



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0062467
(43) 공개일자 2017년06월07일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/12 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/015 (2006.01) A61K 39/08 (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A61K 39/12 (2013.01)
A61K 39/015 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-7008950</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2015년09월29일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2017년03월31일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2015/052884</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2016/054003
국제공개일자 2016년04월07일</p> <p>(30) 우선권주장
62/058,304 2014년10월01일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
더 트러스티스 오브 더 유니버시티 오브 펜실바니아
미국 19104 펜실바니아주 필라델피아 슈트 200 케스트너트스트리트 3160
이노비오 파마슈티컬즈, 인크.
미국 19462 펜실베니아주 폴리머스 미팅 스위트 110 저먼타운 파이크 660</p> <p>(72) 발명자
웨이너 데이비드 비.
미국 19066 펜실베니아주 메리온 비콤 레인 717
모로우, 매튜, 피.
미국 펜실바니아 19004, 발라 시니드, 7 메이플 애비뉴</p> <p>(74) 대리인
특허법인엠에이피에스</p> |
|---|--|

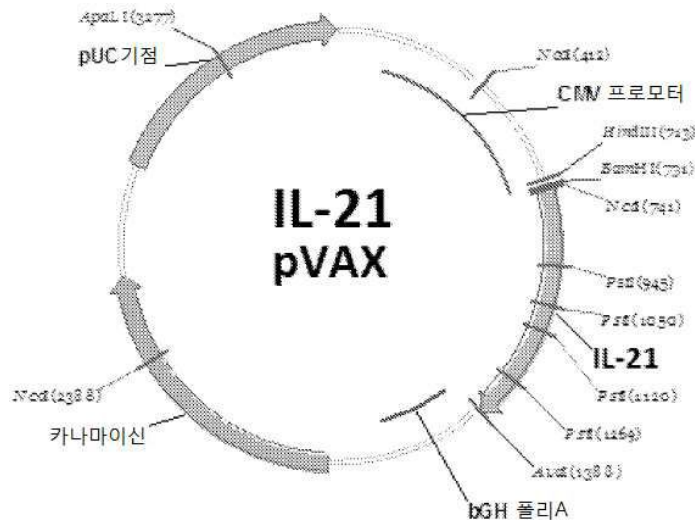
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 항원 및 어쥘먼트로서 인터류킨-21을 갖는 백신

(57) 요약

항원 및 IL-21을 포함하는 백신이 본원에서 개시된다. 개체에서 면역 반응을 증가시키기 위한 방법 역시 본원에서 개시된다. 이들 방법은 치료가 필요한 개체에 백신을 투여하는 것을 포함할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 39/08 (2013.01)

A61K 39/39 (2013.01)

A61K 2039/53 (2013.01)

A61K 2039/55527 (2013.01)

C12N 2740/16134 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

항원 및 IL-21을 포함하는 백신.

청구항 2

청구항 1에 있어서, IL-21은 서열 번호:3에서 진술된 바와 같은 뉴클레오티드 서열에 최소한 약 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열 및 서열 번호:3에서 진술된 바와 같은 뉴클레오티드 서열로 구성된 군에서 선택되는 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩되는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 3

청구항 2에 있어서, IL-21은 서열 번호:3에서 진술된 바와 같은 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩되는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 항원은 첫 번째 핵산에 의해 인코딩되고, 그리고 IL-21은 두 번째 핵산에 의해 인코딩되는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 5

청구항 4에 있어서, 청구항 4의 항원과 동일한 인코딩된 핵산 서열을 갖는 항원 펩티드, 그리고 청구항 4의 IL-21과 동일한 인코딩된 핵산 서열을 갖는 IL-21 펩티드를 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 6

청구항 4에 있어서, 두 번째 핵산은 발현 벡터를 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 항원은 인간 유두종 바이러스 (HPV) 항원, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 항원, 인플루엔자 항원, 열대열원충 (*Plasmodium falciparum*) 항원, 클로스트리듐 디피실레 (*C. difficile*) 항원, 그리고 이들의 단편으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 8

청구항 7에 있어서, HPV 항원은 HPV16 E6 항원, HPV16 E7 항원, 그리고 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 9

청구항 7에 있어서, HIV 항원은 Env A, Env B, Env C, Env D, B Nef-Rev, Gag, 그리고 이들의 임의의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 10

청구항 7에 있어서, 인플루엔자 항원은 H1 HA, H2 HA, H3 HA, H5 HA, BHA 항원, 그리고 이들의 임의의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 11

청구항 7에 있어서, 열대열원충 (*Plasmodium falciparum*) 항원은 포자소체 (CS) 항원을 포함하는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 12

제 7항에 있어서, 클로스트리듐 디피실레 (*C. difficile*) 항원은 독소 A, 독소 B, 그리고 이들의 조합으로 구성된 균에서 선택되는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 13

청구항 1에 있어서, 제약학적으로 허용되는 부형제를 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 백신.

청구항 14

치료가 필요한 개체에서 면역 반응을 증가시키기 위한 방법에 있어서, 상기 방법은 청구항 1 또는 2 중에서 어느 한 항의 백신을 상기 개체에 투여하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

청구항 14에 있어서, 백신을 투여하는 것은 전기천공을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

청구항 14에 있어서, 개체에서 면역 반응을 증가시키는 것은 개체에서 세포성 면역 반응, 체액성 면역 반응, 또는 세포성 및 체액성 면역 반응 둘 모두를 증가시키는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

서열 번호:3 및 서열 번호:3에 95% 또는 그 이상 동일한 뉴클레오티드 서열로 구성된 균에서 선택되는 하나 또는 그 이상의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자.

청구항 18

청구항 17에 있어서, 핵산 분자는 플라스미드인 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련된 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2014년 10월 1일자 제출된 U.S. 특허가출원 번호 62/058,304에 우선권을 주장하고, 이것은 본원에서 참조로서 편입된다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본 발명은 항원 및 IL-21을 포함하는 백신, 그리고 이런 백신을 투여하기 위한 방법에 관계한다.

배경 기술

[0005] 배경

[0006] 백신은 특정 질환에 대한 보호 및/또는 치료를 제공하기 위해 개체에서 면역 반응을 자극하는데 이용된다. 일부 백신은 면역 반응을 유도하기 위한 항원을 포함한다. 일부 항원은 강한 면역 반응을 이끌어내는 반면, 다른 항원은 약한 면역 반응을 이끌어낸다. 항원에 대한 약한 면역 반응은 백신에서 어쥬번트를 포함함으로써 강화될 수 있다. 어쥬번트는 많은 상이한 형태, 예를 들면, 알루미늄 염, 오일 유제, 세균 또는 다른 병원체의 무균 성분, 사이토킨, 기타 등등으로 나타난다.

[0007] 사이토킨은 다른 세포의 행태에 영향을 주는 세포에 의해 만들어지고, 그리고 많은 어쥬번트와 달리, 특정한 면역 반응을 조절할 수 있는 단백질이다. 이와 같은 한 가지 사이토킨은 인터류킨-21 (IL-21)인데, 이것은 림프구 양 및 골수성 개체군뿐만 아니라 상피 세포에서 작용을 발휘하고, 선천성 및 적응성 면역 반응 둘 모두를 조절한다. IL-21은 여러 CD4+ T 세포 부분집합의 기능적 분화에 기여하고, CD8+ T 세포의 증식 및 기능적 반응을 증

진하고, 그리고 B 세포 면역글로불린 반응의 발달에서 일정한 역할을 수행하는 것으로 밝혀졌다. IL-21은 CD8+ T 세포 개체군뿐만 아니라 T 세포 보조 (TFH) 세포, T 세포 유형 17 (Th17) 세포 및 자연 킬러 T (NKT) 세포를 비롯한 CD4+ T 세포 개체군에 의해 생산된다.

[0008] 백신은 또한, 많은 상이한 조직 (가령, 근육내, 피내 등) 내로 많은 상이한 방식 (가령, 주사, 경구 등)으로 투여된다. 하지만, 모든 전달 방법이 동등한 것은 아니다. 일부 전달 방법은 개체의 개체군 내에서 더욱 큰 순응도를 허용하는 반면, 다른 전달 방법은 백신의 면역원성 및/또는 안전성에 영향을 줄 수 있다. 따라서, 항원의 동일성 및 투여 루트와 상관없이 항원성 반응을 증가시키는 안전하고 더욱 효과적인 어쥬번트의 개발이 당분야에서 여전히 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] **발명의 요약**

[0010] 본 발명은 항원 및 IL-21을 포함하는 백신에 관계한다. IL-21은 서열 번호:3에서 진술된 바와 같은 뉴클레오티드 서열에 최소한 약 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열 및 서열 번호:3에서 진술된 바와 같은 뉴클레오티드 서열로 구성된 군에서 선택되는 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩될 수 있다. IL-21은 서열 번호:3에서 진술된 바와 같은 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩될 수 있다.

[0011] 항원은 첫 번째 핵산에 의해 인코딩될 수 있고, 그리고 IL-21은 두 번째 핵산에 의해 인코딩될 수 있다. 두 번째 핵산은 발현 백터를 더욱 포함할 수 있다. 백신은 상기 항원과 동일한 인코딩된 핵산 서열을 갖는 항원 펩티드, 그리고 상기 IL-21과 동일한 인코딩된 핵산 서열을 갖는 IL-21 펩티드를 더욱 포함할 수 있다.

[0012] 항원은 인간 유두종 바이러스 (HPV) 항원, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 항원, 인플루엔자 항원, 열대열원충 (*Plasmodium falciparum*) 항원, 클로스트리듐 디피실레 (*C. difficile*) 항원, 그리고 이들의 단편으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. HPV 항원은 HPV16 E6 항원, HPV16 E7 항원, 그리고 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. HIV 항원은 Env A, Env B, Env C, Env D, B Nef-Rev, Gag, 그리고 이들의 임의의 조합으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 인플루엔자 항원은 H1 HA, H2 HA, H3 HA, H5 HA, BHA 항원, 그리고 이들의 임의의 조합으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 열대열원충 (*Plasmodium falciparum*) 항원은 포자소체 (CS) 항원을 포함할 수 있다. 클로스트리듐 디피실레 (*C. difficile*) 항원은 독소 A, 독소 B, 그리고 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택될 수 있다.

[0013] 백신은 제약학적으로 허용되는 부형제를 더욱 포함할 수 있다.

[0014] 본 발명은 치료가 필요한 개체에서 면역 반응을 증가시키기 위한 방법에 또한 관계한다. 상기 방법은 항원 및 IL-21을 포함하는 백신을 투여하는 것을 포함할 수 있다. IL-21은 서열 번호:3에서 진술된 바와 같은 뉴클레오티드 서열에 최소한 약 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열 및 서열 번호:3에서 진술된 바와 같은 뉴클레오티드 서열로 구성된 군에서 선택되는 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩될 수 있다. IL-21은 서열 번호:3에서 진술된 바와 같은 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩될 수 있다.

[0015] 백신을 투여하는 것은 전기천공을 포함할 수 있다. 개체에서 면역 반응을 증가시키는 것은 개체에서 세포성 면역 반응, 체액성 면역 반응, 또는 세포성 및 체액성 면역 반응 둘 모두를 증가시키는 것을 포함할 수 있다.

[0016] 본 발명은 서열 번호:3 및 서열 번호:3에 95% 또는 그 이상 동일한 뉴클레오티드 서열로 구성된 군에서 선택되는 하나 또는 그 이상의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자에 더욱 관계한다. 핵산 분자는 플라스미드일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] **도면의 간단한 설명**

도면 1은 플라스미드 pVAX-mIL-21 Opt의 지도를 보여주는데, 이것은 생쥐 IL-21을 인코딩하는 최적화된 핵산을 포함한다.

도면 2는 형질감염된 HEK 293T 세포로부터 상층액에서 IL-21의 발현을 보여준다.

도면 3은 B 세포 ELISpot 검정을 이용하여, 클로스트리듐 디피실레 (*C. difficile*)로부터 독소 A 및 독소 B 항원

을 인코딩하는 플라스미드로 근육내 루트를 통해 면역화된 생쥐에서 체액성 면역 반응을 보여준다.

도면 4는 ELISA 검정을 이용하여, 근육내 루트를 통해 면역화된 생쥐에서 체액성 면역 반응을 보여준다.

도면 5는 인터페론 감마 ELISpot 검정을 이용하여, HIV로부터 EnvA 및 EnvC 항원을 인코딩하는 플라스미드로 근육내 루트를 통해 면역화된 생쥐에서 세포성 면역 반응을 보여준다.

도면 6은 ELISA 검정을 이용하여, HIV로부터 EnvA 및 EnvC 항원을 인코딩하는 플라스미드로 근육내 루트를 통해 면역화된 생쥐에서 체액성 면역 반응을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 상세한 설명

[0019] 본 발명은 IL-21을 어쥬번트로서 이용함으로써 개체에서 항원에 대한 면역 반응을 증가시키는데 이용될 수 있는 백신에 관계한다. IL-21은 단일 사슬, T-세포 유래된 사이토킨이다.

[0020] 일부 경우에, IL-21은 보편적인 어쥬번트로서 기능할 수 있는데, 그 이유는 더욱 큰 면역 반응이 항원 단독을 포함하는 백신과 비교하여, 항원의 공급원 또는 투여 루트에 상관없이 개체에서 유도되기 때문이다. IL-21은 바이러스 및 세균 항원, 예를 들면, HIV 항원 및 클로스트리듐 디피실레 (*C. difficile*) 항원 둘 모두의 면역 반응을 각각 더욱 증강할 수 있다. IL-21은 게다가, 항원과 함께 DNA 또는 펩티드 단독과 대비하여, 더욱 큰 면역 반응을 위한 핵산/펩티드 조합인 항원과 함께 DNA/펩티드 조합의 형태일 수 있다. 일부 경우에, IL-21은 증가된 인터페론- γ (IFN- γ) 생산에 의해 증명된 바와 같이, 근육과 피부 조직 둘 모두에서 면역 반응을 더욱 증대시킬 수 있다.

[0021] 1. 정의

[0022] 달리 정의되지 않으면, 본원에서 이용된 모든 기술 용어와 과학 용어는 당해 분야의 평균적 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 충돌하는 경우에, 정의를 비롯한 본 문서가 우선할 것이다. 비록 본원에서 설명된 것들과 유사하거나 균등한 임의의 방법과 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 이용될 수 있지만, 바람직한 방법과 재료가 하기에 설명된다. 본원에서 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 기타 참고문헌은 전체적으로 참조로서 편입된다. 본원에서 개시된 재료, 방법, 그리고 실례는 단지 예시이고 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

[0023] 용어 "포함한다", "포함한다", "갖는", "갖는다", "할 수 있다", "내포한다" 및 이들의 변이체는 본원에서 이용된 바와 같이, 추가 행동 또는 구조의 가능성을 배제하지 않는 개방형 이행성 관용구, 용어, 또는 단어인 것으로 의도된다. 단수 형태 ("a", "an" 및 "the")는 문맥에서 달리 지시되지 않으면, 복수 지시대상을 포함한다. 본 발명은 또한, 명시적으로 진술되는 지의 여부에 상관없이, 본원에서 제공된 구체예 또는 원소를 "포함하고," 이들로 "구성되고", 그리고 이들로 "본질적으로 구성되는" 다른 구체예를 예기한다.

[0024] "어쥬번트"는 본원에서 이용된 바와 같이, 항원의 면역원성을 증강하기 위해 본원에서 설명된 백신에 첨가된 임의의 분자를 의미한다.

[0025] "코딩 서열" 또는 "인코딩 핵산"은 본원에서 이용된 바와 같이, 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 (RNA 또는 DNA 분자)을 의미한다. 코딩 서열은 핵산이 투여되는 개체 또는 포유동물의 세포에서 발현을 주도할 수 있는 프로모터와 폴리아데닐화 신호를 포함하는 조절 요소에 작동가능하게 연결된 개시와 종결 신호를 더욱 포함할 수 있다.

[0026] "보체" 또는 "상보성"은 본원에서 이용된 바와 같이, 핵산 분자의 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유사체 사이에 왓슨 크릭 (가령, A-T/U 및 C-G) 또는 후그스탄형 염기 대합을 의미한다.

[0027] 본원에서 교체 가능하게 이용되는 "전기천공", "전기투과화", 또는 "동전기적 증강" ("EP")은 생체막에서 현미경적 경로 (구멍)를 유도하기 위한 막경유 전기장 펄스의 이용을 의미한다; 이들의 존재는 생체분자, 예를 들면, 플라스미드, 올리고뉴클레오티드, siRNA, 약물, 이온, 그리고 물이 세포 막의 한쪽으로부터 다른 쪽으로 나아가도록 허용한다.

[0028] "단편" 또는 "면역원성 단편"은 본원에서 이용된 바와 같이, 포유동물에서 면역 반응을 이끌어내고 및/또는 증가시킬 수 있는 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열 또는 이의 부분을 의미한다. 단편은 하기에 진술된 단백질 단편을 인코딩하는 다양한 뉴클레오티드 서열 중에서 최소한 하나에서 선택되는 DNA 단편일 수 있다. 단편은 하

기에 진술된 핵산 서열 중에서 하나 또는 그 이상의 최소한 10%, 최소한 20%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 60%, 최소한 70%, 최소한 80%, 최소한 90%, 또는 최소한 95%를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 단편은 하기에 진술된 핵산 서열 중에서 최소한 하나의 최소한 20개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 30개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 40개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 50개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 60개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 70개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 80개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 90개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 100개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 150개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 200개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 250개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 300개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 350개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 400개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 450개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 500개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 550개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 600개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 650개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 700개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 750개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 800개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 850개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 900개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 최소한 950개 뉴클레오티드 또는 그 이상, 또는 최소한 1000개 뉴클레오티드 또는 그 이상을 포함할 수 있다.

[0029] 단편 또는 번역원성 단편은 본원에서 이용된 바와 같이, 포유동물에서 번역 반응을 유도 및/또는 증가시킬 수 있는 폴리펩티드 서열 또는 이의 부분을 또한 의미한다. 단편은 하기에 진술된 다양한 아미노산 서열 중에서 최소한 하나에서 선택되는 폴리펩티드 단편일 수 있다. 단편은 하기에 진술된 단백질 중에서 하나 또는 그 이상의 최소한 10%, 최소한 20%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 60%, 최소한 70%, 최소한 80%, 최소한 90%, 또는 최소한 95%를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 단편은 하기에 진술된 단백질 중에서 최소한 하나의 최소한 20개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 30개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 40개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 50개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 60개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 70개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 80개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 90개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 100개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 110개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 120개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 130개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 140개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 150개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 160개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 170개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 180개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 190개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 200개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 210개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 220개 아미노산 또는 그 이상, 최소한 230개 아미노산 또는 그 이상, 또는 최소한 240개 아미노산 또는 그 이상을 포함할 수 있다.

[0030] "유전자 구조체" 또는 "구조체"는 본원에서 이용된 바와 같이, 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 또는 RNA 분자를 지칭한다. 코딩 서열은 핵산 분자가 투여되는 개체의 세포에서 발현을 주도할 수 있는 프로모터와 폴리아데닐화 신호를 포함하는 조절 요소에 작동가능하게 연결된 개시와 종결 신호를 포함한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "발현가능 형태"는 개체의 세포 내에 존재할 때, 코딩 서열이 발현되도록 단백질을 인코딩하는 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 필요한 조절 요소를 내포하는 유전자 구조체 또는 구조체를 지칭한다.

