VSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEP
EA

[0318]

SEQ ID NO 18: MPV210747

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLAREEQIRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVT
AIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNA
GITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKA
APSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVS
TGRNPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRP
VSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEP
EA

SEQ ID NO 19: MPV210748

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLAREEQRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVT
AIKNCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNA
GITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKA
APSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVS
TGRNPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRP
VSSSFDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEP
EA

SEQ ID NO 20: MPV210749

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLAREERRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAI
KNCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGIT
PAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPS
[0319] CSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTG

RNPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSS

SFDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 21: MPV210750

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLARERRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIK

NCLKTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITP

AISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSC

SEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGR

NPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSS

FDPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 22: MPV210751

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 23: MPV210752

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCLK

TTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISL

DLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

[0320]

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO 24: MPV211241 (489 뒤에서 컷팅된 F1, 이탤릭체 링커, C-태그 볼드체)

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSAEKGNT*GGS***EPEA**

SEQ ID NO 25: MPV211242

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIVDQSNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 26: MPV211243

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0321]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAFVDQSNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 27: MPV211244

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALIDQSNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 28: MPV211245

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALLDQSNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 29: MPV211246

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0322]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALFDQSNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 30: MPV211247

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 31: MPV211248

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQVNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 32: MPV211249

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0323]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQLNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 33: MPV211250

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRVLSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 34: MPV211251

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRLLSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 35: MPV211252

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0324]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 36: MPV211253

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSVEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 37: MPV211254

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSLEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 38: MPV211255

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

[0325] KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSAEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 39: MPV211256

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSAEKGVTGGSEPEA

SEQ ID NO 40: MPV211257

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSAEKGLTGGSEPEA

SEQ ID NO 41: MPV211258

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0326]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIIDQSNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 42: MPV211259

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIVDQINRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 43: MPV211260

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIVDQSNRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 44: MPV211261

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0327]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIVDQSNRILSSAEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 45: MPV211262

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALIDQINRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 46: MPV211263

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALIDQSNRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 47: MPV211264

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0328]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALIDQSNRILSSAEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 48: MPV211265

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 49: MPV211266

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSAEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 50: MPV211267

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0329]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 51: MPV211268

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIIDQINRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 52: MPV211269

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIIDQSNRILSSIEKGTGGSEPEA

SEQ ID NO 53: MPV211270

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

[0330] KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIIDQSNRILSSAEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 54: MPV211271

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALIDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 55: MPV211272

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALIDQINRILSSAEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 56: MPV211273

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

[0331] KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 57: MPV211274

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIIDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 58: MPV211275

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIIDQINRILSSAEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 59: MPV211276

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0332]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAIIDQINRILSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 60: MPV211277

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 61: MPV211278

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRLLSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 62: MPV211279

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

[0333] KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRLLSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 63: MPV211280

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRLLSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 64: MPV211281

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWIDQINRLLSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 65: MPV211282

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0334]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAFVDQINRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 66: MPV211283

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAFVDQINRLLSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 67: MPV211284

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAFVDQINRLLSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 68: MPV211285

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

[0335] KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAFVDQINRLLSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 69: MPV211286

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAFIDQINRLLSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 70: MPV211287

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 71: MPV211288

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0336]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 72: MPV211289

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWIDQINRILSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 73: MPV211290

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAFVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 74: MPV211291

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

[0337] KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAFVDQINRILSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 75: MPV211292

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAFIDQINRILSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 76: MPV211917

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 77: MPV211918

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0338]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 78: MPV211919

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILGGSEPEA

SEQ ID NO 79: MPV211940

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 80: MPV211942

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0339]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 81: MPV212017

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL

KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAISL

DLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKK

GNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 82: MPV212018

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 83: MPV212019

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0340]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 84: MPV212020

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 85: MPV212021

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 86: MPV212022

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0341]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 87: MPV212023

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 88: MPV212024

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 89: MPV212025

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

[0342]

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 90: MPV212026

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 91: MPV212027

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 92: MPV212028

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

[0343] KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 93: MPV212029

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 94: MPV212030

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 95: MPV212031

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

[0344]

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 96: MPV212032

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 97: MPV212033

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 98: MPV212034

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

[0345] KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 99: MPV212035

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 100: MPV212036

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 101: MPV212037

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0346]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 102: MPV212038

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 103: MPV212039

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 104: MPV212040

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

[0347]

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 105: MPV212041

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 106: MPV212042

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 107: MPV212043

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

[0348]

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 108: MPV212044

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 109: MPV212045

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 110: MPV212046

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

[0349] KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 111: MPV212047

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 112: MPV220078

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 113: MPV220079

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0350]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 114: MPV220081

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKWELDLTKSALRE

LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

LKTTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAI

SLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCS

EKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRN

PISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSF

DPIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 115: MPV220083

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSYFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 116: MPV220084

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS

LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQWAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

[0351]

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSYFD

PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 117: MPV220087

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 118: MPV220092

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQWAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSYFDP

IKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 119: MPV220115

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

[0352]

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 120: MPV220116

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 121: MPV220117

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALIDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 122: MPV220118

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

[0353]

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 123: MPV220119

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAIVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 124: MPV220120

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAYVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 125: MPV220121

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

[0354]

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAIIDQSNRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 126: MPV220122

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAIIDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 127: MPV220123

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAIIDQINRILSSIEKGITGGSEPEA

SEQ ID NO 128: MPV220124

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

[0355] KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQLNRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 129: MPV220125

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSLEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 130: MPV220126

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQLNRILSSLEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 131: MPV220127

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

[0356]

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 132: MPV220128

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 133: MPV220129

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKWELDLTKSALRE

LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

LKTTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI

SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP

ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD

PIKFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 134: MPV220130

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

[0357]

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSYFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO 135: MPV220131

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQWAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSYFDP

IKFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 136: 5’UTR

ATAGGCGGCGCATGAGAGAAGCCCAGACCAATTACCTACCCAAA

SEQ ID NO: 137: nsP1로부터의 알파 5' 복제 seq

TAGGAGAAAGTTCACGTTGACATCGAGGAAGACAGCCCATTCCTCAGAGCTTTGCAGCGGAGCTTCCCGCAG

TTTGAGGTAGAAGCCAAGCAGGTCACTGATAATGACCATGCTAATGCCAGAGCGTTTTCGCATCTGGCTTCAA

AACTGATCGAAACGGAGGTGGACCCATCCGACACGATCCTTGACATTGGA

SEQ ID NO: 138: Gdlp

ATAGTCAGCATAGTACATTTCATCTGACTAATACTACAACACCACCACCATGAATAGAGGATTCTTTAACATGC

[0358] TCGGCCGCCGCCCCTTCCCGGCCCCCACTGCCATGTGGAGGCCGCGGAGAAGGAGGCAGGCGGCCCCG

SEQ ID NO: 139: P2A

GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

SEQ ID NO: 140: nsp1 코딩 서열

GAGAAAGTTCACGTTGACATCGAGGAAGACAGCCCATTCCTCAGAGCTTTGCAGCGGAGCTTCCCGCAGTTTG

AGGTAGAAGCCAAGCAGGTCACTGATAATGACCATGCTAATGCCAGAGCGTTTTCGCATCTGGCTTCAAAACT

GATCGAAACGGAGGTGGACCCATCCGACACGATCCTTGACATTGGAAGTGCGCCCGCCCGCAGAATGTATTC

TAAGCACAAGTATCATTGTATCTGTCCGATGAGATGTGCGGAAGATCCGGACAGATTGTATAAGTATGCAACT

AAGCTGAAGAAAAACTGTAAGGAAATAACTGATAAGGAATTGGACAAGAAAATGAAGGAGCTCGCCGCCGT

CATGAGCGACCCTGACCTGGAAACTGAGACTATGTGCCTCCACGACGACGAGTCGTGTCGCTACGAAGGGCA

AGTCGCTGTTTACCAGGATGTATACGCGGTTGACGGACCGACAAGTCTCTATCACCAAGCCAATAAGGGAGTT

AGAGTCGCCTACTGGATAGGCTTTGACACCACCCCTTTTATGTTTAAGAACTTGGCTGGAGCATATCCATCATA

CTCTACCAACTGGGCCGACGAAACCGTGTTAACGGCTCGTAACATAGGCCTATGCAGCTCTGACGTTATGGAG

CGGTCACGTAGAGGGATGTCCATTCTTAGAAAGAAGTATTTGAAACCATCCAACAATGTTCTATTCTCTGTTGG

CTCGACCATCTACCACGAGAAGAGGGACTTACTGAGGAGCTGGCACCTGCCGTCTGTATTTCACTTACGTGGC

AAGCAAAATTACACATGTCGGTGTGAGACTATAGTTAGTTGCGACGGGTACGTCGTTAAAAGAATAGCTATCA

GTCCAGGCCTGTATGGGAAGCCTTCAGGCTATGCTGCTACGATGCACCGCGAGGGATTCTTGTGCTGCAAAGT

GACAGACACATTGAACGGGGAGAGGGTCTCTTTTCCCGTGTGCACGTATGTGCCAGCTACATTGTGTGACCAA

ATGACTGGCATACTGGCAACAGATGTCAGTGCGGACGACGCGCAAAAACTGCTGGTTGGGCTCAACCAGCGT

ATAGTCGTCAACGGTCGCACCCAGAGAAACACCAATACCATGAAAAATTACCTTTTGCCCGTAGTGGCCCAGG

CATTTGCTAGGTGGGCAAAGGAATATAAGGAAGATCAAGAAGATGAAAGGCCACTAGGACTACGAGATAGA

CAGTTAGTCATGGGGGTGTTGTTGGGCTTTTAGAAGGCACAAGATAACATCTATTTATAAGCGCCCGGATACCC

[0359] AAACCATCATCAAAGTGAACAGCGATTTCCACTCATTCGTGCTGCCCAGGATAGGCAGTAACACATTGGAGAT

CGGGCTGAGAACAAGAATCAGGAAAATGTTAGAGGAGCACAAGGAGCCGTCACCTCTCATTACCGCCGAGG

ACGTACAAGAAGCTAAGTGCGCAGCCGATGAGGCTAAGGAGGTGCGTGAAGCCGAGGAGTTGCGCGCAGCT

CTACCACCTTTGGCAGCTGATGTTGAGGAGCCCACTCTGGAAGCCGATGTCGACTTGATGTTACAAGAGGCTG

GGGCC

SEQ ID NO: 141: nsp2 코딩 서열

GGCTCAGTGGAGACACCTCGTGGCTTGATAAAGGTTACCAGCTACGATGGCGAGGACAAGATCGGCTCTTAC

GCTGTGCTTTCTCCGCAGGCTGTACTCAAGAGTGAAAAATTATCTTGCATCCACCCTCTCGCTGAACAAGTCAT

AGTGATAACACACTCTGGCCGAAAAGGGCGTTATGCCGTGGAACCATACCATGGTAAAGTAGTGGTGCCAGA

GGGACATGCAATACCCGTCCAGGACTTTCAAGCTCTGAGTGAAAGTGCCACCATTGTGTACAACGAACGTGA

GTTCGTAAACAGGTACCTGCACCATATTGCCACACATGGAGGAGCGCTGAACACTGATGAAGAATATTACAAA

ACTGTCAAGCCCAGCGAGCACGACGGCGAATACCTGTACGACATCGACAGGAAACAGTGCGTCAAGAAAGA

ACTAGTCACTGGGCTAGGGCTCACAGGCGAGCTGGTGGATCCTCCCTTCCATGAATTCGCCTACGAGAGTCTG

AGAACACGACCAGCCGCTCCTTACCAAGTACCAACCATAGGGGTGTATGGCGTGCCAGGATCAGGCAAGTCT

GGCATCATTAAAAGCGCAGTCACCAAAAAAGATCTAGTGGTGAGCGCCAAGAAAGAAAACTGTGCAGAAATT

ATAAGGGACGTCAAGAAAATGAAAGGGCTGGACGTCAATGCCAGAACTGTGGACTCAGTGCTCTTGAATGGA

TGCAAACACCCCGTAGAGACCCTGTATATTGACGAAGCTTTTGCTTGTCATGCAGGTACTCTCAGAGCGCTCAT

AGCCATTATAAGACCTAAAAAGGCAGTGCTCTGCGGGGATCCCAAACAGTGCGGTTTTTTTAACATGATGTGC

CTGAAAGTGCATTTTAACCACGAGATTTGCACACAAGTCTTCCACAAAAGCATCTCTCGCCGTTGCACTAAATC

TGTGACTTCGGTCGTCTCAACCTTGTTTTACGACAAAAAAATGAGAACGACGAATCCGAAAGAGACTAAGATT

GTGATTGACACTACCGGCAGTACCAAACCTAAGCAGGACGATCTCATTCTCACTTGTTTCAGAGGGTGGGTGA

AGCAGTTGCAAATAGATTACAAAGGCAACGAAATAATGACGGCAGCTGCCTCTCAAGGGCTGACCCGTAAAG

GTGTGTATGCCGTTCGGTACAAGGTGAATGAAAATCCTCTGTACGCACCCACCTCTGAACATGTGAACGTCCT

ACTGACCCGCACGGAGGACCGCATCGTGTGGAAAACACTAGCCGGCGACCCATGGATAAAAACACTGACTGC

[0360] CAAGTACCCTGGGAATTTCACTGCCACGATAGAGGAGTGGCAAGCAGAGCATGATGCCATCATGAGGCACAT

CTTGGAGAGACCGGACCCTACCGACGTCTTCCAGAATAAGGCAAACGTGTGTTGGGCCAAGGCTTTAGTGCC

GGTGCTGAAGACCGCTGGCATAGACATGACCACTGAACAATGGAACACTGTGGATTATTTTGAAACGGACAA

AGCTCACTCAGCAGAGATAGTATTGAACCAACTATGCGTGAGGTTCTTTGGACTCGATCTGGACTCCGGTCTA

TTTTCTGCACCCACTGTTCCGTTATCCATTAGGAATAATCACTGGGATAACTCCCCGTCGCCTAACATGTACGG

GCTGAATAAAGAAGTGGTCCGTCAGCTCTCTCGCAGGTACCCACAACTGCCTCGGGCAGTTGCCACTGGAAG

AGTCTATGACATGAACACTGGTACACTGCGCAATTATGATCCGCGCATAAACCTAGTACCTGTAAACAGAAGA

CTGCCTCATGCTTTAGTCCTCCACCATAATGAACACCCACAGAGTGACTTTTCTTCATTCGTCAGCAAATTGAAG

GGCAGAACTGTCCTGGTGGTCGGGGAAAAGTTGTCCGTCCCAGGCAAAATGGTTGACTGGTTGTCAGACCGG

CCTGAGGCTACCTTCAGAGCTCGGCTGGATTTAGGCATCCCAGGTGATGTGCCCAAATATGACATAATATTTG

TTAATGTGAGGACCCCATATAAATACCATCACTATCAGCAGTGTGAAGACCATGCCATTAAGCTTAGCATGTTG

ACCAAGAAAGCTTGTCTGCATCTGAATCCCGGCGGAACCTGTGTCAGCATAGGTTATGGTTACGCTGACAGGG

CCAGCGAAAGCATCATTGGTGCTATAGCGCGGCAGTTCAAGTTTTCCCGGGTATGCAAACCGAAATCCTCACT

TGAAGAGACGGAAGTTCTGTTTGTATTCATTGGGTACGATCGCAAGGCCCGTACGCACAATCCTTACAAGCTT

TCATCAACCTTGACCAACATTTATACAGGTTCCAGACTCCACGAAGCCGGATGT

SEQ ID NO: 142: nsp3 코딩 서열

GCACCCTCATATCATGTGGTGCGAGGGGATATTGCCACGGCCACCGAAGGAGTGATTATAAATGCTGCTAAC

AGCAAAGGACAACCTGGCGGAGGGGTGTGCGGAGCGCTGTATAAGAAATTCCCGGAAAGCTTCGATTTACA

GCCGATCGAAGTAGGAAAAGCGCGACTGGTCAAAGGTGCAGCTAAACATATCATTCATGCCGTAGGACCAAA

CTTCAACAAAGTTTCGGAGGTTGAAGGTGACAAACAGTTGGCAGAGGCTTATGAGTCCATCGCTAAGATTGTC

AACGATAACAATTACAAGTCAGTAGCGATTCCACTGTTGTCCACCGGCATCTTTTCCGGGAACAAAGATCGAC

TAACCCAATCATTGAACCATTTGCTGACAGCTTTAGACACCACTGATGCAGATGTAGCCATATACTGCAGGGA

CAAGAAATGGGAAATGACTCTCAAGGAAGCAGTGGCTAGGAGAGAAGCAGTGGAGGAGATATGCATATCCG

ACGACTCTTCAGTGACAGAACCTGATGCAGAGCTGGTGAGGGTGCATCCGAAGAGTTCTTTGGCTGGAAGGA

[0361] AGGGCTACAGCACAAGCGATGGCAAAACTTTCTCATATTTGGAAGGGACCAAGTTTCACCAGGCGGCCAAGG

ATATAGCAGAAATTAATGCCATGTGGCCCGTTGCAACGGAGGCCAATGAGCAGGTATGCATGTATATCCTCG

GAGAAAGCATGAGCAGTATTAGGTCGAAATGCCCCGTCGAAGAGTCGGAAGCCTCCACACCACCTAGCACGC

TGCCTTGCTTGTGCATCCATGCCATGACTCCAGAAAGAGTACAGCGCCTAAAAGCCTCACGTCCAGAACAAAT

TACTGTGTGCTCATCCTTTCCATTGCCGAAGTATAGAATCACTGGTGTGCAGAAGATCCAATGCTCCCAGCCTA

TATTGTTCTCACCGAAAGTGCCTGCGTATATTCATCCAAGGAAGTATCTCGTGGAAACACCACCGGTAGACGA

GACTCCGGAGCCATCGGCAGAGAACCAATCCACAGAGGGGACACCTGAACAACCACCACTTATAACCGAGGA

TGAGACCAGGACTAGAACGCCTGAGCCGATCATCATCGAAGAGGAAGAAGAGGATAGCATAAGTTTGCTGTC

AGATGGCCCGACCCACCAGGTGCTGCAAGTCGAGGCAGACATTCACGGGCCGCCCTCTGTATCTAGCTCATCC

TGGTCCATTCCTCATGCATCCGACTTTGATGTGGACAGTTTATCCATACTTGACACCCTGGAGGGAGCTAGCGT

GACCAGCGGGGCAACGTCAGCCGAGACTAACTCTTACTTCGCAAAGAGTATGGAGTTTCTGGCGCGACCGGT

GCCTGCGCCTCGAACAGTATTCAGGAACCCTCCACATCCCGCTCCGCGCACAAGAACACCGTCACTTGCACCC

AGCAGGGCCTGCTCGAGAACCAGCCTAGTTTCCACCCCGCCAGGCGTGAATAGGGTGATCACTAGAGAGGAG

CTCGAGGCGCTTACCCCGTCACGCACTCCTAGCAGGTCGGTCTCGAGAACCAGCCTGGTCTCCAACCCGCCAG

GCGTAAATAGGGTGATTACAAGAGAGGAGTTTGAGGCGTTCGTAGCACAACAACAATGACGGTTTGATGCGG

GTGCA

SEQ ID NO: 143: nsp4 코딩 서열

TACATCTTTTCCTCCGACACCGGTCAAGGGCATTTACAACAAAAATCAGTAAGGCAAACGGTGCTATCCGAAG

TGGTGTTGGAGAGGACCGAATTGGAGATTTCGTATGCCCCGCGCCTCGACCAAGAAAAAGAAGAATTACTAC

GCAAGAAATTACAGTTAAATCCCACACCTGCTAACAGAAGCAGATACCAGTCCAGGAAGGTGGAGAACATGA

AAGCCATAACAGCTAGACGTATTCTGCAAGGCCTAGGGCATTATTTGAAGGCAGAAGGAAAAGTGGAGTGCT

ACCGAACCCTGCATCCTGTTCCTTTGTATTCATCTAGTGTGAACCGTGCCTTTTCAAGCCCCAAGGTCGCAGTG

GAAGCCTGTAACGCCATGTTGAAAGAGAACTTTCCGACTGTGGCTTCTTACTGTATTATTCCAGAGTACGATGC

CTATTTGGACATGGTTGACGGAGCTTCATGCTGCTTAGACACTGCCAGTTTTTGCCCTGCAAAGCTGCGCAGCT

[0362] TTCCAAAGAAACACTCCTATTTGGAACCCACAATACGATCGGCAGTGCCTTCAGCGATCCAGAACACGCTCCA

GAACGTCCTGGCAGCTGCCACAAAAAGAAATTGCAATGTCACGCAAATGAGAGAATTGCCCGTATTGGATTC

GGCGGCCTTTAATGTGGAATGCTTCAAGAAATATGCGTGTAATAATGAATATTGGGAAACGTTTAAAGAAAAC

CCCATCAGGCTTACTGAAGAAAACGTGGTAAATTACATTACCAAATTAAAAGGACCAAAAGCTGCTGCTCTTTT

TGCGAAGACACATAATTTGAATATGTTGCAGGACATACCAATGGACAGGTTTGTAATGGACTTAAAGAGAGA

CGTGAAAGTGACTCCAGGAACAAAACATACTGAAGAACGGCCCAAGGTACAGGTGATCCAGGCTGCCGATCC

GCTAGCAACAGCGTATCTGTGCGGAATCCACCGAGAGCTGGTTAGGAGATTAAATGCGGTCCTGCTTCCGAA

CATTCATACACTGTTTGATATGTCGGCTGAAGACTTTGACGCTATTATAGCCGAGCACTTCCAGCCTGGGGATT

GTGTTCTGGAAACTGACATCGCGTCGTTTGATAAAAGTGAGGACGACGCCATGGCTCTGACCGCGTTAATGAT

TCTGGAAGACTTAGGTGTGGACGCAGAGCTGTTGACGCTGATTGAGGCGGCTTTCGGCGAAATTTCATCAATA

CATTTGCCCACTAAAACTAAATTTAAATTCGGAGCCATGATGAAATCTGGAATGTTCCTCACACTGTTTGTGAA

CACAGTCATTAACATTGTAATCGCAAGCAGAGTGTTGAGAGAACGGCTAACCGGATCACCATGTGCAGCATTC

ATTGGAGATGACAATATCGTGAAAGGAGTCAAATCGGACAAATTAATGGCAGACAGGTGCGCCACCTGGTTG

AATATGGAAGTCAAGATTATAGATGCTGTGGTGGGCGAGAAAGCGCCTTATTTCTGTGGAGGGTTTATTTTGT

GTGACTCCGTGACCGGCACAGCGTGCCGTGTGGCAGACCCCCTAAAAAGGCTGTTTAAGCTTGGCAAACCTCT

GGCAGCAGACGATGAACATGATGATGACAGGAGAAGGGCATTGCATGAAGAGTCAACACGCTGGAACCGAG

TGGGTATTCTTTCAGAGCTGTGCAAGGCAGTAGAATCAAGGTATGAAACCGTAGGAACTTCCATCATAGTTAT

GGCCATGACTACTCTAGCTAGCAGTGTTAAATCATTCAGCTACCTGAGAGGGGCCCCTATAACTCTCTACGGC

SEQ ID NO: 144: 26S 최소 프로모터

CTCTCTACGGCTAACCTGAATGGA

SEQ ID NO: 145: 3'-UTR

ATACAGCAGCAATTGGCAAGCTGCTTACATAGAACTCGCGGCGATTGGCATGCCGCTTTAAAATTTTTATTTTA

[0363] TTTTTCTTTTCTTTTCCGAATCGGATTTTGTTTTTAATATTTC

SEQ ID NO: 146: P2A

GGAAGCGGAGCTACTAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCT

SEQ ID NO: 147: 폴리A_부위

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

SEQ ID NO: 148: T7 프로모터

TAATACGACTCACTATAG

SEQ ID NO: 149: 신호 펩티드 HMPV.

