



공개특허 10-2019-0135017



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0135017
(43) 공개일자 2019년12월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/005 (2006.01) *A61P 31/14* (2006.01)
C07K 16/10 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 14/005 (2013.01)
A61P 31/14 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2019-7031415

(22) 출원일자(국제) 2018년03월29일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2019년10월24일

(86) 국제출원번호 PCT/AU2018/050299

(87) 국제공개번호 WO 2018/176103
국제공개일자 2018년10월04일

(30) 우선권주장
2017901152 2017년03월30일 오스트레일리아(AU)

(71) 출원인
더 유니버서티 어브 퀸슬랜드
오스트레일리아 퀸슬랜드 4072 브리즈번 세인트 루시아

(72) 발명자
샤펠 키이스 조셉
오스트레일리아 퀸슬랜드 4072 세인트 루시아 더 유니버서티 어브 퀸슬랜드
와터슨 다니엘
오스트레일리아 퀸슬랜드 4072 세인트 루시아 더 유니버서티 어브 퀸슬랜드
영 플 로버트
오스트레일리아 퀸슬랜드 4072 세인트 루시아 더 유니버서티 어브 퀸슬랜드

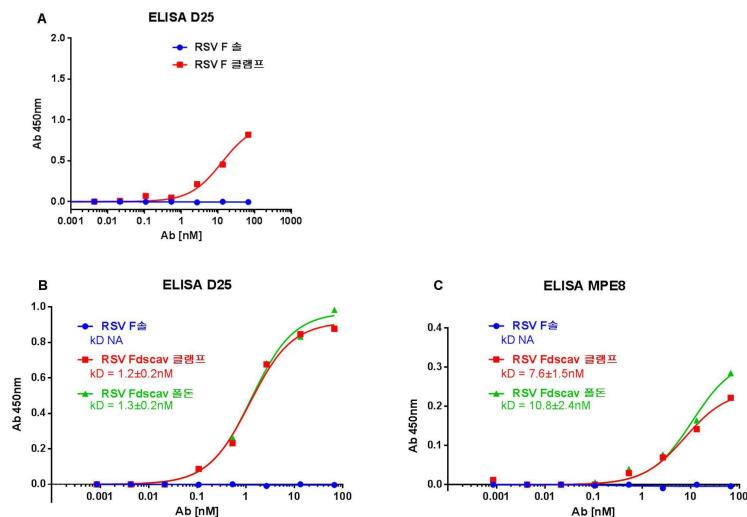
(74) 대리인
특허법인태평양

전체 청구항 수 : 총 54 항

(54) 발명의 명칭 키메라 분자 및 그의 용도

(57) 요약

바이러스 막 융합 단백질에 기반을 둔 키메라 폴리펩타이드를 개시한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 바이러스 융합 단백질의 비리온 표면 노출된 부분 및 이종 구조 안정화 모이어티를 포함하는 키메라 폴리펩타이드, 및 이 키메라 폴리펩타이드들의 복합체를 개시한다. 본 발명은 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 이 융합 단백질의 복합체에 대한 면역 반응을 이끌어내는 조성물 및 방법에 있어서, 및/또는 외피 보유 바이러스 감염의 치료 또는 예방을 위한 이 복합체의 용도도 개시한다. 본 발명은 관심 있는 이종 분자를 올리고마화하기 위한 이종 구조 안정화 모이어티의 용도도 개시한다.