[0031] "동일한" 또는 "동일성"은 2개 또는 그 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 문맥에서 본원에서 이용된 바와 같이, 이들 서열이 특정된 영역에 걸쳐 동일한 잔기의 특정된 백분율을 갖는다는 것을 의미한다. 백분율은 이들 두 서열을 최적으로 정렬하고, 특정된 영역에 걸쳐 이들 두 서열을 비교하고, 동일한 잔기가 양쪽 서열에서 발생하는 위치의 숫자를 결정하여 정합된 위치의 숫자를 산출하고, 정합된 위치의 숫자를 특정된 영역 내에 위치의 총수로 나눗셈하고, 그리고 결과에 100을 곱셈하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산될 수 있다. 이들 두 서열이 상이한 길이를 갖거나 또는 정렬이 하나 또는 그 이상의 엇갈린 단부를 생산하고 비교의 특정된 영역이 단일 서열만을 포함하는 사례에서, 상기 단일 서열의 잔기는 계산의 분모에는 포함되지만 분자에는 포함되지 않는다. DNA와 RNA를 비교할 때, 티민 (T)과 우라실 (U)은 동등하게 고려될 수 있다. 동일성은 수동으로 또는 컴퓨터 서열 알고리즘, 예를 들면, BLAST 또는 BLAST 2.0을 이용함으로써 수행될 수 있다.

[0032] "번역 반응"은 본원에서 이용된 바와 같이, 항원의 도입에 응하여, 숙주의 면역계, 예를 들면, 포유동물의 면역계의 활성화를 의미한다. 번역 반응은 세포성 또는 체액성 면역 반응, 또는 둘 모두의 형태일 수 있다.

[0033] "핵산" 또는 "올리고뉴클레오티드" 또는 "폴리뉴클레오티드"는 본원에서 이용된 바와 같이, 함께 공유 연결된 최소한 2개의 뉴클레오티드를 의미한다. 단일 가닥의 묘사는 또한, 상보성 가닥의 서열을 규정한다. 따라서, 핵산은 또한, 묘사된 단일 가닥의 상보성 가닥을 포괄한다. 핵산의 많은 변이체가 소정의 핵산으로서 동일한 목적을 위해 이용될 수 있다. 따라서, 핵산은 또한, 실제적으로 동일한 핵산 및 이들의 보체를 포괄한다. 단일 가닥

은 엄격한 혼성화 조건 하에 표적 서열에 혼성화할 수 있는 프로브를 제공한다. 따라서, 핵산은 또한, 엄격한 혼성화 조건 하에 혼성화하는 프로브를 포괄한다.

- [0034] 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있거나, 또는 이중 가닥과 단일 가닥 서열 둘 모두의 부분을 내포할 수 있다. 핵산은 DNA (유전체와 cDNA 둘 모두), RNA, 또는 하이브리드일 수 있고, 여기서 상기 핵산은 테옥시리보-와 리보뉴클레오타이드의 조합, 그리고 우라실, 아데닌, 티민, 시토신, 구아닌, 이노신, 크산틴 하이포크산틴, 이소시토신 및 이소구아닌을 비롯한 염기의 조합을 내포할 수 있다. 핵산은 화학적 합성 방법에 의해 또는 재조합 방법에 의해 획득될 수 있다.
- [0035] "작동가능하게 연결된"은 본원에서 이용된 바와 같이, 유전자의 발현이 상기 유전자가 공간적으로 연결되는 프로모터의 제어 하에 있다는 것을 의미한다. 프로모터는 자신의 제어 하에 유전자의 5' (상류) 또는 3' (하류)에 배치될 수 있다. 프로모터와 유전자 사이에 거리는 프로모터 및 상기 프로모터가 유래되는 유전자 사이에 거리와 대략 동일할 수 있다. 당분야에서 공지된 바와 같이, 이러한 거리에서 변이는 프로모터 기능의 손실 없이 수용될 수 있다.
- [0036] "펩티드", "단백질", 또는 "폴리펩티드"는 본원에서 이용된 바와 같이, 아미노산의 연결된 서열을 의미할 수 있고, 그리고 자연, 합성, 또는 자연과 합성의 변형 또는 조합일 수 있다.
- [0037] "프로모터"는 본원에서 이용된 바와 같이, 세포에서 핵산의 발현을 부여하거나, 활성화하거나 또는 증강할 수 있는 합성 또는 자연적으로-유래된 분자를 의미한다. 프로모터는 발현을 더욱 증강하고 및/또는 이의 공간 발현 및/또는 시간 발현을 변경하기 위해 하나 또는 그 이상의 특정한 전사 조절 서열을 포함할 수 있다. 프로모터는 또한, 원위 인핸서 또는 억제인자 원소를 포함할 수 있고, 이것은 전사의 출발 부위로부터 많게는 수천 개의 염기쌍으로서 위치될 수 있다. 프로모터는 바이러스, 세균, 진균, 식물, 곤충, 그리고 동물을 비롯한 공급원으로부터 유래될 수 있다. 프로모터는 발현이 발생하는 세포, 조직 또는 장기에 대하여 또는, 발현이 발생하는 발달기에 대하여, 또는 외부 자극, 예를 들면, 생리학적 스트레스, 병원체, 금속 이온, 또는 유도제에 응하여 유전자 성분의 발현을 구조성으로 또는 차별적으로 조절할 수 있다. 프로모터의 대표적인 실례는 박테리오파지 T7 프로모터, 박테리오파지 T3 프로모터, SP6 프로모터, lac 오퍼레이터-프로모터, tac 프로모터, SV40 후기 프로모터, SV40 초기 프로모터, RSV-LTR 프로모터, CMV IE 프로모터, SV40 초기 프로모터 또는 SV40 후기 프로모터 및 CMV IE 프로모터를 포함한다.
- [0038] "신호 펩티드" 및 "리더 서열"은 본원에서 교체가가능하게 이용되고, 그리고 본원에서 진술된 단백질 또는 아미노산 서열의 아미노 말단에서 연결될 수 있는 아미노산 서열을 지칭한다. 신호 펩티드/리더 서열은 전형적으로, 단백질의 국지화를 주도한다. 본원에서 이용된 신호 펩티드/리더 서열은 바람직하게는, 자신이 생산되는 세포로부터 단백질의 분비를 용이하게 한다. 신호 펩티드/리더 서열은 종종, 단백질의 나머지에서 개열되고, 세포로부터 분비 시에 종종 성숙 단백질로서 지칭된다. 신호 펩티드/리더 서열은 단백질의 아미노 말단에서 연결된다.
- [0039] "개체"는 본원에서 이용된 바와 같이, 본원에서 설명된 백신으로 면역화되는 것이 요망되거나 또는 필요한 포유동물을 의미할 수 있다. 포유동물은 인간, 침팬지, 개, 고양이, 말, 소, 생쥐, 또는 쥐일 수 있다.
- [0040] "엄격한 혼성화 조건"은 본원에서 이용된 바와 같이, 첫 번째 핵산 서열 (가령, 프로브)이 예로서, 핵산의 복합체 혼합물 내에서 두 번째 핵산 서열 (가령, 표적)에 혼성화하는 조건을 의미할 수 있다. 엄격한 조건은 서열 의존적이고 상이한 환경에서 상이할 것이다. 엄격한 조건은 규정된 이온 강도 pH에서 특정한 서열에 대한 열 용점 (T_m)보다 약 5-10°C 더욱 낮도록 선별될 수 있다. T_m 은 표적에 상보적인 프로브의 50%가 평형에서 표적 서열에 혼성화하는 온도 (규정된 이온 강도, pH, 그리고 핵 농도 하에)일 수 있다 (표적 서열이 T_m 에서 과잉으로 존재할 때, 프로브 중에서 50%가 평형에서 점유된다). 엄격한 조건은 염 농도가 pH 7.0 내지 8.3에서 약 1.0 M 나트륨 이온, 예를 들면, 약 0.01-1.0 M 나트륨 이온 농도 (또는 다른 염)보다 적고, 그리고 온도가 짧은 프로브 (가령, 약 10-50개 뉴클레오타이드)의 경우에 최소한 약 30°C 및 긴 프로브 (가령, 약 50개보다 큰 뉴클레오타이드)의 경우에 최소한 약 60°C인 것들이다. 엄격한 조건은 또한, 불안정화 작용제, 예를 들면, 포름아미드의 첨가로 달성될 수 있다. 선별적인 또는 특정한 혼성화의 경우에, 양성 신호는 배경 혼성화의 최소한 2 내지 10배일 수 있다. 예시적인 엄격한 혼성화 조건은 다음을 포함한다: 50% 포름아미드, 5x SSC, 그리고 1% SDS, 42°C에서 배양, 또는 5x SSC, 1% SDS, 65°C에서 배양, 65°C에서 0.2x SSC와 0.1% SDS로 세척.
- [0041] "실제적으로 상보성"은 본원에서 이용된 바와 같이, 첫 번째 서열이 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100개 또는 그 이상 뉴클레오타이드의 영역에 걸쳐 두 번째 서열의 보체와 최소한 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%,

84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 또는 이들 두 서열이 엄격한 혼성화 조건 하에 혼성화한다는 것을 의미할 수 있다.

[0042] "실제적으로 동일한"은 본원에서 이용된 바와 같이, 첫 번째와 두 번째 아미노산 서열이 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100개 또는 그 이상 아미노산의 영역에 걸쳐 최소한 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다는 것을 의미할 수 있다. 실제적으로 동일한은 또한, 첫 번째 핵산 서열과 두 번째 핵산 서열이 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100개 또는 그 이상 뉴클레오티드의 영역에 걸쳐 최소한 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다는 것을 의미할 수 있다.

[0043] "치료" 또는 "치료하는"은 본원에서 이용된 바와 같이, 질환을 예방하거나, 억제하거나, 억압하거나, 또는 완전히 제거하는 수단을 통해 질환으로부터 동물을 보호하는 것을 의미할 수 있다. 질환을 예방하는 것은 질환의 시작에 앞서, 본 발명의 백신을 동물에 투여하는 것을 수반한다. 질환을 억제하는 것은 질환의 유도 후, 하지만 이의 임상적 출현 이전에 본 발명의 백신을 동물에 투여하는 것을 수반한다. 질환을 억압하는 것은 질환의 임상적 출현 후, 본 발명의 백신을 동물에 투여하는 것을 수반한다.

[0044] "변이체"는 핵산에 대하여 본원에서 이용된 바와 같이, (i) 참조된 뉴클레오티드 서열의 부분 또는 단편; (ii) 참조된 뉴클레오티드 서열 또는 이의 부분의 보체; (iii) 참조된 핵산 또는 이의 보체와 실제적으로 동일한 핵산; 또는 (iv) 참조된 핵산, 이의 보체, 또는 이와 실제적으로 동일한 서열에 엄격한 조건 하에 혼성화하는 핵산을 의미한다.

[0045] 변이체는 아미노산의 삽입, 결실, 또는 보존성 치환에 의해 아미노산 서열에서 다르지만, 최소한 하나의 생물학적 활성을 유지하는 펩티드 또는 폴리펩티드로서 더욱 규정될 수 있다. "생물학적 활성"의 대표적인 실례는 특이적 항체에 의해 결합되거나 또는 면역 반응을 증진하는 능력을 포함한다. 변이체는 또한, 최소한 하나의 생물학적 활성을 유지하는 아미노산 서열을 갖는 참조된 단백질과 실제적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 단백질을 의미할 수 있다. 아미노산의 보존성 치환, 다시 말하면, 아미노산을 유사한 성질 (가령, 하전된 영역의 친수성, 정도와 분포)의 상이한 아미노산으로 대체하는 것은 경미한 변화를 전형적으로 수반하는 것으로 당분야에서 인식된다. 이들 경미한 변화는 부분적으로, 당분야에서 이해되는 바와 같이 아미노산의 수치 지수를 고려함으로써 확인될 수 있다. Kyte et al., J. Mol. Biol. 157:105-132 (1982). 아미노산의 수치 지수는 이의 소수성과 전하의 고려에 기초된다. 유사한 수치 지수의 아미노산이 치환될 수 있고 단백질 기능을 여전히 유지하는 것으로 당분야에서 알려져 있다. 한 양상에서, ± 2 의 수치 지수를 갖는 아미노산이 치환된다. 아미노산의 친수성 역시 생물학적 기능을 유지하는 단백질을 유발하는 치환을 드러내는데 이용될 수 있다. 펩티드의 문맥에서 아미노산의 친수성의 고려는 항원성 및 면역원성과 충분히 상관하는 것으로 보고된 유용한 척도인, 펩티드의 최대 국부 평균 친수성의 계산을 허용한다. 유사한 친수성 값을 갖는 아미노산의 치환은 당분야에서 이해되는 바와 같이, 생물학적 활성, 예를 들면, 면역원성을 유지하는 펩티드를 유발할 수 있다. 치환은 서로 ± 2 이내에 친수성 값을 갖는 아미노산으로 수행될 수 있다. 아미노산의 소수성 지수와 친수성 값 둘 모두 상기 아미노산의 특정 측쇄에 의해 영향을 받는다. 상기 관찰과 일치하게, 생물학적 기능과 양립하는 아미노산 치환은 소수성, 친수성, 전하, 크기, 그리고 다른 성질에 의해 드러난 바와 같이, 아미노산의 상대적 유사성, 그리고 특히, 이들 아미노산의 측쇄에 의존하는 것으로 이해된다.

[0046] 변이체는 전체 유전자 서열 또는 이의 단편의 전장에 걸쳐 실제적으로 동일한 핵산 서열일 수 있다. 핵산 서열은 유전자 서열 또는 이의 단편의 전장에 걸쳐 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일할 수 있다. 변이체는 아미노산 서열 또는 이의 단편의 전장에 걸쳐 실제적으로 동일한 아미노산 서열일 수 있다. 아미노산 서열은 아미노산 서열 또는 이의 단편의 전장에 걸쳐 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일할 수 있다.

[0047] "백터"는 본원에서 이용된 바와 같이, 복제 기점을 내포하는 핵산 서열을 의미한다. 백터는 바이러스 백터, 박테리오파지, 세균 인공 염색체 또는 효모 인공 염색체일 수 있다. 백터는 DNA 또는 RNA 백터일 수 있다. 백터는 자기 복제 염색체의 백터일 수 있고, 그리고 바람직하게는, DNA 플라스미드이다. 백터는 하나 또는 그 이상의

이중유래 핵산 서열을 내포하거나 또는 포함할 수 있다.

[0048] 본원에서 수치 범위의 열거의 경우에, 정밀도의 동일한 정도에서 그 사이에 각 개재성 숫자가 명시적으로 예기된다. 가령, 6-9의 범위의 경우에, 숫자 7과 8이 6과 9에 더하여 예기되고, 그리고 범위 6.0-7.0의 경우에, 숫자 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 그리고 7.0이 명시적으로 예기된다.

[0049] **2. 백신**

[0050] 항원 및 어쥬번트를 포함하는 백신이 본원에서 제공된다. 상기 백신은 개체에서 항원 제시 및 항원에 대한 전반적인 면역 반응을 증가시킬 수 있다. 항원과 어쥬번트의 조합은 항원 단독을 포함하는 백신보다 더욱 효율적으로 면역계를 유도한다. 상기 백신은 상이한 조직, 예를 들면, 근육과 피부에 투여될 때 면역 반응을 더욱 유도할 수 있다.

[0051] 본 발명의 백신은 효과적인 백신에 필요한 특질을 가질 수 있다, 예를 들면, 백신 자체가 질병 또는 사망을 유발하지 않도록 안전하고; 살아있는 병원체, 예를 들면, 바이러스 또는 세균에 대한 노출로부터 발생하는 질병에 대항하여 보호되고; 세포의 감염을 예방하는 중화 항체를 유도하고; 세포내 병원체에 대항하여 보호 T 세포 반응을 유도하고; 그리고 투여의 용이함, 극소수 부작용, 생물학적 안정성, 그리고 복용당 적은 비용을 제공할 수 있다. 상기 백신은 하기에 논의된 바와 같이, 항원을 어쥬번트와 합동함으로써 이들 특질 중에서 일부 또는 전부를 달성할 수 있다.

[0052] **a. 어쥬번트**

[0053] 백신은 하기에 논의된 바와 같이, 어쥬번트 및 항원을 포함할 수 있다. 어쥬번트는 핵산 서열, 아미노산 서열, 또는 이들의 조합일 수 있다. 핵산 서열은 DNA, RNA, cDNA, 이의 변이체, 이의 단편, 또는 이들의 조합일 수 있다. 핵산 서열은 또한, 펩티드 결합에 의해 어쥬번트에 연결되는 링커 또는 태그 서열을 인코딩하는 추가 서열을 포함할 수 있다. 아미노산 서열은 단백질, 펩티드, 이의 변이체, 이의 단편, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0054] **(1) IL-21**

[0055] 어쥬번트는 인터류킨-21 (IL-21)일 수 있다. IL-21은 자연 킬러 (NK) 세포 및 세포독성 T 세포 (CD8+ T 세포)를 포함하는 B 및 T 세포 부분집합에 대한 강력한 효과를 갖는 단일 사슬, T-세포 유래된 사이토킨이다. 만성 감염의 동물 모델은 T 세포 활성화 및 바이러스 복제의 제어에서, 그리고 만성 바이러스 감염, 예를 들면, HIV를 앓는 환자에서 IL-21에 대한 핵심적인 역할을 암시한다. IL-21은 세포독성 CD8 T 세포 반응을 결정적으로 향상시키는 것으로 보고되었다. IL-21은 또한, B 세포 증식 및 분화를 보조하는 것으로 제안되었다.

[0056] IL-21은 IL-12와 유사하게, IFN- γ 생산을 자극할 수 있다. IL-12는 경험 없는 T 세포를 활성화시켜 IFN- γ 생산을 유도할 수 있는 반면, IL-21은 기억 T 세포에 작용하여 IFN- γ 생산을 유도할 수 있다. 백신에서 IL-21의 포함은 IL-23을 포함하지 않는 백신과 비교하여 IFN- γ 생산을 최소한 약 1.5-배, 최소한 약 2-배, 최소한 약 3-배, 최소한 약 4-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 8-배, 그리고 최소한 약 10-배 유도할 수 있다. 백신에서 IL-21의 포함은 IL-21을 포함하지 않는 백신과 비교하여 IFN- γ 생산을 최소한 약 2-배 유도할 수 있다. 백신에서 IL-21의 포함은 IL-21을 포함하지 않는 백신과 비교하여 IFN- γ 생산을 최소한 약 3-배 유도할 수 있다.

[0057] IL-21은 개체에서 항원에 대한 면역 반응을 증가시키거나 또는 부양할 수 있다. 항원은 아래에 더욱 상세하게 설명된다. 일부 경우에, IL-21은 항원에 대한 면역 반응을 약 75% 내지 약 200% 증가시킬 수 있다. 대안으로, IL-21은 항원에 대한 면역 반응을 약 90% 내지 약 130% 증가시킬 수 있다. 또 다른 대안적 구체예에서, IL-21은 항원에 대한 면역 반응을 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%, 101%, 102%, 103%, 104%, 105%, 106%, 107%, 108%, 109%, 110%, 111%, 112%, 113%, 114%, 115%, 116%, 117%, 118%, 119%, 120%, 121%, 122%, 123%, 124%, 125%, 126%, 127%, 128%, 129% 또는 130% 증가시킬 수 있다.

[0058] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 백신이 치료가 필요한 개체에 투여될 때, IL-21은 항원에 대한 면역 반응을 최소한 약 1.5-배, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 3-배, 최소한 약 4-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 6-배, 최소한 약 7-배, 최소한 약 8-배, 최소한 약 9-배, 또는 최소한 약 10-배 증가시키거나 또는 부양할 수 있다.