MSWKVVIIFSLLITPQHG

SEQ ID NO: 150: RSV B로부터의 p27 펩티드의 서열

EAPQYMNYTINTTKNLNVSISKKRKRR

SEQ ID NO: 151: MPV220554

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

[0364] KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTAAALPETGGGSEPEA

SEQ ID NO: 152: MPV220558

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL
KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL
KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS
LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK
KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS
MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI
KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 153: MPV220647

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL
KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL
KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS
LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK
KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPIS
MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI
KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 154: MPV220639

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA
LKKTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI
SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE
KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI
SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP
VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNTGGSEPEA

[0365]

SEQ ID NO: 155: MPV220640

MSWKVMIIISLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCTDGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGIAIAKTIRLESEVNAIKGA
LKQTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKEFVSKNLTSAINRNKCDIADLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI
SLDLMTDAELARAISYMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIIKAAPSCSEK
NGNYACLLREDQGWYCKNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSRECNINISTTNYPCKVSTGRHPIS
MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI
RFPPDQFNVALDQVFESIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 156: MPV220641

MSWKVMIIISLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCTDGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGIAIAKTIRLESEVNAIKGA
LKTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKEFVSKNLTSAINKNKCDIADLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS
LDLMNDAELARAISYMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVINTPCWIIKAAPSCSEK
DGNYACLLREDQGWYCKNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSRECNINISTTNYPCKVSTGRHPIS
MVALSPLGALVACYKGVSCSTGSNQVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSNSFDP
IRFPPDQFNVALDQVFESIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 157: MPV23362 (야생형 B)

MSWKVMIIISLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCTDGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLAREEQIENPRQSRFVLGAIALGVATAAAVTAGIAIAKTIRLESEVNAIKGALKTTNEAVSTLGNGVRVL
ATAVRELKEFVSKNLTSAINKNKCDIADLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMNDAELARAVSYM
PTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVINTPCWIIKAAPSCSEKDGNYACLLREDQGWYC
KNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSRECNINISTTNYPCKVSTGRHPISMVALSPLGALVACYKG
VSCSTGSNQVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSNSFDPIRFPEDQFNVALDQVF
ESIENSQALVDQSNRILSSAEKGNTGGSEPEA

[0366]

SEQ ID NO: 158: MPV220759

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA
LKKTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI
SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE
KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI
SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP
VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 159: MPV221190

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA
LKKTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI
SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE
KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI
SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP
VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 160: MPV220552

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL
KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL
KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS
LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK
KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS
MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI
KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVRKFDEILSSIEKGNTAAALPETGGGSEPEA

[0367]

SEQ ID NO: 161: MPV220847

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 162: MPV220115

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQINRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 163: MPV220851

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL

KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KTTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPI

[0368] KFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQLNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 164: MPV23278

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL
KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS
LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE
KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP
ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD
PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQFNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 165: MPV23279

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL
KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS
LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE
KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP
ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD
PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQMNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 166: MPV23280

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL
KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS
LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE
KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP
ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD
PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQYNRILSSAEKGNTGGSEPEA

[0369]

SEQ ID NO: 167: MPV23281

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKYELDLTKSALREL
KTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAHAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNCL
KTTNECVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIPDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAIS
LDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE
KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNP
ISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFD
PIKFPQDQFNVALDQVFENIENSQALVDQWNRILSSAEKGNTGGSEPEA

SEQ ID NO: 168: MPV221364

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA
LKKTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAI
SLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCS
EKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRH
PISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSF
DPVKFPEDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSAEKGNTGFIIVIILIAVLGSSMILVSIFIIIKKTRKPTGAPPELS
GVTNNGFIPHS

SEQ ID NO: 169: MPV221376

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGVATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA
LKKTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAI
SLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCS
EKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRH
PISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSF

[0370]

DPVKFPEDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNTGFIIVIILIAVLGSSMILVSIFIIIKKTRKPTGAPPELS
GVTNNGFIPHS

SEQ ID NO: 170: MPV221371

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA
LKKTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI
SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE
KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI
SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP
VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQALVDQSNRILSSAEKGNTGFIIVIILIAVLGSSMILVSIFIIIKKTRKPTGAPPELSGV
TNNGFIPHS

SEQ ID NO: 171: MPV221377

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA
LKKTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI
SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE
KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI
SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP
VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNTGFIIVIILIAVLGSSMILVSIFIIIKKTRKPTGAPPELSGV
TNNGFIPHS

SEQ ID NO: 172: MPV23259

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE
[0371] LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNTKNTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

LKKTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI

SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP

VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 173: MPV23260

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE

LKTVSADQLRRRREAPQYMNYTINTTKNLNVSISKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNAL

KKTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAIS

LDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEK

KGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPIS

MVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPV

KFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 174: MPV23261

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE

LKTVSADQLRRRRELPRFMQYTLNNTKNTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

LKKTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI

SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP

VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 175: MPV23262

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE

LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLQNTKNTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

[0372]

LKKTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI

SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP

VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 176: MPV23263

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE

LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLNNTKNTQVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

LKKTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI

SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP

VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 177: MPV23264

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE

LKTVSADQLRRRRELPRFMQYTLQNTKNTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

LKKTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI

SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP

VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 178: MPV23265

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE

[0373] LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLQNTKNTQVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

LKKTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI

SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP

VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 179: MPV23266

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE

LKTVSADQLRRRRELPRFMQYTLNNTKNTQVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

LKKTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI

SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP

VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 180: MPV23267

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE

LKTVSADQLRRRRELPRFMQYTLQNTKNTQVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

LKKTNEAVYTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI

SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP

VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 181: MPV23268

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE

[0374] LKTVSADQLRRRRENNTKNTNVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNALKKTNEAVY

TLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAISLDLMTDAE
LARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLL
REDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPISMVALSPL
GALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPVKFPPDQF
NVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 182: MPV23269

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMNYTLKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNALKKTNEAVYTL
GNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAISLDLMTDAEL
ARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLR
EDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPISMVALSPLG
ALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLPKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPVKFPPDQFN
VALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNT

SEQ ID NO: 183: MPV220215

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCSDGPSLIKTELDLTKSALREL
KTVSADQLAREEQIENPRQSQSVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNALKTTNEAVYTLGNGVRVLA
TAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAISNMPT
SAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQ
NAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRNPISMVALSPLGALVACYKGVS
CSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPIKFPPDQFNVALDQVFENI
ENSQALVDQSNRILSSAEKGNTGGGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGSEPEA

SEQ ID NO: 184: MPV23324

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRE
LKTVSADQLRRRRELPRFMQYTLQNTKNTQVTLSKKRKRRFVLGAIALGRATAAAVTAGVAIAKTIRLESEVTAIKNA

[0375]

LKKTNEAVSTLGNGVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIDDLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSENAGITPAI

SLDLMTDAELARAISNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSSVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSE

KKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNYPCKVSTGRHPI

SMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDP

VKFPPDQFNVALDQVFENIENSQAWVDKFNRILSSIEKGNTGFIIVIILIAVLGSSMILVSIFIIIKKTRKPTGAPPELSGV

TNNGFIPHS

SEQ ID NO: 185: 최적화된 RSV A P27 서열

ELPRFMQYTLQNTKNTQVTLSKKRKRR

SEQ ID NO: 186: 최적화된 RSV B P27 서열

EAPQYMQYTIQTTKNLQVSISKKRKRR

SEQ ID NO: 187: pSMARRT_MPV23324_RNA 제한 클로닝 라이게이션 산물.

AUAGGCGGCGCAUGAGAGAAGCCCAGACCAAUUACCUACCCAAAUAGGAGAAAGUUCACG

UUGACAUCGAGGAAGACAGCCCAUUCCUCAGAGCUUUGCAGCGGAGCUUCCCGCAGUUUG

AGGUAGAAGCCAAGCAGGUCACUGAUAAUGACCAUGCUAAUGCCAGAGCGUUUUCGCAUC

UGGCUUCAAAACUGAUCGAAACGGAGGUGGACCCAUCCGACACGAUCCUUGACAUUGGAA

UAGUCAGCAUAGUACAUUUCAUCUGACUAAUACUACAACACCACCACCACGAAUAGAGGA

UUCUUUAACAUGCUCGGCCGCCGCCCCUUCCCGGCCCCCACUGCCAUGUGGAGGCCGCGG

AGAAGGAGGCAGGCGGCCCCGGGAAGCGGAGCUACUAACUUCAGCCUGCUGAAGCAGGCU

GGAGACGUGGAGGAGAACCCUGGACCUGAGAAAGUUCACGUUGACAUCGAGGAAGACAGC

CCAUUCCUCAGAGCUUUGCAGCGGAGCUUCCCGCAGUUUGAGGUAGAAGCCAAGCAGGUC

[0376] ACUGAUAAUGACCAUGCUAAUGCCAGAGCGUUUUCGCAUCUGGCUUCAAAACUGAUCGAA

ACGGAGGUGGACCCAUCCGACACGAUCCUUGACAUUGGAAGUGCGCCCGCCCGCAGAAUG

UAUUCUAAGCACAAGUAUCAUUGUAUCUGUCCGAUGAGAUGUGCGGAAGAUCCGGACAGA

UUGUAUAAGUAUGCAACUAAGCUGAAGAAAAACUGUAAGGAAAUAACUGAUAAGGAAUUG

GACAAGAAAAUGAAGGAGCUCGCCGCCGUCAUGAGCGACCCUGACCUGGAAACUGAGACU

AUGUGCCUCCACGACGACGAGUCGUGUCGCUACGAAGGGCAAGUCGCUGUUUACCAGGAU

GUAUACGCGGUUGACGGACCGACAAGUCUCUAUCACCAAGCCAAUAAGGGAGUUAGAGUC

GCCUACUGGAUAGGCUUUGACACCACCCCUUUUAUGUUUAAGAACUUGGCUGGAGCAUAU

CCAUCAUACUCUACCAACUGGGCCGACGAAACCGUGUUAACGGCUCGUAACAUAGGCCUA

UGCAGCUCUGACGUUAUGGAGCGGUCACGUAGAGGGAUGUCCAUUCUUAGAAAGAAGUAU

UUGAAACCAUCCAACAAUGUUCUAUUCUCUGUUGGCUCGACCAUCUACCACGAGAAGAGG

GACUUACUGAGGAGCUGGCACCUGCCGUCUGUAUUUCACUUACGUGGCAAGCAAAAUUAC

ACAUGUCGGUGUGAGACUAUAGUUAGUUGCGACGGGUACGUCGUUAAAAGAAUAGCUAUC

AGUCCAGGCCUGUAUGGGAAGCCUUCAGGCUAUGCUGCUACGAUGCACCGCGAGGGAUUC

UUGUGCUGCAAAGUGACAGACACAUUGAACGGGGAGAGGGUCUCUUUUCCCGUGUGCACG

UAUGUGCCAGCUACAUUGUGUGACCAAAUGACUGGCAUACUGGCAACAGAUGUCAGUGCG

GACGACGCGCAAAAACUGCUGGUUGGGCUCAACCAGCGUAUAGUCGUCAACGGUCGCACC

CAGAGAAACACCAAUACCAUGAAAAAUUACCUUUUGCCCGUAGUGGCCCAGGCAUUUGCU

AGGUGGGCAAAGGAAUAUAAGGAAGAUCAAGAAGAUGAAAGGCCACUAGGACUACGAGAU

AGACAGUUAGUCAUGGGGUGUUGUUGGGCUUUUAGAAGGCACAAGAUAACAUCUAUUUAU

[0377] AAGCGCCCGGAUACCCAAACCAUCAUCAAAGUGAACAGCGAUUUCCACUCAUUCGUGCUG

CCCAGGAUAGGCAGUAACACAUUGGAGAUCGGGCUGAGAACAAGAAUCAGGAAAAUGUUA

GAGGAGCACAAGGAGCCGUCACCUCUCAUUACCGCCGAGGACGUACAAGAAGCUAAGUGC

GCAGCCGAUGAGGCUAAGGAGGUGCGUGAAGCCGAGGAGUUGCGCGCAGCUCUACCACCU

UUGGCAGCUGAUGUUGAGGAGCCCACUCUGGAAGCCGAUGUCGACUUGAUGUUACAAGAG

GCUGGGGCCGGCUCAGUGGAGACACCUCGUGGCUUGAUAAAGGUUACCAGCUACGAUGGC

GAGGACAAGAUCGGCUCUUACGCUGUGCUUUCUCCGCAGGCUGUACUCAAGAGUGAAAAA

UUAUCUUGCAUCCACCCUCUCGCUGAACAAGUCAUAGUGAUAACACACUCUGGCCGAAAA

GGGCGUUAUGCCGUGGAACCAUACCAUGGUAAAGUAGUGGUGCCAGAGGGACAUGCAAUA

CCCGUCCAGGACUUUCAAGCUCUGAGUGAAAGUGCCACCAUUGUGUACAACGAACGUGAG

UUCGUAAACAGGUACCUGCACCAUAUUGCCACACAUGGAGGAGCGCUGAACACUGAUGAA

GAAUAUUACAAAACUGUCAAGCCCAGCGAGCACGACGGCGAAUACCUGUACGACAUCGAC

AGGAAACAGUGCGUCAAGAAAGAACUAGUCACUGGGCUAGGGCUCACAGGCGAGCUGGUG

GAUCCUCCCUUCCAUGAAUUCGCCUACGAGAGUCUGAGAACACGACCAGCCGCUCCUUAC

CAAGUACCAACCAUAGGGGUGUAUGGCGUGCCAGGAUCAGGCAAGUCUGGCAUCAUUAAA

AGCGCAGUCACCAAAAAAGAUCUAGUGGUGAGCGCCAAGAAAGAAAACUGUGCAGAAAUU

AUAAGGGACGUCAAGAAAAUGAAAGGGCUGGACGUCAAUGCCAGAACUGUGGACUCAGUG

CUCUUGAAUGGAUGCAAACACCCCGUAGAGACCCUGUAUAUUGACGAAGCUUUUGCUUGU

CAUGCAGGUACUCUCAGAGCGCUCAUAGCCAUUAUAAGACCUAAAAAGGCAGUGCUCUGC

GGGGAUCCCAAACAGUGCGGUUUUUUUAACAUGAUGUGCCUGAAAGUGCAUUUUAACCAC

GAGAUUUGCACACAAGUCUUCCACAAAAGCAUCUCUCGCCGUUGCACUAAAUCUGUGACU

[0378]

UCGGUCGUCUCAACCUUGUUUUACGACAAAAAAAUGAGAACGACGAAUCCGAAAGAGACU

AAGAUUGUGAUUGACACUACCGGCAGUACCAAACCUAAGCAGGACGAUCUCAUUCUCACU

UGUUUCAGAGGGUGGGUGAAGCAGUUGCAAAUAGAUUACAAAGGCAACGAAAUAAUGACG

GCAGCUGCCUCUCAAGGGCUGACCCGUAAAGGUGUGUAUGCCGUUCGGUACAAGGUGAAU

GAAAAUCCUCUGUACGCACCCACCUCUGAACAUGUGAACGUCCUACUGACCCGCACGGAG

GACCGCAUCGUGUGGAAAACACUAGCCGGCGACCCAUGGAUAAAAACACUGACUGCCAAG

UACCCUGGGAAUUUCACUGCCACGAUAGAGGAGUGGCAAGCAGAGCAUGAUGCCAUCAUG

AGGCACAUCUUGGAGAGACCGGACCCUACCGACGUCUUCCAGAAUAAGGCAAACGUGUGU

UGGGCCAAGGCUUUAGUGCCGGUGCUGAAGACCGCUGGCAUAGACAUGACCACUGAACAA

UGGAACACUGUGGAUUAUUUUGAAACGGACAAAGCUCACUCAGCAGAGAUAGUAUUGAAC

CAACUAUGCGUGAGGUUCUUUGGACUCGAUCUGGACUCCGGUCUAUUUUCUGCACCCACU

GUUCCGUUAUCCAUUAGGAAUAAUCACUGGGAUAACUCCCCGUCGCCUAACAUGUACGGG

CUGAAUAAAGAAGUGGUCCGUCAGCUCUCUCGCAGGUACCCACAACUGCCUCGGGCAGUU

GCCACUGGAAGAGUCUAUGACAUGAACACUGGUACACUGCGCAAUUAUGAUCCGCGCAUA

AACCUAGUACCUGUAAACAGAAGACUGCCUCAUGCUUUAGUCCUCCACCAUAAUGAACAC

CCACAGAGUGACUUUUCUUCAUUCGUCAGCAAAUUGAAGGGCAGAACUGUCCUGGUGGUC

GGGGAAAAGUUGUCCGUCCCAGGCAAAAUGGUUGACUGGUUGUCAGACCGGCCUGAGGCU

ACCUUCAGAGCUCGGCUGGAUUUAGGCAUCCCAGGUGAUGUGCCCAAAUAUGACAUAAUA

UUUGUUAAUGUGAGGACCCCAUAUAAAUACCAUCACUAUCAGCAGUGUGAAGACCAUGCC

AUUAAGCUUAGCAUGUUGACCAAGAAAGCUUGUCUGCAUCUGAAUCCCGGCGGAACCUGU

[0379]

GUCAGCAUAGGUUAUGGUUACGCUGACAGGGCCAGCGAAAGCAUCAUUGGUGCUAUAGCG

CGGCAGUUCAAGUUUUCCCGGGUAUGCAAACCGAAAUCCUCACUUGAAGAGACGGAAGUU

CUGUUUGUAUUCAUUGGGUACGAUCGCAAGGCCCGUACGCACAAUCCUUACAAGCUUUCA

UCAACCUUGACCAACAUUUAUACAGGUUCCAGACUCCACGAAGCCGGAUGUGCACCCUCA

UAUCAUGUGGUGCGAGGGGAUAUUGCCACGGCCACCGAAGGAGUGAUUAUAAAUGCUGCU

AACAGCAAAGGACAACCUGGCGGAGGGGUGUGCGGAGCGCUGUAUAAGAAAUUCCCGGAA

AGCUUCGAUUUACAGCCGAUCGAAGUAGGAAAAGCGCGACUGGUCAAAGGUGCAGCUAAA

CAUAUCAUUCAUGCCGUAGGACCAAACUUCAACAAAGUUUCGGAGGUUGAAGGUGACAAA

CAGUUGGCAGAGGCUUAUGAGUCCAUCGCUAAGAUUGUCAACGAUAACAAUUACAAGUCA

GUAGCGAUUCCACUGUUGUCCACCGGCAUCUUUUCCGGGAACAAAGAUCGACUAACCCAA

UCAUUGAACCAUUUGCUGACAGCUUUAGACACCACUGAUGCAGAUGUAGCCAUAUACUGC

AGGGACAAGAAAUGGGAAAUGACUCUCAAGGAAGCAGUGGCUAGGAGAGAAGCAGUGGAG

GAGAUAUGCAUAUCCGACGACUCUUCAGUGACAGAACCUGAUGCAGAGCUGGUGAGGGUG

CAUCCGAAGAGUUCUUUGGCUGGAAGGAAGGGCUACAGCACAAGCGAUGGCAAAACUUUC

UCAUAUUUGGAAGGGACCAAGUUUCACCAGGCGGCCAAGGAUAUAGCAGAAAUUAAUGCC

AUGUGGCCCGUUGCAACGGAGGCCAAUGAGCAGGUAUGCAUGUAUAUCCUCGGAGAAAGC

AUGAGCAGUAUUAGGUCGAAAUGCCCCGUCGAAGAGUCGGAAGCCUCCACACCACCUAGC

ACGCUGCCUUGCUUGUGCAUCCAUGCCAUGACUCCAGAAAGAGUACAGCGCCUAAAAGCC

UCACGUCCAGAACAAAUUACUGUGUGCUCAUCCUUUCCAUUGCCGAAGUAUAGAAUCACU

[0380] GGUGUGCAGAAGAUCCAAUGCUCCCAGCCUAUAUUGUUCUCACCGAAAGUGCCUGCGUAU

AUUCAUCCAAGGAAGUAUCUCGUGGAAACACCACCGGUAGACGAGACUCCGGAGCCAUCG

GCAGAGAACCAAUCCACAGAGGGGACACCUGAACAACCACCACUUAUAACCGAGGAUGAG

ACCAGGACUAGAACGCCUGAGCCGAUCAUCAUCGAAGAGGAAGAAGAGGAUAGCAUAAGU

UUGCUGUCAGAUGGCCCGACCCACCAGGUGCUGCAAGUCGAGGCAGACAUUCACGGGCCG

CCCUCUGUAUCUAGCUCAUCCUGGUCCAUUCCUCAUGCAUCCGACUUUGAUGUGGACAGU

UUAUCCAUACUUGACACCCUGGAGGGAGCUAGCGUGACCAGCGGGGCAACGUCAGCCGAG

ACUAACUCUUACUUCGCAAAGAGUAUGGAGUUUCUGGCGCGACCGGUGCCUGCGCCUCGA

ACAGUAUUCAGGAACCCUCCACAUCCCGCUCCGCGCACAAGAACACCGUCACUUGCACCC

AGCAGGGCCUGCUCGAGAACCAGCCUAGUUUCCACCCCGCCAGGCGUGAAUAGGGUGAUC

ACUAGAGAGGAGCUCGAGGCGCUUACCCCGUCACGCACUCCUAGCAGGUCGGUCUCGAGA

ACCAGCCUGGUCUCCAACCCGCCAGGCGUAAAUAGGGUGAUUACAAGAGAGGAGUUUGAG

GCGUUCGUAGCACAACAACAAUGACGGUUUGAUGCGGGUGCAUACAUCUUUUCCUCCGAC

ACCGGUCAAGGGCAUUUACAACAAAAAUCAGUAAGGCAAACGGUGCUAUCCGAAGUGGUG

UUGGAGAGGACCGAAUUGGAGAUUUCGUAUGCCCCGCGCCUCGACCAAGAAAAAGAAGAA

UUACUACGCAAGAAAUUACAGUUAAAUCCCACACCUGCUAACAGAAGCAGAUACCAGUCC

AGGAAGGUGGAGAACAUGAAAGCCAUAACAGCUAGACGUAUUCUGCAAGGCCUAGGGCAU

UAUUUGAAGGCAGAAGGAAAAGUGGAGUGCUACCGAACCCUGCAUCCUGUUCCUUUGUAU

UCAUCUAGUGUGAACCGUGCCUUUUCAAGCCCCAAGGUCGCAGUGGAAGCCUGUAACGCC

AUGUUGAAAGAGAACUUUCCGACUGUGGCUUCUUACUGUAUUAUUCCAGAGUACGAUGCC

UAUUUGGACAUGGUUGACGGAGCUUCAUGCUGCUUAGACACUGCCAGUUUUUGCCCUGCA

[0381]