대 표 도

(52) CPC특허분류

C07K 16/10 (2013.01)
C07K 16/1018 (2013.01)
C07K 16/1045 (2013.01)
C07K 2319/35 (2013.01)
C12N 2740/16122 (2013.01)
C12N 2760/14122 (2013.01)
C12N 2760/14134 (2013.01)
C12N 2760/16122 (2013.01)
C12N 2760/16134 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

서로의 회합에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 서로 회합하여 역평행 2-나선 다발을 형성하는 상보적 제1 헵타드 반복부(HR1) 및 제2 헵타드 반복부(HR2) 영역을 포함하는 이종 구조 안정화 모이어티에 다운 스트림으로 작동가능하게 연결된 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 폴리펩타이드를 포함하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 HR1 및 HR2 영역은 상기 엑토도메인 폴리펩타이드에 대한 상보성이 결여되어서, 상기 엑토도메인 폴리펩타이드의 구조적 요소와 함께 보다는 오히려 서로 함께 역평행 2-나선 다발을 우선적으로 형성하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 3

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서,

상기 HR1 및 HR2 영역 각각은 독립적으로 $(a-b-c-d-e-f-g-)_n$ 또는 $(d-e-f-g-a-b-c-)_n$ 으로서 표시된, 아미노산 유형의 n회 반복된 7-잔기 패턴을 특징으로 하고, 이때 상기 패턴 요소 'a' 내지 'g'는 상기 아미노산 유형이 위치하는 통상적인 헵타드 위치를 표시하고, n은 2 이상의 수이고, 적어도 50%(또는 적어도 51% 내지 적어도 99%, 및 이들 사이의 모든 정수 퍼센트)의 통상적인 헵타드 위치 'a' 및 'd'는 소수성 아미노산 유형에 의해 점유되고, 적어도 50%(또는 적어도 51% 내지 적어도 99%, 및 이들 사이의 모든 정수 퍼센트)의 통상적인 헵타드 위치 'b', 'c', 'e', 'f' 및 'g'는 친수성 아미노산 유형에 의해 점유되어서, 소수성 및 친수성 아미노산 유형 사이의 생성된 분포가 상기 헵타드 반복부 영역의 확인을 가능하게 하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 4

청구항 1 내지 청구항 3 중 어느 한 항에 있어서,

상기 HR1 및 HR2 영역 중 하나 또는 모두는 내생성 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질 헵타드 반복부 영역 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 구성되거나, 본질적으로 이로 구성되는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 5

청구항 4에 있어서,

상기 HR1 및 HR2 영역은 하나 이상의 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 각각 상보적 내생성 헵타드 반복부 A(HRA) 영역 및 헵타드 반복부 B(HRB) 영역을 포함하거나, 이로 구성되거나, 본질적으로 이로 구성되는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 6

청구항 5에 있어서,

상기 HRA 영역 아미노산 서열 및 HRB 영역 아미노산 서열은 동일한 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질로부터 유래되는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 7

청구항 5에 있어서,

상기 HRA 영역 아미노산 서열 및 HRB 영역 아미노산 서열은 상이한 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질로

부터 유래되는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 8

청구항 1 내지 청구항 7 중 어느 한 항에 있어서,

상기 HR1 및 HR2 영역은 오르토믹소바이러스, 파라믹소바이러스, 레트로바이러스, 코로나바이러스, 필로바이러스 및 아레나바이러스에 의해 발현된 융합 단백질의 HRA 및 HRB 영역으로부터 독립적으로 선택되는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 9

청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 있어서,

(예를 들면, HR1 영역 및 HR2 영역 중 하나 또는 모두를 포함하는) 상기 구조 안정화 모이어티는 상기 구조 안정화 모이어티에 대한 면역 반응의 유발을 억제하는 면역침묵 모이어티를 포함하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 10

청구항 9에 있어서,

면역침묵 모이어티는 글리코실화 효소(예를 들면, 글리코실트랜스퍼라제)에 의해 인식되고 글리코실화되는 글리코실화 부위인 키메라 폴리펩타이드.