[0059] IL-21을 인코딩하는 핵산은 많은 생물체, 예를 들면, 생쥐 (생쥐 (*Mus musculus*)) 및 인간 (호모 사피엔스 (*Homo sapiens*))으로부터 유래될 수 있다. IL-21을 인코딩하는 핵산은 코돈 사용빈도 및 상응하는 RNA 전사체에 대하여 최적화될 수 있다. IL-21을 인코딩하는 핵산은 발현을 위해 코돈과 RNA 최적화될 수 있다. 일부 구체예에서, IL-21을 인코딩하는 핵산은 번역의 효율을 증가시키기 위해 코자크 서열 (가령, GCC ACC)을 포함할 수 있다.

다. IL-21을 인코딩하는 핵산은 번역 종결의 효율을 증가시키기 위해 복수의 종결 코돈 (가령, TGA TGA)을 포함할 수 있다. IL-21을 인코딩하는 핵산은 또한, IgE 리더 서열을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. IgE 리더 서열은 핵산에서 IL-21의 5'에 위치될 수 있다. 일부 구체예에서, IL-21을 인코딩하는 핵산은 IgE 리더 서열을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 없거나 또는 이를 내포하지 않는다. 다른 구체예에서, IL-21을 인코딩하는 핵산은 HA 태그를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 (서열 번호:9)을 포함할 수 있다. 또 다른 구체예에서, IL-21을 인코딩하는 핵산은 HA 태그를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 없거나 또는 이를 내포하지 않는다.

[0060] 생쥐 IL-21은 서열 번호:2를 인코딩하는 최적화된 핵산 서열 서열 번호:1일 수 있다. 일부 구체예에서, 생쥐 IL-21은 서열 번호:1에서 진술된 핵산 서열의 전장에 걸쳐 최소한 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 핵산 서열일 수 있다. 다른 구체예에서, 생쥐 IL-21은 서열 번호:2에서 진술된 아미노산 서열의 전장에 걸쳐 최소한 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열일 수 있다. 생쥐 IL-21은 서열 번호:2에서 진술된 아미노산 서열의 전장에 걸쳐 최소한 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열일 수 있다.

[0061] 인간 IL-21은 서열 번호:4를 인코딩하는 최적화된 핵산 서열 서열 번호:3일 수 있다. 일부 구체예에서, 인간 IL-21은 서열 번호:3에서 진술된 핵산 서열의 전장에 걸쳐 최소한 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 핵산 서열일 수 있다. 다른 구체예에서, 인간 IL-21은 서열 번호:4에서 진술된 아미노산 서열의 전장에 걸쳐 최소한 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열일 수 있다. 인간 IL-21은 서열 번호:4에서 진술된 아미노산 서열의 전장에 걸쳐 최소한 약 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열일 수 있다.

[0062] 일부 구체예는 서열 번호:1 및/또는 서열 번호:3의 단편에 관계한다. 단편은 서열 번호:1 및/또는 서열 번호:3의 최소한 60%, 최소한 65%, 최소한 70%, 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 96%, 최소한 97%, 최소한 98%, 또는 최소한 99%를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 단편은 리더 서열, 예를 들면, 면역글로불린 리더 서열, 예를 들면, IgE 리더 서열을 인코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 단편은 리더 서열을 인코딩하는 코딩 서열이 없다.

[0063] 서열 번호:1 및/또는 서열 번호:3의 단편에 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산의 단편이 제공될 수 있다. 이런 단편은 서열 번호:1 및/또는 서열 번호:3에 95% 또는 그 이상 동일성을 갖는 핵산의 최소한 60%, 최소한 65%, 최소한 70%, 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 96%, 최소한 97%, 최소한 98%, 또는 최소한 99%를 포함할 수 있다. 일부 구체예는 본원에서 IL-21 핵산 서열의 단편에 96% 또는 그 이상 동일성을 갖는 단편에 관계한다. 일부 구체예는 본원에서 IL-21 핵산 서열의 단편에 97% 또는 그 이상 동일성을 갖는 단편에 관계한다. 일부 구체예는 본원에서 IL-21 핵산 서열의 단편에 98% 또는 그 이상 동일성을 갖는 단편에 관계한다. 일부 구체예는 본원에서 IL-21 핵산 서열의 단편에 99% 또는 그 이상 동일성을 갖는 단편에 관계한다. 일부 구체예에서, 단편은 리더 서열, 예를 들면, 면역글로불린 리더 서열, 예를 들면, IgE 리더 서열을 인코딩하는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 단편은 리더 서열을 인코딩하는 코딩 서열이 없다.

[0064] 서열 번호:2 및/또는 서열 번호:4의 단편이 제공될 수 있다. 단편은 서열 번호:2 및/또는 서열 번호:4의 최소한 60%, 최소한 65%, 최소한 70%, 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 96%, 최소한 97%, 최소한 98%, 또는 최소한 99%를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 단편은 리더 서열, 예를 들면, 면역글로불린 리더 서열, 예를 들면, IgE 리더 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 단편은 리더 서열이 없다.

[0065] 서열 번호:2 및/또는 서열 번호:4의 단편에 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단백질의 단편이 제공될 수 있다. 이런 단편은 서열 번호:2 및/또는 서열 번호:4에 95% 또는 그 이상 동일성을 갖는 단백질의 최소한 60%, 최소한 65%, 최소한 70%, 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 96%, 최소한 97%, 최소한 98%, 또는 최소한 99%를 포함할 수 있다. 일부 구체예는 본원에서 IL-21 단백질 서열의 단편에 96% 또는 그 이상 동일성을 갖는 단편에 관계한다. 일부 구체예는 본원에서 IL-21 단백질 서열의 단편에 97% 또는 그 이상 동일성을 갖는 단편에 관계한다. 일부 구체예는 본원에서 IL-21 단백질 서열의 단편에 98% 또는 그 이상 동일성을 갖는 단편에 관계한다. 일부 구체예는 본원에서 IL-21 단백질 서열의 단편에 99% 또는 그 이

상 동일성을 갖는 단편에 관계한다. 일부 구체예에서, 단편은 리더 서열, 예를 들면, 면역글로불린 리더 서열, 예를 들면, IgE 리더 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 단편은 리더 서열이 없다.

[0066] **b. 항원**

[0067] 백신은 앞서 논의된 바와 같이, 항원 또는 이의 단편 또는 변이체 및 어쥬번트를 포함할 수 있다. 항원은 개체에서 면역 반응을 유도하는 어떤 것일 수 있다. 정제된 항원은 통상적으로, 그 자체로는 강한 면역원성이 아니고, 그리고 이런 이유로, 앞서 설명된 바와 같이 어쥬번트와 합동된다. 항원에 의해 유도된 면역 반응은 어쥬번트와 합동될 때, 부양되거나 또는 증가될 수 있다. 이런 면역 반응은 체액성 면역 반응 및/또는 세포성 면역 반응일 수 있다. 일부 구체예에서, 어쥬번트와 항원의 조합은 개체에서 세포성 면역 반응을 부양하거나 또는 증가시킬 수 있다. 다른 구체예에서, 어쥬번트와 항원의 조합은 개체에서 체액성 면역 반응을 부양하거나 또는 증가시킬 수 있다.

[0068] 항원은 핵산 서열, 아미노산 서열, 또는 이들의 조합일 수 있다. 핵산 서열은 DNA, RNA, cDNA, 이의 변이체, 이의 단편, 또는 이들의 조합일 수 있다. 핵산 서열은 또한, 펩티드 결합에 의해 항원에 연결되는 링커 또는 태그 서열을 인코딩하는 추가 서열을 포함할 수 있다. 아미노산 서열은 단백질, 펩티드, 이의 변이체, 이의 단편, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0069] 항원은 많은 생물체, 예를 들면, 바이러스, 기생충, 세균, 진균, 또는 포유동물로부터 단백질, 핵산, 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체, 또는 이들의 조합에서 내포될 수 있다. 항원은 자가면역 질환, 알레르기, 또는 천식과 연관될 수 있다. 다른 구체예에서, 항원은 암, 헤르페스, 인플루엔자, B형 간염, C형 간염, 인간 유두종 바이러스 (HPV), 또는 인간 면역결핍 바이러스 (HIV)와 연관될 수 있다. 아래에 논의된 바와 같이, 백신의 항원은 HIV 항원, 클로스트리듐 디피실레 (*C. difficile*) 항원, 그리고 이들의 단편으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. HIV 항원은 Env A, Env B, Env C, Env D, B Nef-Rev, Gag, 그리고 이들의 임의의 조합으로 구성된 군에서 선택될 수 있다.

[0070] 일부 항원은 강한 면역 반응을 유도할 수 있다. 다른 항원은 약한 면역 반응을 유도할 수 있다. 항원은 앞서 설명된 바와 같이, 어쥬번트와 합동될 때, 더욱 큰 면역 반응을 이끌어낼 수 있다.

[0071] **(1) 바이러스 항원**

[0072] 항원은 바이러스 항원, 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체일 수 있다. 바이러스 항원은 다음의 과 중에서 한 가지로부터 바이러스로부터 유래될 수 있다: 아데노바이러스과 (*Adenoviridae*), 아레나바이러스과 (*Arenaviridae*), 부니아바이러스과 (*Bunyaviridae*), 칼시비바이러스과 (*Caliciviridae*), 코로나바이러스과 (*Coronaviridae*), 필로바이러스과 (*Filoviridae*), 헤파드나바이러스과 (*Hepadnaviridae*), 헤르페스바이러스과 (*Herpesviridae*), 오소믹소바이러스과 (*Orthomyxoviridae*), 파포바바이러스과 (*Papovaviridae*), 파라믹소바이러스과 (*Paramyxoviridae*), 파보바이러스과 (*Parvoviridae*), 피코르나바이러스과 (*Picornaviridae*), 폭스바이러스과 (*Poxviridae*), 레오바이러스과 (*Reoviridae*), 레트로바이러스과 (*Retroviridae*), 람도바이러스과 (*Rhabdoviridae*), 또는 토가바이러스과 (*Togaviridae*). 바이러스 항원은 유두종 바이러스, 예를 들면, 인간 유두종 바이러스 (HPV), 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 소아마비 바이러스, B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 천연두 바이러스 (천연두 메이저와 마이너), 우두 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 리노바이러스, 멧기열 바이러스, 말 뇌염 바이러스, 풍진 바이러스, 황열병 바이러스, 노워크 바이러스, A형 간염 바이러스, 인간 T-세포 백혈병 바이러스 (HTLV-I), 모양 세포성 백혈병 바이러스 (HTLV-II), 캘리포니아 뇌염 바이러스, 한타바이러스 (출혈열), 광견병 바이러스, 에볼라 열병 바이러스, 마르부르크 바이러스, 홍역 바이러스, 유행성이하선염 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스 (RSV), 단순 포진 1 (경구 헤르페스), 단순 포진 2 (생식기 헤르페스), 대상 포진 (수두 대상포진, a.k.a., 수두), 시토메갈로바이러스 (CMV), 예를 들면, 인간 CMV, 엡스타인-바르 바이러스 (EBV), 플라비바이러스, 구제역 바이러스, 치쿤구니야 바이러스, 라사 바이러스, 아레나바이러스, 또는 암 유발 바이러스로부터 유래될 수 있다.

[0073] **(a) 간염 항원**

[0074] IL-21은 간염 바이러스 항원 (즉, 간염 항원), 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체와 연관되거나 또는 합동될 수 있다. 간염 항원은 A형 간염 바이러스 (HAV), B형 간염 바이러스 (HBV), C형 간염 바이러스 (HCV), D형 간염 바이러스 (HDV), 및/또는 E형 간염 바이러스 (HEV)로부터 항원 또는 면역원일 수 있다. 일부 구체예에서, 간염 항원은 HAV, HBV, HCV, HDV, 그리고 HEV로부터 항원 중에서 하나 또는 그 이상을 인코딩하는 이중유래 핵산 분자(들), 예를 들면, 플라스미드(들)일 수 있다. 간염 항원은 전장 단백질의 전장 또는 면역원성 단편일 수 있다.

- [0075] 간염 항원은 공통 서열 및/또는 향상된 발현을 위한 하나 또는 그 이상의 변형을 포함할 수 있다. 코돈 최적화, RNA 최적화, 그리고 구조체의 면역원성을 증가시키기 위한 고도로 효율적인 면역글로블린 리더 서열의 부가를 비롯한 유전자 변형은 변형된 공통 서열 내에 포함될 수 있다. 공통 간염 항원은 신호 펩티드, 예를 들면, 면역글로블린 신호 펩티드, 예를 들면, IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함할 수 있고, 그리고 일부 구체예에서, HA 태그를 포함할 수 있다. 면역원은 상응하는 코돈 최적화된 면역원보다 더욱 강하고 더욱 넓은 세포성 면역 반응을 이끌어내도록 설계될 수 있다.
- [0076] 간염 항원은 HAV로부터 항원일 수 있다. 간염 항원은 HAV 캡시드 단백질, HAV 비구조 단백질, 이의 단편, 이의 변이체, 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [0077] 간염 항원은 HCV로부터 항원일 수 있다. 간염 항원은 HCV 뉴클레오캡시드 단백질 (즉, 코어 단백질), HCV 외피 단백질 (가령, E1과 E2), HCV 비구조 단백질 (가령, NS1, NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a, 그리고 NS5b), 이의 단편, 이의 변이체, 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [0078] 간염 항원은 HDV로부터 항원일 수 있다. 간염 항원은 HDV 델타 항원, 이의 단편, 또는 이의 변이체일 수 있다.
- [0079] 간염 항원은 HEV로부터 항원일 수 있다. 간염 항원은 HEV 캡시드 단백질, 이의 단편, 또는 이의 변이체일 수 있다.
- [0080] 간염 항원은 HBV로부터 항원일 수 있다. 간염 항원은 유전자 X에 의해 인코딩된 HBV 코어 단백질, HBV 표면 단백질, HBV DNA 중합효소, HBV 단백질, 이의 단편, 이의 변이체, 또는 이들의 조합일 수 있다. 간염 항원은 HBV 유전자형 A 코어 단백질, HBV 유전자형 B 코어 단백질, HBV 유전자형 C 코어 단백질, HBV 유전자형 D 코어 단백질, HBV 유전자형 E 코어 단백질, HBV 유전자형 F 코어 단백질, HBV 유전자형 G 코어 단백질, HBV 유전자형 H 코어 단백질, HBV 유전자형 A 표면 단백질, HBV 유전자형 B 표면 단백질, HBV 유전자형 C 표면 단백질, HBV 유전자형 D 표면 단백질, HBV 유전자형 E 표면 단백질, HBV 유전자형 F 표면 단백질, HBV 유전자형 G 표면 단백질, HBV 유전자형 H 표면 단백질, 이의 단편, 이의 변이체, 또는 이들의 조합일 수 있다. 간염 항원은 공통 HBV 코어 단백질, 또는 공통 HBV 표면 단백질일 수 있다.
- [0081] 일부 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 A 공통 코어 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 A 코어 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 A 공통 코어 단백질 서열일 수 있다.
- [0082] 다른 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 B 공통 코어 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 B 코어 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 B 공통 코어 단백질 서열일 수 있다.
- [0083] 또 다른 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 C 공통 코어 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 C 코어 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 C 공통 코어 단백질 서열일 수 있다.
- [0084] 일부 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 D 공통 코어 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 D 코어 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 D 공통 코어 단백질 서열일 수 있다.
- [0085] 다른 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 E 공통 코어 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 E 코어 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 E 공통 코어 단백질 서열일 수 있다.
- [0086] 일부 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 F 공통 코어 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 F 코어 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 F 공통 코어 단백질 서열일 수 있다.
- [0087] 다른 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 G 공통 코어 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 G 코어 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 G 공통 코어 단백질 서열일 수 있다.
- [0088] 일부 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 H 공통 코어 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 H 코어 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 H 공통 코어 단백질 서열일 수 있다.
- [0089] 또 다른 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 A 공통 표면 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 A 표면 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 A 공통 표면 단백질 서열일 수 있다.
- [0090] 일부 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 B 공통 표면 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 B 표면 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 B 공통 표면 단백질 서열일 수 있다.
- [0091] 다른 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 C 공통 표면 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 C 표면 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 C 공통 표면 단백질 서열일 수 있다.

- [0092] 또 다른 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 D 공통 표면 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 D 표면 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 D 공통 표면 단백질 서열일 수 있다.
- [0093] 일부 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 E 공통 표면 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 E 표면 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 E 공통 표면 단백질 서열일 수 있다.
- [0094] 다른 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 F 공통 표면 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 F 표면 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 F 공통 표면 단백질 서열일 수 있다.
- [0095] 또 다른 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 G 공통 표면 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 G 표면 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 G 공통 표면 단백질 서열일 수 있다.
- [0096] 다른 구체예에서, 간염 항원은 HBV 유전자형 H 공통 표면 DNA 서열 구조체, HBV 유전자형 H 표면 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 HBV 유전자형 H 공통 표면 단백질 서열일 수 있다.
- [0097] **(b) 인간 유두종 바이러스 (HPV) 항원**
- [0098] IL-21은 인간 유두종 바이러스 (HPV) 항원, 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체와 연관되거나 또는 합동될 수 있다. HPV 항원은 HPV 유형 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 그리고 58로부터 유래될 수 있는데, 이들은 자궁경부암, 직장 암, 및/또는 다른 암을 유발한다. HPV 항원은 HPV 유형 6과 11로부터 유래될 수 있는데, 이들은 생식기 사마귀를 유발하고, 그리고 두경부 암의 원인인 것으로 알려져 있다.
- [0099] HPV 항원은 각 HPV 유형으로부터 HPV E6 또는 E7 도메인일 수 있다. 가령, HPV 유형 16 (HPV16)의 경우에, HPV16 항원은 HPV16 E6 항원, HPV16 E7 항원, 단편, 변이체, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 유사하게, HPV 항원은 HPV 6 E6 및/또는 E7, HPV 11 E6 및/또는 E7, HPV 18 E6 및/또는 E7, HPV 31 E6 및/또는 E7, HPV 33 E6 및/또는 E7, HPV 52 E6 및/또는 E7, 또는 HPV 58 E6 및/또는 E7, 단편, 변이체, 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [0100] **(c) RSV 항원**
- [0101] IL-21은 또한, RSV 항원 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체와 연관되거나 또는 합동될 수 있다. RSV 항원은 인간 RSV 융합 단백질 (또한, 본원에서 "RSV F", "RSV F 단백질" 및 "F 단백질"로 지칭됨), 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 인간 RSV 융합 단백질은 RSV 아형 A와 B 사이에 보존될 수 있다. RSV 항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23994.1)로부터 RSV F 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 RSV A2 균주 (GenBank AAB59858.1)로부터 RSV F 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 RSV F 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체의 단위체, 이합체 또는 삼합체일 수 있다. RSV 항원은 공통 RSV F 아미노산 서열, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 RSV F 아미노산 서열 또는 이의 단편 또는 변이체를 인코딩하는 최적화된 핵산일 수 있다.
- [0102] RSV F의 융합후 형태는 면역화된 동물에서 높은 역가 중화 항체를 이끌어내고 동물을 RSV 공격으로부터 보호한다. 본 발명은 청구된 백신에서 이러한 면역반응을 활용한다. 본 발명에 따라서, RSV F 단백질은 융합전 형태 또는 융합후 형태에 있을 수 있다.
- [0103] RSV 항원은 또한, 인간 RSV 부착 당단백질 (또한, 본원에서 "RSV G", "RSV G 단백질" 및 "G 단백질"로 지칭됨), 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 인간 RSV G 단백질은 RSV 아형 A와 B 사이에 다르다. 항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23993)로부터 RSV G 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 RSV 아형 B 분리주 H5601, RSV 아형 B 분리주 H1068, RSV 아형 B 분리주 H5598, RSV 아형 B 분리주 H1123으로부터 RSV G 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 공통 RSV G 아미노산 서열, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 RSV G 아미노산 서열 또는 이의 단편 또는 변이체를 인코딩하는 최적화된 핵산일 수 있다.
- [0104] 다른 구체예에서, RSV 항원은 인간 RSV 비구조 단백질 1 ("NS1 단백질"), 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 가령, RSV 항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23987.1)로부터 RSV NS1 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원 인간은 또한, RSV 비구조 단백질 2 ("NS2 단백질"), 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 가령, RSV 항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23988.1)로부터 RSV NS2 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 게다가, 인간 RSV 뉴클레오캡시드 ("N") 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 가령, RSV 항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23989.1)로부터 RSV N 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 인간 RSV 인단백질 ("P") 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 가령, RSV

항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23990.1)로부터 RSV P 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 또한, 인간 RSV 기질 단백질 ("M") 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 가령, RSV 항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23991.1)로부터 RSV M 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다.