AAGCUGCGCAGCUUUCCAAAGAAACACUCCUAUUUGGAACCCACAAUACGAUCGGCAGUG

CCUUCAGCGAUCCAGAACACGCUCCAGAACGUCCUGGCAGCUGCCACAAAAAGAAAUUGC

AAUGUCACGCAAAUGAGAGAAUUGCCCGUAUUGGAUUCGGCGGCCUUUAAUGUGGAAUGC

UUCAAGAAAUAUGCGUGUAAUAAUGAAUAUUGGGAAACGUUUAAAGAAAACCCCAUCAGG

CUUACUGAAGAAAACGUGGUAAAUUACAUUACCAAAUUAAAAGGACCAAAAGCUGCUGCU

CUUUUUGCGAAGACACAUAAUUUGAAUAUGUUGCAGGACAUACCAAUGGACAGGUUUGUA

AUGGACUUAAAGAGAGACGUGAAAGUGACUCCAGGAACAAAACAUACUGAAGAACGGCCC

AAGGUACAGGUGAUCCAGGCUGCCGAUCCGCUAGCAACAGCGUAUCUGUGCGGAAUCCAC

CGAGAGCUGGUUAGGAGAUUAAAUGCGGUCCUGCUUCCGAACAUUCAUACACUGUUUGAU

AUGUCGGCUGAAGACUUUGACGCUAUUAUAGCCGAGCACUUCCAGCCUGGGGAUUGUGUU

CUGGAAACUGACAUCGCGUCGUUUGAUAAAAGUGAGGACGACGCCAUGGCUCUGACCGCG

UUAAUGAUUCUGGAAGACUUAGGUGUGGACGCAGAGCUGUUGACGCUGAUUGAGGCGGCU

UUCGGCGAAAUUUCAUCAAUACAUUUGCCCACUAAAACUAAAUUUAAAUUCGGAGCCAUG

AUGAAAUCUGGAAUGUUCCUCACACUGUUUGUGAACACAGUCAUUAACAUUGUAAUCGCA

AGCAGAGUGUUGAGAGAACGGCUAACCGGAUCACCAUGUGCAGCAUUCAUUGGAGAUGAC

AAUAUCGUGAAAGGAGUCAAAUCGGACAAAUUAAUGGCAGACAGGUGCGCCACCUGGUUG

AAUAUGGAAGUCAAGAUUAUAGAUGCUGUGGUGGGCGAGAAAGCGCCUUAUUUCUGUGGA

GGGUUUAUUUUGUGUGACUCCGUGACCGGCACAGCGUGCCGUGUGGCAGACCCCCUAAAA

AGGCUGUUUAAGCUUGGCAAACCUCUGGCAGCAGACGAUGAACAUGAUGAUGACAGGAGA

[0382] AGGGCAUUGCAUGAAGAGUCAACACGCUGGAACCGAGUGGGUAUUCUUUCAGAGCUGUGC

AAGGCAGUAGAAUCAAGGUAUGAAACCGUAGGAACUUCCAUCAUAGUUAUGGCCAUGACU

ACUCUAGCUAGCAGUGUUAAAUCAUUCAGCUACCUGAGAGGGGCCCCUAUAACUCUCUAC

GGCUAACCUGAAUGGACUACGACAUAGUCUAGUCCGCCAAGAUAUCGCCACCAUGAGCUG

GAAGGUCGUGAUCAUCUUCAGCCUGCUGAUUACCCCUCAGCAUGGCCUGAAGGAGAGCUA

CCUGGAAGAAAGCUGUUCCACAAUCACAGAGGGUUAUCUGAGCGUGCUGAGAACCGGCUG

GUAUACCAACGUUUUCACCCUGGAGGUGGGCGAUGUGGAAAACCUGACAUGCGCCGAUGG

GCCAAGCCUGAUCAAGACAGAGCUGGACCUGACCAAGAGCGCCCUGCGGGAGCUGAAGAC

CGUGUCUGCCGACCAGCUGAGACGGCGGAGAGAGCUGCCAAGAUUCAUGCAGUACACACU

GCAGAAUACCAAGAACACCCAGGUGACCCUGAGCAAGAAGCGGAAGAGAAGAUUCGUGCU

GGGCGCUAUUGCCUUGGGCAGAGCAACCGCCGCCGCCGUGACCGCCGGCGUGGCCAUCGC

CAAGACCAUCCGGCUGGAAUCUGAGGUGACAGCCAUCAAGAACGCCCUGAAAAAGACGAA

CGAGGCCGUUAGCACCCUCGGCAAUGGAGUCCGAGUGCUGGCCACCGCCGUGCGGGAACU

GAAAGACUUCGUGUCCAAGAACCUGACCAGAGCAAUCAACAAGAACAAAUGCGACAUCGA

CGACCUGAAGAUGGCCGUGAGCUUUAGCCAAUUUAACAGAAGAUUCCUGAAUGUGGUGCG

GCAGUUUUCUGAGAACGCCGGAAUCACACCUGCUAUCAGCCUGGAUCUGAUGACCGACGC

CGAGCUCGCCAGAGCCAUCAGCAAUAUGCCUACAAGCGCCGGCCAGAUCAAGCUGAUGCU

GGAAAAUCGGGCUAUGGUGCGGAGAAAAGGCUUUGGUAUUCUGAUCGGCGUGUACGGCAG

CAGCGUGAUCUACAUGGUCCAGCUGCCUAUUUUCGGCGUGAUCGACACCCCUUGUUGGAU

CGUGAAGGCCGCCCCUAGCUGCUCUGAAAAGAAAGGCAACUACGCCUGCCUGCUGAGAGA

[0383] AGAUCAAGGCUGGUACUGCCAGAACGCCGGAUCUACAGUGUACUACCCCAACGAGAAGGA

CUGUGAAACAAGAGGCGACCACGUGUUCUGCGACACCGCCGCUGGCAUCAACGUCGCCGA

GCAGAGCAAAGAGUGCAACAUCAAUAUCUCCACCACCAACUACCCUUGCAAAGUUUCUAC

UGGCAGACACCCCAUCUCCAUGGUGGCACUUAGCCCACUGGGCGCCCUGGUGGCCUGUUA

CAAGGGCGUGAGCUGCAGCAUCGGAUCUAACAGAGUGGGAAUCAUCAAACAGCUGAACAA

GGGCUGCAGUUACAUCACCAACCAGGACGCUGAUACCGUGACCAUCGACAAUACCGUGUA

CCAGCUGAGCAAGGUGGAGGGCGAGCAGCACGUGAUCAAGGGCCGCCCCGUGUCCAGCAG

CUUCGAUCCCGUGAAGUUCCCUCCCGACCAGUUCAACGUGGCCCUGGACCAAGUGUUCGA

GAAUAUCGAGAACAGCCAGGCCUGGGUCGACAAGUUCAACCGGAUCCUGUCUUCUAUCGA

AAAGGGCAACACAGGAUUCAUCAUCGUGAUCAUCCUGAUCGCCGUGCUGGGCAGCAGCAU

GAUCCUGGUGUCCAUCUUCAUCAUCAUUAAGAAAACCCGGAAGCCUACCGGAGCUCCUCC

UGAGCUGAGCGGCGUGACAAACAACGGCUUCAUCCCCCACAGCUGAUAAAUCGGGCGCGC

CAUACAGCAGCAAUUGGCAAGCUGCUUACAUAGAACUCGCGGCGAUUGGCAUGCCGCUUU

AAAAUUUUUAUUUUAUUUUUCUUUUCUUUUCCGAAUCGGAUUUUGUUUUUAAUAUUUCAA

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

SEQ ID NO: 188: pSMARRT_MPV23267_(가용성)_RNA 제한 클로닝 라이게이션 산물.

AUAGGCGGCGCAUGAGAGAAGCCCAGACCAAUUACCUACCCAAAUAGGAGAAAGUUCACG

UUGACAUCGAGGAAGACAGCCCAUUCCUCAGAGCUUUGCAGCGGAGCUUCCCGCAGUUUG

AGGUAGAAGCCAAGCAGGUCACUGAUAAUGACCAUGCUAAUGCCAGAGCGUUUUCGCAUC

UGGCUUCAAAACUGAUCGAAACGGAGGUGGACCCAUCCGACACGAUCCUUGACAUUGGAA

[0384]

UAGUCAGCAUAGUACAUUUCAUCUGACUAAUACUACAACACCACCACCAUGAAUAGAGGA

UUCUUUAACAUGCUCGGCCGCCGCCCCUUCCCGGCCCCCACUGCCAUGUGGAGGCCGCGG

AGAAGGAGGCAGGCGGCCCCGGGAAGCGGAGCUACUAACUUCAGCCUGCUGAAGCAGGCU

GGAGACGUGGAGGAGAACCCUGGACCUGAGAAAGUUCACGUUGACAUCGAGGAAGACAGC

CCAUUCCUCAGAGCUUUGCAGCGGAGCUUCCCGCAGUUUGAGGUAGAAGCCAAGCAGGUC

ACUGAUAAUGACCAUGCUAAUGCCAGAGCGUUUUCGCAUCUGGCUUCAAAACUGAUCGAA

ACGGAGGUGGACCCAUCCGACACGAUCCUUGACAUUGGAAGUGCGCCCGCCCGCAGAAUG

UAUUCUAAGCACAAGUAUCAUUGUAUCUGUCCGAUGAGAUGUGCGGAAGAUCCGGACAGA

UUGUAUAAGUAUGCAACUAAGCUGAAGAAAAACUGUAAGGAAAUAACUGAUAAGGAAUUG

GACAAGAAAAUGAAGGAGCUCGCCGCCGUCAUGAGCGACCCUGACCUGGAAACUGAGACU

AUGUGCCUCCACGACGACGAGUCGUGUCGCUACGAAGGGCAAGUCGCUGUUUACCAGGAU

GUAUACGCGGUUGACGGACCGACAAGUCUCUAUCACCAAGCCAAUAAGGGAGUUAGAGUC

GCCUACUGGAUAGGCUUUGACACCACCCCUUUUAUGUUUAAGAACUUGGCUGGAGCAUAU

CCAUCAUACUCUACCAACUGGGCCGACGAAACCGUGUUAACGGCUCGUAACAUAGGCCUA

UGCAGCUCUGACGUUAUGGAGCGGUCACGUAGAGGGAUGUCCAUUCUUAGAAAGAAGUAU

UUGAAACCAUCCAACAAUGUUCUAUUCUCUGUUGGCUCGACCAUCUACCACGAGAAGAGG

GACUUACUGAGGAGCUGGCACCUGCCGUCUGUAUUUCACUUACGUGGCAAGCAAAAUUAC

ACAUGUCGGUGUGAGACUAUAGUUAGUUGCGACGGGUACGUCGUUAAAAGAAUAGCUAUC

AGUCCAGGCCUGUAUGGGAAGCCUUCAGGCUAUGCUGCUACGAUGCACCGCGAGGGAUUC

[0385] UUGUGCUGCAAAGUGACAGACACAUUGAACGGGGAGAGGGUCUCUUUUCCCGUGUGCACG

UAUGUGCCAGCUACAUUGUGUGACCAAAUGACUGGCAUACUGGCAACAGAUGUCAGUGCG

GACGACGCGCAAAAACUGCUGGUUGGGCUCAACCAGCGUAUAGUCGUCAACGGUCGCACC

CAGAGAAACACCAAUACCAUGAAAAAUUACCUUUUGCCCGUAGUGGCCCAGGCAUUUGCU

AGGUGGGCAAAGGAAUAUAAGGAAGAUCAAGAAGAUGAAAGGCCACUAGGACUACGAGAU

AGACAGUUAGUCAUGGGGUGUUGUUGGGCUUUUAGAAGGCACAAGAUAACAUCUAUUUAU

AAGCGCCCGGAUACCCAAACCAUCAUCAAAGUGAACAGCGAUUUCCACUCAUUCGUGCUG

CCCAGGAUAGGCAGUAACACAUUGGAGAUCGGGCUGAGAACAAGAAUCAGGAAAAUGUUA

GAGGAGCACAAGGAGCCGUCACCUCUCAUUACCGCCGAGGACGUACAAGAAGCUAAGUGC

GCAGCCGAUGAGGCUAAGGAGGUGCGUGAAGCCGAGGAGUUGCGCGCAGCUCUACCACCU

UUGGCAGCUGAUGUUGAGGAGCCCACUCUGGAAGCCGAUGUCGACUUGAUGUUACAAGAG

GCUGGGGCCGGCUCAGUGGAGACACCUCGUGGCUUGAUAAAGGUUACCAGCUACGAUGGC

GAGGACAAGAUCGGCUCUUACGCUGUGCUUUCUCCGCAGGCUGUACUCAAGAGUGAAAAA

UUAUCUUGCAUCCACCCUCUCGCUGAACAAGUCAUAGUGAUAACACACUCUGGCCGAAAA

GGGCGUUAUGCCGUGGAACCAUACCAUGGUAAAGUAGUGGUGCCAGAGGGACAUGCAAUA

CCCGUCCAGGACUUUCAAGCUCUGAGUGAAAGUGCCACCAUUGUGUACAACGAACGUGAG

UUCGUAAACAGGUACCUGCACCAUAUUGCCACACAUGGAGGAGCGCUGAACACUGAUGAA

GAAUAUUACAAAACUGUCAAGCCCAGCGAGCACGACGGCGAAUACCUGUACGACAUCGAC

AGGAAACAGUGCGUCAAGAAAGAACUAGUCACUGGGCUAGGGCUCACAGGCGAGCUGGUG

GAUCCUCCCUUCCAUGAAUUCGCCUACGAGAGUCUGAGAACACGACCAGCCGCUCCUUAC

CAAGUACCAACCAUAGGGGUGUAUGGCGUGCCAGGAUCAGGCAAGUCUGGCAUCAUUAAA

[0386]

AGCGCAGUCACCAAAAAAGAUCUAGUGGUGAGCGCCAAGAAAGAAAACUGUGCAGAAAUU

AUAAGGGACGUCAAGAAAAUGAAAGGGCUGGACGUCAAUGCCAGAACUGUGGACUCAGUG

CUCUUGAAUGGAUGCAAACACCCCGUAGAGACCCUGUAUAUUGACGAAGCUUUUGCUUGU

CAUGCAGGUACUCUCAGAGCGCUCAUAGCCAUUAUAAGACCUAAAAAGGCAGUGCUCUGC

GGGGAUCCCAAACAGUGCGGUUUUUUUAACAUGAUGUGCCUGAAAGUGCAUUUUAACCAC

GAGAUUUGCACACAAGUCUUCCACAAAAGCAUCUCUCGCCGUUGCACUAAAUCUGUGACU

UCGGUCGUCUCAACCUUGUUUUACGACAAAAAAAUGAGAACGACGAAUCCGAAAGAGACU

AAGAUUGUGAUUGACACUACCGGCAGUACCAAACCUAAGCAGGACGAUCUCAUUCUCACU

UGUUUCAGAGGGUGGGUGAAGCAGUUGCAAAUAGAUUACAAAGGCAACGAAAUAAUGACG

GCAGCUGCCUCUCAAGGGCUGACCCGUAAAGGUGUGUAUGCCGUUCGGUACAAGGUGAAU

GAAAAUCCUCUGUACGCACCCACCUCUGAACAUGUGAACGUCCUACUGACCCGCACGGAG

GACCGCAUCGUGUGGAAAACACUAGCCGGCGACCCAUGGAUAAAAACACUGACUGCCAAG

UACCCUGGGAAUUUCACUGCCACGAUAGAGGAGUGGCAAGCAGAGCAUGAUGCCAUCAUG

AGGCACAUCUUGGAGAGACCGGACCCUACCGACGUCUUCCAGAAUAAGGCAAACGUGUGU

UGGGCCAAGGCUUUAGUGCCGGUGCUGAAGACCGCUGGCAUAGACAUGACCACUGAACAA

UGGAACACUGUGGAUUAUUUUGAAACGGACAAAGCUCACUCAGCAGAGAUAGUAUUGAAC

CAACUAUGCGUGAGGUUCUUUGGACUCGAUCUGGACUCCGGUCUAUUUUCUGCACCCACU

GUUCCGUUAUCCAUUAGGAAUAAUCACUGGGAUAACUCCCCGUCGCCUAACAUGUACGGG

CUGAAUAAAGAAGUGGUCCGUCAGCUCUCUCGCAGGUACCCACAACUGCCUCGGGCAGUU

GCCACUGGAAGAGUCUAUGACAUGAACACUGGUACACUGCGCAAUUAUGAUCCGCGCAUA

[0387]

AACCUAGUACCUGUAAACAGAAGACUGCCUCAUGCUUUAGUCCUCCACCAUAAUGAACAC

CCACAGAGUGACUUUUCUUCAUUCGUCAGCAAAUUGAAGGGCAGAACUGUCCUGGUGGUC

GGGGAAAAGUUGUCCGUCCCAGGCAAAAUGGUUGACUGGUUGUCAGACCGGCCUGAGGCU

ACCUUCAGAGCUCGGCUGGAUUUAGGCAUCCCAGGUGAUGUGCCCAAAUAUGACAUAAUA

UUUGUUAAUGUGAGGACCCCAUAUAAAUACCAUCACUAUCAGCAGUGUGAAGACCAUGCC

AUUAAGCUUAGCAUGUUGACCAAGAAAGCUUGUCUGCAUCUGAAUCCCGGCGGAACCUGU

GUCAGCAUAGGUUAUGGUUACGCUGACAGGGCCAGCGAAAGCAUCAUUGGUGCUAUAGCG

CGGCAGUUCAAGUUUUCCCGGGUAUGCAAACCGAAAUCCUCACUUGAAGAGACGGAAGUU

CUGUUUGUAUUCAUUGGGUACGAUCGCAAGGCCCGUACGCACAAUCCUUACAAGCUUUCA

UCAACCUUGACCAACAUUUAUACAGGUUCCAGACUCCACGAAGCCGGAUGUGCACCCUCA

UAUCAUGUGGUGCGAGGGGAUAUUGCCACGGCCACCGAAGGAGUGAUUAUAAAUGCUGCU

AACAGCAAAGGACAACCUGGCGGAGGGGUGUGCGGAGCGCUGUAUAAGAAAUUCCCGGAA

AGCUUCGAUUUACAGCCGAUCGAAGUAGGAAAAGCGCGACUGGUCAAAGGUGCAGCUAAA

CAUAUCAUUCAUGCCGUAGGACCAAACUUCAACAAAGUUUCGGAGGUUGAAGGUGACAAA

CAGUUGGCAGAGGCUUAUGAGUCCAUCGCUAAGAUUGUCAACGAUAACAAUUACAAGUCA

GUAGCGAUUCCACUGUUGUCCACCGGCAUCUUUUCCGGGAACAAAGAUCGACUAACCCAA

UCAUUGAACCAUUUGCUGACAGCUUUAGACACCACUGAUGCAGAUGUAGCCAUAUACUGC

AGGGACAAGAAAUGGGAAAUGACUCUCAAGGAAGCAGUGGCUAGGAGAGAAGCAGUGGAG

GAGAUAUGCAUAUCCGACGACUCUUCAGUGACAGAACCUGAUGCAGAGCUGGUGAGGGUG

CAUCCGAAGAGUUCUUUGGCUGGAAGGAAGGGCUACAGCACAAGCGAUGGCAAAACUUUC

[0388]