청구항 11

청구항 1 내지 청구항 10 중 어느 한 항에 있어서,

(예를 들면, HR1 및 HR2 영역 중 하나 또는 모두를 포함하는) 상기 구조 안정화 모이어티는 하나 이상의 비천연 아미노산을 포함하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 12

청구항 11에 있어서,

상기 하나 이상의 비천연 아미노산은 폴리에틸렌 글리콜의 커플링을 허용하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 13

청구항 11에 있어서,

상기 하나 이상의 비천연 아미노산은 면역 자극 모이어티의 커플링을 허용하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 14

청구항 11에 있어서,

상기 하나 이상의 비천연 아미노산은 (예를 들면, 특히 숙주 면역 반응을 자극하기 위해 상기 키메라 폴리펩타이드의 엑토도메인을 표시하는 지질 소포 또는 바이러스 유사 입자의 형성을 용이하게 하도록) 지질의 커플링을 허용하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 15

청구항 1 내지 청구항 14 중 어느 한 항에 있어서,

상기 엑토도메인 폴리펩타이드는 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질 엑토도메인에 상응하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 16

청구항 15에 있어서,

상기 엑토도메인 폴리펩타이드는 내생성 HRA 영역 및 내생성 HRB 영역 중 하나 또는 모두를 포함하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 17

청구항 15 또는 청구항 16에 있어서,

상기 클래스 I 융합 단백질은 오르토믹소바이러스, 파라믹소바이러스, 레트로바이러스, 코로나바이러스, 필로바이러스 및 아레나바이러스로부터 선택된 클래스 I 외피 보유 융합 단백질 바이러스로부터 유래되는 것인 키메라 폴리펩타이드.

청구항 18

청구항 1 내지 청구항 14 중 어느 한 항에 있어서,

상기 엑토도메인 폴리펩타이드는 클래스 III 외피 보유 바이러스 융합 단백질 엑토도메인에 상응하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 19

청구항 18에 있어서,

상기 클래스 III 융합 단백질은 랍도바이러스 및 헤르페스바이러스로부터 선택된 클래스 III 외피 보유 융합 단백질 바이러스로부터 유래되는 것인 키메라 폴리펩타이드.

청구항 20

청구항 1 내지 청구항 19 중 어느 한 항에 있어서,

상기 엑토도메인 폴리펩타이드(예를 들면, 클래스 I 또는 클래스 III)는 전체 전구체 엑토도메인 폴리펩타이드 또는 그의 부분을 포함하거나, 이로 구성되는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 21

청구항 20에 있어서,

상기 엑토도메인 폴리펩타이드 또는 부분은 내생성 신호 펩타이드, 프로테아제 절단 부위, 엑토도메인의 내생성 헤드 부분, 엑토도메인의 내생성 줄기 부분, 내생성 뮤신 유사 도메인, 내생성 막 근위 외부 영역 및 내생성 융합 펩타이드 중 어느 하나 이상이 결여된 키메라 폴리펩타이드.

청구항 22

청구항 20 또는 청구항 21에 있어서,

야생형 또는 기준 융합 단백질의 하나 이상의 내생성 단백질분해성 절단 부위(예를 들면, 하나 이상의 푸린 절단 부위)는 상기 엑토도메인 폴리펩타이드를 프로테아제에 의한 단백질분해성 절단에 덜 민감하게 만들도록 변경되거나 결실되는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 23

청구항 1 내지 청구항 22 중 어느 한 항에 있어서,

상기 엑토도메인 폴리펩타이드는 상기 엑토도메인 폴리펩타이드에 상응하는 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 융합 후 형태에 존재하지 않는 적어도 하나의 융합 전 에피토프를 포함하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 24

청구항 1 내지 청구항 23 중 어느 한 항에 있어서,

상기 구조 안정화 모이어티의 HR1 및 HR2 영역은 링커에 의해 연결되는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 25

청구항 24에 있어서,

상기 링커는 약 1개 내지 약 100개의 아미노산 잔기(및 이를 사이의 모든 정수 아미노산 잔기)로 구성되는 키메

라 폴리펩타이드.