[0105] 또 다른 구체예에서, RSV 항원은 인간 RSV 작은 소수성 ("SH") 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 가령, RSV 항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23992.1)로부터 RSV SH 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 또한, 인간 RSV 기질 단백질2-1 ("M2-1") 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 가령, RSV 항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23995.1)로부터 RSV M2-1 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원은 게다가, 인간 RSV 기질 단백질 2-2 ("M2-2") 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 가령, RSV 항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23997.1)로부터 RSV M2-2 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. RSV 항원 인간은 RSV 중합효소 L ("L") 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 가령, RSV 항원은 RSV Long 균주 (GenBank AAX23996.1)로부터 RSV L 단백질, 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다.

[0106] 추가의 구체예에서, RSV 항원은 NS1, NS2, N, P, M, SH, M2-1, M2-2, 또는 L 단백질의 공통 아미노산 서열을 가질 수 있다. RSV 항원은 인간 RSV 단백질 또는 재조합 항원, 예를 들면, 인간 RSV 유전체에 의해 인코딩된 단백질 중에서 임의의 한 가지일 수 있다.

[0107] 다른 구체예에서, RSV 항원은 RSV Long 균주로부터 RSV F 단백질, RSV Long 균주로부터 RSV G 단백질, 공통 RSV G 아미노산 서열, RSV G 아미노산 서열을 인코딩하는 최적화된 핵산, RSV Long 균주의 인간 RSV 유전체, 공통 RSV F 아미노산 서열, RSV F 아미노산 서열을 인코딩하는 최적화된 핵산, RSV Long 균주로부터 RSV NS1 단백질, RSV Long 균주로부터 RSV NS2 단백질, RSV Long 균주로부터 RSV N 단백질, RSV Long 균주로부터 RSV P 단백질, RSV Long 균주로부터 RSV M 단백질, RSV Long 균주로부터 RSV SH 단백질, RSV Long 균주로부터 RSV M2-1 단백질, RSV Long 균주로부터 RSV M2-2 단백질, RSV Long 균주로부터 RSV L 단백질, RSV 아형 B 분리주 H5601로부터 RSV G 단백질, RSV 아형 B 분리주 H1068로부터 RSV G 단백질, RSV 아형 B 분리주 H5598로부터 RSV G 단백질, RSV 아형 B 분리주 H1123으로부터 RSV G 단백질, 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체일 수 있지만 이들에 한정되지 않는다.

[0108] (d) 인플루엔자 항원

[0109] IL-21은 인플루엔자 항원 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체와 연관되거나 또는 합동될 수 있다. 인플루엔자 항원은 하나 또는 그 이상의 인플루엔자 혈청형에 대항하여 포유동물에서 면역 반응을 이끌어낼 수 있는 것들이다. 항원은 전장 변역 산물 HA0, 아단위 HA1, 아단위 HA2, 이의 변이체, 이의 단편 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 인플루엔자 적혈구응집소 항원은 인플루엔자 A 혈청형 H1의 복수의 균주로부터 유래된 공통 서열, 인플루엔자 A 혈청형 H2의 복수의 균주로부터 유래된 공통 서열, 인플루엔자 A 혈청형 H1의 복수의 균주의 상이한 세트로부터 유래된 2개의 상이한 공통 서열의 부분을 내포하는 하이브리드 서열 또는 인플루엔자 B의 복수의 균주로부터 유래된 공통 서열일 수 있다. 인플루엔자 적혈구응집소 항원은 인플루엔자 B로부터 유래될 수 있다.

[0110] 인플루엔자 항원은 또한, 면역 반응이 유도될 수 있는 특정 인플루엔자 면역원에 대항하여 효과적일 수 있는 최소한 하나의 항원성 에피토프를 내포할 수 있다. 항원은 무손상 인플루엔자 바이러스 내에 존재하는 면역원성 부위와 에피토프의 전체 레퍼토리를 제공할 수 있다. 항원은 한 혈청형의 복수의 인플루엔자 A 바이러스 균주, 예를 들면, 혈청형 H1 또는 혈청형 H2의 복수의 인플루엔자 A 바이러스 균주로부터 적혈구응집소 항원 서열로부터 유래될 수 있는 공통 적혈구응집소 항원 서열일 수 있다. 항원은 2개의 상이한 공통 적혈구응집소 항원 서열 또는 이들의 부분을 합동하는 것으로부터 유래될 수 있는 하이브리드 공통 적혈구응집소 항원 서열일 수 있다. 2개의 상이한 공통 적혈구응집소 항원 서열 각각은 한 혈청형의 복수의 인플루엔자 A 바이러스 균주, 예를 들면, 혈청형 H1의 복수의 인플루엔자 A 바이러스 균주의 상이한 세트로부터 유래될 수 있다. 항원은 복수의 인플루엔자 B 바이러스 균주로부터 적혈구응집소 항원 서열로부터 유래될 수 있는 공통 적혈구응집소 항원 서열일 수 있다.

[0111] 일부 구체예에서, 인플루엔자 항원은 H1 HA, H2 HA, H3 HA, H5 HA, 또는 BHA 항원일 수 있다. 대안으로, 인플루엔자 항원은 공통 H1 아미노산 서열 또는 공통 H2 아미노산 서열을 포함하는 공통 적혈구응집소 항원일 수 있다. 공통 적혈구응집소 항원은 2개의 상이한 공통 H1 서열의 부분을 포함하는 합성 하이브리드 공통 H1 서열일 수 있고, 이들은 각각, 다른 것으로부터 상이한 세트의 서열로부터 유래된다. 합성 하이브리드 공통 H1 단백질인 공통 HA 항원의 실례는 U2 아미노산 서열을 포함하는 단백질이다. 공통 적혈구응집소 항원은 인플루엔자 B 균주로부터 적혈구응집소 서열로부터 유래된 공통 적혈구응집소 단백질, 예를 들면, 공통 BHA 아미노산 서열을

포함하는 단백질일 수 있다.

- [0112] 공통 적혈구응집소 항원은 하나 또는 그 이상의 추가 아미노산 서열 원소를 더욱 포함할 수 있다. 공통 적혈구응집소 항원은 N 말단에서, IgE 또는 IgG 리더 아미노산 서열을 더욱 포함할 수 있다. 공통 적혈구응집소 항원은 면역원성 태그를 더욱 포함할 수 있는데, 이것은 쉽게 가용한 항체에 의해 검출될 수 있는 독특한 면역원성 에피토프이다. 이런 면역원성 태그의 실례는 9 아미노산 인플루엔자 HA 태그인데, 이것은 공통 적혈구응집소 C 말단에서 연결될 수 있다. 일부 구체예에서, 공통 적혈구응집소 항원은 N 말단에서 IgE 또는 IgG 리더 아미노산 서열 및 C 말단에서 HA 태그를 더욱 포함할 수 있다.
- [0113] 공통 적혈구응집소 항원은 공통 인플루엔자 아미노산 서열 또는 이들의 단편과 변이체로 구성되는 공통 적혈구응집소 단백질일 수 있다. 공통 적혈구응집소 항원은 비인플루엔자 단백질 서열과 인플루엔자 단백질 서열 또는 이들의 단편과 변이체를 포함하는 공통 적혈구응집소 단백질일 수 있다.
- [0114] 공통 H1 단백질의 실례는 공통 H1 아미노산 서열로 구성될 수 있는 것들 또는 추가 원소, 예를 들면, IgE 리더 서열, 또는 HA 태그 또는 IgE 리더 서열과 HA 태그 둘 모두를 더욱 포함하는 것들을 포함한다.
- [0115] 공통 H2 단백질의 실례는 공통 H2 아미노산 서열로 구성될 수 있는 것들 또는 IgE 리더 서열, 또는 HA 태그 또는 IgE 리더 서열과 HA 태그 둘 모두를 더욱 포함하는 것들을 포함한다.
- [0116] 하이브리드 공통 H1 단백질의 실례는 공통 U2 아미노산 서열로 구성될 수 있는 것들 또는 IgE 리더 서열, 또는 HA 태그 또는 IgE 리더 서열과 HA 태그 둘 모두를 더욱 포함하는 것들을 포함한다.
- [0117] 하이브리드 공통 인플루엔자 B 적혈구응집소 단백질의 실례는 공통 BHA 아미노산 서열로 구성될 수 있거나 또는 IgE 리더 서열, 또는 HA 태그 또는 IgE 리더 서열과 HA 태그 둘 모두를 포함할 수 있는 것들을 포함한다.
- [0118] 공통 적혈구응집소 단백질은 공통 적혈구응집소 핵산, 이의 변이체 또는 이의 단편에 의해 인코딩될 수 있다. 상이한 균주와 변이체로부터 복수의 상이한 적혈구응집소 서열로부터 유래된 공통 서열일 수 있는 공통 적혈구응집소 단백질과 달리, 공통 적혈구응집소 핵산은 공통 단백질 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 지칭하고, 그리고 이용된 코딩 서열은 공통 적혈구응집소 단백질 서열이 유래되는 복수의 상이한 적혈구응집소 서열에서 특정 아미노산 서열을 인코딩하는데 이용된 것들과 상이할 수 있다. 공통 핵산 서열은 코돈 최적화되고 및/또는 RNA 최적화될 수 있다. 공통 적혈구응집소 핵산 서열은 5' 비번역 영역에서 코자크 서열을 포함할 수 있다. 공통 적혈구응집소 핵산 서열은 리더 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. N 말단 리더 서열의 코딩 서열은 적혈구응집소 코딩 서열의 5'이다. N 말단 리더는 분비를 용이하게 할 수 있다. N 말단 리더는 IgE 리더 또는 IgG 리더일 수 있다. 공통 적혈구응집소 핵산 서열은 면역원성 태그를 인코딩하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 면역원성 태그는 상기 단백질의 C 말단에 있을 수 있고, 그리고 이를 인코딩하는 서열은 공통 HA 코딩 서열의 3'이다. 면역원성 태그는 항체가 쉽게 가용한 독특한 에피토프를 제공하고, 따라서 이런 항체는 상기 단백질을 검출하고 이의 발현을 입증하기 위한 검정에서 이용될 수 있다. 면역원성 태그는 상기 단백질의 C 말단에서 HA 태그일 수 있다.
- [0119] **(e) 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 항원**
- [0120] IL-21은 HIV 항원 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체와 연관되거나 또는 합동될 수 있다. HIV 항원은 면역원에 대한 변형된 공통 서열을 포함할 수 있다. 코돈 최적화, RNA 최적화, 그리고 구조체의 면역원성을 증가시키기 위한 고도로 효율적인 면역글로불린 리더 서열의 부가를 비롯한 유전자 변형은 변형된 공통 서열 내에 포함될 수 있다. 신규한 면역원은 상응하는 코돈 최적화된 면역원보다 더욱 강하고 더욱 넓은 세포성 면역 반응을 이끌어내도록 설계될 수 있다.
- [0121] 일부 구체예에서, HIV 항원은 아형 A 공통 외피 DNA 서열 구조체, 아형 A 외피 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 아형 A 공통 외피 단백질 서열일 수 있다.
- [0122] 다른 구체예에서, HIV 항원은 아형 B 공통 외피 DNA 서열 구조체, 아형 B 외피 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 아형 B 공통 외피 단백질 서열일 수 있다.
- [0123] 또 다른 구체예에서, HIV 항원은 아형 C 공통 외피 DNA 서열 구조체, 아형 C 외피 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 아형 C 공통 외피 단백질 서열일 수 있다.
- [0124] 추가의 구체예에서, HIV 항원은 아형 D 공통 외피 DNA 서열 구조체, 아형 D 외피 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 아형 D 공통 외피 단백질 서열일 수 있다.

- [0125] 일부 구체예에서, HIV 항원은 아형 B Nef-Rev 공통 외피 DNA 서열 구조체, 아형 B Nef-Rev 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 아형 B Nef-Rev 공통 단백질 서열일 수 있다.
- [0126] 다른 구체예에서, HIV 항원은 아형 A, B, C와 D DNA 서열 구조체의 Gag 공통 DNA 서열, Gag 공통 아형 A, B, C와 D 단백질에 대한 공통 서열에 연결된 IgE 리더 서열, 또는 공통 Gag 아형 A, B, C와 D 단백질 서열일 수 있다.
- [0127] 또 다른 구체예에서, HIV 항원은 MPol DNA 서열 또는 MPol 단백질 서열일 수 있다. HIV 항원은 Env A, Env B, Env C, Env D, B Nef-Rev, Gag, 또는 이들의 임의의 조합의 핵산 또는 아미노산 서열일 수 있다.
- [0128] **(2) 기생충 항원**
- [0129] 항원은 기생충 항원 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 기생충은 원생동물, 연충, 또는 외부기생충일 수 있다. 연충 (즉, 기생충)은 편형충 (가령, 흡충 및 촌충), 구두충, 또는 회충 (가령, 요충)일 수 있다. 외부기생충은 이, 벼룩, 진드기, 그리고 좁진드기일 수 있다.
- [0130] 기생충은 다음 질환을 유발하는 임의의 기생충일 수 있다: 가시아메바 각막염, 아메바증, 회충증, 바베스열원충증, 대장섬모충증, 아프리카너구리회충증, 샤가스병, 간흡충증, 코클리오미아, 와포자충증, 열두조충증, 용선충증, 포충증, 상피병, 요충증, 간질증, 비대흡충증, 사상충증, 편모충증, 턱구충증, 왜소조충증, 포자충증, 카타마야열, 리슈만편모충증, 라임병, 말라리아, 요코가와흡충증, 구더기증, 회선사상충증, 이감염증, 옴, 주혈흡충증, 수면병, 분선충증, 조충증, 개회충증, 특소포자충증, 선모충증, 그리고 편충증.
- [0131] 기생충은 가시아메바 (*Acanthamoeba*), 아니사키스 (*Anisakis*), 회충 (*Ascaris lumbricoides*), 쇠파리, 대장발란티디움 (*Balantidium coli*), 빈대, 촌충류 (*Cestoda*) (촌충), 털진드기, 코클리오미아 호미니보락스 (*Cochliomyia hominivorax*), 이질 아메바 (*Entamoeba histolytica*), 간질 (*Fasciola hepatica*), 람블편모충 (*Giardia lamblia*), 구충, 리슈만편모충 (*Leishmania*), 설충 (*Linguatula serrata*), 간흡충, 로아사상충 (*Loa loa*), 폐흡충 (*Paragonimus*) - 폐흡충, 요충, 열대열원충 (*Plasmodium falciparum*), 주혈흡충 (*Schistosoma*), 분선충 (*Strongyloides stercoralis*), 좁진드기, 촌충, 특소포자충 (*Toxoplasma gondii*), 파동편모충 (*Trypanosoma*), 편충, 또는 벵크로프트사상충 (*Wuchereria bancrofti*)일 수 있다.
- [0132] **(a) 말라리아 항원**
- [0133] IL-21은 말라리아 항원 (즉, PF 항원 또는 PF 면역원), 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체와 연관되거나 또는 합동될 수 있다. 항원은 말라리아를 유발하는 기생충으로부터 유래될 수 있다. 말라리아 유발 기생충은 열대열원충 (*Plasmodium falciparum*)일 수 있다. 열대열원충 (*Plasmodium falciparum*) 항원은 포자소체 (CS) 항원을 포함할 수 있다.
- [0134] 일부 구체예에서, 말라리아 항원은 열대열원충 (*P. falciparum*) 면역원 CS; LSA1; TRAP; CelTOS; 그리고 Ama1 중에서 하나 또는 그 이상을 인코딩하는 핵산 분자, 예를 들면, 플라스미드일 수 있다. 면역원은 전장 단백질의 전장 또는 면역원성 단편일 수 있다. 면역원은 공통 서열 및/또는 향상된 발현을 위한 변형을 포함할 수 있다.
- [0135] 다른 구체예에서, 말라리아 항원은 TRAP의 공통 서열일 수 있는데, 이것은 또한, SSP2로서 지칭되고, GenBank 데이터베이스 (28개 서열 전체)에서 모든 전장 열대열원충 (*Plasmodium falciparum*) TRAP/SSP2 서열의 편집으로부터 설계된다. 공통 TRAP 면역원 (즉, ConTRAP 면역원)은 신호 펩티드, 예를 들면, 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들면, IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함할 수 있고, 그리고 일부 구체예에서, HA 태그를 포함할 수 있다.
- [0136] 또 다른 구체예에서, 말라리아 항원은 CelTOS일 수 있는데, 이것은 또한, Ag2로서 지칭되고 고도로 보존된 열원충 (*Plasmodium*) 항원이다. 공통 CelTOS 항원 (즉, ConCelTOS 면역원)은 신호 펩티드, 예를 들면, 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들면, IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함할 수 있고, 그리고 일부 구체예에서, HA 태그를 포함할 수 있다.
- [0137] 추가의 구체예에서, 말라리아 항원은 Ama1일 수 있는데, 이것은 고도로 보존된 열원충 (*Plasmodium*) 항원이다. 말라리아 항원은 또한, 일부 경우에, 신호 펩티드, 예를 들면, 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들면, IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함하는 Ama1 (즉, ConAma1 면역원)의 공통 서열일 수 있고, 그리고 일부 구체예에서, HA 태그를 포함할 수 있다.
- [0138] 일부 구체예에서, 말라리아 항원은 일부 경우에, 신호 펩티드, 예를 들면, 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들

면, IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함하는 공통 CS 항원 (즉, 공통 CS 면역원)일 수 있고, 그리고 일부 구체예에서, HA 태그를 포함할 수 있다.

[0139] 다른 구체예에서, 말라리아 항원은 본원에서 진술된 PF 단백질 중에서 2개 또는 그 이상의 조합을 포함하는 융합 단백질일 수 있다. 가령, 융합 단백질은 서로에 직접적으로 인접하게 연결된 또는 그 사이에 스페이서 또는 하나 이상의 아미노산으로 연결된 공통 CS 면역원, ConLSA1 면역원, ConTRAP 면역원, ConCeITOS 면역원 및 ConAma1 면역원 중에서 2개 또는 그 이상을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 융합 단백질은 2개의 PF 면역원을 포함한다. 일부 구체예에서, 융합 단백질은 3개의 PF 면역원을 포함한다. 일부 구체예에서, 융합 단백질은 4개의 PF 면역원을 포함한다. 일부 구체예에서, 융합 단백질은 5개의 PF 면역원을 포함한다.