UCAUAUUUGGAAGGGACCAAGUUUCACCAGGCGGCCAAGGAUAUAGCAGAAAUUAAUGCC

AUGUGGCCCGUUGCAACGGAGGCCAAUGAGCAGGUAUGCAUGUAUAUCCUCGGAGAAAGC

AUGAGCAGUAUUAGGUCGAAAUGCCCCGUCGAAGAGUCGGAAGCCUCCACACCACCUAGC

ACGCUGCCUUGCUUGUGCAUCCAUGCCAUGACUCCAGAAAGAGUACAGCGCCUAAAAGCC

UCACGUCCAGAACAAAUUACUGUGUGCUCAUCCUUUCCAUUGCCGAAGUAUAGAAUCACU

GGUGUGCAGAAGAUCCAAUGCUCCCAGCCUAUAUUGUUCUCACCGAAAGUGCCUGCGUAU

AUUCAUCCAAGGAAGUAUCUCGUGGAAACACCACCGGUAGACGAGACUCCGGAGCCAUCG

GCAGAGAACCAAUCCACAGAGGGGACACCUGAACAACCACCACUUAUAACCGAGGAUGAG

ACCAGGACUAGAACGCCUGAGCCGAUCAUCAUCGAAGAGGAAGAAGAGGAUAGCAUAAGU

UUGCUGUCAGAUGGCCCGACCCACCAGGUGCUGCAAGUCGAGGCAGACAUUCACGGGCCG

CCCUCUGUAUCUAGCUCAUCCUGGUCCAUUCCUCAUGCAUCCGACUUUGAUGUGGACAGU

UUAUCCAUACUUGACACCCUGGAGGGAGCUAGCGUGACCAGCGGGGCAACGUCAGCCGAG

ACUAACUCUUACUUCGCAAAGAGUAUGGAGUUUCUGGCGCGACCGGUGCCUGCGCCUCGA

ACAGUAUUCAGGAACCCUCCACAUCCCGCUCCGCGCACAAGAACACCGUCACUUGCACCC

AGCAGGGCCUGCUCGAGAACCAGCCUAGUUUCCACCCCGCCAGGCGUGAAUAGGGUGAUC

ACUAGAGAGGAGCUCGAGGCGCUUACCCCGUCACGCACUCCUAGCAGGUCGGUCUCGAGA

ACCAGCCUGGUCUCCAACCCGCCAGGCGUAAAUAGGGUGAUUACAAGAGAGGAGUUUGAG

GCGUUCGUAGCACAACAACAAUGACGGUUUGAUGCGGGUGCAUACAUCUUUUCCUCCGAC

ACCGGUCAAGGGCAUUUACAACAAAAAUCAGUAAGGCAAACGGUGCUAUCCGAAGUGGUG

[0389] UUGGAGAGGACCGAAUUGGAGAUUUCGUAUGCCCCGCGCCUCGACCAAGAAAAAGAAGAA

UUACUACGCAAGAAAUUACAGUUAAAUCCCACACCUGCUAACAGAAGCAGAUACCAGUCC

AGGAAGGUGGAGAACAUGAAAGCCAUAACAGCUAGACGUAUUCUGCAAGGCCUAGGGCAU

UAUUUGAAGGCAGAAGGAAAAGUGGAGUGCUACCGAACCCUGCAUCCUGUUCCUUUGUAU

UCAUCUAGUGUGAACCGUGCCUUUUCAAGCCCCAAGGUCGCAGUGGAAGCCUGUAACGCC

AUGUUGAAAGAGAACUUUCCGACUGUGGCUUCUUACUGUAUUAUUCCAGAGUACGAUGCC

UAUUUGGACAUGGUUGACGGAGCUUCAUGCUGCUUAGACACUGCCAGUUUUUGCCCUGCA

AAGCUGCGCAGCUUUCCAAAGAAACACUCCUAUUUGGAACCCACAAUACGAUCGGCAGUG

CCUUCAGCGAUCCAGAACACGCUCCAGAACGUCCUGGCAGCUGCCACAAAAAGAAAUUGC

AAUGUCACGCAAAUGAGAGAAUUGCCCGUAUUGGAUUCGGCGGCCUUUAAUGUGGAAUGC

UUCAAGAAAUAUGCGUGUAAUAAUGAAUAUUGGGAAACGUUUAAAGAAAACCCCAUCAGG

CUUACUGAAGAAAACGUGGUAAAUUACAUUACCAAAUUAAAAGGACCAAAAGCUGCUGCU

CUUUUUGCGAAGACACAUAAUUUGAAUAUGUUGCAGGACAUACCAAUGGACAGGUUUGUA

AUGGACUUAAAGAGAGACGUGAAAGUGACUCCAGGAACAAAACAUACUGAAGAACGGCCC

AAGGUACAGGUGAUCCAGGCUGCCGAUCCGCUAGCAACAGCGUAUCUGUGCGGAAUCCAC

CGAGAGCUGGUUAGGAGAUUAAAUGCGGUCCUGCUUCCGAACAUUCAUACACUGUUUGAU

AUGUCGGCUGAAGACUUUGACGCUAUUAUAGCCGAGCACUUCCAGCCUGGGGAUUGUGUU

CUGGAAACUGACAUCGCGUCGUUUGAUAAAAGUGAGGACGACGCCAUGGCUCUGACCGCG

UUAAUGAUUCUGGAAGACUUAGGUGUGGACGCAGAGCUGUUGACGCUGAUUGAGGCGGCU

UUCGGCGAAAUUUCAUCAAUACAUUUGCCCACUAAAACUAAAUUUAAAUUCGGAGCCAUG

[0390] AUGAAAUCUGGAAUGUUCCUCACACUGUUUGUGAACACAGUCAUUAACAUUGUAAUCGCA

AGCAGAGUGUUGAGAGAACGGCUAACCGGAUCACCAUGUGCAGCAUUCAUUGGAGAUGAC

AAUAUCGUGAAAGGAGUCAAAUCGGACAAAUUAAUGGCAGACAGGUGCGCCACCUGGUUG

AAUAUGGAAGUCAAGAUUAUAGAUGCUGUGGUGGGCGAGAAAGCGCCUUAUUUCUGUGGA

GGGUUUAUUUUGUGUGACUCCGUGACCGGCACAGCGUGCCGUGUGGCAGACCCCCUAAAA

AGGCUGUUUAAGCUUGGCAAACCUCUGGCAGCAGACGAUGAACAUGAUGAUGACAGGAGA

AGGGCAUUGCAUGAAGAGUCAACACGCUGGAACCGAGUGGGUAUUCUUUCAGAGCUGUGC

AAGGCAGUAGAAUCAAGGUAUGAAACCGUAGGAACUUCCAUCAUAGUUAUGGCCAUGACU

ACUCUAGCUAGCAGUGUUAAAUCAUUCAGCUACCUGAGAGGGGCCCCUAUAACUCUCUAC

GGCUAACCUGAAUGGACUACGACAUAGUCUAGUCCGCCAAGAUAUCGCCACCAUGUCCUG

GAAGGUGGUCAUCAUCUUUUCUCUGCUGAUCACACCCCAGCACGGCCUGAAGGAGUCUUA

CCUGGAGGAGUCCUGUUCUACCAUCACAGAGGGCUACCUGAGCGUGCUGAGGACCGGCUG

GUAUACAAACGUGUUCACCCUGGAGGUCGGCGAUGUGGAGAAUCUGACCUGCGCCGACGG

CCCAUCCCUGAUCAAGACAGAGCUGGAUCUGACCAAGUCUGCCCUGAGGGAGCUGAAGAC

AGUGAGCGCCGACCAGCUGCGGAGAAGGCGCGAGCUGCCCCGCUUUAUGAACUAUACCCU

GAACAAUGCCAAGAAGACCAAUGUGACACUGAGCAAGAAGCGGAAGCGGAGAUUCGUGCU

GGGCGCCAUCGCCCUGGGCAGAGCAACAGCAGCAGCAGUGACCGCAGGAGUGGCCAUCGC

CAAGACAAUCCGGCUGGAGUCCGAGGUGACCGCCAUCAAGAACGCCCUGAAGAAGACAAA

UGAGGCCGUGUACACCCUGGGAAACGGCGUGAGGGUGCUGGCAACAGCCGUGCGCGAGCU

GAAGGAUUUCGUGAGCAAGAAUCUGACCAGGGCCAUCAACAAGAAUAAGUGUGACAUCGA

[0391] CGAUCUGAAGAUGGCCGUGAGCUUCUCCCAGUUUAACAGGCGCUUUCUGAAUGUGGUGCG

CCAGUUCUCCGAGAACGCCGGCAUCACACCCGCCAUCUCUCUGGACCUGAUGACCGAUGC

AGAGCUGGCAAGGGCCAUCAGCAACAUGCCUACCUCCGCCGGCCAGAUCAAGCUGAUGCU

GGAGAAUAGAGCCAUGGUGCGGAGAAAGGGCUUUGGCAUCCUGAUCGGCGUGUACGGCAG

CUCCGUGAUCUAUAUGGUGCAGCUGCCUAUCUUCGGCGUGAUCGAUACACCAUGCUGGAU

CGUGAAGGCCGCCCCCUCUUGUAGCGAGAAGAAGGGCAAUUACGCCUGCCUGCUGAGGGA

GGAUCAGGGCUGGUAUUGUCAGAACGCCGGCUCUACCGUGUACUAUCCUAAUGAGAAGGA

CUGUGAGACACGCGGCGACCACGUGUUCUGCGAUACCGCAGCAGGCAUCAACGUGGCAGA

GCAGAGCAAGGAGUGUAACAUCAAUAUCUCCACCACAAAUUACCCAUGCAAGGUGAGCAC

CGGCCGGCACCCUAUCUCUAUGGUGGCCCUGAGCCCACUGGGCGCCCUGGUGGCCUGCUA

UAAGGGCGUGUCCUGUUCUAUCGGCAGCAACAGAGUGGGCAUCAUCAAGCAGCUGCCCAA

GGGCUGCUCCUACAUCACAAAUCAGGACGCCGAUACCGUGACAAUCGAUAAUACCGUGUA

UCAGCUGAGCAAGGUGGAGGGAGAGCAGCACGUGAUCAAGGGCCGGCCAGUGUCUAGCUC

CUUCGACCCCGUGAAGUUUCCCCCUGAUCAGUUCAACGUGGCCCUGGACCAGGUGUUUGA

GAACAUCGAGAAUAGCCAGGCCUGGGUGGACAAGUUCAACAGAAUCCUGUCUAGCAUCGA

GAAGGGCAAUACCUGAUAAAUCGGGCGCGCCAUACAGCAGCAAUUGGCAAGCUGCUUACA

UAGAACUCGCGGCGAUUGGCAUGCCGCUUUAAAAUUUUUAUUUUAUUUUUCUUUUCUUUU

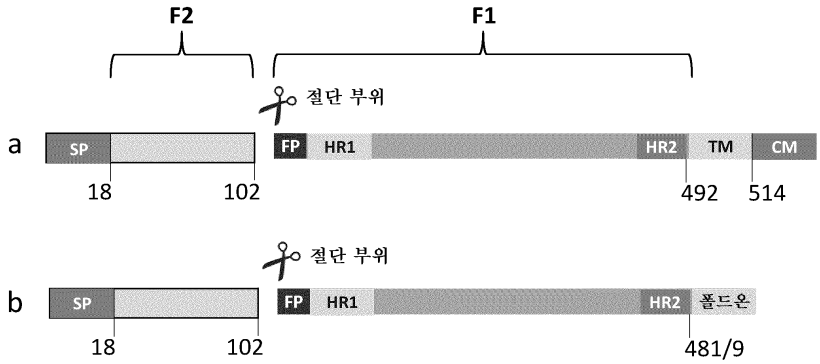
CCGAAUCGGAUUUUGUUUUUAAUAUUUCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

AAAAAAAAAA

[0392]

도면

도면1



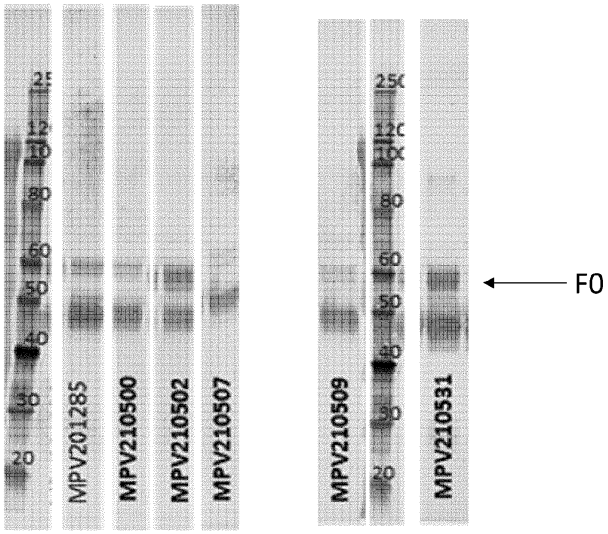
도면2i

A

MPV201285	DQLARE	EQIENP$_{98}$RRRR$_{102}$	F$_{103}$V
MPV210531	DQLARE	EQIENP$_{96}$RRRR	F$_{103}$V
MPV210502	DQLA$_{90}$--	------RRRR	F$_{103}$V
MPV210500	DQLA$_{90}$RRRR	-I$_{95}$ENP$_{98}$RRRR	F$_{103}$V
MPV210507	DQ$_{88}$RRRR	E$_{93}$QIENP$_{98}$RRRR	F$_{103}$V
MPV210509	DQLA$_{90}$RRRR	E$_{92}$EQIENPRRRR	F$_{103}$V

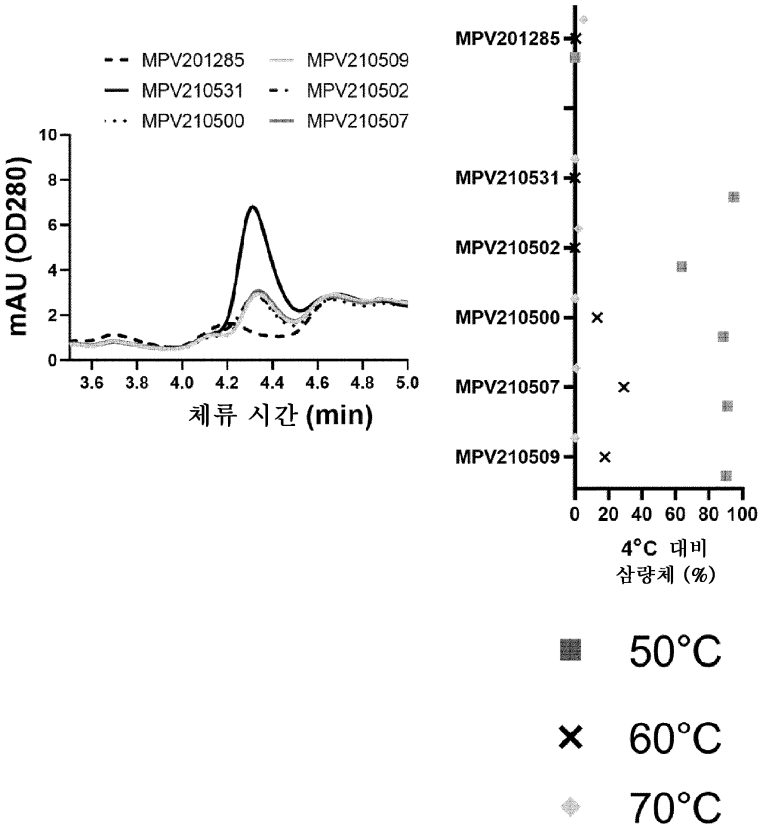
F2 도메인 F1 도메인

B

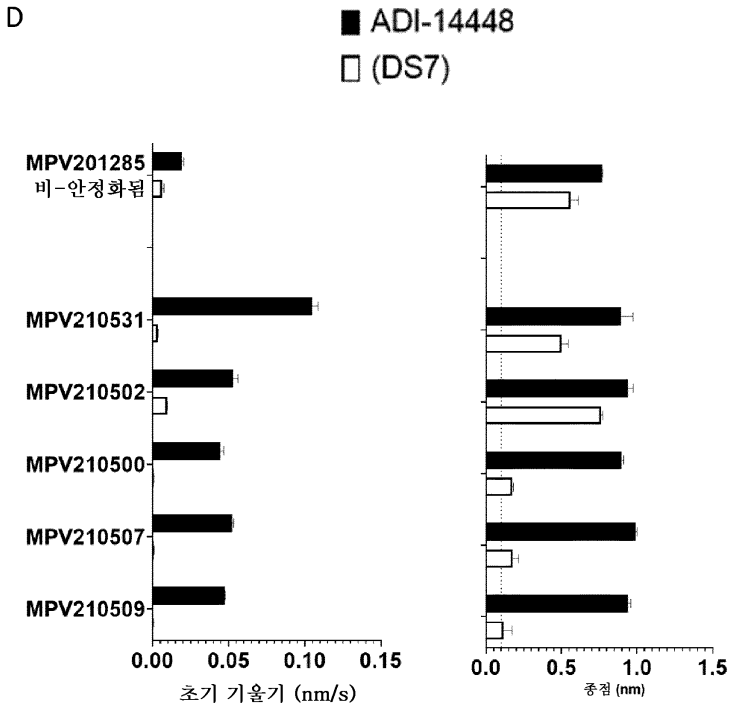


도면2ii

C

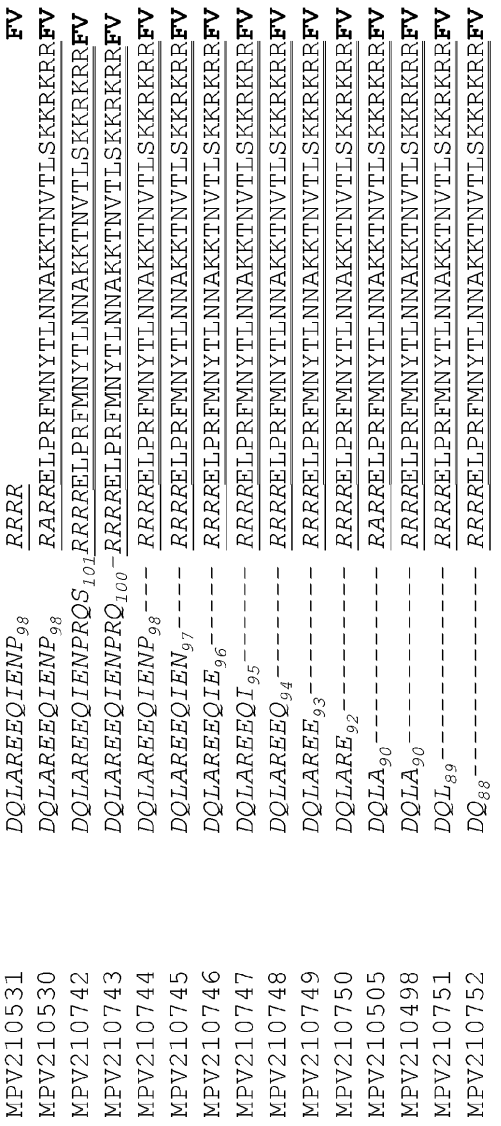

MPV201285
MPV210531
MPV210500
MPV210509
MPV210502
MPV210507
mAU (OD280)
체류 시간 (min)
MPV201285
MPV210531
MPV210502
MPV210500
MPV210507
MPV210509
4°C 대비
삼량체 (%)
50°C
60°C
70°C

도면2iii


D
ADI-14448
(DS7)
MPV201285
비-안정화됨
MPV210531
MPV210502
MPV210500
MPV210507
MPV210509
0.00
0.05
0.10
0.15
초기 기울기 (nm/s)
0.0
0.5
1.0
1.5
종점 (nm)

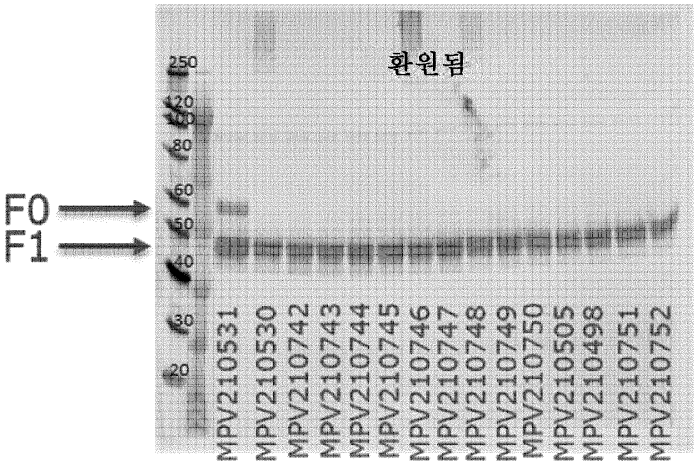
도면3i

A

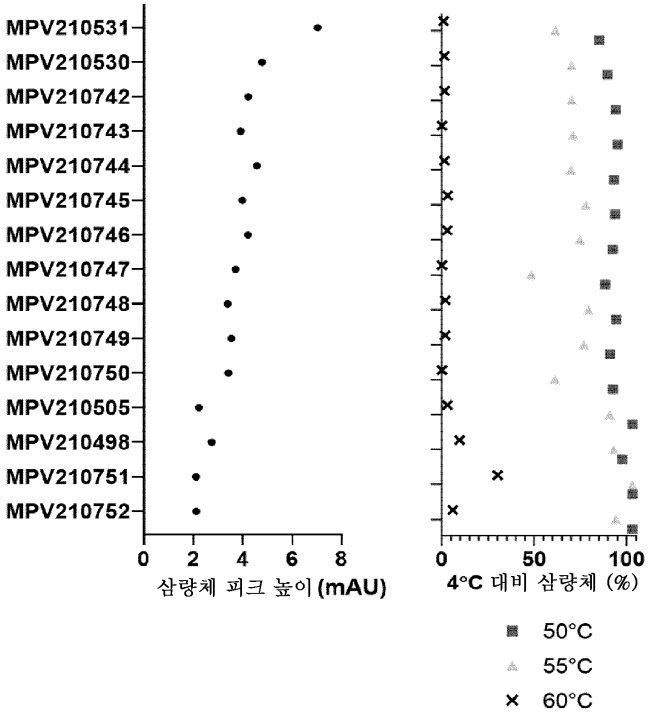

MPV210531 DQLAREEQIENP98 RRRR FV
MPV210530 DQLAREEQIENP98 RARRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210742 DQLAREEQIENPRQS101 RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210743 DQLAREEQIENPRQ100 -RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210744 DQLAREEQIENP98--- RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210745 DQLAREEQIEN97---- RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210746 DQLAREEQIE96----- RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210747 DQLAREEQI95------ RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210748 DQLAREEQ94------- RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210749 DQLAREE93-------- RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210750 DQLARE92--------- RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210505 DQLA90---------- RARRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210498 DQLA90---------- RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210751 DQL89----------- RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV
MPV210752 DQ88------------ RRRRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFV

도면3ii

B

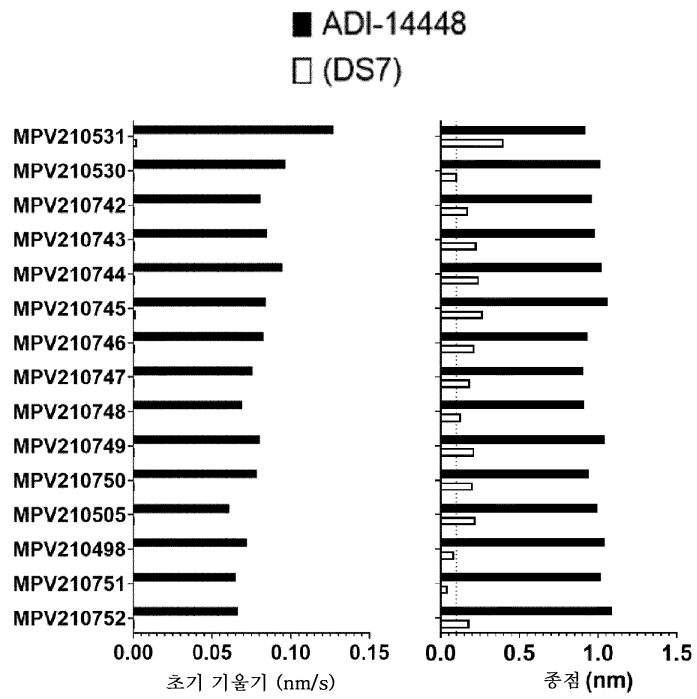

환원됨
250
120
100
80
60
50
40
30
20
F0
F1
MPV210531
MPV210530
MPV210742
MPV210743
MPV210744
MPV210745
MPV210746
MPV210747
MPV210748
MPV210749
MPV210750
MPV210505
MPV210498
MPV210751
MPV210752

C

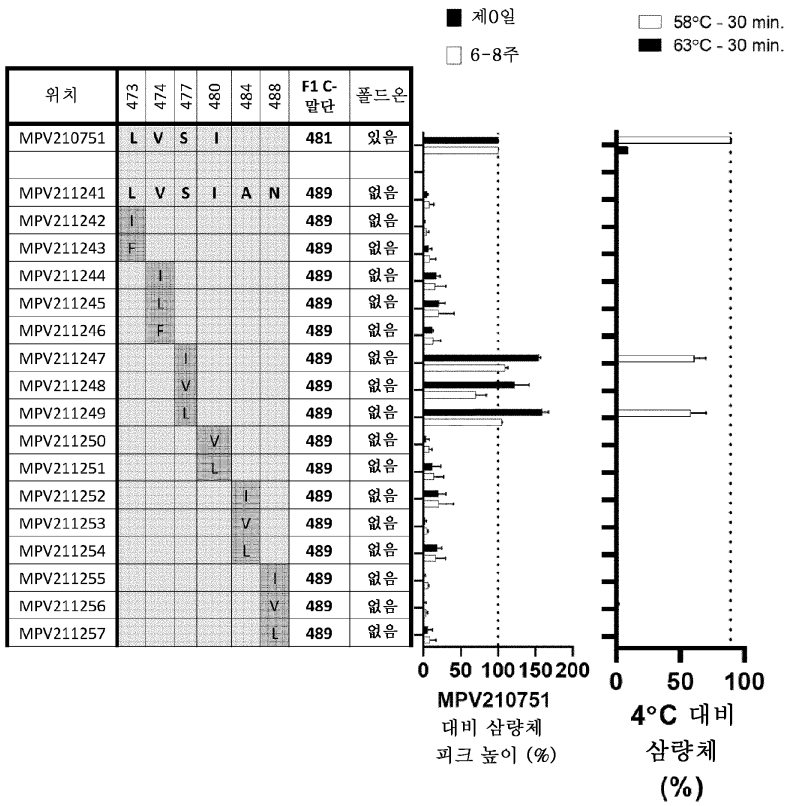

MPV210531
MPV210530
MPV210742
MPV210743
MPV210744
MPV210745
MPV210746
MPV210747
MPV210748
MPV210749
MPV210750
MPV210505
MPV210498
MPV210751
MPV210752
0
2
4
6
8
삼량체 피크 높이 (mAU)
0
50
100
4°C 대비 삼량체 (%)
50°C
55°C
60°C

도면3iii

D

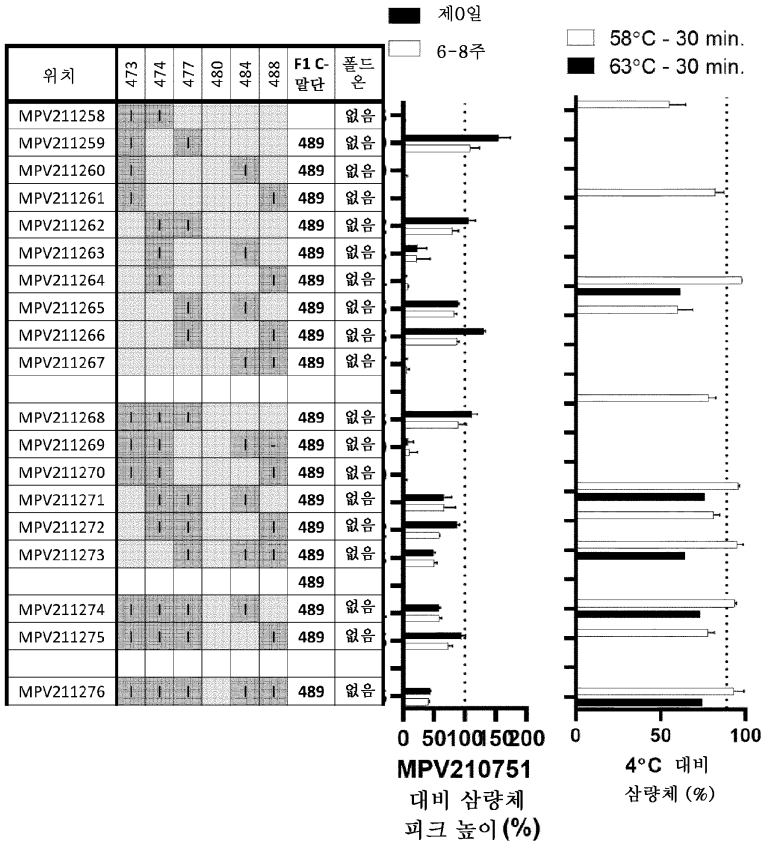


도면4i



위치	473	474	477	480	484	488	F1 C-말단	폴드온
MPV210751	L	V	S	I			481	있음
MPV211241	L	V	S	I	A	N	489	없음
MPV211242	I						489	없음
MPV211243	F						489	없음
MPV211244		I					489	없음
MPV211245		L					489	없음
MPV211246		F					489	없음
MPV211247			I				489	없음
MPV211248			V				489	없음
MPV211249			L				489	없음
MPV211250				V			489	없음
MPV211251				L			489	없음
MPV211252					I		489	없음
MPV211253					V		489	없음
MPV211254					L		489	없음
MPV211255						I	489	없음
MPV211256						V	489	없음
MPV211257						L	489	없음

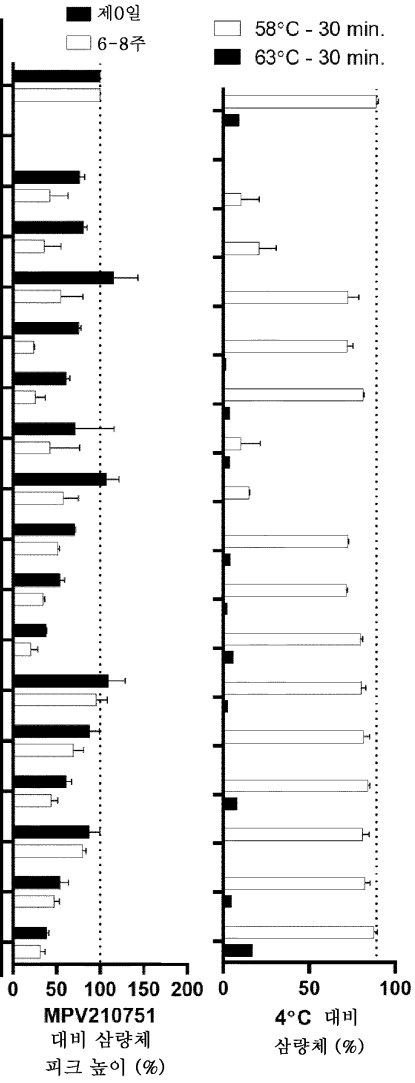
도면4ii



위치	473	474	477	480	484	488	F1 C-말단	폴드온
MPV211258	I	I						없음
MPV211259	I		I				489	없음
MPV211260	I				I		489	없음
MPV211261	I					I	489	없음
MPV211262		I	I				489	없음
MPV211263		I			I		489	없음
MPV211264		I				I	489	없음
MPV211265			I		I		489	없음
MPV211266			I			I	489	없음
MPV211267					I	I	489	없음
MPV211268	I	I	I				489	없음
MPV211269	I	I			I	-	489	없음
MPV211270	I	I				I	489	없음
MPV211271		I	I		I		489	없음
MPV211272		I	I			I	489	없음
MPV211273			I		I	I	489	없음
							489	
MPV211274	I	I	I		I		489	없음
MPV211275	I	I	I			I	489	없음
MPV211276	I	I	I		I	I	489	없음