청구항 26

청구항 24에 있어서,

상기 링커는 약 1개 내지 약 50개의 아미노산 잔기(및 이를 사이의 모든 정수 아미노산 잔기)로 구성되는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 27

청구항 24에 있어서,

상기 링커는 약 50개 내지 약 100개의 아미노산 잔기(및 이를 사이의 모든 정수 아미노산 잔기)로 구성되는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 28

청구항 24 내지 청구항 27 중 어느 한 항에 있어서,

상기 링커는 상기 키메라 폴리펩타이드의 정제를 용이하게 하는 정제 모이어티, 상기 키메라 폴리펩타이드에 대한 면역 반응을 조절하는 면역조절 모이어티, 세포 특이적 모이어티 및 구조적 유연성 부여 모이어티로부터 선택된 적어도 하나의 모이어티를 포함하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 29

서로의 회합에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 서로 회합하여 역평행 2-나선 다발을 형성하는 상보적 제1 헵타드 반복부(HR1) 및 제2 헵타드 반복부(HR2) 영역을 포함하는 이종 구조 안정화 모이어티에 다운 스트림으로 작동가능하게 연결된 단백질성 분자를 포함하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 30

청구항 29에 있어서,

상기 단백질성 분자는 치료 폴리펩타이드인 키메라 폴리펩타이드.

청구항 31

숙주 세포에서 작동될 수 있는 조절 요소에 작동가능하게 연결된 청구항 1 내지 청구항 30 중 어느 한 항에 따른 키메라 폴리펩타이드에 대한 코딩 서열을 포함하는 핵산 구축물.

청구항 32

청구항 31의 핵산 구축물을 함유하는 숙주 세포.

청구항 33

청구항 32에 있어서,

상기 숙주 세포는 원핵 숙주 세포인 숙주 세포.

청구항 34

청구항 33에 있어서,

상기 숙주 세포는 진핵 숙주 세포인 숙주 세포.

청구항 35

키메라 폴리펩타이드 복합체의 형성에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 청구항 1 내지 청구항 30 중 어느 한 항에 따른 키메라 폴리펩타이드들을 조합함으로써, 3개의 키메라 폴리펩타이드 서브유닛들을 포함하고 키메라 폴리펩타이드들의 각각의 구조 형성 모이어티들의 2-나선 다발들의 올리고머화에 의해 형성된 6-나선 다발을 특징으로 하는 키메라 폴리펩타이드 복합체를 생산하는 단계를 포함하는, 키메라 폴리펩타이드 복합체의

제조 방법.

청구항 36

청구항 1 내지 청구항 30 중 어느 한 항에 따른 3개의 키메라 폴리펩타이드 서브유닛들을 포함하고 상기 키메라 폴리펩타이드들의 각각의 구조 형성 모이어티들의 2-나선 다발의 올리고머화에 의해 형성된 6-나선 다발을 특징으로 하는 키메라 폴리펩타이드 복합체.

청구항 37

청구항 36에 있어서,

상기 키메라 폴리펩타이드 서브유닛들 각각은 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 폴리펩타이드를 포함하고, 상기 복합체는 관심 있는 외피 보유 바이러스 융합 단백질(예를 들면, 야생형 외피 보유 바이러스 융합 단백질) 또는 그의 복합체의 융합 후 형태에 존재하지 않는, 상기 외피 보유 바이러스 융합 단백질 또는 그의 복합체의 적어도 하나의 융합 전 에피토프를 포함하는 복합체.

청구항 38

청구항 1 내지 청구항 30 중 어느 한 항에 따른 키메라 폴리펩타이드, 또는 청구항 36 또는 청구항 37에 따른 키메라 폴리펩타이드 복합체, 및 약학적으로 허용가능한 담체, 희석제 또는 보강제를 포함하는 조성물.

청구항 39

본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 바와 같이, 후보 물질을 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 또는 키메라 폴리펩타이드 복합체와 접촉시키는 단계로서, 상기 엑토도메인 폴리펩타이드는 외피 보유 바이러스의 융합 단백질에 상응하는 것인 단계; 및 상기 후보 물질과 키메라 폴리펩타이드 또는 키메라 폴리펩타이드 복합체의 결합을 검출하는 단계;를 포함하는, 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 상기 융합 단백질의 복합체와 결합하는 물질(예를 들면, 소분자 또는 거대분자)의 확인 방법.