[0140] 2개의 공통 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 다음을 포함할 수 있다: CS 및 LSA1; CS 및 TRAP; CS 및 CeITOS; CS 및 Ama1; LSA1 및 TRAP; LSA1 및 CeITOS; LSA1 및 Ama1; TRAP 및 CeITOS; TRAP 및 Ama1; 또는 CeITOS 및 Ama1. 3개의 공통 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 다음을 포함할 수 있다: CS, LSA1 및 TRAP; CS, LSA1 및 CeITOS; CS, LSA1 및 Ama1; LSA1, TRAP 및 CeITOS; LSA1, TRAP 및 Ama1; 또는 TRAP, CeITOS 및 Ama1. 4개의 공통 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 다음을 포함할 수 있다: CS, LSA1, TRAP 및 CeITOS; CS, LSA1, TRAP 및 Ama1; CS, LSA1, CeITOS 및 Ama1; CS, TRAP, CeITOS 및 Ama1; 또는 LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1. 5개의 공통 PF 면역원을 갖는 융합 단백질은 다음을 포함할 수 있다: CS 또는 CS-alt, LSA1, TRAP, CeITOS 및 Ama1.

[0141] 일부 구체예에서, 융합 단백질은 N 말단에 연결된 신호 펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 융합 단백질은 각 공통 PF 면역원의 N 말단에 연결된 복수의 신호 펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 스페이서가 융합 단백질의 PF 면역원 사이에 포함될 수 있다. 일부 구체예에서, 융합 단백질의 PF 면역원 사이에 스페이서는 단백질 분해 개열 부위일 수 있다. 일부 구체예에서, 스페이서는 백신이 투여되고 및/또는 흡수되는 것으로 의도되는 세포에서 발견되는 프로테아제에 의해 인식된 단백질 분해 개열 부위일 수 있다. 일부 구체예에서, 스페이서는 융합 단백질의 PF 면역원 사이에 포함될 수 있고, 여기서 스페이서는 백신이 투여되고 및/또는 흡수되는 것으로 의도되는 세포에서 발견되는 프로테아제에 의해 인식된 단백질 분해 개열 부위이고, 그리고 융합 단백질은 개열 시에, 각 공통 PF 면역원의 신호 펩티드가 개별 공통 PF 면역원을 세포 외측으로 전위시키도록, 각 공통 PF 면역원의 N 말단에 연결된 복수의 신호 펩티드를 포함한다.

[0142] **(3) 세균 항원**

[0143] 항원은 세균 항원 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 세균은 다음 종속 중에서 임의의 한 가지로부터 유래될 수 있다: 아키도박테리아 (Acidobacteria), 방선균 (Actinobacteria), 산수균류 (Aquificae), 박테로이데테스 (Bacteroidetes), 칼디세리카 (Caldiserica), 클라미디아 (Chlamydiae), 클로로비 (Chlorobi), 녹만균류 (Chloroflexi), 크리시오게네테스 (Chrysiogenetes), 시아노박테리아 (Cyanobacteria), 데페리박테레스 (Deferribacteres), 이상구균-서열균류 (Deinococcus-Thermus), 디티오글로미 (Dictyoglomi), 엘루시미크로비아 (Elusimicrobia), 피브로박테르균류 (Fibrobacteres), 후벽균문 (Firmicutes), 푸소박테리아 (Fusobacteria), 겐마티모나스균류 (Gemmatimonadetes), 렌티스페라 (Lentisphaerae), 니트로스피라 (Nitrospira), 부유균문 (Planctomycetes), 프로테오박테리아 (Proteobacteria), 스피로헤테스 (Spirochaetes), 시네르기스테스 (Synergistetes), 테네리쿠테스 (Tenericutes), 열탈유간균 (Thermodesulfobacteria), 열포균류 (Thermotogae), 그리고 우미균류 (Verrucomicrobia).

[0144] 세균은 그램 양성 세균 또는 그램 음성 세균일 수 있다. 세균은 호기성 세균 또는 혐기성 세균일 수 있다. 세균은 자력영양균 또는 타력영양균일 수 있다. 세균은 중온균, 호중성균, 극한성균, 호산균, 호알칼리균, 고온균, 저온균, 호염균, 또는 호삼투성균일 수 있다.

[0145] 세균은 탄저균, 항생제 내성 세균, 질환 유발 세균, 식중독 세균, 감염성 세균, 살모넬라 (Salmonella) 세균, 스태필로코쿠스 (Staphylococcus) 세균, 스트렙토코쿠스 (Streptococcus) 세균, 또는 과상풍 세균일 수 있다. 세균은 미코박테리아, 클로스트리듐 테타니 (*Clostridium tetani*), 페스트균 (*Yersinia pestis*), 탄저균 (*Bacillus anthracis*), 메티실린-내성 황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus*) (MRSA), 또는 클로스트리듐 디피실레 (*Clostridium difficile*)일 수 있다.

[0146] **(a) 결핵균 (*Mycobacterium tuberculosis*) 항원**

[0147] IL-21은 결핵균 (*Mycobacterium tuberculosis*) 항원 (즉, TB 항원 또는 TB 면역원), 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체와 연관되거나 또는 합동될 수 있다. TB 항원은 TB 항원의 Ag85 패밀리, 예를 들면, Ag85A 및 Ag85B로부터 유래될 수 있다. TB 항원은 TB 항원의 Esx 패밀리, 예를 들면, EsxA, EsxB, EsxC, EsxD, EsxE, EsxF,

EsxH, EsxO, EsxQ, EsxR, EsxS, EsxT, EsxU, EsxV, 그리고 EsxW로부터 유래될 수 있다.

[0148] 일부 구체예에서, TB 항원은 이중유래 핵산 분자, 예를 들면, 플라스미드일 수 있는데, 이들은 Ag85 패밀리와 Esx 패밀리로부터 결핵균 (*Mycobacterium tuberculosis*) 면역원 중에서 하나 또는 그 이상을 인코딩한다. 면역원은 전장 단백질의 전장 또는 면역원성 단편일 수 있다. 면역원은 공통 서열 및/또는 향상된 발현을 위한 변형을 포함할 수 있다. 공통 면역원은 신호 펩티드, 예를 들면, 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들면, IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함할 수 있고, 그리고 일부 구체예에서, HA 태그를 포함할 수 있다.

[0149] (b) **클로스트리듐 디피실레 (*Clostridium difficile*) 항원**

[0150] IL-21은 클로스트리듐 디피실레 (*Clostridium difficile*) 항원 (즉, CD 항원 또는 CD 면역원), 또는 이의 단편, 또는 이의 변이체와 연관되거나 또는 합동될 수 있다. CD 항원은 독소 A 또는 독소 B일 수 있다. 일부 구체예에서, CD 항원은 독소 A, 독소 B, 또는 독소 A와 독소 B 둘 모두를 인코딩하는 이중성 핵산 분자, 예를 들면, 플라스미드일 수 있다. CD 항원은 전장 단백질 또는 전장 단백질의 면역원성 단편일 수 있다. CD 항원은 공통 서열 및/또는 향상된 발현을 위한 변형을 포함할 수 있다. CD 항원은 신호 펩티드, 예를 들면, 면역글로불린 신호 펩티드, 예를 들면, IgE 또는 IgG 신호 펩티드를 포함할 수 있고, 그리고 일부 구체예에서, HA 태그를 포함할 수 있다.

[0151] (4) **진균 항원**

[0152] 항원은 진균 항원 또는 이의 단편 또는 변이체일 수 있다. 진균은 아스페르길루스 (*Aspergillus*) 종, 블라스토미세스 더마티티디스 (*Blastomyces dermatitidis*), 칸디다 (*Candida*) 효모 (가령, 칸디다 알비칸스 (*Candida albicans*)), 콕시디오이데스 (*Coccidioides*), 크립토코쿠스 네오포르만스 (*Cryptococcus neoformans*), 크립토코쿠스 가티이 (*Cryptococcus gattii*), 피부사상균, 푸사륨 (*Fusarium*) 종, 히스토플라스마 캡슐라툼 (*Histoplasma capsulatum*), 뮤코로미코티나 (*Mucoromycotina*), 사람페포자충 (*Pneumocystis jirovecii*), 스포로트릭스 쉐키 (*Sporothrix schenckii*), 엑세로힐룸 (*Exserohilum*), 또는 클라도스포리움 (*Cladosporium*)일 수 있다.

[0153] c. **백터**

[0154] 백신은 항원을 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 이중유래 핵산을 포함하는 하나 또는 그 이상의 백터 및 어쥬번트를 포함할 수 있다. 하나 또는 그 이상의 백터는 항원 및 어쥬번트를 발현할 수 있다. 하나 또는 그 이상의 백터는 발현 구조체일 수 있는데, 이것은 일반적으로, 특이적 유전자를 표적 세포 내로 도입하는데 이용되는 플라스미드이다. 일단 발현 백터가 세포 내부에 있으면, 상기 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이 세포-전사와 번역 기구 리보솜 복합체에 의해 생산된다. 플라스미드는 인핸서와 프로모터 영역으로서 기능하고, 그리고 발현 백터에 실려 운반된 유전자의 효율적인 전사를 야기하는 조절 서열을 내포하도록 빈번하게 가공된다. 본 발명의 백터는 대량의 안정된 전령 RNA, 그리고 이런 이유로 단백질을 발현한다.

[0155] 백터는 발현 신호, 예를 들면, 강한 프로모터, 강한 종결 코돈, 프로모터와 클로닝된 유전자 사이에 거리의 조정, 그리고 전사 종결 서열과 PTIS (이동식 번역 개시 서열)의 삽입을 가질 수 있다.

[0156] (1) **발현 백터**

[0157] 백터는 환상 플라스미드 또는 선형 핵산일 수 있다. 환상 플라스미드 및 선형 핵산은 적절한 개체 세포에서 특정 이중유래 뉴클레오티드 서열의 발현을 주도할 수 있다. 백터는 종결 신호에 작동가능하게 연결될 수 있는 항원-인코딩 뉴클레오티드 서열, 또는 어쥬번트-인코딩 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 가질 수 있다. 백터는 또한, 뉴클레오티드 서열의 적절한 번역을 위해 필요한 서열을 내포할 수 있다. 관심되는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 백터는 키메라일 수 있는데, 이것은 이의 성분 중에서 최소한 하나가 이의 다른 성분 중에서 최소한 하나에 대하여 이중유래한다는 것을 의미한다. 발현 카세트에서 뉴클레오티드 서열의 발현은 구조성 프로모터 또는 숙주 세포가 일부 특정 외부 자극에 노출될 때에만 전사를 개시하는 유도성 프로모터의 제어 하에 있을 수 있다. 다세포 생물체의 경우에, 프로모터는 또한, 특정 조직 또는 장기 또는 발달 시기에 특정할 수 있다.

[0158] (2) **환상과 선형 백터**

[0159] 백터는 환상 플라스미드일 수 있는데, 이것은 세포 유전체 내로 통합에 의해 표적 세포를 형질전환시키거나 또는 염색체외에 존재할 수 있다 (가령, 복제 기점을 갖는 자율 복제 플라스미드).

- [0160] 벡터는 pVAX, pcDNA3.0, 또는 provax, 또는 항원 또는 어쥬번트를 인코딩하는 이중유래 DNA를 발현하고 세포가 상기 서열을 면역계에 의해 인식되는 항원, 또는 어쥬번트로 번역할 수 있도록 하는 임의의 다른 발현 벡터일 수 있다.
- [0161] 전기천공을 통해 개체에 효율적으로 전달되고, 그리고 하나 또는 그 이상의 원하는 항원, 및/또는 하나 또는 그 이상의 원하는 어쥬번트를 발현할 수 있는 선형 핵산 백신, 또는 선형 발현 카세트 ("LEC") 역시 본원에서 제공된다. LEC는 임의의 인산염 중추를 결여하는 임의의 선형 DNA일 수 있다. DNA는 하나 또는 그 이상의 항원, 및/또는 하나 또는 그 이상의 어쥬번트를 인코딩할 수 있다. LEC는 프로모터, 인트론, 종결 코돈, 및/또는 폴리아데닐화 신호를 내포할 수 있다. 항원, 또는 어쥬번트의 발현은 프로모터에 의해 제어될 수 있다. LEC는 임의의 항생제 내성 유전자 및/또는 인산염 중추를 내포할 수 없다. LEC는 원하는 항원 유전자 발현, 또는 원하는 어쥬번트 발현과 관련 없는 다른 핵산 서열을 내포할 수 없다.
- [0162] LEC는 선형화될 수 있는 임의의 플라스미드로부터 유래될 수 있다. 플라스미드는 항원, 및/또는 어쥬번트를 발현할 수 있다. 플라스미드는 pNP (Puerto Rico/34) 또는 pM2 (New Caledonia/99)일 수 있다. 플라스미드는 WLVO09, pVAX, pcDNA3.0, 또는 provax, 또는 항원을 인코딩하거나 또는 어쥬번트를 인코딩하는 DNA를 발현하고, 그리고 세포가 상기 서열을 면역계에 의해 인식되는 항원, 또는 어쥬번트로 번역할 수 있도록 하는 임의의 다른 발현 벡터일 수 있다.
- [0163] LEC는 pcrM2일 수 있다. LEC는 pcrNP일 수 있다. pcrNP와 pcrMR은 각각, pNP (Puerto Rico/34) 및 pM2 (New Caledonia/99)로부터 유래될 수 있다.
- [0164] **(3) 프로모터, 인트론, 종결 코돈, 그리고 폴리아데닐화 신호**
- [0165] 벡터는 프로모터를 가질 수 있다. 프로모터는 유전자 발현을 주동하고 단리된 핵산의 발현을 조절할 수 있는 임의의 프로모터일 수 있다. 이런 프로모터는 DNA 의존성 RNA 중합효소를 통해 전사에 필요한 시스-작용 서열 원소이고, 이것은 본원에서 설명된 항원 서열, 또는 어쥬번트 서열을 전사한다. 이중유래 핵산의 발현을 주도하는 데 이용된 프로모터의 선별은 특정 적용에 의존한다. 프로모터는 자연 세팅에서 전사 출발 부위로부터 그러한 것처럼 벡터에서 전사 출발로부터 대략 동일한 거리에서 배치될 수 있다. 하지만, 이러한 거리에서 변이는 프로모터 기능의 손실 없이 수용될 수 있다.
- [0166] 프로모터는 항원 및 전사체의 효율적인 폴리아데닐화, 리보솜 결합 부위와 번역 종결을 위해 필요한 신호를 인코딩하는 핵산 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다. 프로모터는 어쥬번트 및 전사체의 효율적인 폴리아데닐화, 리보솜 결합 부위와 번역 종결을 위해 필요한 신호를 인코딩하는 핵산 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다.
- [0167] 프로모터는 CMV 프로모터, SV40 초기 프로모터, SV40 후기 프로모터, 메탈로티오닌 프로모터, 뮤린 유방 종양 바이러스 프로모터, 라우스 육종 바이러스 프로모터, 폴리헤드린 프로모터, 또는 진핵 세포에서 발현에 효과적인 것으로 밝혀진 다른 프로모터일 수 있다.
- [0168] 벡터는 기능적 스플라이스 공여자와 수용자 부위와 함께, 인헨서와 인트론을 포함할 수 있다. 상기 벡터는 효율적인 종결을 제공하기 위해 구조 유전자의 하류에 전사 종결 영역을 내포할 수 있다. 종결 영역은 프로모터 서열과 동일한 유전자로부터 획득될 수 있거나 또는 상이한 유전자로부터 획득될 수 있다.
- [0169] **d. 부형제 및 백신의 다른 성분**
- [0170] 백신은 제약학적으로 허용되는 부형제를 더욱 포함할 수 있다. 제약학적으로 허용되는 부형제는 기능적 분자, 예를 들면, 운반제, IL-21 이외에 어쥬번트, 담체, 또는 희석제일 수 있다. 제약학적으로 허용되는 부형제는 형질감염 가능화 작용제일 수 있는데, 이것은 표면 활성화제, 예를 들면, 면역-자극 복합체 (ISCOMS), 프로인드 불완전 어쥬번트, 모노포스포릴 지질 A를 포함하는 LPS 유사체, 무라밀 펩티드, 퀴논 유사체, 소포, 예를 들면, 스쿠알렌과 스쿠알렌, 히알루론산, 지질, 리포솜, 칼슘 이온, 바이러스 단백질, 다가음이온, 다가양이온, 또는 나노입자, 또는 다른 공지된 형질감염 가능화 작용제를 포함할 수 있다.
- [0171] 형질감염 가능화 작용제는 다가음이온, 폴리-L-글루탐산염 (LGS)을 비롯한 다가양이온, 또는 지질일 수 있다. 형질감염 가능화 작용제는 폴리-L-글루탐산염일 수 있고, 그리고 폴리-L-글루탐산염은 6 mg/ml 보다 적은 농도에서 백신 내에 존재할 수 있다. 형질감염 가능화 작용제는 또한, 표면 활성화제, 예를 들면, 면역자극 복합체 (ISCOMS), 프로인드 불완전 어쥬번트, 모노포스포릴 지질 A를 포함하는 LPS 유사체, 무라밀 펩티드, 퀴논 유사체, 그리고 소포, 예를 들면, 스쿠알렌과 스쿠알렌을 포함할 수 있다. 히알루론산 또한 유전자 구조체와 함께 이용되거나 또는 투여될 수 있다. DNA 플라스미드 백신은 또한, 형질감염 가능화 작용제, 예를 들면, 지질, 레

시틴 리포솜 또는 DNA-리포솜 혼합물 (가령 W09324640을 참조한다)로서 당분야에서 공지된 다른 리포솜을 비롯한 리포솜, 칼슘 이온, 바이러스 단백질, 다가음이온, 다가양이온, 또는 나노입자, 또는 다른 공지된 형질감염 가능화 작용제를 포함할 수 있다. 백신에서 형질감염 작용제의 농도는 4 mg/ml보다 적거나, 2 mg/ml보다 적거나, 1 mg/ml보다 적거나, 0.750 mg/ml보다 적거나, 0.500 mg/ml보다 적거나, 0.250 mg/ml보다 적거나, 0.100 mg/ml보다 적거나, 0.050 mg/ml보다 적거나, 또는 0.010 mg/ml보다 적다.

[0172] 제약학적으로 허용되는 부형제는 IL-21에 더하여 어쥬번트일 수 있다. 추가 어쥬번트는 대안적 플라스미드에서 발현되거나 또는 백신에서 상기 플라스미드와 조합으로 단백질로서 전달되는 다른 유전자일 수 있다. 어쥬번트는 α -인터페론 (IFN- α), β -인터페론 (IFN- β), γ -인터페론, 혈소판 유래된 성장 인자 (PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, 표피 성장 인자 (EGF), 피부 T 세포-유인 케모킨 (CTACK), 상피 흥선-발현된 케모킨 (TECK), 점막층-연관된 상피 케모킨 (MEC), IL-12, IL-15, MHC, CD80, 신호 서열이 결실되고 IgE로부터 신호 펩티드를 임의선택적으로 포함하는 IL-15를 비롯한 CD86으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 어쥬번트는 IL-12, IL-15, IL-28, CTACK, TECK, 혈소판 유래된 성장 인자 (PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, 표피 성장 인자 (EGF), IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0173] IL-21에 더하여 어쥬번트로서 유용할 수 있는 다른 유전자는 다음을 인코딩하는 것들을 포함한다: MCP-1, MIP-1a, MIP-1p, IL-8, RANTES, L-셀렉틴, P-셀렉틴, E-셀렉틴, CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1, LFA-1, VLA-1, Mac-1, p150.95, PECAM, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, CD2, LFA-3, M-CSF, G-CSF, IL-4, IL-18의 돌연변이체 형태, CD40, CD40L, 혈관 성장 인자, 섬유유세포 성장 인자, IL-7, 신경 성장 인자, 혈관 내피 성장 인자, Fas, TNF 수용체, Flt, Apo-1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, Apo-3, AIR, LARD, NGRF, DR4, DR5, KILLER, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, 카스파제 ICE, Fos, c-jun, Sp-1, Ap-1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, I κ B, 비활성 NIK, SAP K, SAP-1, JNK, 인터페론 응답 유전자, NF κ B, Bax, TRAIL, TRAILrec, TRAILrecDRC5, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, RANK LIGAND, Ox40, Ox40 LIGAND, NKG2D, MICA, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, TAP1, TAP2 및 이들의 기능적 단편.