도면4iii

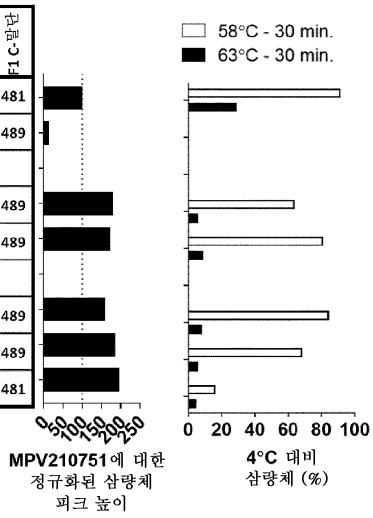
위치	473	474	477	480	484	488	F1 C-말단	폴드온
MPV210751	L	V	S	I			481	있음
MPV211277	W		I				489	없음
MPV211278	W		I	L			489	없음
MPV211279	W		I	L	I		489	없음
MPV211280	W		I	L	I	I	489	없음
MPV211281	W	I	I	L	I	I	489	없음
MPV211282	F		I				489	없음
MPV211283	F		I	L			489	없음
MPV211284	F		I	L	I		489	없음
MPV211285	F		I	L	I	I	489	없음
MPV211286	F	I	I	L	I	I	489	없음
MPV211287	W		I		I		489	없음
MPV211288	W		I		I	I	489	없음
MPV211289	W	I	I		I	I	489	없음
MPV211290	F		I		I		489	없음
MPV211291	F		I		I	I	489	없음
MPV211292	F	I	I		I	I	489	없음



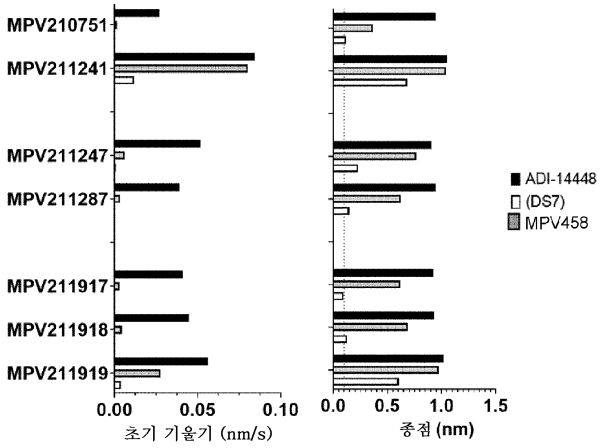
도면5

A

위치	473	475	476	477	478	479	484	볼드 잉	F1 C-말단
MPV210751	L	D	Q	S	N	R		있음	481
MPV211241	L	D	Q	S	N	R	A	없음	489
MPV211247				I				없음	489
MPV211287	W			I			I	없음	489
MPV211917	W		K	F			I	없음	489
MPV211918	W	R	K	F	D	E	I	없음	489
MPV211919	W		K	F				없음	481

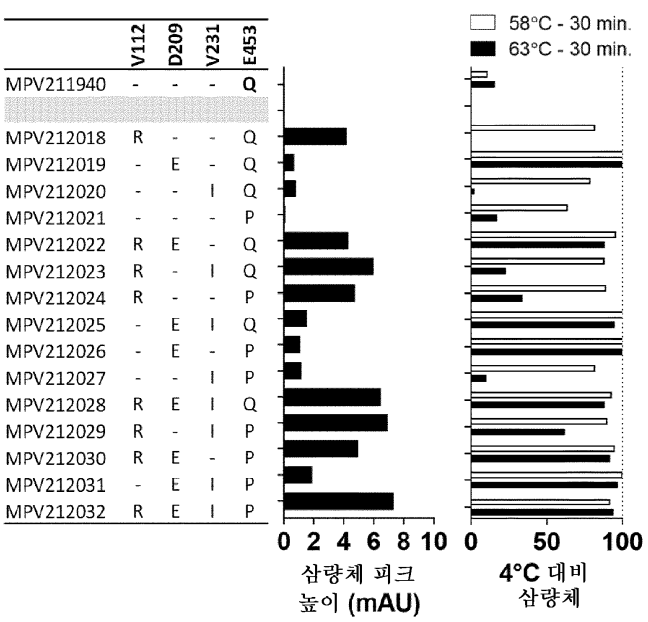


B

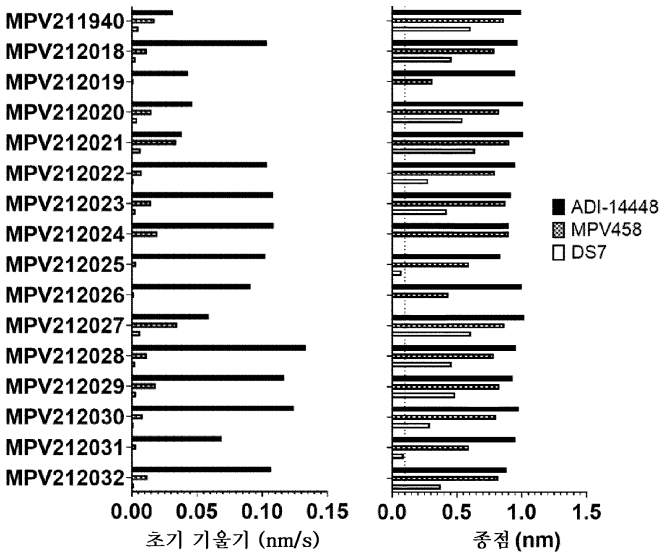


도면6

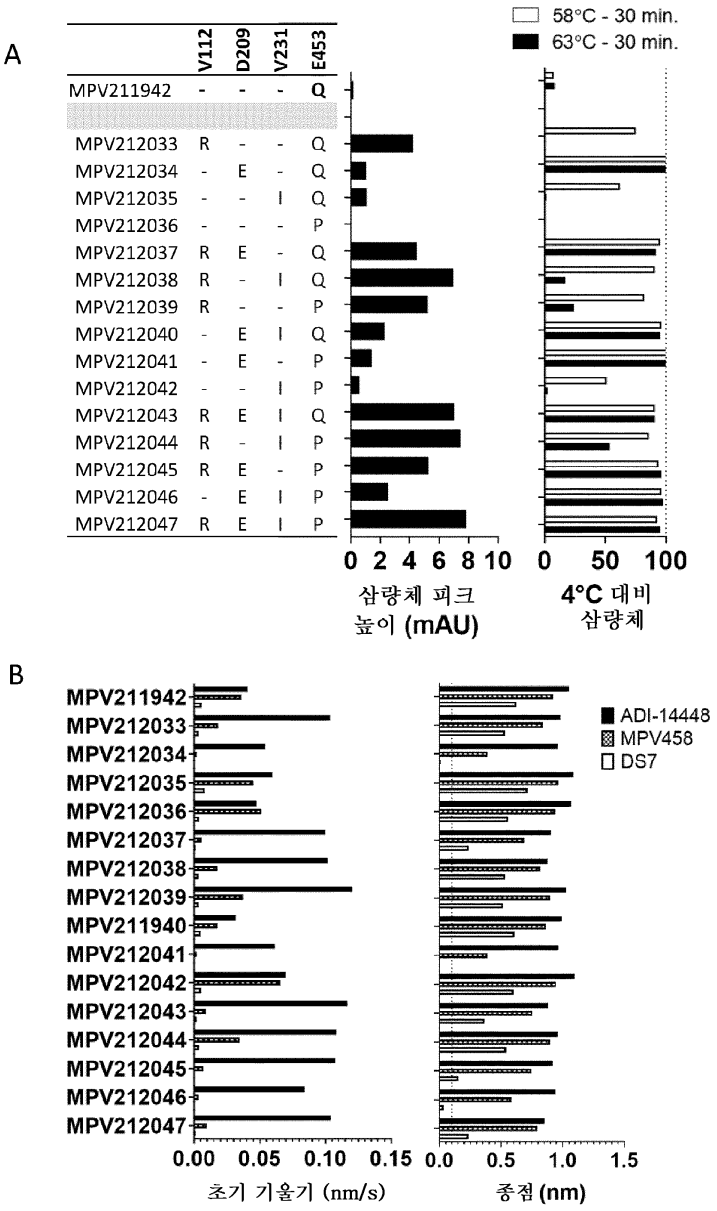
A


V112
D209
V231
E453
MPV211940 - - - Q
MPV212018 R - - Q
MPV212019 - E - Q
MPV212020 - - I Q
MPV212021 - - - P
MPV212022 R E - Q
MPV212023 R - I Q
MPV212024 R - - P
MPV212025 - E I Q
MPV212026 - E - P
MPV212027 - - I P
MPV212028 R E I Q
MPV212029 R - I P
MPV212030 R E - P
MPV212031 - E I P
MPV212032 R E I P
58°C - 30 min.
63°C - 30 min.
0 2 4 6 8 10
삼량체 피크 높이 (mAU)
0 50 100
4°C 대비 삼량체

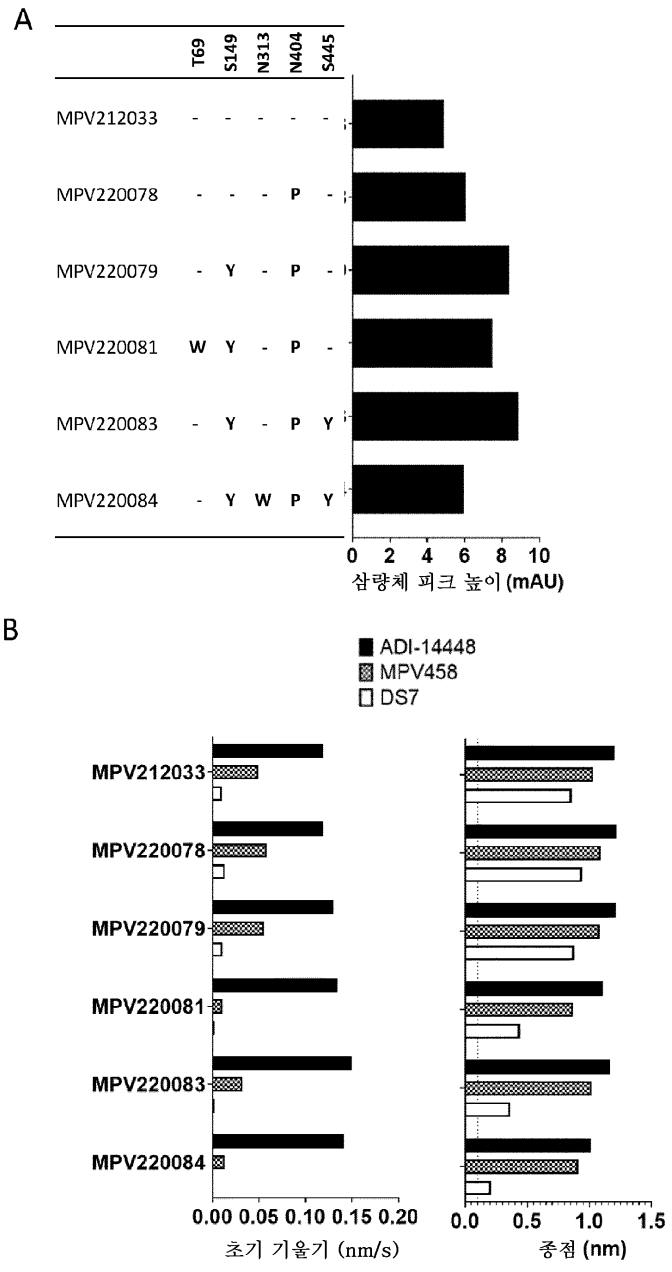
B


MPV211940
MPV212018
MPV212019
MPV212020
MPV212021
MPV212022
MPV212023
MPV212024
MPV212025
MPV212026
MPV212027
MPV212028
MPV212029
MPV212030
MPV212031
MPV212032
ADI-14448
MPV458
DS7
0.00 0.05 0.10 0.15
초기 기울기 (nm/s)
0.0 0.5 1.0 1.5
종점 (nm)

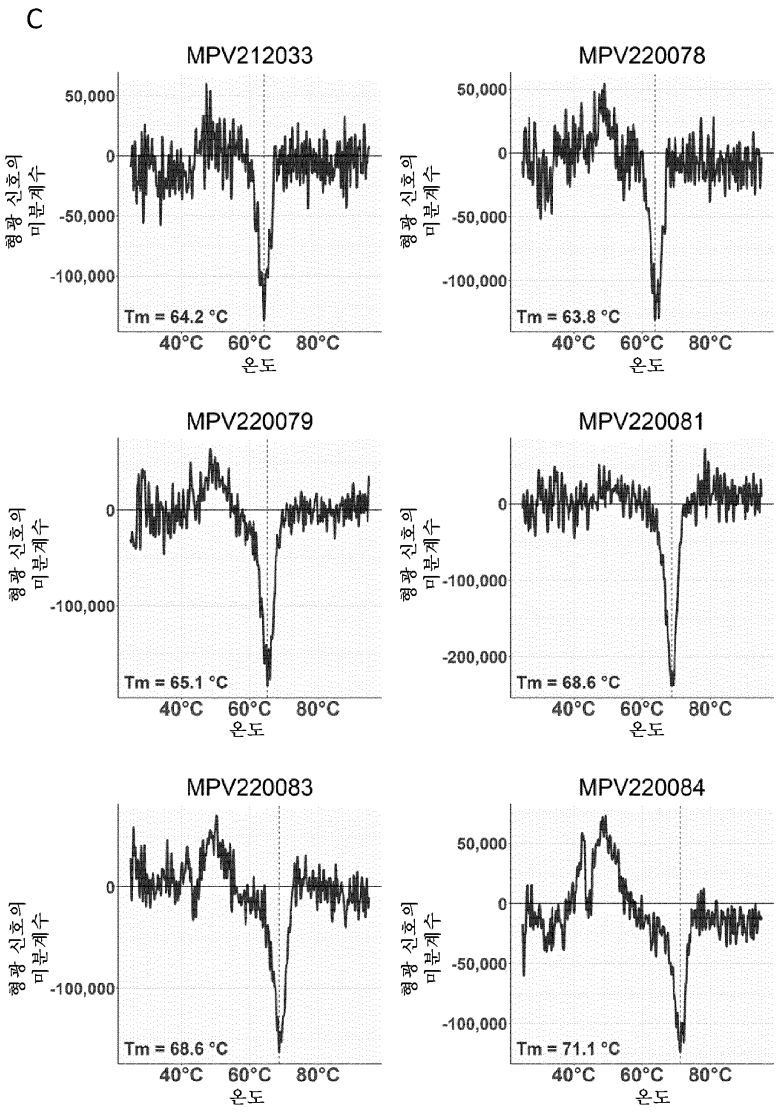
도면7


A
V112
D209
V231
E453
MPV211942 - - - Q
MPV212033 R - - Q
MPV212034 - E - Q
MPV212035 - - I Q
MPV212036 - - - P
MPV212037 R E - Q
MPV212038 R - I Q
MPV212039 R - - P
MPV212040 - E I Q
MPV212041 - E - P
MPV212042 - - I P
MPV212043 R E I Q
MPV212044 R - I P
MPV212045 R E - P
MPV212046 - E I P
MPV212047 R E I P
58°C - 30 min.
63°C - 30 min.
0 2 4 6 8 10
삼량체 피크 높이 (mAU)
0 50 100
4°C 대비 삼량체
B
MPV211942
MPV212033
MPV212034
MPV212035
MPV212036
MPV212037
MPV212038
MPV212039
MPV211940
MPV212041
MPV212042
MPV212043
MPV212044
MPV212045
MPV212046
MPV212047
ADI-14448
MPV458
DS7
0.00 0.05 0.10 0.15
초기 기울기 (nm/s)
0.0 0.5 1.0 1.5
종점 (nm)

도면8i


A
T69
S149
N313
N404
S445
MPV212033 - - - - -
MPV220078 - - - P -
MPV220079 - Y - P -
MPV220081 W Y - P -
MPV220083 - Y - P Y
MPV220084 - Y W P Y
0 2 4 6 8 10
삼량체 피크 높이 (mAU)
B
ADI-14448
MPV458
DS7
MPV212033
MPV220078
MPV220079
MPV220081
MPV220083
MPV220084
0.00 0.05 0.10 0.15 0.20
초기 기울기 (nm/s)
0.0 0.5 1.0 1.5
종점 (nm)

도면8ii

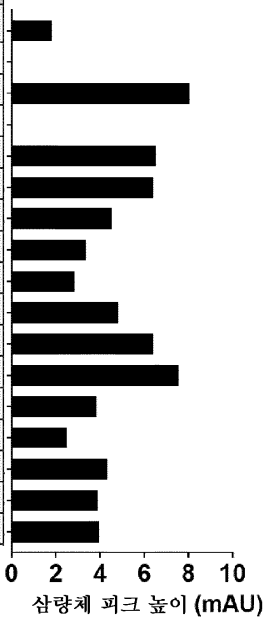

C
MPV212033
MPV220078
MPV220079
MPV220081
MPV220083
MPV220084
형광 신호의 미분계수
온도
40°C
60°C
80°C
Tm = 64.2 °C
Tm = 63.8 °C
Tm = 65.1 °C
Tm = 68.6 °C
Tm = 68.6 °C
Tm = 71.1 °C
50,000
0
-50,000
-100,000
-200,000

도면9i

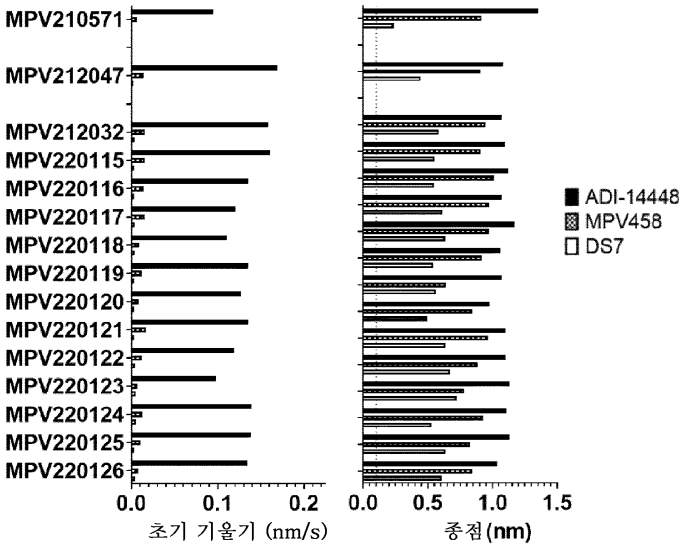
A

	473	474	477	484	485	F1 C-말단	폴드온
	L	V	S	A	N		
MPV210751						481	있음
MPV212047	*					489	없음
MPV212032	W		I	I		489	없음
MPV220115			I			489	없음
MPV220116			I	I		489	없음
MPV220117		I	I	I		489	없음
MPV220118			I	I	I	489	없음
MPV220119	I		I	I		489	없음
MPV220120	Y		I	I		489	없음
MPV220121	I	I		I		489	없음
MPV220122	I	I	I	I		489	없음
MPV220123	I	I	I	I	I	489	없음
MPV220124			L	I		489	없음
MPV220125			I	L		489	없음
MPV220126			L	L		489	없음