청구항 40

청구항 39에 있어서,

상기 후보 물질을 상기 융합 단백질 또는 상기 융합 단백질의 복합체와 접촉시키는 단계; 및 상기 후보 물질과 상기 융합 단백질 또는 복합체의 결합을 검출하는 단계;를 추가로 포함하는 방법.

청구항 41

청구항 39 또는 청구항 40에 있어서,

상기 후보 물질은 화합물 라이브러리(예를 들면, 소분자 또는 거대분자 라이브러리)의 일부인 방법.

청구항 42

청구항 39 내지 청구항 41 중 어느 한 항에 있어서,

상기 라이브러리로부터 후보 물질을 단리하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 43

청구항 39 내지 청구항 42 중 어느 한 항에 있어서,

상기 후보 물질은 상기 키메라 폴리펩타이드 또는 키메라 폴리펩타이드 복합체에 특이적으로 결합하는 방법.

청구항 44

청구항 39 내지 청구항 43 중 어느 한 항에 있어서,

상기 후보 물질은 상기 융합 단백질 또는 융합 단백질의 복합체에 특이적으로 결합하는 방법.

청구항 45

(1) 동물을 청구항 1 내지 청구항 28 중 어느 한 항에 따른 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드, 또는 청구항 36 또는 청구항 37에 따른 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 복합체, 또는 청구항 38에 따른 그의 조성물로 면역화시키는 단계로서, 상기 엑토도메인 폴리펩타이드는 상기 외피 보유 바이러스의 융합 단백질에 상응하는 것인 단계; (2) 상기 융합 단백질 또는 그의 복합체와 면역상호작용하는 B 세포를 상기 동물로부터 확인 및/또는 단리하는 단계; 및 (3) 상기 B 세포에 의해 발현된 항원 결합 분자를 생산하는 단계;를 포함하는, 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 상기 융합 단백질의 복합체와 면역상호작용하는 항원 결합 분자(예를 들면, 항체, 예컨대, 중화 항체)의 제조 방법.

청구항 46

청구항 45의 방법에 의해 제조된 항원 결합 분자, 또는 상기 항원 결합 분자와 동일한 에피토프 결합 특이성을 가진 유도체 항원 결합 분자.

청구항 47

청구항 46에 있어서,

항체 단편(예컨대, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일 쇄(scFv) 및 도메인 항체(예를 들면, 상어 및 낙타 항체를 포함함), 및 항체를 포함하는 융합 단백질, 및 항원 결합/인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 형상(configuration)의 면역글로불린 분자로부터 선택된 유도체 항원 결합 분자.

청구항 48

청구항 46 또는 청구항 47에 따른 항원 결합 분자, 및 약학적으로 허용가능한 담체, 희석제 또는 보강제를 포함하는 면역조절 조성물.

청구항 49

청구항 1 내지 청구항 48 중 어느 한 항에 따른 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 함유 키메라 폴리펩타이드 복합체 또는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 상기 융합 단백질의 복합체에 대한 면역 반응을 유발하는 방법으로서, 상기 키메라 폴리펩타이드 복합체의 엑토도메인 폴리펩타이드 서브유닛은 상기 외피 보유 바이러스의 융합 단백질에 상응하는 방법.

청구항 50

청구항 1 내지 청구항 49 중 어느 한 항에 따른 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 함유 키메라 폴리펩타이드 복합체 또는 조성물을 발현할 수 있는 DNA 백신 또는 바이러스 법터/레플리콘을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 상기 융합 단백질의 복합체에 대한 면역 반응을 유발하는 방법으로서, 상기 키메라 폴리펩타이드 복합체의 엑토도메인 폴리펩타이드 서브유닛은 상기 외피 보유 바이러스의 융합 단백질에 상응하는 방법.