[0174] 백신은 완전히 참조로서 편입되는, 1994년 4월 1일자 제출된 U.S. 일련 번호 021,579에서 설명된 바와 같은 유전자 백신 촉진자 작용제를 더욱 포함할 수 있다.

[0175] 백신은 이용된 투여 방식에 따라 조절될 수 있다. 주사가능 백신 제약학적 조성물은 무균이고, 발열원 없고, 그리고 미립자 없을 수 있다. 등장성 제제 또는 용액이 이용될 수 있다. 등장성을 위한 첨가제는 염화나트륨, 텍스트로스, 만니톨, 소르비톨, 그리고 락토오스를 포함할 수 있다. 백신은 혈관수축 작용제를 포함할 수 있다. 등장성 용액은 인산염 완충된 식염수를 포함할 수 있다. 백신은 젤라틴과 알부민을 비롯한 안정제를 더욱 포함할 수 있다. LGS 또는 다가양이온 또는 다가음이온을 비롯한 안정제는 제제가 실온 또는 주위 온도에서 연장된 기간 동안 안정되도록 허용할 수 있다.

[0176] **3. 예방접종의 방법**

[0177] 본 발명은 또한, 백신의 상이한 투여 루트에 의해 개체에서 면역반응을 증가시키는 방법에 관계한다. 면역반응을 증가시키는 것은 개체에서 질환을 치료하고 및/또는 예방하는데 이용될 수 있다.

[0178] 상기 방법은 본원에서 개시된 백신을 개체에 투여하는 것을 포함할 수 있다. 백신이 투여된 개체는 항원 단독이 투여된 개체와 비교하여 증가된 또는 부양된 면역반응을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 백신 투여된 개체에서 면역반응은 약 18% 내지 약 650% 증가될 수 있다. 대안으로, 백신 투여된 개체에서 면역반응은 약 45% 내지 약 260% 증가될 수 있다. 또 다른 대안적 구체예에서, 백신 투여된 개체에서 면역반응은 약 93% 내지 약 130% 증가될 수 있다.

[0179] 다른 구체예에서, 투여된 백신은 개체에서 면역반응을 최소한 약 1.5-배, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 3-배, 최소한 약 4-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 6-배, 최소한 약 7-배, 최소한 약 8-배, 최소한 약 9-배, 또는 최소한 약 10-배 증가시키거나 또는 부양할 수 있다.

[0180] 백신 분량은 1 μ g 내지 10 mg 활성 성분/kg 체중/시간일 수 있고, 그리고 20 μ g 내지 10 mg 성분/kg 체중/시간일 수 있다. 백신은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 또는 31 일 마다 투여될 수 있다. 효과적인 치료를 위한 백신 투약의 횟수는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10일 수 있다.

[0181] **a. 투여**

- [0182] 백신은 제약학적 분야에서 당업자에게 널리 공지된 표준 기술에 따라 조제될 수 있다. 이런 조성물은 특정 개체의 연령, 성별, 체중과 상태, 그리고 투여 루트와 같은 인자를 고려하여 의학 분야에서 당업자에게 널리 공지된 용량에서와 기술에 의해 투여될 수 있다. 개체는 포유동물, 예를 들면, 인간, 말, 소, 돼지, 양, 고양이, 개, 쥐, 또는 생쥐일 수 있다.
- [0183] 백신은 예방적으로 또는 치료적으로 투여될 수 있다. 예방적 투여에서, 백신은 면역반응을 유도하는데 충분한 양으로 투여될 수 있다. 치료적 적용에서, 백신은 치료적 효과를 이끌어내는데 충분한 양으로 치료가 필요한 개체에 투여된다. 이를 달성하는데 적합한 양은 "치료적으로 유효 용량"으로서 규정된다. 이러한 이용을 위해 효과적인 양은 예로서, 투여된 백신 접종의 특정 조성, 투여 방식, 질환의 시기와 심각도, 환자의 건강의 일반적인 상태, 그리고 처방한 의사의 판단에 좌우될 것이다.
- [0184] 백신은 Donnelly et al. (Ann. Rev. Immunol. 15:617-648 (1997)); Felgner et al. (U.S. 특허 번호 5,580,859, 1996년 12월 3일자 허여됨); Felgner (U.S. 특허 번호 5,703,055, 1997년 12월 30일자 허여됨); 그리고 Carson et al. (U.S. 특허 번호 5,679,647, 1997년 10월 21일자 허여됨)에서 설명된 바와 같은 당분야에서 널리 공지된 방법에 의해 투여될 수 있고, 이들 모두의 내용은 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다. 백신의 DNA는 예로서, 백신 총을 이용하여 개체에 투여될 수 있는 입자 또는 비드에 복합화될 수 있다. 당업자는 생리학적으로 허용되는 화합물을 포함하는 제약학적으로 허용되는 담체의 선택이 예로서, 발현 백터의 투여 루트에 좌우된다는 것을 알고 있을 것이다.
- [0185] 백신은 다양한 루트를 통해 전달될 수 있다. 전형적인 전달 루트는 비경구 투여, 예를 들면, 피내, 근육내 또는 피하 전달을 포함한다. 다른 루트는 경구 투여, 비내, 그리고 질내 루트를 포함한다. 특히, 백신의 DNA 경우에, 백신은 개체의 조직의 간질성 공간에 전달될 수 있다 (Felgner et al., U.S. 특허 번호 5,580,859와 5,703,055, 이들 모두의 내용은 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다). 백신은 또한, 근육에 투여될 수 있거나, 또는 피내 또는 피하 주사를 통해, 또는 예로서, 이온이동법에 의해 경피 투여될 수 있다. 백신의 표피 투여 역시 이용될 수 있다. 표피 투여는 자극물에 대한 면역반응을 자극하기 위해 표피의 최외각 층을 기계적으로 또는 화학적으로 자극하는 것을 수반할 수 있다 (Carson et al., U.S. 특허 번호 5,679,647, 이의 내용은 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다).
- [0186] 백신은 또한, 비강을 통한 투여를 위해 조제될 수 있다. 담체가 고체인, 코 투여에 적합한 제제는 코로 들이쉬는 방식으로, 다시 말하면, 코에 근접하게 유지된 분말의 용기로부터 비강을 통한 급속한 흡입에 의해 투여되는, 예로서 약 10 내지 약 500 마이크론의 범위에서 입자 크기를 갖는 거친 분말을 포함할 수 있다. 제제는 비강 스프레이이거나, 점비액이거나, 또는 연무기에 의한 에어로졸 투여에 의한 것일 수 있다. 제제는 백신의 수성 또는 유성 용액을 포함할 수 있다.
- [0187] 백신은 액체 제조물, 예를 들면, 현탁액, 시럽 또는 엘릭시르일 수 있다. 백신은 또한, 비경구, 피하, 피내, 근육내 또는 정맥내 투여 (가령, 주사가능 투여)를 위한 제조물, 예를 들면, 무균 현탁액 또는 유제일 수 있다.
- [0188] 백신은 리포솜, 마이크로스피어 또는 다른 중합체 매트릭스 내로 통합될 수 있다 (Felgner et al., U.S. 특허 번호 5,703,055; Gregoriadis, Liposome Technology, Vols. Ito III (2nd ed. 1993), 이들의 내용은 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다). 리포솜은 인지질 또는 다른 지질로 구성될 수 있고, 그리고 만들고 투여하기가 상대적으로 용이한 비독성의 생리학적으로 허용되는 대사가능 담체일 수 있다.
- [0189] 백신은 전기천공을 통해, 예를 들면, 본원에 참조로서 편입되는 U.S. 특허 번호 7,664,545에서 설명된 방법에 의해 투여될 수 있다. 전기천공은 U.S. 특허 번호 6,302,874; 5,676,646; 6,241,701; 6,233,482; 6,216,034; 6,208,893; 6,192,270; 6,181,964; 6,150,148; 6,120,493; 6,096,020; 6,068,650; 그리고 5,702,359에서 설명된 방법 및/또는 기구에 의해 달성될 수 있고, 이들의 내용은 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다. 전기천공은 최소 침습성 장치에 의해 수행될 수 있다.
- [0190] 최소 침습성 전기천공 장치 ("MID")는 앞서 설명된 백신 및 연관된 유체를 신체 조직 내로 주사하기 위한 기구일 수 있다. 장치는 속이 빈 바늘, DNA 카세트, 그리고 유체 전달 수단을 포함할 수 있고, 여기서 상기 장치는 신체 조직 내로 바늘의 삽입 동안 DNA를 신체 조직 내로 동시에 (예로서, 자동적으로) 주사하기 위해, 이용 동안 유체 전달 수단을 작동시키도록 적합된다. 이것은 바늘이 삽입되는 동안 DNA 및 연관된 유체를 점진적으로 주사하는 능력이 신체 조직 전역에서 상기 유체의 더욱 균등한 분포를 야기하는 이점을 갖는다. 주사 동안 경험된 통증은 더욱 큰 구역에 걸쳐 주사되는 DNA의 분포로 인해 감소될 수 있다.
- [0191] MID는 바늘의 이용 없이, 백신을 조직 내로 주사할 수 있다. MID는 백신이 조직의 표면을 꿰뚫고 근원적인 조직

및/또는 근육으로 들어가도록 하는 힘으로, 백신을 작은 흐름 또는 제트로서 주사할 수 있다. 작은 흐름 또는 제트를 뒷받침하는 힘은 두 번째의 분획물 내에 미세 구멍을 통한 압축된 가스, 예를 들면, 이산화탄소의 팽창에 의해 제공될 수 있다. 최소 침습성 전기천공 장치, 그리고 이들을 이용하는 방법의 실례는 공개된 U.S. 특허 출원 번호 20080234655; U.S. 특허 번호 6,520,950; U.S. 특허 번호 7,171,264; U.S. 특허 번호 6,208,893; U.S. 특허 번호 6,009,347; U.S. 특허 번호 6,120,493; U.S. 특허 번호 7,245,963; U.S. 특허 번호 7,328,064; 그리고 U.S. 특허 번호 6,763,264에서 설명되고, 이들 각각의 내용은 본원에 참조로서 편입된다.

[0192] MID는 조직을 무통으로 꿰뚫는 액체의 높은-속도 제트를 창출하는 주사기를 포함할 수 있다. 이런 바늘-없는 주사기는 상업적으로 가용하다. 본원에서 활용될 수 있는 바늘-없는 주사기의 실례는 U.S. 특허 번호 3,805,783; 4,447,223; 5,505,697; 그리고 4,342,310에서 설명된 것들을 포함하고, 이들 각각의 내용은 본원에 참조로서 편입된다.

[0193] 직접적인 또는 간접적인 전자수송에 적합한 형태에서 원하는 백신은 백신의 조직 내로의 침투를 유발하는데 충분한 힘으로, 작용제의 제트의 전달을 작동시키기 위해 조직 표면을 주사기와 통상적으로 접촉시킴으로써, 바늘-없는 주사기를 이용하여 치료되는 조직 내로 도입 (가령, 주사)될 수 있다. 가령, 치료되는 조직이 점막층, 피부 또는 근육이면, 작용제는 작용제가 각질층을 통하여, 그리고 각각, 진피 층 내로, 또는 근원적인 조직과 근육 내로 침투하도록 유발하는 충분한 힘으로, 점막 또는 피부 표면을 향하여 투입된다.

[0194] 바늘-없는 주사기는 백신을 모든 유형의 조직, 특히 피부와 점막층에 전달하도록 충분히 적합된다. 일부 구체예에서, 바늘-없는 주사기는 백신을 내포하는 액체를 표면으로 및 개체의 피부 또는 점막층 내로 추진하는데 이용될 수 있다. 본 발명 방법을 이용하여 치료될 수 있는 조직의 다양한 유형의 대표적인 실례는 체장, 후두, 비인두, 하인두, 입인두, 입술, 인후, 폐, 심장, 신장, 근육, 유방, 결장, 전립선, 흉선, 고환, 피부, 점막 조직, 난소, 혈관, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0195] MID는 조직을 전기천공하는 바늘 전극을 가질 수 있다. 예로서, 직사각형 또는 사각형 패턴으로 설정된 복수의 전극 어레이에서 전극의 복수의 쌍 사이에 필싱함으로써, 한 쌍의 전극 사이에 필싱하는 것의 결과보다 향상된 결과가 제공된다. 예로서, "Needle Electrodes for Mediated Delivery of Drugs and Genes"이라는 명칭의 U.S. 특허 번호 5,702,359에서 바늘의 복수의 쌍이 치료적 처치 동안 필싱될 수 있는 바늘의 어레이가 개시된다. 본원에 완전히 진술된 바와 같이 참조로서 편입되는 상기 출원에서, 바늘은 환상 어레이에서 배치되었지만, 바늘 전극의 마주보는 쌍 사이에 필싱을 실시가능하게 하는 연결기 및 전환 기구를 갖는다. 제조할 발현 벡터를 세포에 전달하기 위한 한 쌍의 바늘 전극이 이용될 수 있다. 이런 장치와 시스템은 U.S. 특허 번호 6,763,264에서 설명되고, 이의 내용은 본원에 참조로서 편입된다. 대안으로, DNA의 주사 및 정상적인 주사 바늘을 닮은 단일 바늘로 전기천공을 허용하고, 그리고 현재 이용되는 장치에 의해 전달되는 것들보다 더욱 낮은 전압의 펄스를 적용하고, 따라서 환자에 의해 경험되는 전기 감각을 감소시키는 단일 바늘 장치가 이용될 수 있다.

[0196] MID는 하나 또는 그 이상의 전극 어레이를 포함할 수 있다. 어레이는 동일한 직경 또는 상이한 직경의 2개 또는 그 이상의 바늘을 포함할 수 있다. 바늘은 균등하게 또는 불균등하게 이격될 수 있다. 바늘은 0.005 인치와 0.03 인치 사이에, 0.01 인치와 0.025 인치 사이에; 또는 0.015 인치와 0.020 인치 사이에 있을 수 있다. 바늘은 직경에서 0.0175 인치일 수 있다. 바늘은 0.5 mm, 1.0 mm, 1.5 mm, 2.0 mm, 2.5 mm, 3.0 mm, 3.5 mm, 4.0 mm, 또는 그 이상 이격될 수 있다.

[0197] MID는 펄스 발생기 및 단일 단계에서 백신과 전기천공 펄스를 전달하는 2개 또는 그 이상-바늘 백신 주사기로 구성될 수 있다. 펄스 발생기는 플래시 카드 작동된 개인용 컴퓨터에 의한 펄스와 주사 파라미터의 유연한 프로그래밍뿐만 아니라 전기천공과 환자 데이터의 포괄적인 기록과 보관을 허용할 수 있다. 펄스 발생기는 짧은 기간 동안 다양한 볼트 펄스를 전달할 수 있다. 예로서, 펄스 발생기는 지속 시간 동안 100 ms의 3회 15 볼트 펄스를 전달할 수 있다. 이런 MID의 실례는 Inovio Biomedical Corporation에 의한 Elgen 1000 시스템인데, 이것은 U.S. 특허 번호 7,328,064에서 설명되고, 이의 내용은 본원에 참조로서 편입된다.

[0198] MID는 CELLECTRA (Inovio Pharmaceuticals, Blue Bell PA) 장치와 시스템일 수 있는데, 이것은 거대분자, 예를 들면, DNA의 신체 또는 식물에서 선별된 조직의 세포 내로 도입을 용이하게 하는 모듈식 전극 시스템이다. 모듈식 전극 시스템은 복수의 바늘 전극; 피하주사 바늘; 프로그램가능 정전류 펄스 제어장치에서부터 복수의 바늘 전극까지 전도성 링크를 제공하는 전기 연결기; 그리고 전력 공급원을 포함할 수 있다. 오퍼레이터는 지지체 구조 상에 탑재되는 복수의 바늘 전극을 움켜잡고 이들을 신체 또는 식물에서 선별된 조직 내로 확고히 삽입할 수 있다. 거대분자는 이후, 피하주사 바늘을 거쳐 선별된 조직 내로 전달된다. 프로그램가능 정전류 펄스 제어장치가 활성화되고, 그리고 정전류 전기 펄스가 복수의 바늘 전극에 적용된다. 적용된 정전류 전기 펄스는 복수의

전극 사이에 세포 내로 거대분자의 도입을 용이하게 한다. 세포의 과열로 인한 세포 사멸은 정전류 펄스에 의해서 조직 내에 전력 손실을 제한함으로써 최소화된다. Collectra 장치와 시스템은 U.S. 특허 번호 7,245,963에서 설명되고, 이의 내용은 본원에 참조로서 편입된다.