*L473W, D475R, Q476K, S477F, N478D, R479E, A484I

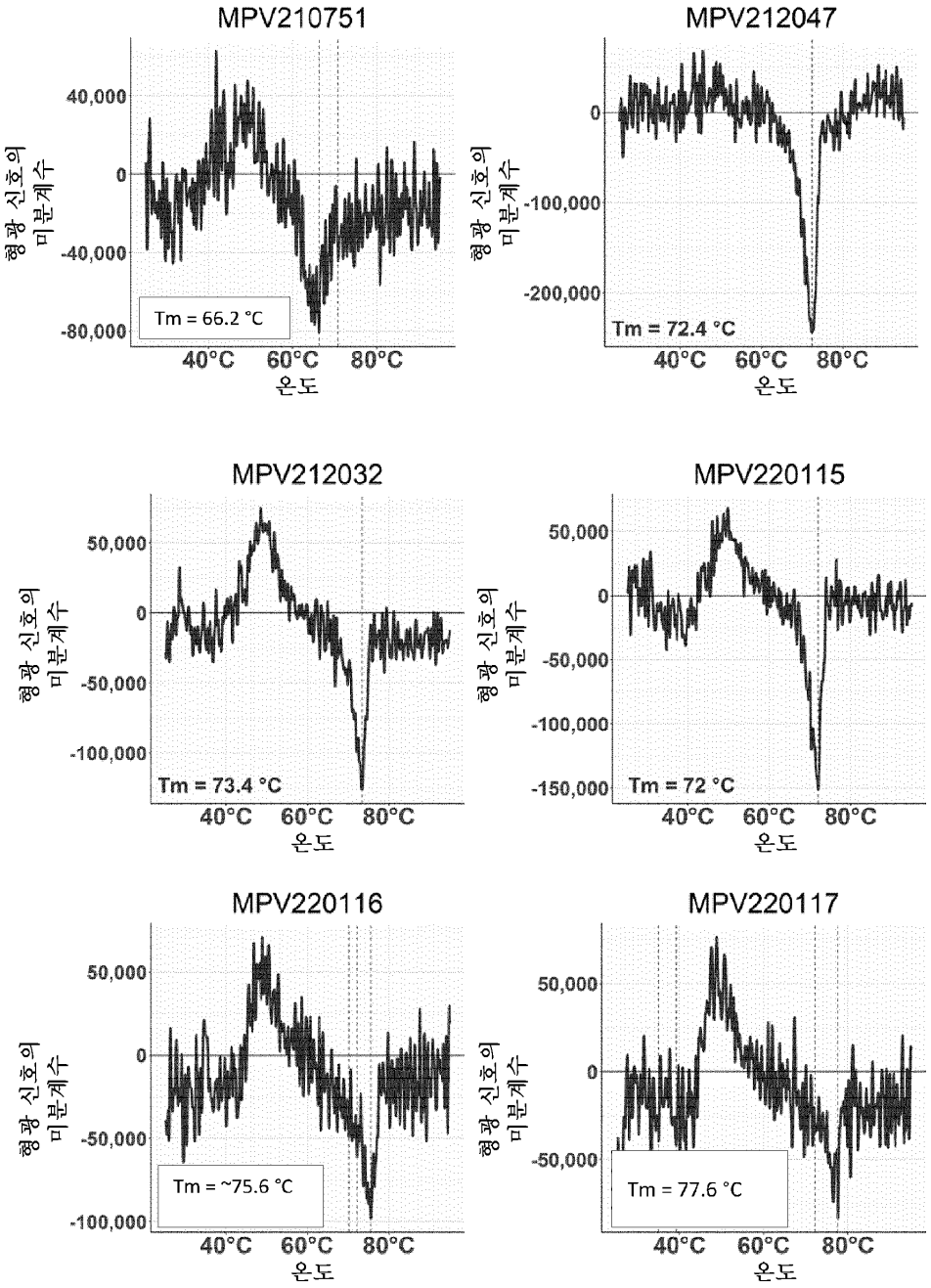


B

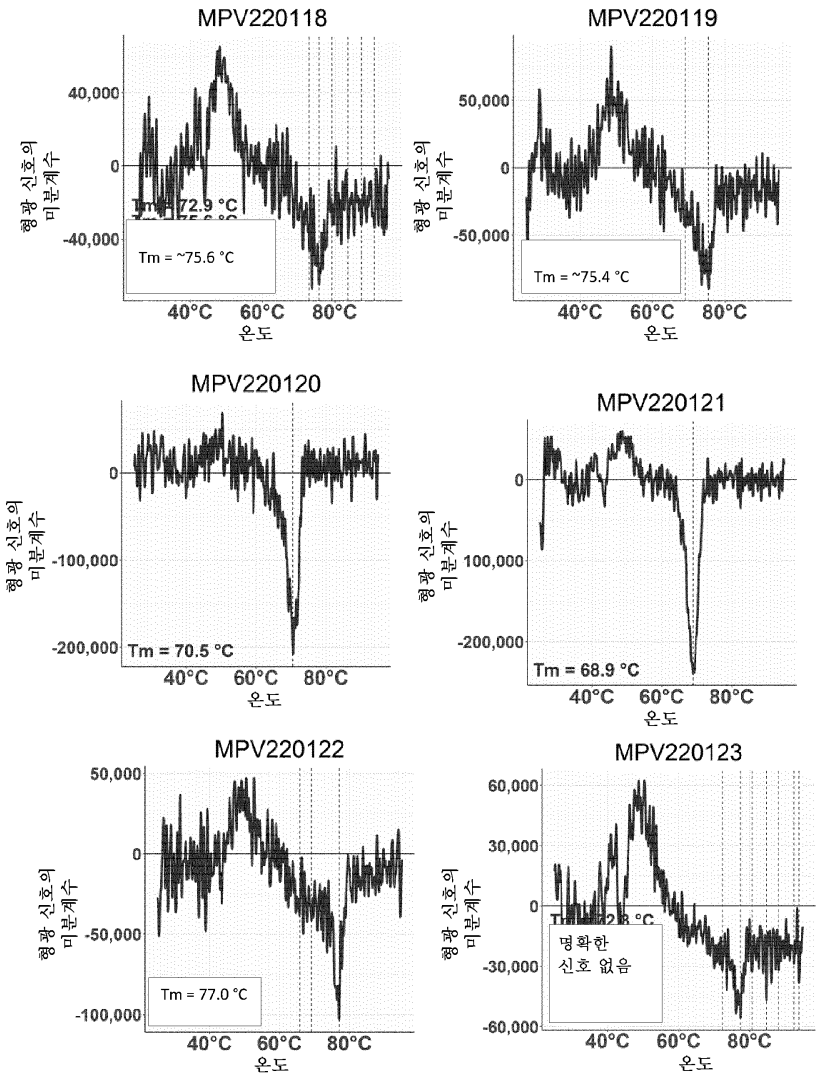


도면9iia

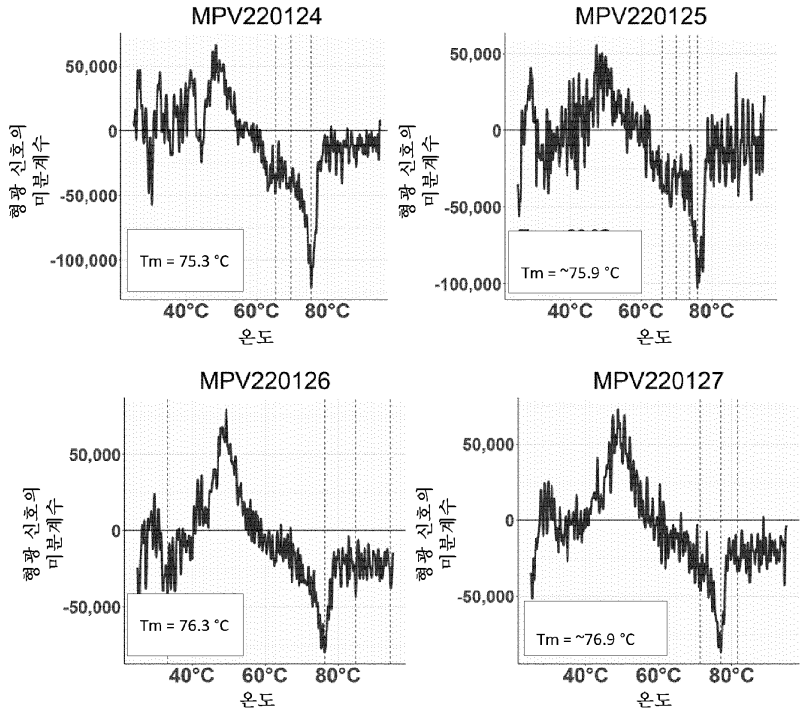
C


MPV210751
형광 신호의 미분계수
40,000
0
-40,000
-80,000
Tm = 66.2 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV212047
형광 신호의 미분계수
0
-100,000
-200,000
Tm = 72.4 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV212032
형광 신호의 미분계수
50,000
0
-50,000
-100,000
Tm = 73.4 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV220115
형광 신호의 미분계수
50,000
0
-50,000
-100,000
-150,000
Tm = 72 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV220116
형광 신호의 미분계수
50,000
0
-50,000
-100,000
Tm = ~75.6 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV220117
형광 신호의 미분계수
50,000
0
-50,000
Tm = 77.6 °C
40°C 60°C 80°C
온도

도면9iib

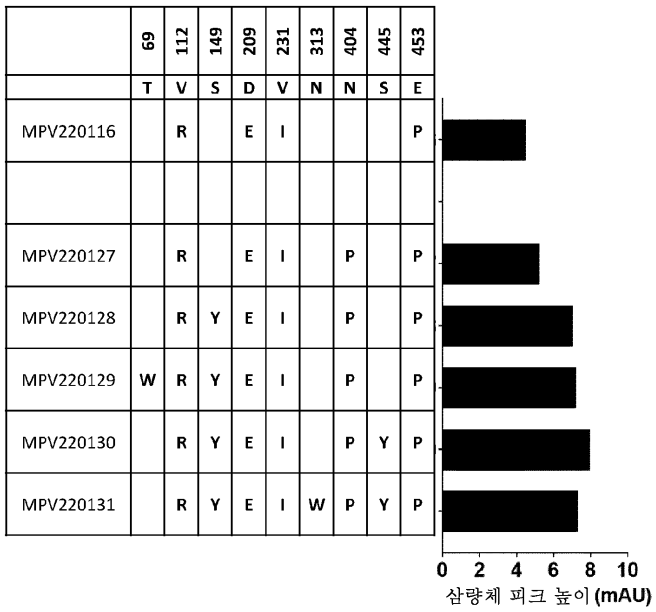

MPV220118
40,000
0
-40,000
형광 신호의 미분계수
Tm = ~75.6 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV220119
50,000
0
-50,000
형광 신호의 미분계수
Tm = ~75.4 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV220120
0
-100,000
-200,000
형광 신호의 미분계수
Tm = 70.5 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV220121
0
100,000
-200,000
형광 신호의 미분계수
Tm = 68.9 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV220122
50,000
0
-50,000
-100,000
형광 신호의 미분계수
Tm = 77.0 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV220123
60,000
30,000
0
-30,000
-60,000
형광 신호의 미분계수
명확한
신호 없음
40°C 60°C 80°C
온도

도면9iic

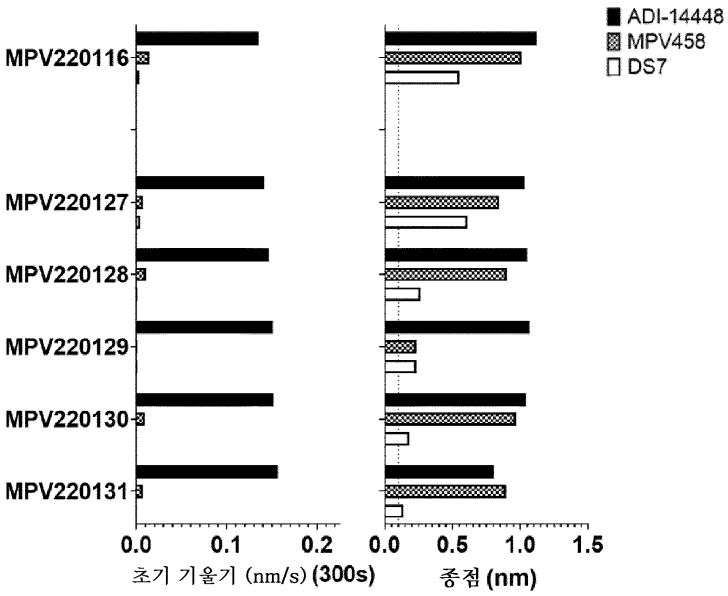

MPV220124
50,000
0
-50,000
-100,000
형광 신호의 미분계수
Tm = 75.3 °C
40°C
60°C
80°C
온도
MPV220125
50,000
0
-50,000
-100,000
형광 신호의 미분계수
Tm = ~75.9 °C
40°C
60°C
80°C
온도
MPV220126
50,000
0
-50,000
형광 신호의 미분계수
Tm = 76.3 °C
40°C
60°C
80°C
온도
MPV220127
50,000
0
-50,000
형광 신호의 미분계수
Tm = ~76.9 °C
40°C
60°C
80°C
온도

도면10i

A

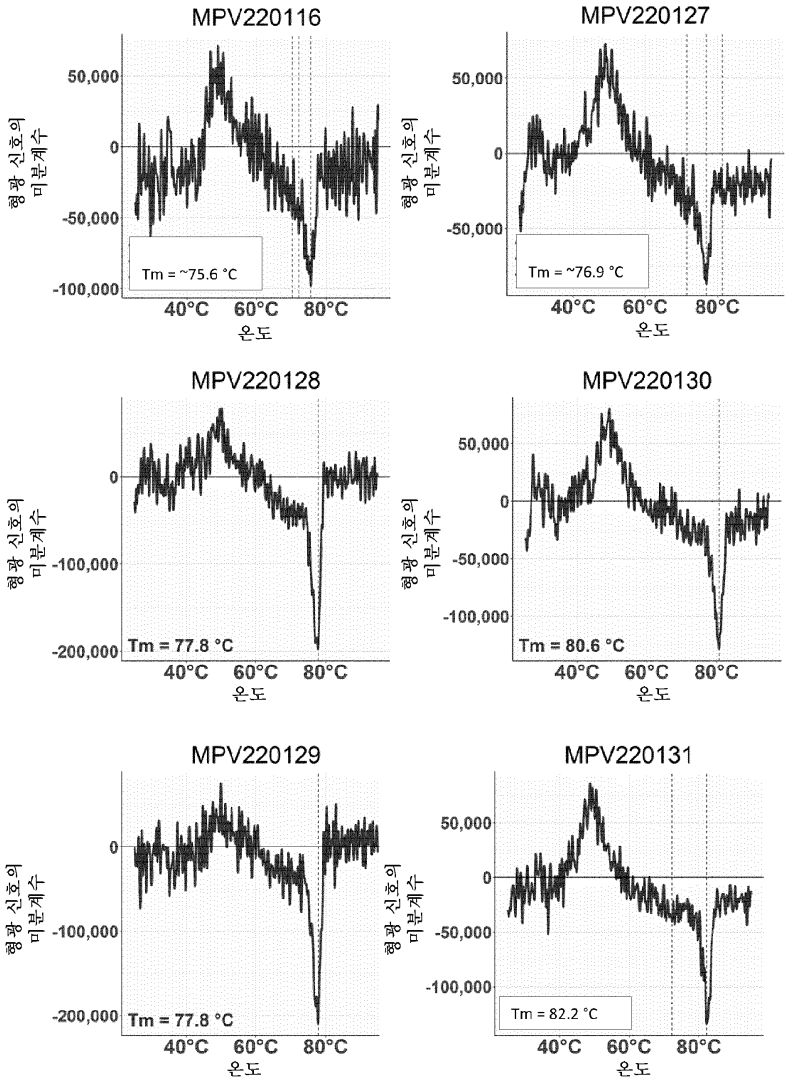

69 112 149 209 231 313 404 445 453
T V S D V N N S E
MPV220116 R E I P
MPV220127 R E I P P
MPV220128 R Y E I P P
MPV220129 W R Y E I P P
MPV220130 R Y E I P Y P
MPV220131 R Y E I W P Y P
0 2 4 6 8 10
삼량체 피크 높이 (mAU)

B


ADI-14448
MPV458
DS7
MPV220116
MPV220127
MPV220128
MPV220129
MPV220130
MPV220131
0.0 0.1 0.2
초기 기울기 (nm/s) (300s)
0.0 0.5 1.0 1.5
종점 (nm)

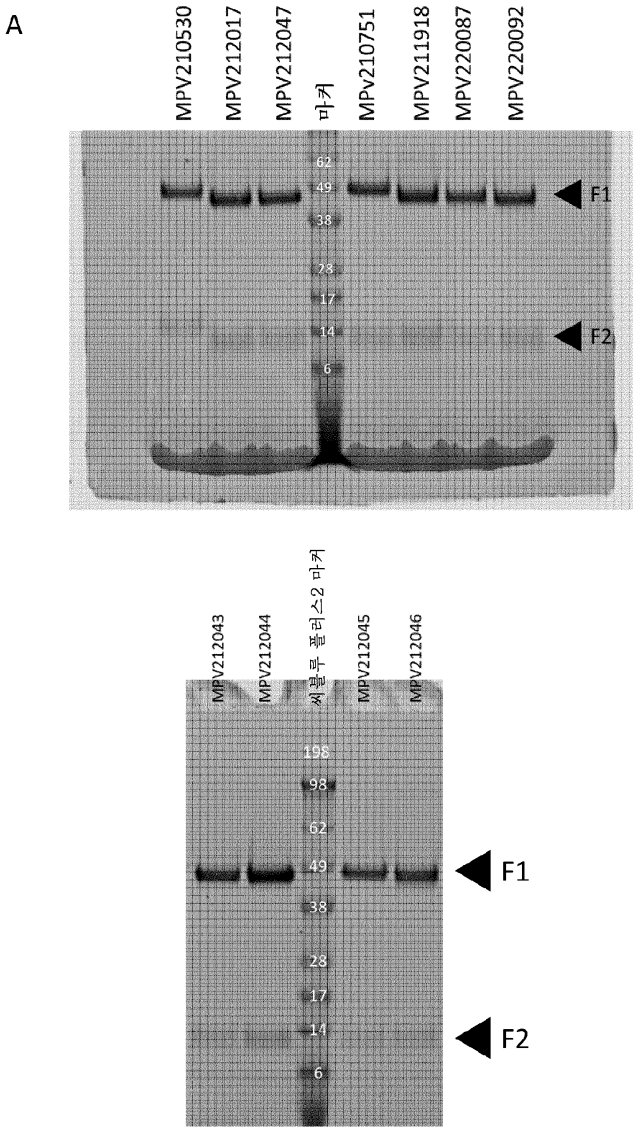
도면10ii

C


MPV220116
MPV220127
MPV220128
MPV220130
MPV220129
MPV220131
형광 신호의 미분계수
온도
40°C
60°C
80°C
50,000
0
-50,000
-100,000
-200,000
Tm = ~75.6 °C
Tm = ~76.9 °C
Tm = 77.8 °C
Tm = 80.6 °C
Tm = 77.8 °C
Tm = 82.2 °C

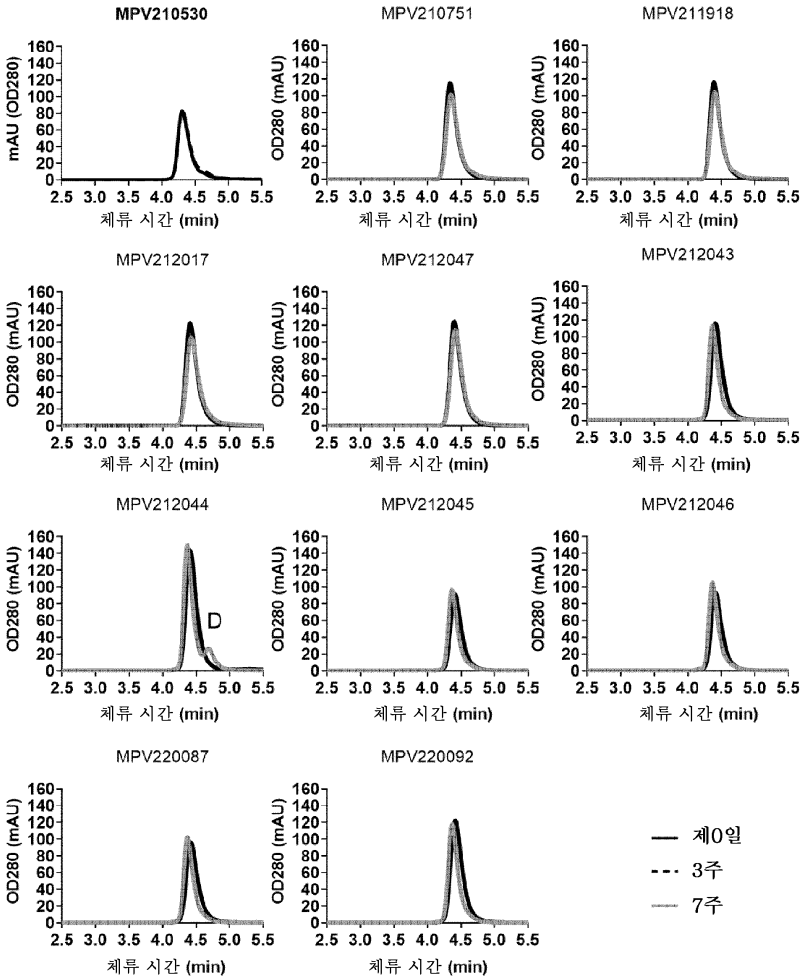
도면11i

A


MPV210530
MPV212017
MPV212047
마커
MPv210751
MPV211918
MPV220087
MPV220092
62
49
38
28
17
14
6
F1
F2
MPV212043
MPV212044
씨클루 폴리스2 마커
MPV212045
MPV212046
198
98
62
49
38
28
17
14
6
F1
F2

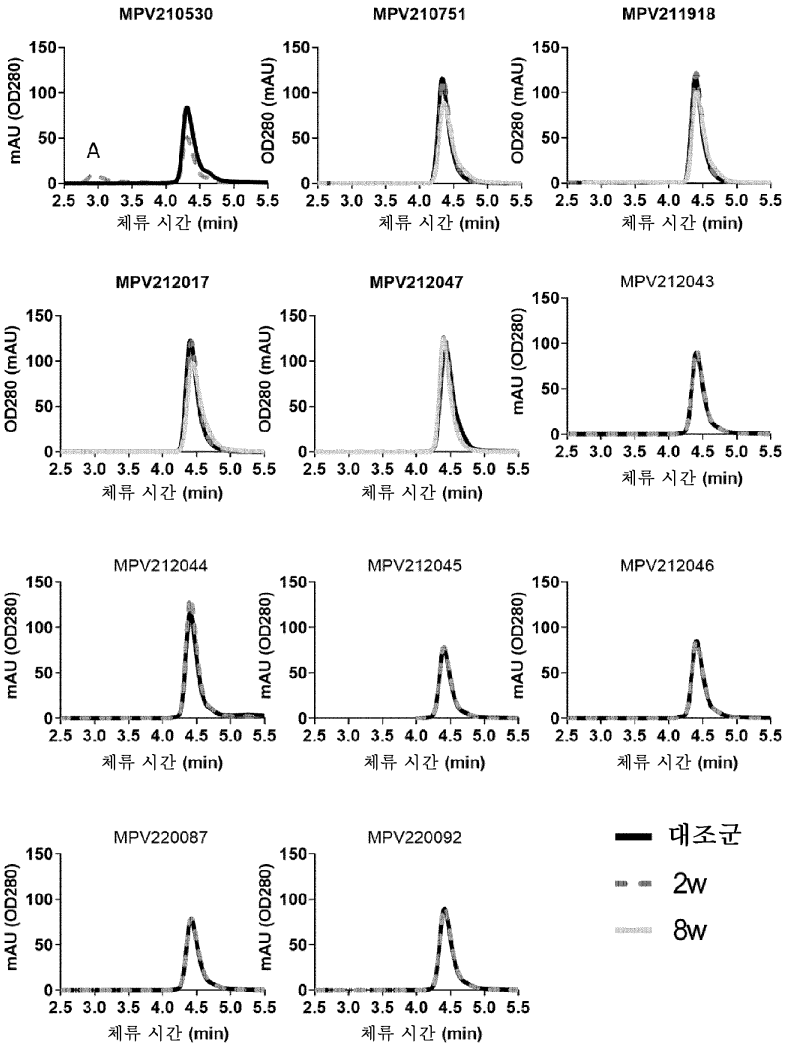
도면11ii

B


MPV210530
MPV210751
MPV211918
MPV212017
MPV212047
MPV212043
MPV212044
MPV212045
MPV212046
MPV220087
MPV220092
mAU (OD280)
OD280 (mAU)
체류 시간 (min)
D
제0일
3주
7주

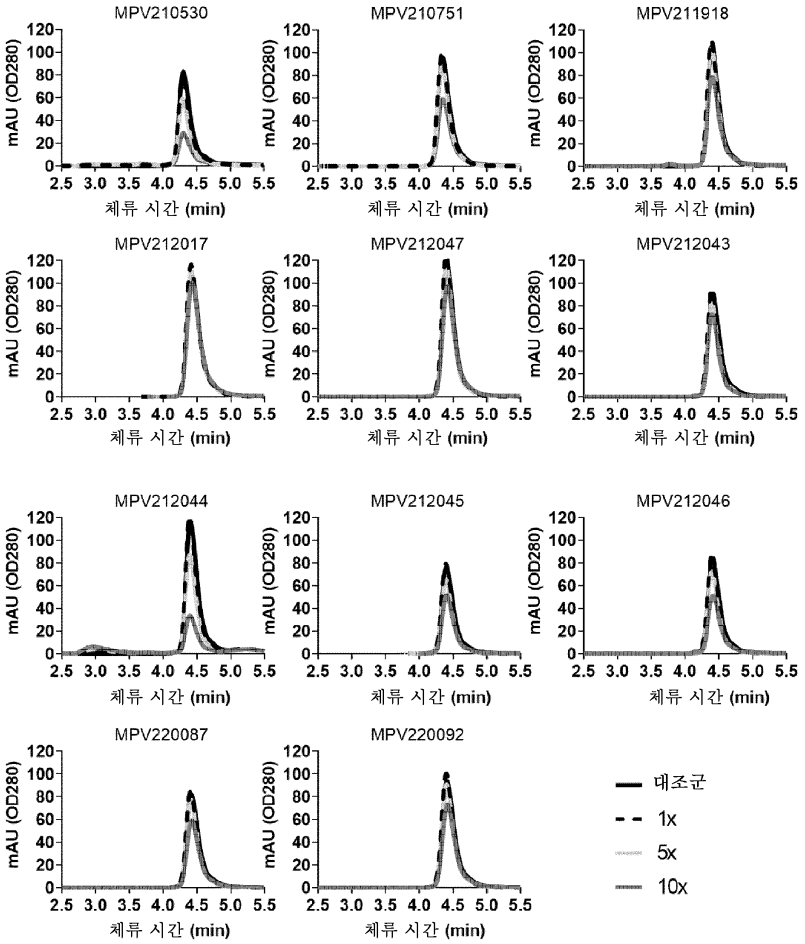
도면11iii

C

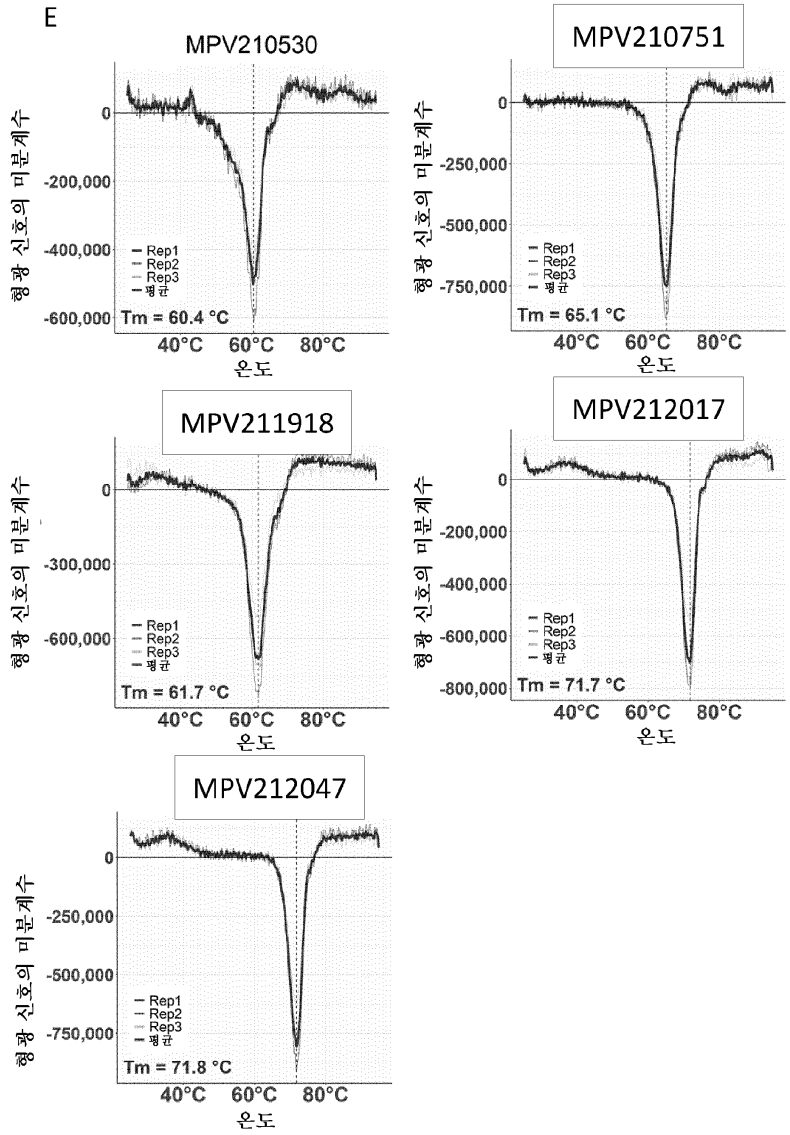

MPV210530
MPV210751
MPV211918
MPV212017
MPV212047
MPV212043
MPV212044
MPV212045
MPV212046
MPV220087
MPV220092
A
mAU (OD280)
OD280 (mAU)
체류 시간 (min)
대조군
2w
8w