- [0199] MID는 Elgen 1000 시스템 (Inovio Pharmaceuticals)일 수 있다. Elgen 1000 시스템은 속이 빈 바늘; 그리고 유체 전달 수단을 제공하는 장치를 포함할 수 있고, 여기서 상기 기구는 신체 조직 내로 바늘의 삽입 동안 유체, 본원에서 설명된 백신을 상기 신체 조직 내로 동시에 (가령, 자동적으로) 주사하기 위해, 이용 동안 유체 전달 수단을 작동시키도록 적합된다. 이점은 바늘이 삽입되는 동안 유체를 점진적으로 주사하는 능력이 신체 조직 전역에서 상기 유체의 더욱 균등한 분포를 야기한다는 것이다. 주사 동안 경험된 통증은 더욱 큰 구역에 걸쳐 주사되는 유체의 부피의 분포로 인해 감소되는 것으로 또한 생각된다.
- [0200] 이에 더하여, 유체의 자동 주사는 주사된 유체의 실제 용량의 자동 모니터링과 등록을 용이하게 한다. 이러한 데이터는 원하는 경우에, 문서화 목적을 위한 제어 장치에 의해 저장될 수 있다.
- [0201] 주사의 속도는 선형 또는 비선형일 수 있고, 그리고 주사는 바늘이 치료되는 개체의 피부를 통하여 삽입된 이후 및 이들이 신체 조직 내로 더욱 삽입되는 동안 수행될 수 있는 것으로 인지될 것이다.
- [0202] 유체가 본 발명의 기구에 의해 주사될 수 있는 적합한 조직은 중앙 조직, 피부 또는 간 조직을 포함하지만 근육 조직일 수도 있다.
- [0203] 기구는 바늘의 신체 조직 내로의 삽입을 인도하기 위한 바늘 삽입 수단을 더욱 포함한다. 유체 주사의 속도는 바늘 삽입의 속도에 의해 제어된다. 이것은 삽입의 속도가 원하는 대로 주사의 속도에 정합될 수 있도록, 바늘 삽입 및 유체의 주사 둘 모두 제어될 수 있다는 이점을 갖는다. 이것은 또한, 사용자가 기구를 작동하는 것을 더욱 쉽게 만든다. 원하는 경우에, 바늘을 신체 조직 내로 자동적으로 삽입하기 위한 수단이 제공될 수 있었다.
- [0204] 사용자는 유체의 주사를 시작하는 때를 선택할 수 있었다. 하지만, 이상적으로는, 주사는 바늘의 침단이 근육 조직에 도달할 때 시작되고, 그리고 기구는 유체의 주사가 시작되는 충분한 깊이까지 바늘이 삽입된 때를 감지하기 위한 수단을 포함할 수 있다. 이것은 유체의 주사가 바늘이 원하는 깊이 (이것은 정상적으로, 근육 조직이 시작되는 깊이일 것이다)에 도달했을 때 자동적으로 시작하도록 유발될 수 있다는 것을 의미한다. 근육 조직이 시작되는 깊이는 예로서, 미리 조정된 바늘 삽입 깊이, 예를 들면, 바늘이 피부 층을 통과하는데 충분한 것으로 간주되는 4 mm의 값인 것으로 간주될 수 있었다.
- [0205] 감지하기 위한 수단은 초음파 프로브를 포함할 수 있다. 감지하기 위한 수단은 임피던스 또는 저항에서 변화를 감지하기 위한 수단을 포함할 수 있다. 이러한 경우에, 상기 수단은 신체 조직에서 바늘의 깊이를 이와 같이 기록할 수 없고, 오히려 바늘이 상이한 유형의 신체 조직으로부터 근육 내로 움직임에 따라서 임피던스 또는 저항에서 변화를 감지하도록 적합될 것이다. 이들 대안 중에서 어느 한쪽은 주사가 시작될 수 있는 지를 감지하는 수단을 작동하기 위한 상대적으로 정확성과 단순함을 제공한다. 바늘의 삽입의 깊이는 원하는 경우에 더욱 기록될 수 있고, 그리고 주사되는 유체의 부피가 바늘 삽입의 깊이가 기록될 때 결정되도록 유체의 주사를 제어하는데 이용될 수 있었다.
- [0206] 기구는 다음을 더욱 포함할 수 있다: 바늘을 지지하기 위한 기부; 그리고 그 안에 기부를 수용하기 위한 하우징, 여기서 상기 기부는 기부가 하우징에 비하여 첫 번째 후방 위치에 있을 때 바늘이 하우징 내에서 오르라 들고, 그리고 기부가 하우징 내에 두 번째 전방 위치에 있을 때 바늘이 하우징 외부로 확장하도록, 하우징에 상대적으로 이동가능하다. 이것은 하우징이 환자의 피부 상에서 정렬될 수 있고, 그리고 바늘이 이후, 기부에 상대적으로 하우징을 이동함으로써 환자의 피부 내로 삽입될 수 있기 때문에 사용자에게 유리하다.
- [0207] 앞서 언급된 바와 같이, 바늘이 피부 내로 삽입될 때 유체가 바늘의 길이에 걸쳐 균등하게 분포되도록, 유체 주사의 제어된 속도를 달성하는 것이 바람직하다. 유체 전달 수단은 유체를 제어된 비율에서 주사하도록 적합한 피스톤 구동 수단을 포함할 수 있다. 피스톤 구동 수단은 예로서, 서보 모터에 의해 활성화될 수 있었다. 하지만, 피스톤 구동 수단은 하우징에 비하여 축 방향으로 이동되는 기부에 의해 작동될 수 있다. 유체 전달을 위한 대안적 수단이 제공될 수 있는 것으로 인지될 것이다. 따라서, 예로서, 제어된 또는 비-제어된 속도에서 유체 전달을 위해 압착될 수 있는 폐쇄된 용기가 주사기 및 피스톤 시스템 대신에 제공될 수 있었다.
- [0208] 앞서 설명된 기구는 임의의 유형의 주사에 이용될 수 있었다. 이것은 하지만, 전기천공의 분야에서 특히 유용한 것으로 구상되고, 따라서 이것은 전압을 바늘에 적용하기 위한 수단을 더욱 포함할 수 있다. 이것은 바늘이 주사를 위해서뿐만 아니라 전기천공 동안 전극으로서 이용될 수 있도록 허용한다. 이것은 특히 유리한데, 그 이유는 이것이 전기장이 주사된 유체와 동일한 구역에 적용된다는 것을 의미하기 때문이다. 전극을 이전에 주사된

유체와 정확하게 정렬하는 것이 매우 어렵고, 따라서 사용자가 더욱 큰 구역에 걸쳐 필요한 것보다 더욱 큰 부피의 유체를 주사하고 더욱 높은 구역에 걸쳐 전기장을 적용하여 주사된 물질과 전기장 사이에 중첩을 보증하려고 시도하는 경향이 있었다는 점에서, 전기천공에서 문제점이 전통적으로 있어 왔다. 본 발명을 이용하여, 전기장과 유체 사이에 우수한 적합을 달성하면서 주사된 유체의 부피 및 적용된 전기장의 크기 둘 모두 감소될 수 있다.

[0209] 본 발명은 다음 무제한적 실례에 의해 예증된 복수의 양상을 갖는다.

[0210] **3. 실시예**

[0211] **실시예 1**

[0212] **IL-21의 발현**

[0213] IL-21 유전자를 인코딩하는 플라스미드 (즉, pVAX-mIL-21 Opt)가 IL-21의 발현을 위해 작제되었다 (도면 1). IL-21의 DNA 서열은 플라스미드 내로 삽입 전에 코돈 및 RNA 최적화되었다.

[0214] 상기 플라스미드는 IL-21 발현을 확증하기 위해 HEK 293T 세포 내로 형질감염되었다. 세포 상층액은 ELISA에 의해 분석되었다. 이들 결과는 IL-21이 HEK 293T 세포에서 발현된다는 것을 보여주었다 (도면 2).

[0215] **실시예 2**

[0216] **IL-21은 IgG 및 IgA 혈청 역가를 증가시켰다**

[0217] 백신이 근육내 루트를 통해 투여될 때 IL-21이 어쥬번트로서 기능할 수 있는지를 결정하기 위해 생쥐가 모델 시스템으로서 이용되었다. 상기 백신은 클로스트리듐 디피실레 (*C. difficile*)로부터 독소 A 및 독소 B 항원, 그리고 IL-21을 포함하였는데, 이들은 개별 플라스미드에 의해 인코딩되었다.

[0218] 구체적으로, 일 군의 생쥐는 플라스미드 pVAX-mIL-21 Opt (도면 1 및 실시예 1에서 앞서 설명됨), 그리고 앞서 설명된 바와 같이 클로스트리듐 디피실레 (*C. difficile*)로부터 독소 A 및 독소 B 항원을 인코딩하는 플라스미드로 면역화되었다. 생쥐의 두 번째 군은 독소 A 및 독소 B 항원을 인코딩하는 플라스미드만으로 면역화되었다. 생쥐의 세 번째 군은 비어 있는 대조 플라스미드 pVAX만으로 면역화되었다. 생쥐는 전기천공을 이용하여 근육내 루트에 의해 면역화되었다. 순환하는 항원 특이적 IgG 및 IgA 항체 분비 세포는 그 다음, IL-21 어쥬번트의 영향을 결정하기 위해 면역화된 동물의 혈액에서 분석되었다.

[0219] 도면 4의 위쪽 패널에서 보여지는 바와 같이, IL-21 어쥬번트는 항원 단독으로 면역화와 비교하여 혈청 항-독소 A IgG의 총량을 증가시켰는데, 견실한 역가가 IL-21 군에서 1:2000 희석에서 목격되지만, 항원 단독을 제공받는 군에서는 그렇지 않았다. 혈청 IgA가 분석될 때, IL-21 어쥬번트의 포함은 1:2000 희석에서 적정된 항원 특이적 IgA의 검출가능한 수준을 유발하고, 반면 항원 단독으로 면역화는 미경험 동물에서 임의의 견실한 신호를 보여주지 못하는 것으로 밝혀졌다 (도면 4 아래쪽 패널).

[0220] 상기 데이터는 IL-21이 근육내 루트에 의해 투여될 때 어쥬번트로서 기능하는 능력을 갖는다는 것을 보여주었는데, 그 이유는 IL-21이 클로스트리듐 디피실레 (*C. difficile*)로부터 독소 A 및 독소 B 항원에 대한 체액성 면역 반응을 증대시켰기 때문이다. 상기 데이터는 또한, IL-21이 세균 항원과 함께 어쥬번트로서 기능할 수 있다는 것을 지시하였다.

[0221] **실시예 3**

[0222] **IL-21은 HIV 항원에 대한 세포성 및 체액성 면역 반응을 증가시켰다**

[0223] IL-21 어쥬번트는 또한, HIV로부터 EnvA 및 EnvC 항원을 인코딩하는 플라스미드와 합동으로 투여되었다. 백신 내에 IL-21의 포함은 EnvC에 대한 세포성 및 체액성 면역 반응 둘 모두를 증강시켰다. 상기 백신은 HIV로부터 EnvA 및 EnvC 항원, 그리고 IL-21을 포함하였다. EnvA 항원, EnvC 항원 및 IL-21은 별개의 플라스미드에 의해 인코딩되었다.

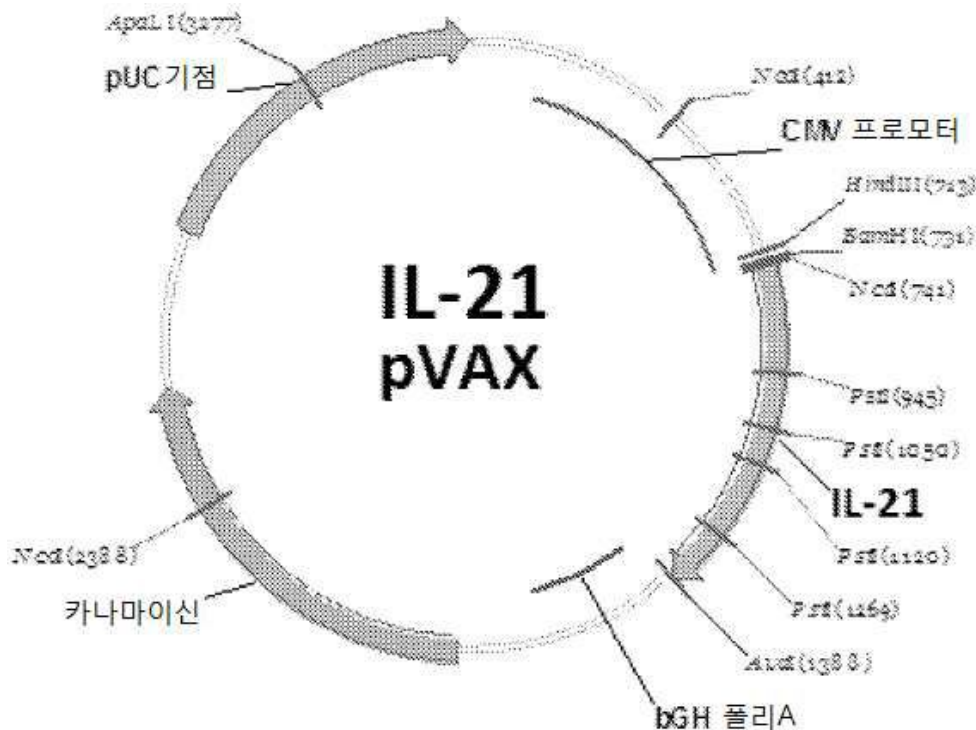
[0224] 구체적으로, EnvA 항원은 공통 단백질 (서열 번호:6)이었는데, 이것은 서열 번호:5에서 진술된 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩되었다. 서열 번호:5에서 진술된 이러한 뉴클레오티드 서열은 플라스미드 내로 통합되었다.

[0225] EnvC 항원은 공통 단백질 (서열 번호:8)이었는데, 이것은 서열 번호:7에서 진술된 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩되었다. 서열 번호:7에서 진술된 이러한 뉴클레오티드 서열은 플라스미드 내로 통합되었다.

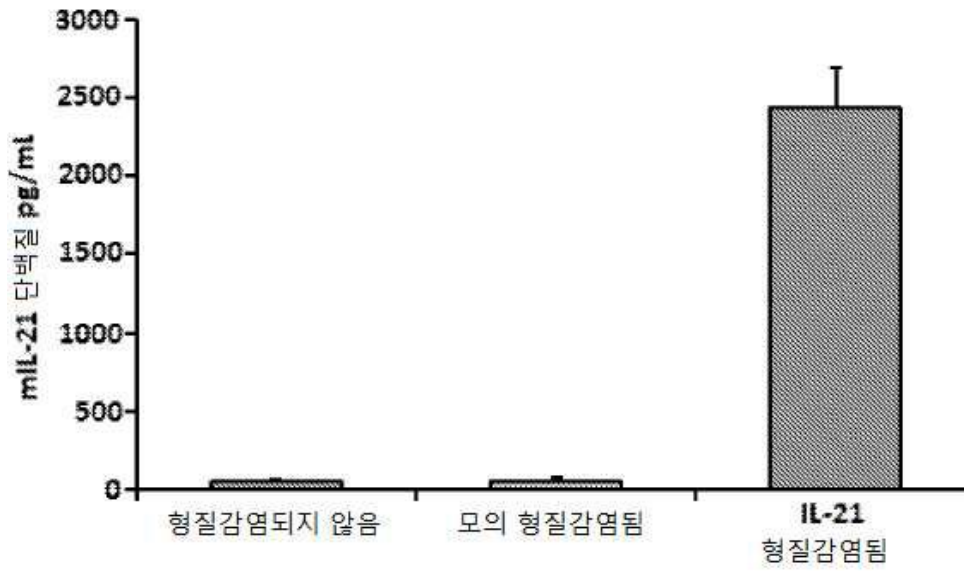
- [0226] 구체적으로, 일 군의 생쥐는 플라스미드 pVAX-mIL-21 Opt (도면 1 및 실시예 1에서 앞서 설명됨), 그리고 앞서 설명된 바와 같은 EnvA 및 EnvC 항원을 인코딩하는 플라스미드로 면역화되었다. 생쥐의 두 번째 군은 EnvA 및 EnvC 항원을 인코딩하는 플라스미드만으로 면역화되었다. 생쥐의 세 번째 군은 비어 있는 대조 플라스미드 pVAX만으로 면역화되었다. 생쥐는 전기천공을 이용하여 근육내 루트에 의해 면역화되었다. 생쥐의 면역화된 군에서 세포성 면역 반응을 조사하기 위해 인터페론 감마 ELISpot 검정이 이용되었다.
- [0227] 도면 5에 나타나 있는 바와 같이, IL-21로 면역화는 항원 단독과 비교하여 EnvC 항원에 대한 세포성 면역 반응을 2-배 이상 증가시켰다. 따라서, 이들 데이터는 IL-21이 근육 조직에서 어쥬번트로서 기능할 수 있다는 것을 시사하였는데, 그 이유는 IL-21이 EnvA 및 EnvC 항원에 대한 세포성 면역 반응을 증대시켰기 때문이다.
- [0228] EnvA 단백질에 대한 항체 반응은 ELISA에 의해, 세 번째 면역화 이후에 면역화된 동물의 혈청에서 측정되었다 (도면 6). 1:400 희석에서, HIV EnvA/C의 평균 O.D.는 대략 0.6이고, 반면 IL-21 어쥬번트 군은 1.0의 평균 O.D. 시도를 가졌다.
- [0229] 종합하면, 이들 데이터는 IL-21이 DNA 백신 내에 포함될 때, 항체 분비 세포의 증가된 빈도, 생산된 IgG의 양 및 클래스 전환, IgA 생산의 양에서 증가, 그리고 증가된 IFN-감마 분비의 형태에서 신규한 어쥬번트 활성을 발휘한다는 것을 암시한다.
- [0230] 전술한 상세한 설명 및 동반된 실시예는 단지 예시적이고 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않으며, 상기 발명의 범위는 오로지 첨부된 청구항 및 그들의 등가물에 의해서만 규정되는 것으로 이해된다.
- [0231] 개시된 구체예에 대한 다양한 변화와 변형은 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명의 화학적 구조, 치환체, 유도체, 중간체, 합성, 조성물, 제제, 또는 이용 방법에 관련된 것들을 제한 없이 포함하는 이런 변화와 변형은 이들의 기술적 사상과 범위로부터 벗어나지 않으면서 만들어질 수 있다.

도면

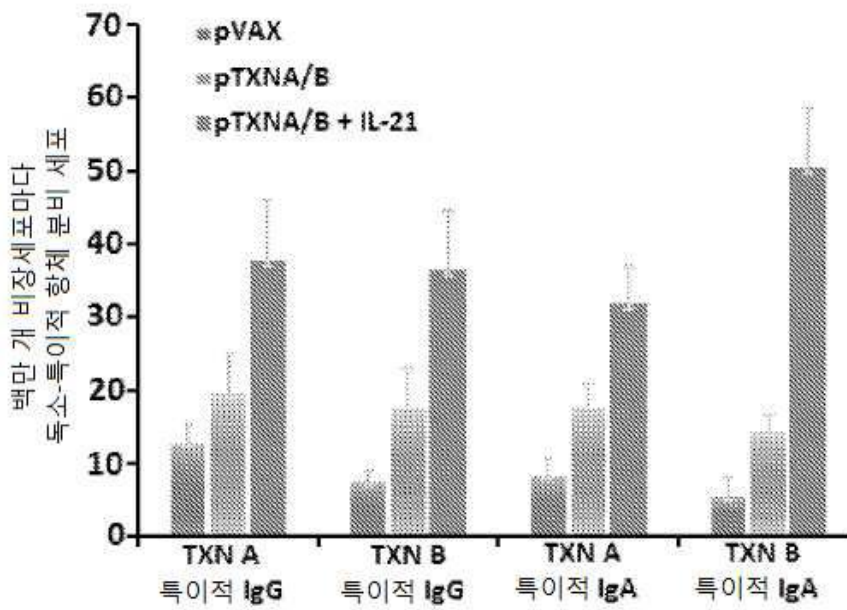
도면1



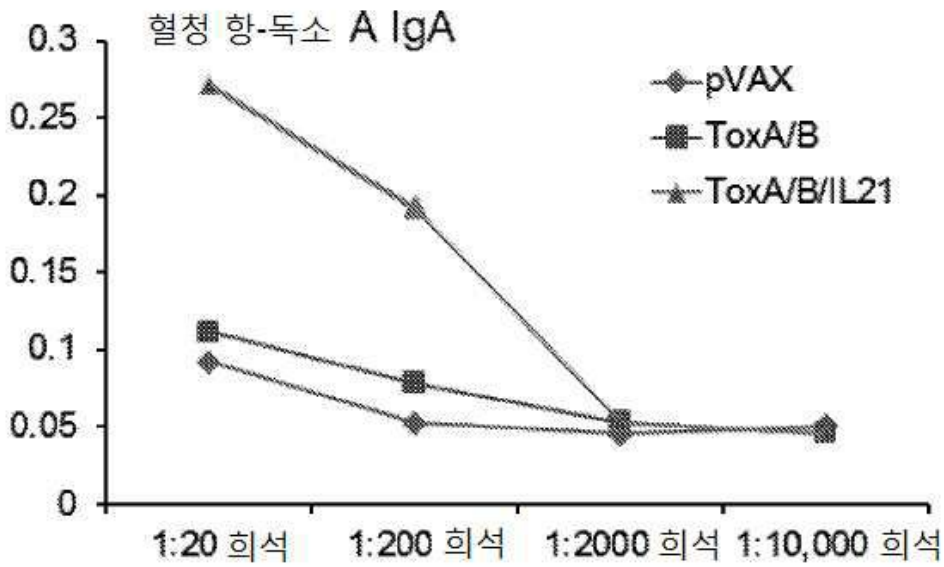
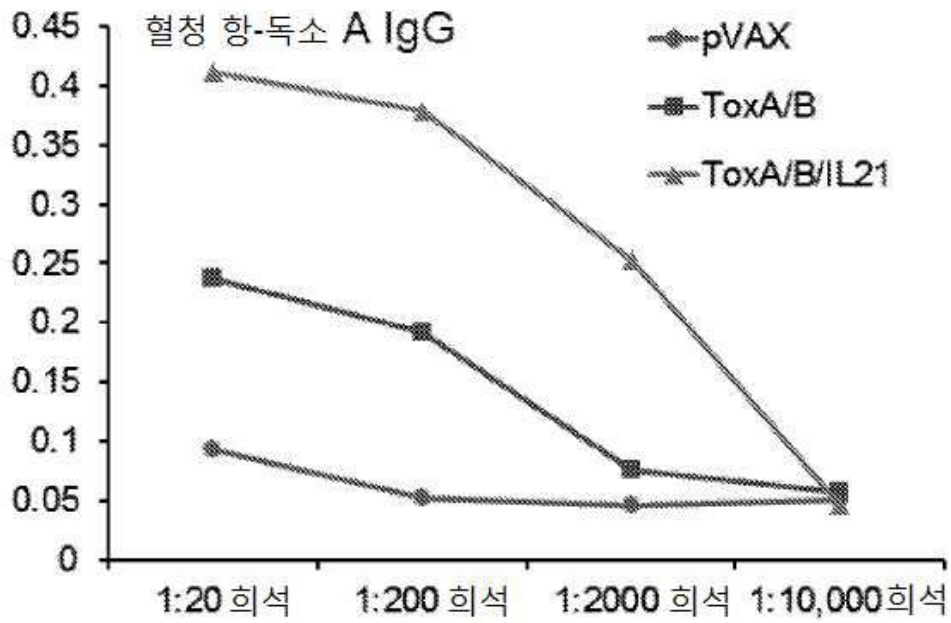
도면2