도면11iv

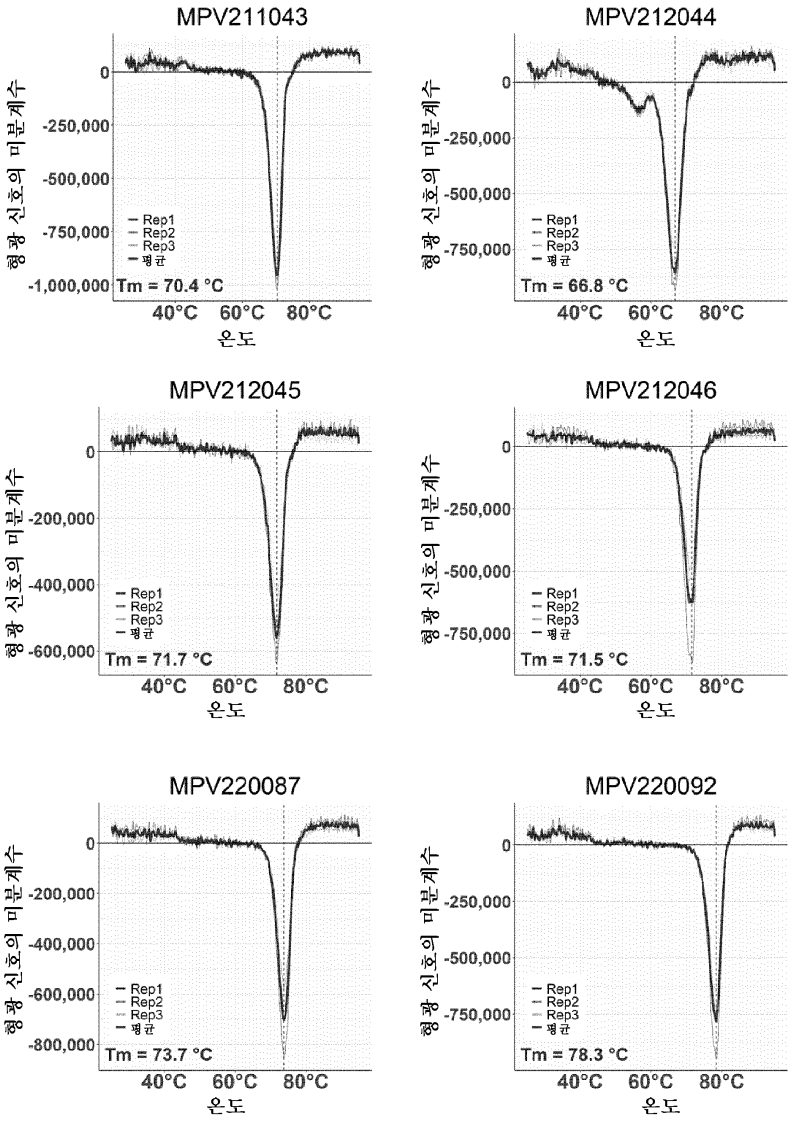
D


MPV210530
MPV210751
MPV211918
MPV212017
MPV212047
MPV212043
MPV212044
MPV212045
MPV212046
MPV220087
MPV220092
mAU (OD280)
체류 시간 (min)
대조군
1x
5x
10x

도면11va

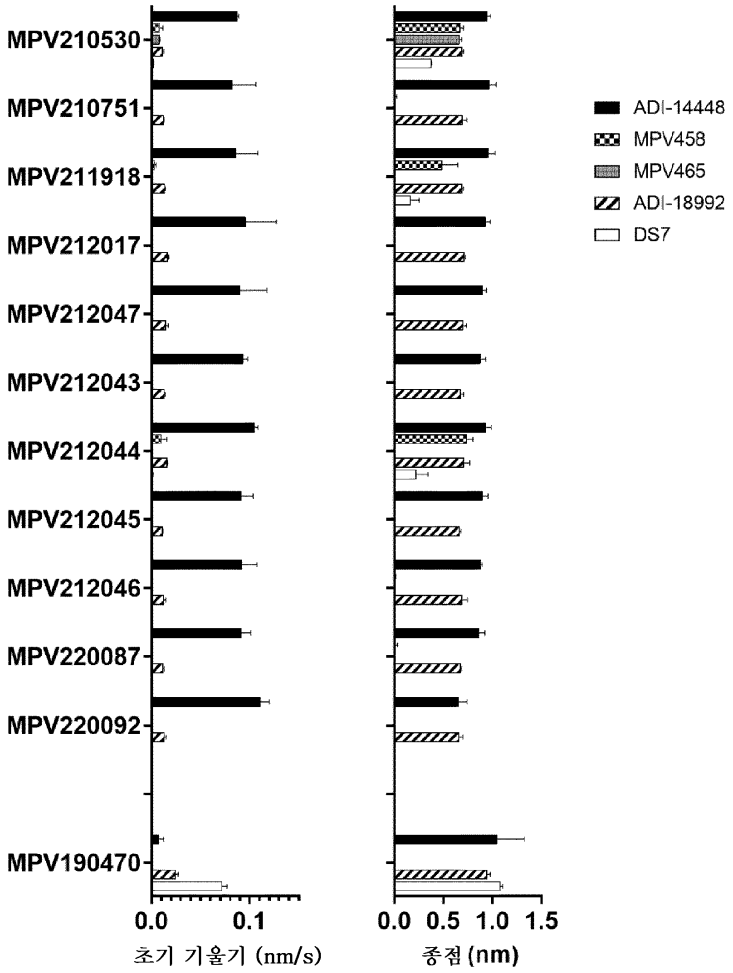

E
MPV210530
MPV210751
MPV211918
MPV212017
MPV212047
형광 신호의 미분계수
온도
Rep1
Rep2
Rep3
평균
Tm = 60.4 °C
Tm = 65.1 °C
Tm = 61.7 °C
Tm = 71.7 °C
Tm = 71.8 °C
40°C
60°C
80°C

도면11vb


MPV211043
형광 신호의 미분계수
0
-250,000
-500,000
-750,000
-1,000,000
Rep1
Rep2
Rep3
평균
Tm = 70.4 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV212044
형광 신호의 미분계수
0
-250,000
-500,000
-750,000
Rep1
Rep2
Rep3
평균
Tm = 66.8 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV212045
형광 신호의 미분계수
0
-200,000
-400,000
-600,000
Rep1
Rep2
Rep3
평균
Tm = 71.7 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV212046
형광 신호의 미분계수
0
-250,000
-500,000
-750,000
Rep1
Rep2
Rep3
평균
Tm = 71.5 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV220087
형광 신호의 미분계수
0
-200,000
-400,000
-600,000
-800,000
Rep1
Rep2
Rep3
평균
Tm = 73.7 °C
40°C 60°C 80°C
온도
MPV220092
형광 신호의 미분계수
0
-250,000
-500,000
-750,000
Rep1
Rep2
Rep3
평균
Tm = 78.3 °C
40°C 60°C 80°C
온도

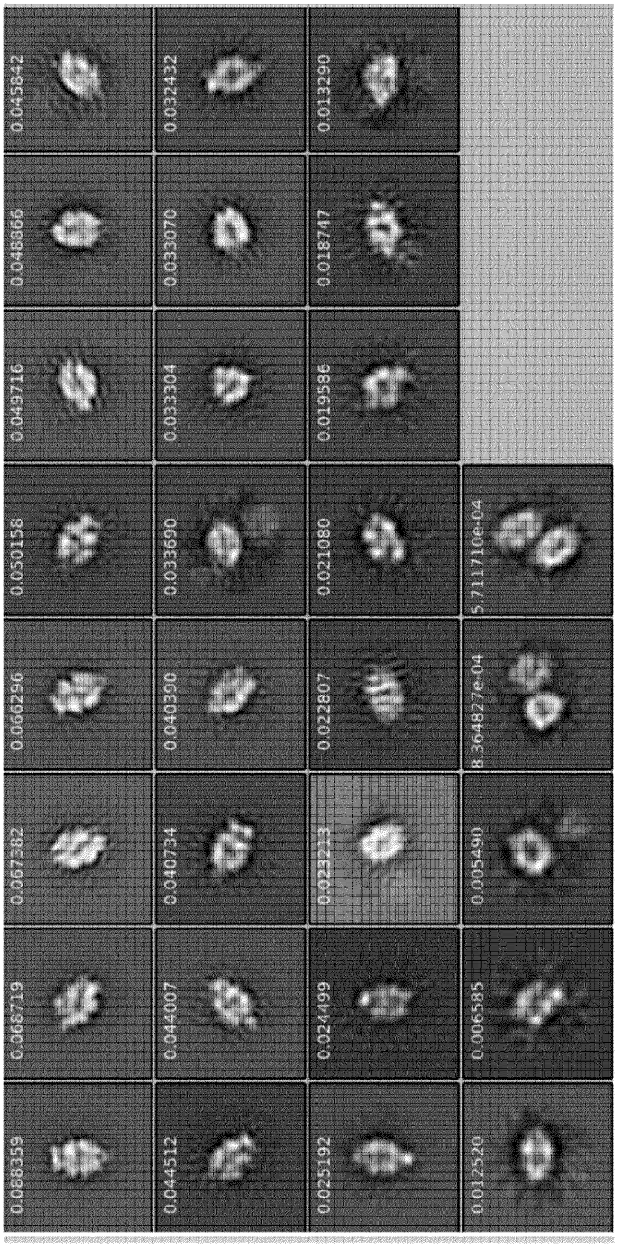
도면11vi

F

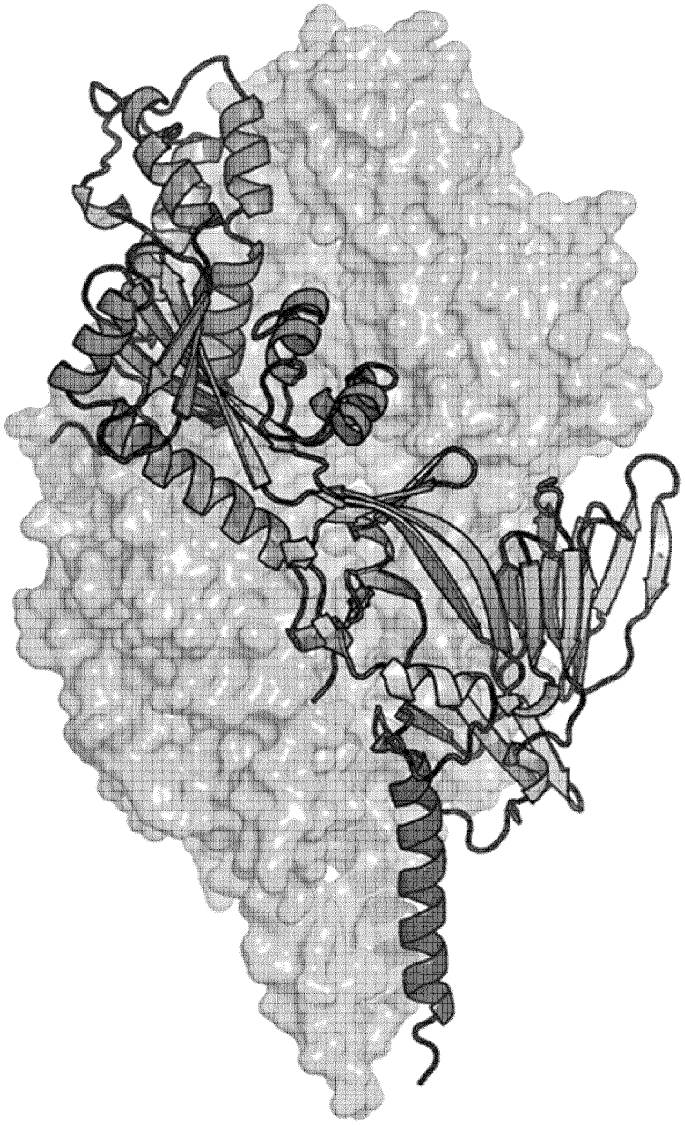

MPV210530
MPV210751
MPV211918
MPV212017
MPV212047
MPV212043
MPV212044
MPV212045
MPV212046
MPV220087
MPV220092
MPV190470
0.0
0.1
초기 기울기 (nm/s)
0.0
0.5
1.0
1.5
종점 (nm)
ADI-14448
MPV458
MPV465
ADI-18992
DS7

도면11vii

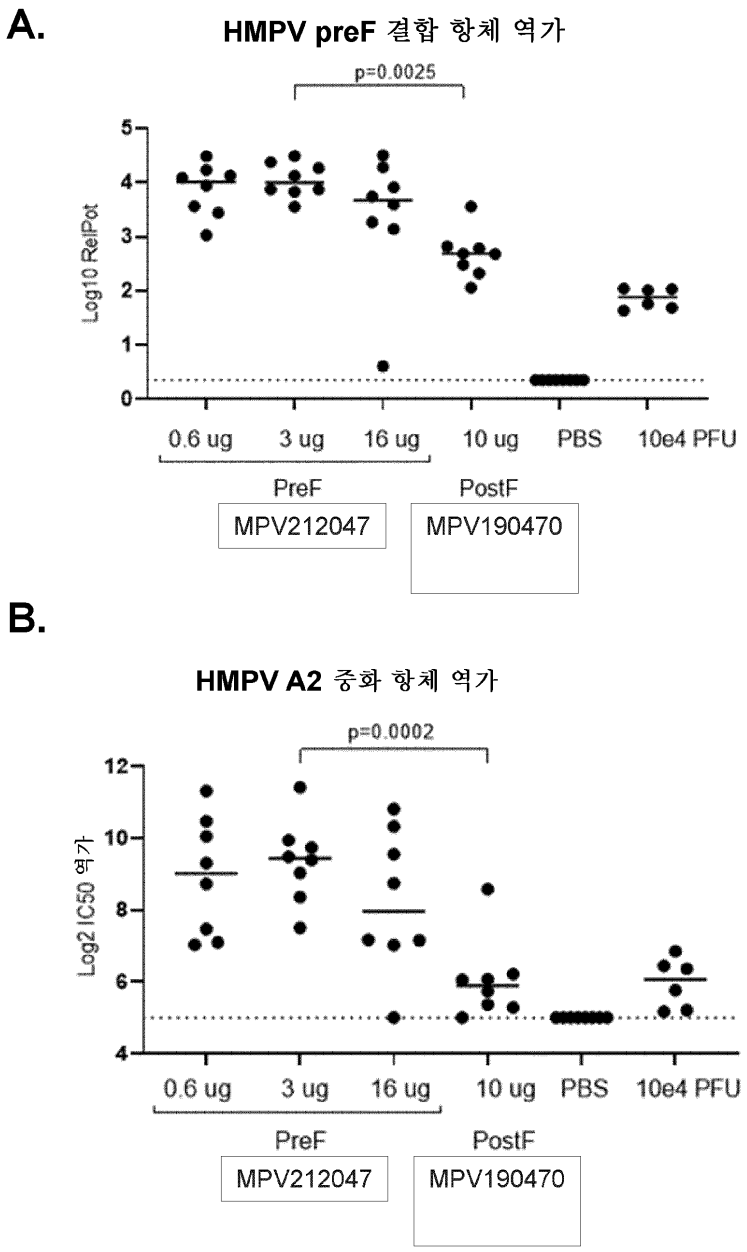
G


0.045842
0.032432
0.013290
0.048366
0.033070
0.018747
0.049716
0.033304
0.019586
0.050158
0.033650
0.021080
5.711710e-04
0.060256
0.040350
0.022807
8.364827e-04
0.067382
0.040734
0.025213
0.005490
0.066719
0.044007
0.024499
0.006585
0.068359
0.044512
0.025192
0.012520

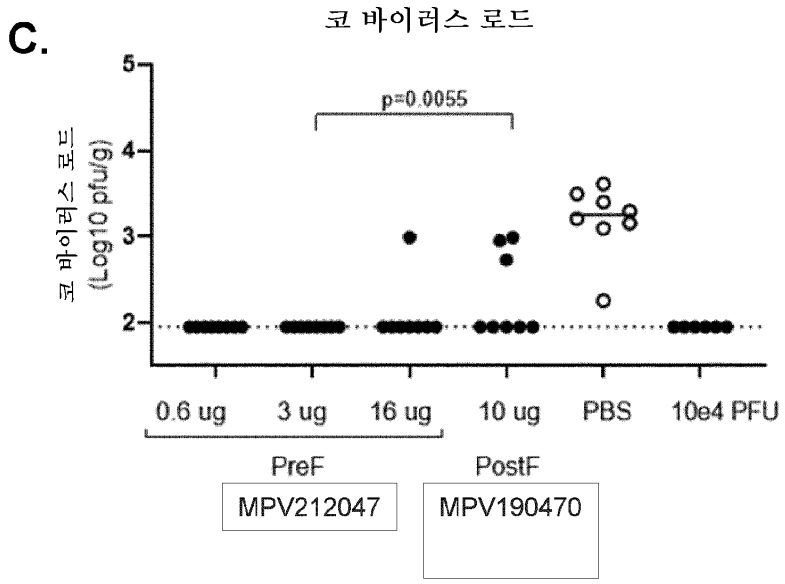
도면12



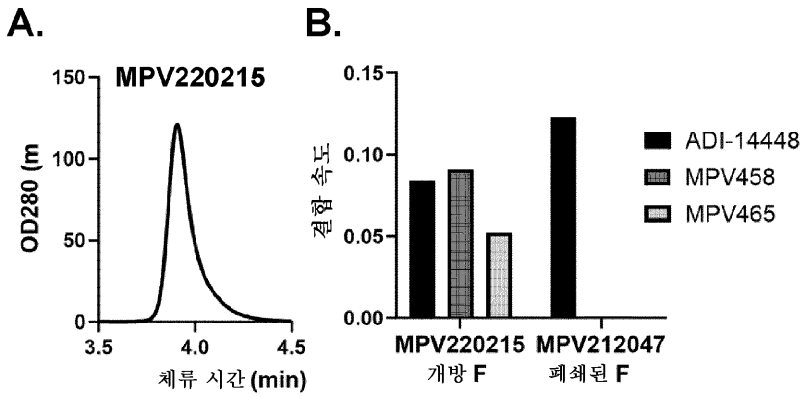
도면13i


A.
HMPV preF 결합 항체 역가
p=0.0025
Log10 RelPot
0.6 ug
3 ug
16 ug
10 ug
PBS
10e4 PFU
PreF
PostF
MPV212047
MPV190470
B.
HMPV A2 중화 항체 역가
p=0.0002
Log2 IC50 역가
0.6 ug
3 ug
16 ug
10 ug
PBS
10e4 PFU
PreF
PostF
MPV212047
MPV190470

도면13ii

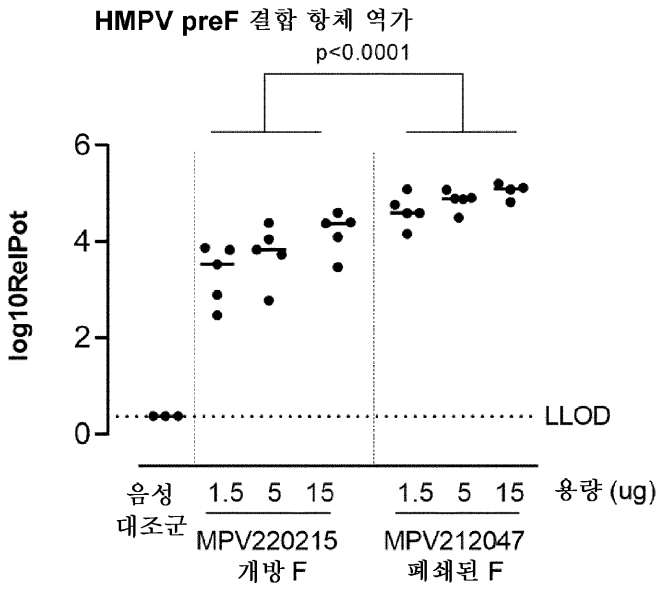


도면14i

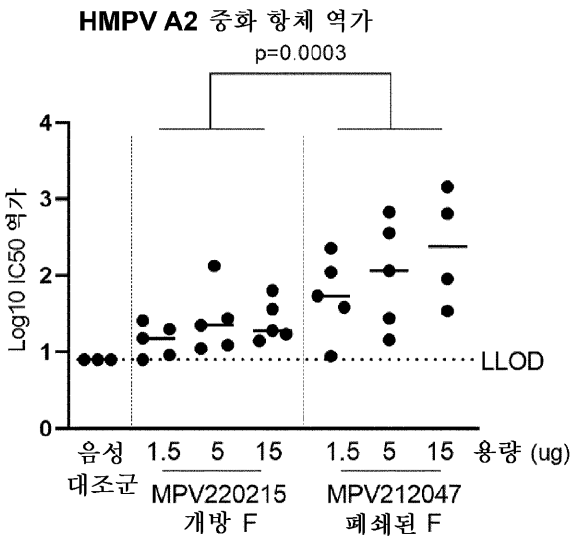


도면14ii

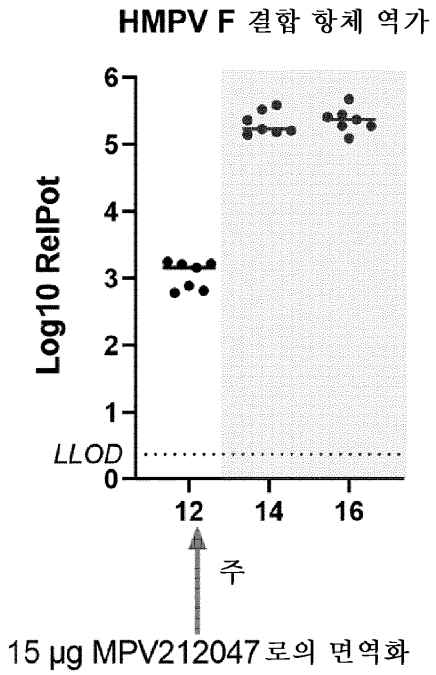
C.


HMPV preF 결합 항체 역가
p<0.0001
log10RelPot
6
4
2
0
LLOD
음성 대조군
1.5 5 15
MPV220215 개방 F
1.5 5 15
MPV212047 폐쇄된 F
용량 (ug)

D.