도면3



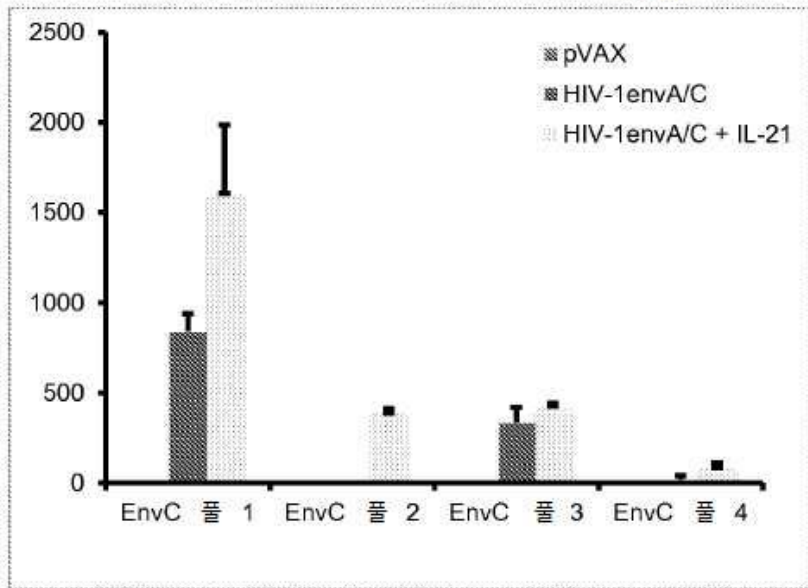
도면4



도면5

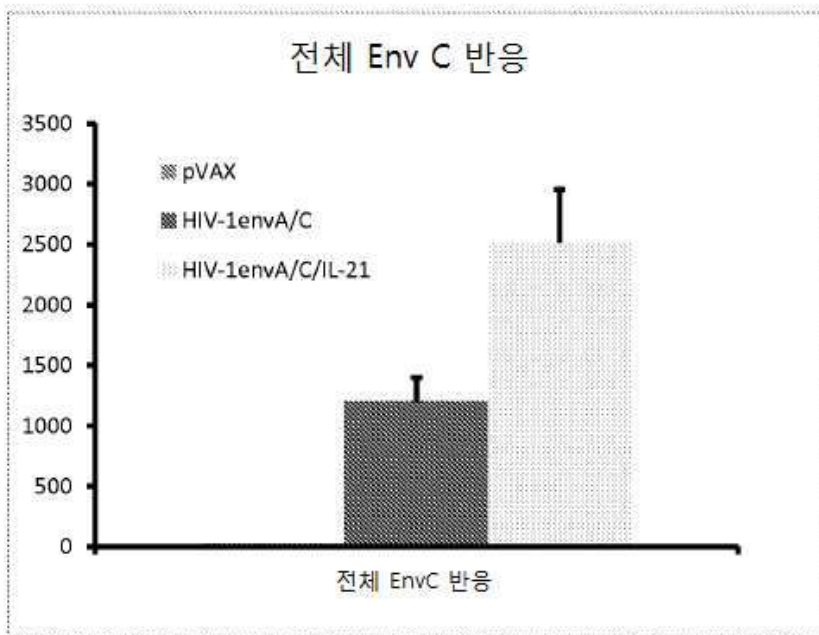
IFN-감마 ELISpot (HIV-1 Env C 펩티드)

백만 개 비장세포마다 IFN-감마 SFC

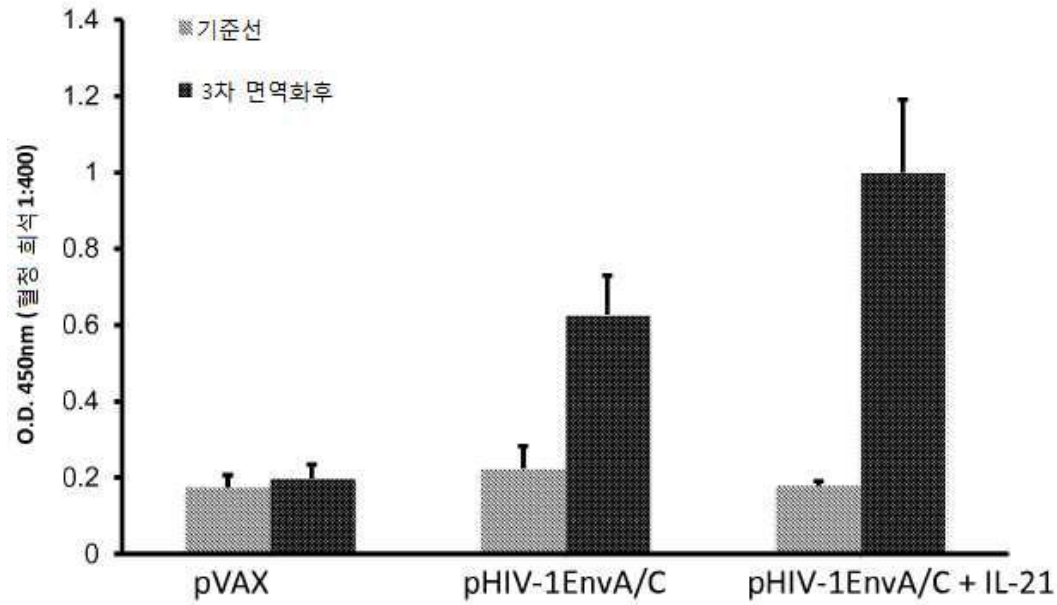


전체 Env C 반응

백만 개 비장세포마다 IFN-감마 SFC



도면6



서열목록

<110> THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA

Inovio Pharmaceuticals, Inc.

WEINER, David

MORROW, Matthew P

<120> VACCINES WITH INTERLEUKIN-21 AS AN ADJUVANT

<130> IP20170029US

<150> US 62/058,304

<151> 2014-10-01

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 495

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> chemically synthesized

<400> 1

atggactgga cctggatcct gttcctggtc gccgcagcca caagggtgca cagcgagagg 60

accctggtct gcctggtggt gatcttctg ggcaccgtgg cccacaagag cagccccag 120

ggccccgaca ggctgctgat caggctgagg cacctgatcg acatcgtgga gcagctgaag 180

atctacgaga acgacctgga ccccagctg ctctccgcc ctcaagacgt gaaggccac 240

tgcgagcagc ccgccttcgc ctgcttccag aaggccaagc tgaagcccag caaccccggc 300
 aacaacaaga ccttcatcat cgacctggtg gccagctga gaagaaggct gcccgccaga 360
 aggggcgga agaagcagaa acacatcgcc aagtgcccga gctgcgacag ctacgagaag 420
 aggaccccca aggaatttct ggagaggctg aagtggctgc tgcagaagat gattcaccag 480

cacctgagct gatga 495

<210> 2

<211> 163

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> chemically synthesized

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala His Lys Ser Ser Pro Gln Gly Pro Asp Arg Leu Leu Ile Arg

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Arg Arg Arg Leu Pro Ala Arg Arg Gly Gly Lys Lys Gln Lys His

115 120 125

Ile Ala Lys Cys Pro Ser Cys Asp Ser Tyr Glu Lys Arg Thr Pro Lys

130 135 140

Glu Phe Leu Glu Arg Leu Lys Trp Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln

145 150 155 160

His Leu Ser

<210> 3
 <211> 537
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> chemically synthesized
 <400>
 > 3
 atggactgga cttgattct gtttctggtc gcagcagcaa ctagagtgca ttcacgcagc 60
 agccctggga acatggagag gattgtcadc tgctgatgg tgattttcct gggcacactg 120
 gtccacaaga gctcctctca gggacaggac aggcatatga tcaggatgcg acagctgac 180
 gacatcgtgg atcagctgaa gaactacgtg aacgacctgg tcccagagtt tctgcctgca 240
 ccagaggatg tcgaaactaa ctgcaaatgg agtgccttct catgtttcca gaaggcacag 300
 ctgaagtccg ctaacaccgg aaacaatgag cgaatcatca acgtgagcat taagaaactg 360
 aagcgaagc ccctagtac caatgctggc cggagacaga agcacagact gacatgcct 420

 agctgtgatt cctacgaaaa gaaaccaccc aaggagtcc tggaacgctt taaaagcctg 480
 ctgcagaaaa tgattacca gcacctgtct tccagaaccc acggctcaga ggattca 537

<210> 4
 <211> 179
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> chemically synthesized
 <400> 4
 Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val
 1 5 10 15
 His Ser Arg Ser Ser Pro Gly Asn Met Glu Arg Ile Val Ile Cys Leu
 20 25 30

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

ttcgagccca tccccatcca ctactgcgcc cctgccggct tgcctatcct gaagtgcaag 720

 gacaaggagt ttaacggcac cggcccctgc aagaatgtga gcaccgtgca gtgcaccac 780
 ggcatcaage ccgtggtgtc caccagctg ctgctgaacg gcagcctggc cgaggaggaa 840
 gtgatgatcc ggagcgagaa catcaccaac aacccaaga acatcatcgt gcagctgacc 900
 aagcccgtga agatcaattg caccggccc aacaacaaca cccggaagag catcagaatc 960
 ggccctggcc aggccttcta cgccaccggc gacatcatcg gcgatatcag gcaggccac 1020
 tgcaatgtga gccggaccga gtggaacgag accctgcaga aagtggcaa gcagctgagg 1080
 aagtacttca acaacaagac catcatcttc accaacagca gcggcggcag actgagaatc 1140

 accaccaca gcttcaattg tggcggcgag ttcttctact gcaatacctc cggcctgttc 1200
 aacagcacct ggaacggcaa cggcaccaag aagaagaaca gcaccgagag caacgacacc 1260
 atcacctgc cctgccgat caagcagatc atcaatatgt ggcagagggt gggccaggcc 1320
 atgtacgcc ctccatcca gggcgtgatc agatgcgaga gcaacatcac cggcctgctg 1380
 ctgaccagag atggcggcga caacaacagc aagaacgaga ccttcagacc tggcggcggga 1440
 gacatgaggg acaactggcg gagcagctg tacaagtaca aagtggtaa gatcgagccc 1500
 ctgggcgtgg cccccacaa ggccaagaga agagtgtgg agcgggagaa gagagctgtg 1560

 ggcatcggcg ccgtgttctt gggcttcttg ggagcccgcc gaagcaccat gggagccgcc 1620
 agcatcacc tgaccgtgca ggccagacag ctgctgagcg gcattgtgca gcagcagagc 1680
 aacctgctga gagccatcga ggcccagcag cacctgctga agctgacagt gtgggcatc 1740
 aaacagctgc aggcccgtg gctggccgtg gagagatacc tgaaggacca gcagctgctg 1800
 ggcatctggg gctgcagcgg caagctgatc tgaccacca acgtgccctg gaatagcagc 1860
 tggagcaaca agagccagag cgagatctgg gacaacatga cctggctgca gtgggacaag 1920
 gagatcagca actacaccga tatcatctac aacctgatcg aggagagcca gaaccagcag 1980

 gagaagaac agcaggatct gctggccctg gacaagtggg ccaacctgtg gaactggttc 2040
 gacatcagca actggctgtg gtacatcaag atcttcatca tgattgtggg cggcctgatc 2100
 ggccctgagaa tcgtgttcgc cgtgctgtct gtgtgactcg ag 2142

 <210> 6
 <211> 709
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> chemically synthesized
 <400> 6

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

500 505 510
 Arg Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu
 515 520 525

Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val
 530 535 540

Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu
 545 550 555 560

Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Lys Leu Thr Val Trp
 565 570 575

Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu
 580 585 590

Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile

595 600 605
 Cys Thr Thr Asn Val Pro Trp Asn Ser Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln
 610 615 620

Ser Glu Ile Trp Asp Asn Met Thr Trp Leu Gln Trp Asp Lys Glu Ile
 625 630 635 640

Ser Asn Tyr Thr Asp Ile Ile Tyr Asn Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn
 645 650 655

Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Asp Leu Leu Ala Leu Asp Lys Trp Ala
 660 665 670

Asn Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys
 675 680 685

Ile Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Val Phe
 690 695 700

Ala Val Leu Ser Val

705

<210> 7

<211> 2140

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> chemically synthesized

<400> 7

ggatccgcca ccatggattg gacctggatt ctgttcctgg tggccgccgc cacaagagtg 60
cacagcagag tgcggggcat cctgagaaat tgccagcagt ggtggatctg gggcattctg 120

gggttctgga tgctgatgat ctgcaacgtg atgggcaacc tgtgggtgac cgtgtactac 180
ggcgtgcctg tgtggaagga ggccaagacc accctgttct gtgccagcga tgccaaggcc 240
tacgagaccg aggtgcacaa tgtgtgggcc acccacgcct gtgtgccac cgateccaac 300
cctcaggaga tggtgctgga gaacgtgacc gagaacttca acatgtgaa gaacgacatg 360
gtggaccaga tgcacgagga catcatcagc ctgtgggacc agagcctgaa gccttgctg 420
aagctgacce ctctgtgctg gacctgaac tgccggaaca acgtgaacaa caacaacacc 480
atgaaggagg agatcaagaa ctgcagcttc aacatcacca ccgagctgcg ggacaagaag 540

cagaagggtg acgccctgtt ctaccgctg gacatcgtgc cctgaacga gaagaacaac 600
agcaacgact accggctgat caactgcaac accagccca tcaccaggc ctgtccaag 660
gtgtccttcg accccatccc catccactat tgtgccctg cggctacgc catcctgaag 720
tgcaacaaca agaccttcaa cggcaccggc cctgcaata atgtgagcac cgtgcagtgt 780
accacggca tcaagcctgt ggtgtccacc cagctgtgc tgaatggcag cctggccgag 840
gaggagatta tcatccggag cgagaacctg accaacaacg ccaagacat cattgtgac 900
ctgaatgaga gctggagat cgtgtgtacc cggcccaaca acaataccg gaagagcatc 960

agaatcggcc ctggccagac cttttacgc accggcgaca tcatcggcga taccaggcag 1020
gcccactgca ataccagcga ggagaagtgg aacaagacc tgcagcgggt gtccgagaag 1080
ctgaaggagc acttcccaa taagaccatc aagtctgccc ctagcagcgg cggcagactg 1140
gagatcacca cccacagctt caactgcagg ggcgagtct tctactgca taccagcaag 1200
ctgttcaaca gcacctacat gcccacagc accaacaata ccaacaccac catcacctg 1260
cctgccgga tcaagcagat catcaatat tggcaggaag tgggcagagc catgtacgcc 1320
cctccatcg agggcaacat cacctgcaag tccaacatca cggcctgct gctgacaaga 1380

gatggcggca agaacgacac caatgacacc gagaccttca gacctggcgg cggagacatg 1440
agggacaact ggcggagcga gctgtacaag tacaaggtgg tggagatcaa gcctctgggc 1500
gtggccccta ccaaggccaa gaggagagtg gtggagaggg agaagagagc cgtgggcatc 1560
ggcgcctgtt ttctgggctt tctgggagcc gccgatcta caatgggagc cggcagcatc 1620
acactgaccg tgcaggccag acagctgctg agcggcatcg tgcagcagca gagcaatctg 1680
ctgagagcca tgcaggccca gcagcacatg ctgcagctga cagtgtgggg catcaagcag 1740

ctgcagacca gagtgctggc catcgagcgc tacctgaagg atcagcagct gctgggcatc 1800
 tggggctgta gcggcaagct gatctgtacc accgccgtgc cttggaatag cagctggagc 1860
 aacaagagcc aggaggacat ctgggacaac atgacctgga tgcagtggga ccgggagatc 1920
 agcaactaca ccgacacat ctacaggctg ctggaggaca gccagaacca gcaggagaag 1980
 aacgagaagg acctgctggc cctggacagc tggaagaacc tgtggaactg gttcgacatc 2040
 accaactggc tigtgtacat caagatcttc atcatgattg tgggcggcct gatcggcctg 2100
 agaatcatct tcgccgtgct gagcatctga tagcggccgc 2140

<210> 8
 <211> 705
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> chemically synthesized

<400> 8

Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val
 1 5 10 15
 His Ser Arg Val Arg Gly Ile Leu Arg Asn Cys Gln Gln Trp Trp Ile
 20 25 30
 Trp Gly Ile Leu Gly Phe Trp Met Leu Met Ile Cys Asn Val Met Gly
 35 40 45
 Asn Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala
 50 55 60
 Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Thr Glu
 65 70 75 80
 Val His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn
 85 90 95
 Pro Gln Glu Met Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp
 100 105 110
 Lys Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp
 115 120 125
 Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr
 130 135 140

Leu Asn Cys Arg Asn Asn Val Asn Asn Asn Asn Thr Met Lys Glu Glu
 145 150 155 160
 Ile Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ile Thr Thr Glu Leu Arg Asp Lys Lys
 165 170 175
 Gln Lys Val Tyr Ala Leu Phe Tyr Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asn
 180 185 190
 Glu Lys Asn Asn Ser Asn Asp Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser
 195 200 205
 Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile
 210 215 220
 His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys
 225 230 235 240
 Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys
 245 250 255
 Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly
 260 265 270

 Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Ser Val Glu Ile Val
 290 295 300
 Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro
 305 310 315 320
 Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln
 325 330 335
 Ala His Cys Asn Ile Ser Glu Glu Lys Trp Asn Lys Thr Leu Gln Arg
 340 345 350
 Val Ser Glu Lys Leu Lys Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Lys Phe
 355 360 365
 Ala Pro Ser Ser Gly Gly Arg Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn
 370 375 380
 Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Lys Leu Phe Asn Ser
 385 390 395 400

Thr Tyr Met Pro Asn Ser Thr Asn Asn Thr Asn Thr Thr Ile Thr Leu
 405 410 415

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

 Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln
 565 570 575
 Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Lys Asp Gln Gln
 580 585 590
 Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala
 595 600 605
 Val Pro Trp Asn Ser Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Glu Asp Ile Trp
 610 615 620
 Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Arg Glu Ile Ser Asn Tyr Thr
 625 630 635 640
 Asp Thr Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Asp Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys

645 650 655
Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys Asn Leu Trp Asn
660 665 670
Trp Phe Asp Ile Thr Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met
675 680 685
Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala Val Leu Ser
690 695 700

Ile

705

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> chemically synthesized

<400> 9

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1

5