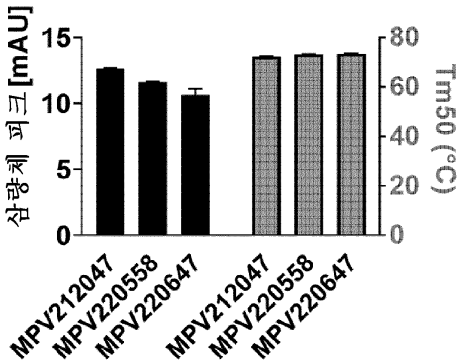

HMPV A2 중화 항체 역가
p=0.0003
Log10 IC50 역가
4
3
2
1
0
LLOD
음성 대조군
1.5 5 15
MPV220215 개방 F
1.5 5 15
MPV212047 폐쇄된 F
용량 (ug)

도면15



도면16i

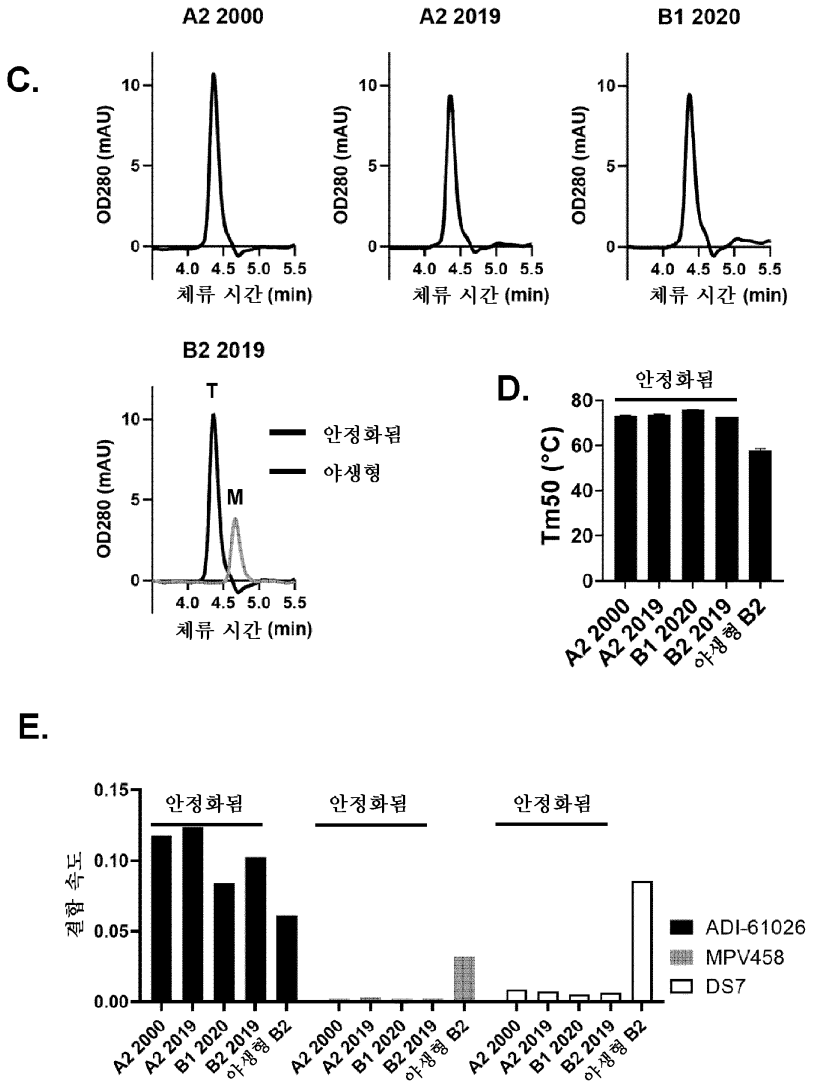
A.



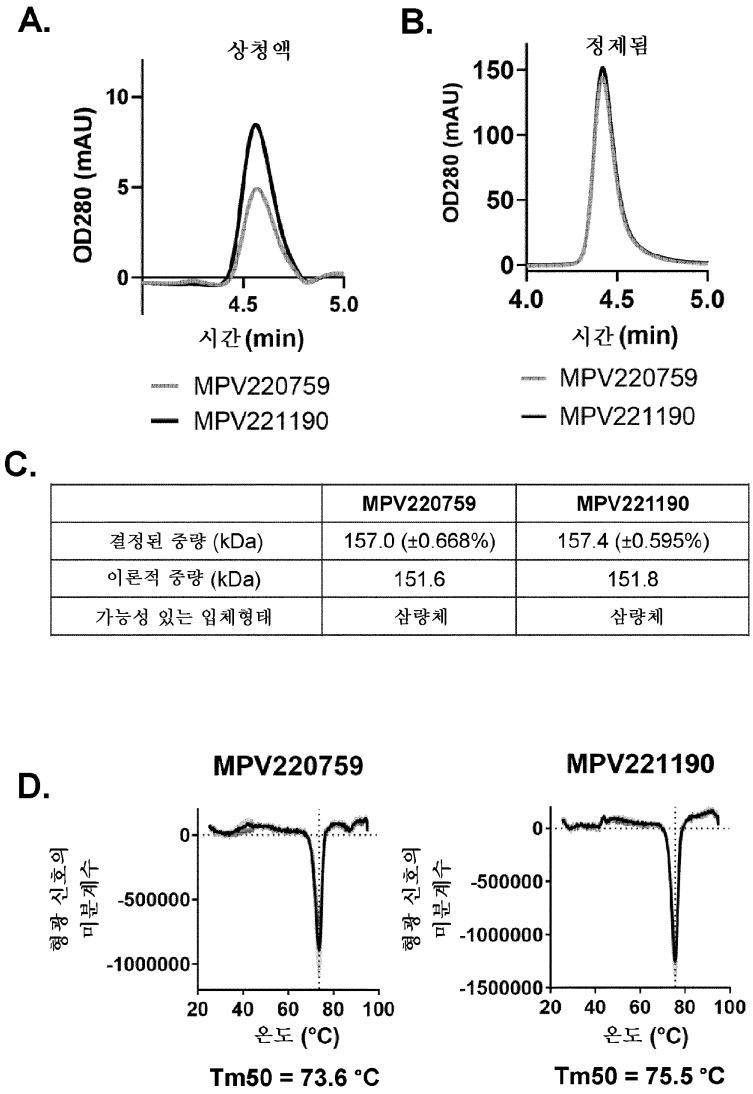
B.

구축물 ID	아형 ype	수집 년도	HMPV 균주 식별자	진뱅크 ID
MPV220647	A2	2000	TN/00/3-14	EU857553.1
MPV220639	A2	2019	HMPV/Yokohama.JPN/P9767/2019	BBI90013.1
MPV220640	B1	2020	B/NSW/WM217053 9/17	QTW05440.1
MPV220641	B2	2019	2019_1360	QQY99338.1

도면16ii


C.
A2 2000
A2 2019
B1 2020
OD280 (mAU)
체류 시간 (min)
B2 2019
T
M
안정화됨
야생형
D.
Tm50 (°C)
A2 2000
A2 2019
B1 2020
B2 2019
야생형 B2
E.
결합 속도
ADI-61026
MPV458
DS7

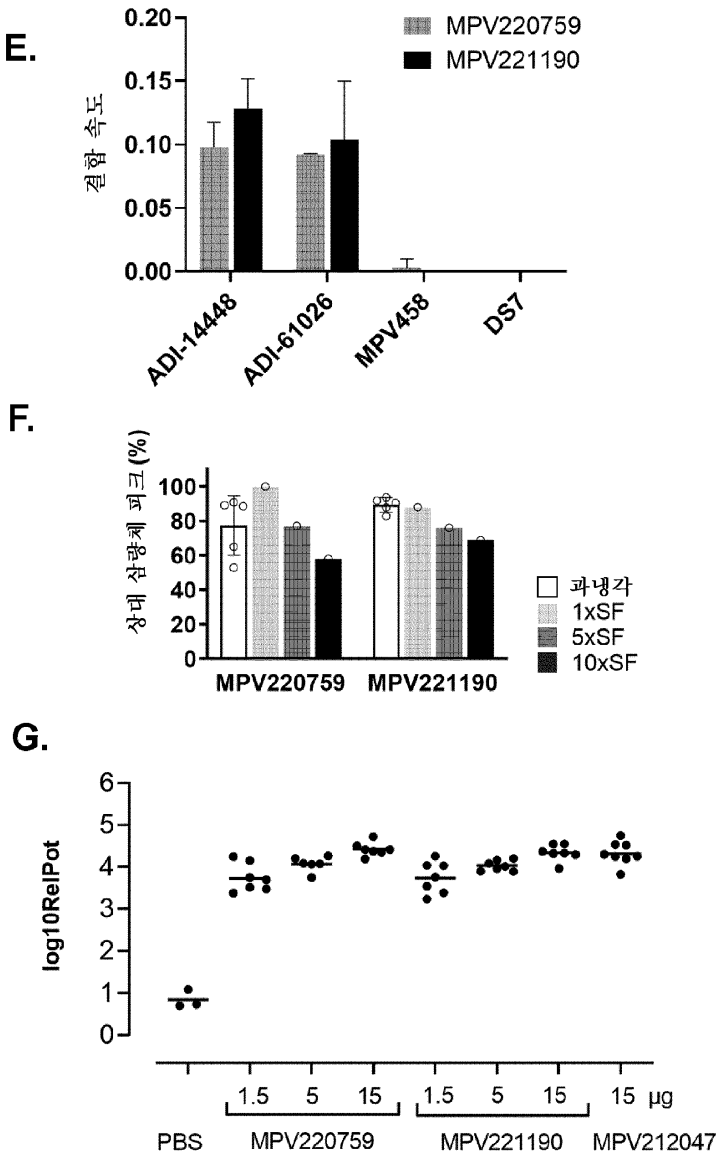
도면17i



C.

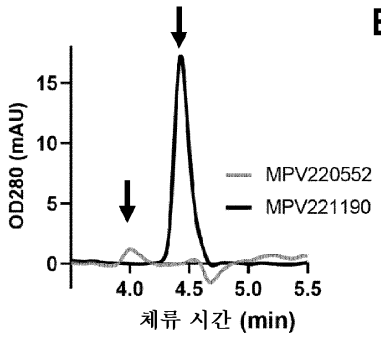
	MPV220759	MPV221190
결정된 중량 (kDa)	157.0 (±0.668%)	157.4 (±0.595%)
이론적 중량 (kDa)	151.6	151.8
가능성 있는 입체형태	삼량체	삼량체

도면17ii


E.
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
결합 속도
MPV220759
MPV221190
ADI-14448
ADI-61026
MPV458
DS7
F.
상대 삼량체 피크 (%)
100
80
60
40
20
0
MPV220759
MPV221190
과냉각
1xSF
5xSF
10xSF
G.
log10RelPot
6
5
4
3
2
1
0
1.5
5
15
1.5
5
15
15 μg
PBS
MPV220759
MPV221190
MPV212047

도면18

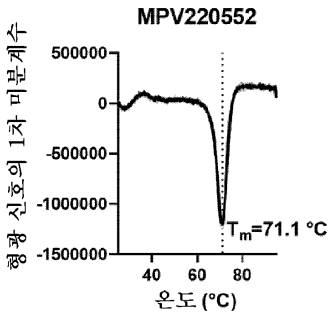
A.



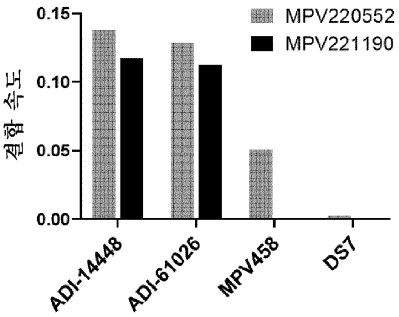
B.

MPV220552	
결정된 중량 (kDa)	177.9 (±0.221%)
이론적 중량 (kDa)	175.0
가능성 있는 입체형태	삼량체

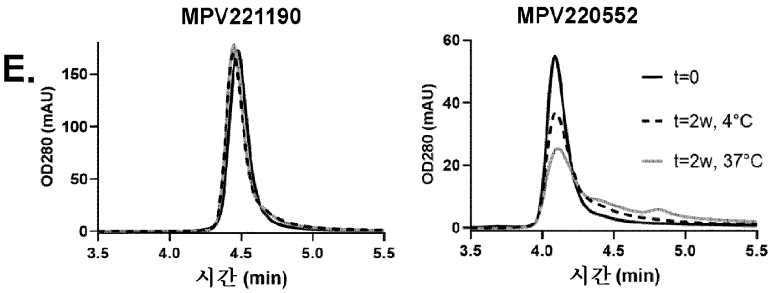
C.



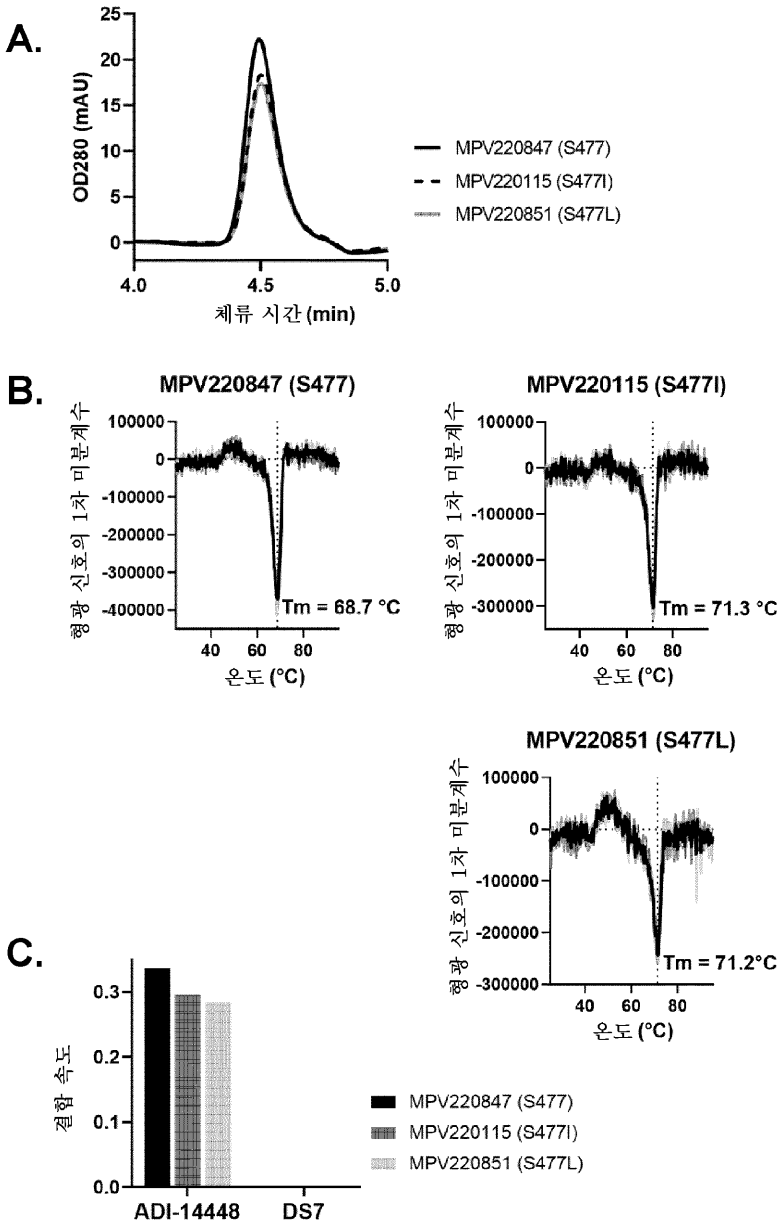
D.



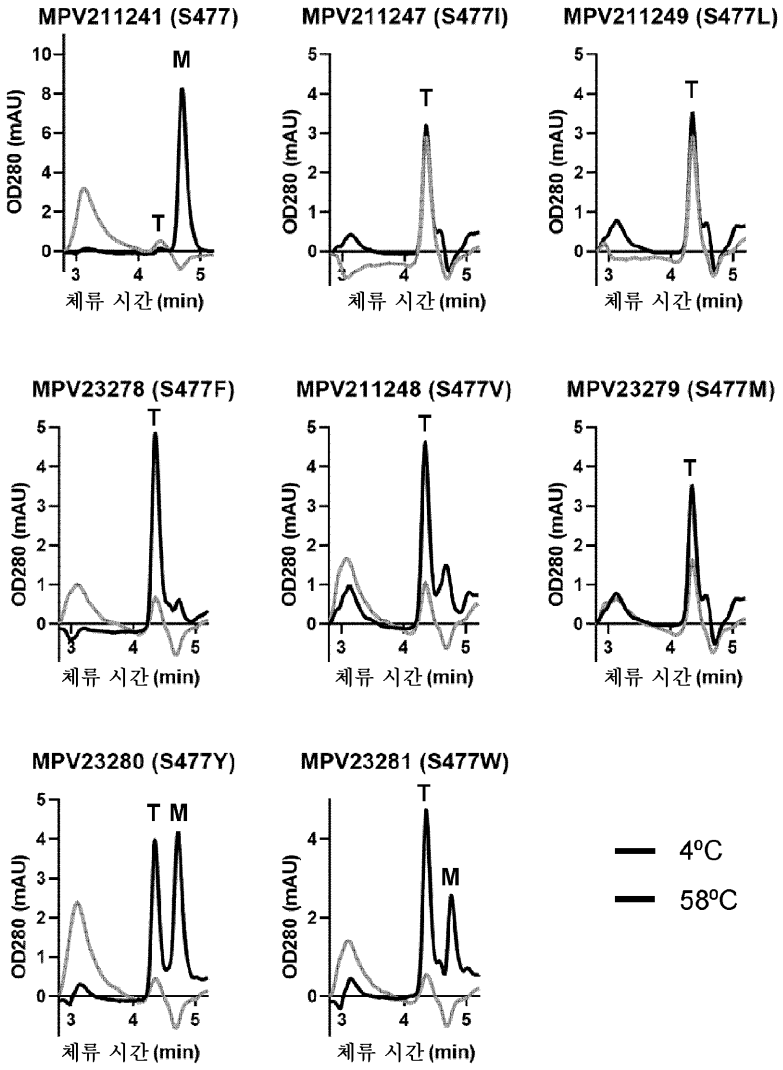
E.



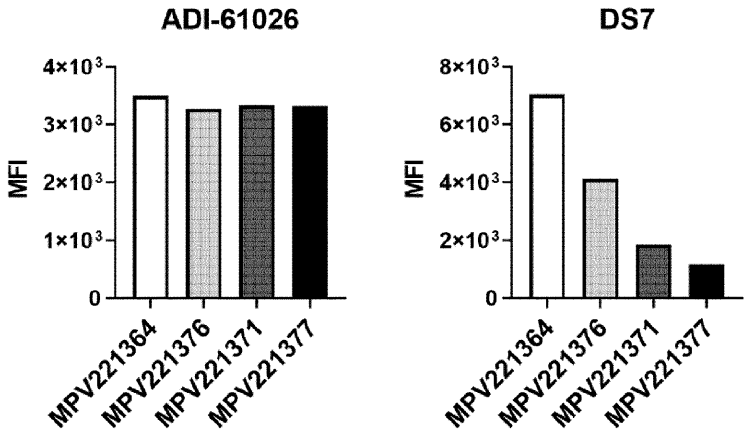
도면19


A.
OD280 (mAU)
체류 시간 (min)
MPV220847 (S477)
MPV220115 (S477I)
MPV220851 (S477L)
B.
MPV220847 (S477)
MPV220115 (S477I)
MPV220851 (S477L)
형광 신호의 1차 미분계수
온도 (°C)
Tm = 68.7 °C
Tm = 71.3 °C
Tm = 71.2°C
C.
결합 속도
ADI-14448
DS7
MPV220847 (S477)
MPV220115 (S477I)
MPV220851 (S477L)

도면20


MPV211241 (S477)
MPV211247 (S477I)
MPV211249 (S477L)
MPV23278 (S477F)
MPV211248 (S477V)
MPV23279 (S477M)
MPV23280 (S477Y)
MPV23281 (S477W)
OD280 (mAU)
체류 시간 (min)
T
M
4°C
58°C

도면21

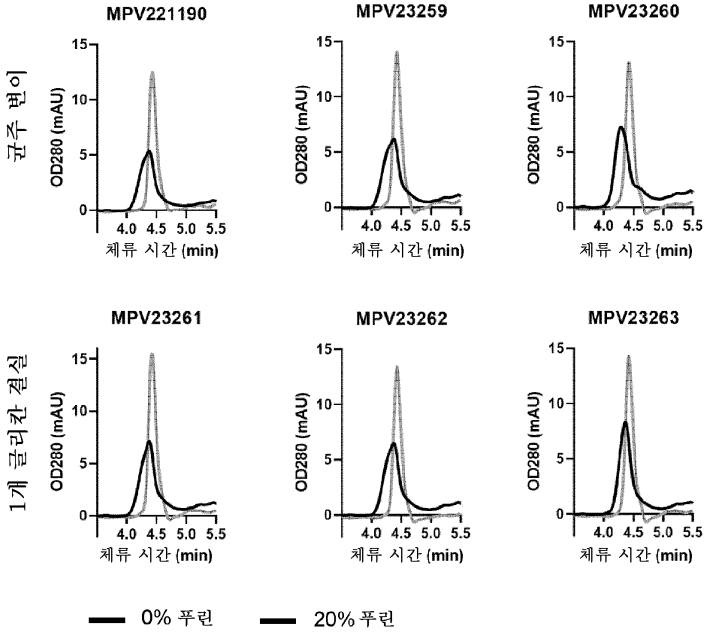

ADI-61026
DS7
MFI
MPV221364
MPV221376
MPV221371
MPV221377

도면22i

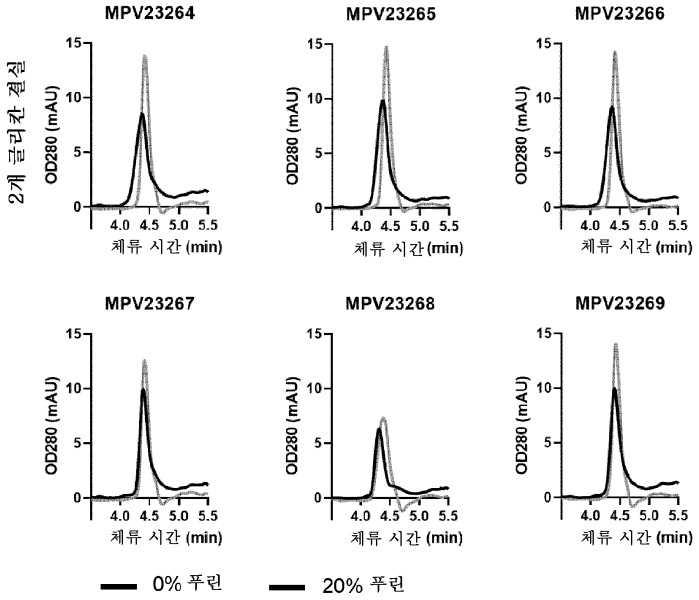
A.

구축물	설명	P27 서열
MPV23260	p27-B	RRRREAPQYMNYTINTTKNLNVSISKKRKRR
MPV23259	p27-A	RRRRELPRFMNYTLNNTKNTNVTLSKKRKRR
MPV23261	p27-A_Δ글리칸 1	RRRRELPRFMQYTLNNTKNTNVTLSKKRKRR
MPV23262	p27-A_Δ글리칸 2	RRRRELPRFMNYTLQNTKNTNVTLSKKRKRR
MPV23263	p27-A_Δ글리칸 3	RRRRELPRFMNYTLNNTKNTQVTLSKKRKRR
MPV23264	p27-A_Δ글리칸 1+2	RRRRELPRFMQYTLQNTKNTNVTLSKKRKRR
MPV23265	p27-A_Δ글리칸 2+3	RRRRELPRFMNYTLQNTKNTQVTLSKKRKRR
MPV23266	p27-A_Δ글리칸 1+3	RRRRELPRFMQYTLNNTKNTQVTLSKKRKRR
MPV23267	p27-A_Δ글리칸 1+2+3	RRRRELPRFMQYTLQNTKNTQVTLSKKRKRR
MPV23268	p27-A_결실-1	RRRRE---------NNTKNTNVTLSKKRKRR
MPV23269	p27-A_결실-2	RRRRELPRFMNYTL----------KKRKRR

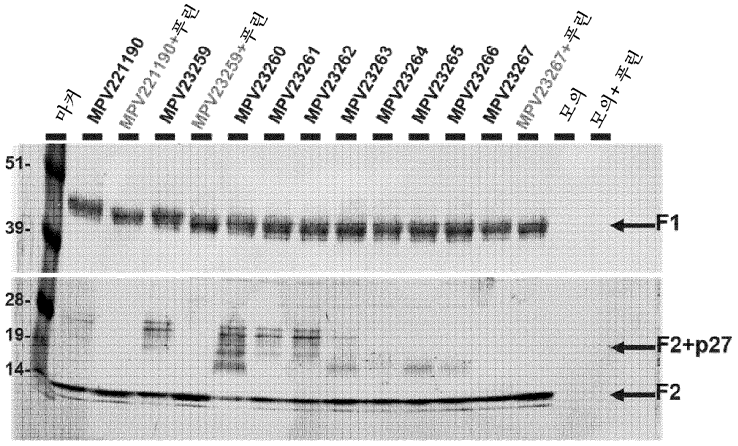
B.



도면22ii


MPV23264
MPV23265
MPV23266
MPV23267
MPV23268
MPV23269
2개 글리칸 결실
OD280 (mAU)
체류 시간 (min)
0% 푸린
20% 푸린

C.


마커
MPV221190
MPV221190+푸린
MPV23259
MPV23259+푸린
MPV23260
MPV23261
MPV23262
MPV23263
MPV23264
MPV23265
MPV23266
MPV23267
MPV23267+푸린
모의
모의+푸린
51-
39-
28-
19-
14-
F1
F2+p27
F2

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.