청구항 51

유효량의 청구항 1 내지 청구항 50 중 어느 한 항에 따른 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 함유 키메라 폴리펩타이드 복합체, 및/또는 청구항 46 또는 청구항 47에 따른 항원 결합 분자, 및/또는 청구항 48에 따른 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 외피 보유 바이러스 감염을 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 52

서로의 회합에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 서로 회합하여 역평행 2-나선 다발을 형성하는 상보적 제1 헵타드 반복부(HR1) 및 제2 헵타드 반복부(HR2) 영역을 포함하는 이종 구조 안정화 모이어티에 다운 스트림으로 작동가능하게 연결된 단백질성 분자를 포함하는 키메라 폴리펩타이드.

청구항 53

키메라 폴리펩타이드 복합체의 형성에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 청구항 52에 따른 키메라 폴리펩타이드들을 조합함으로써, 3개의 키메라 폴리펩타이드 서브유닛들을 포함하고 상기 키메라 폴리펩타이드들의 각각의 구조 형성 모이어티들의 2-나선 다발들의 올리고머화에 의해 형성된 6-나선 다발을 특징으로 하는

키메라 폴리펩타이드 복합체를 생산하는 단계를 포함하는, 키메라 폴리펩타이드 복합체의 제조 방법.

청구항 54

청구항 52에 따른 3개의 키메라 폴리펩타이드 서브유닛들을 포함하고 상기 키메라 폴리펩타이드들의 각각의 구조 형성 모이어티들의 2-나선 다발들의 올리고머화에 의해 형성된 6-나선 다발을 특징으로 하는 키메라 폴리펩타이드 복합체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원은 2017년 3월 30일에 출원된 호주 가출원 제2017901152호(발명의 명칭: "Chimeric molecules and uses thereof")에 대한 우선권을 주장하고, 이 가출원의 내용은 전체로서 본원에 참고로 도입된다.

[0002] 본 발명은 일반적으로 바이러스 막 융합 단백질에 기반을 둔 키메라 폴리펩타이드에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 바이러스 융합 단백질의 비리온 표면 노출된 부분 및 이종 구조 안정화 모이어티를 포함하는 키메라 폴리펩타이드, 및 이 키메라 폴리펩타이드들의 복합체에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 외피 보유 바이러스의 융합 단백질, 또는 이 융합 단백질의 복합체에 대한 면역 반응을 이끌어내는 조성물 및 방법에 있어서 이 복합체의 용도, 및/또는 외피 보유 바이러스 감염을 치료하거나 예방하기 위한 이 복합체의 용도에 관한 것이다. 추가로, 본 발명은 관심 있는 이종 분자를 올리고머화하기 위한 이종 구조 안정화 모이어티의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 외피 보유 바이러스, 예컨대, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 인플루엔자 바이러스 및 호흡기 세포융합 바이러스(RSV)는 숙주 세포 내로 들어가 감염시키기 위해 바이러스 막과 숙주 세포 막의 융합을 요구한다. 바이러스 융합 단백질은 준안정한 '융합 전' 입체구조로부터 매우 안정한 '융합 후' 입체구조로 에너지 유리한 구조적 재배열을 겪음으로써 이 과정을 용이하게 한다. 이 구조적 변화는 바이러스 및 숙주 세포 막의 융합을 유발하여, 바이러스 계놈이 세포 내로 방출되게 한다.

[0004] 바이러스 융합 단백질들은 현재 그들의 개별 구조적 구성, 및 융합 과정을 유발하는 분자 특징을 기준으로 3개의 클래스들로 분류된다. 클래스 I 융합 단백질 및 클래스 III 융합 단백질은 둘 다 융합 전 입체구조 및 융합 후 입체 구조 둘 다에서 삼량체인 반면, 클래스 II 융합 단백질은 삼량체성 융합 후 형태로 재배열되는 그의 융합 전 입체구조에서 이량체이다. 그러나, 현재 정의된 이 클래스들과 일부 핵심 특징들을 공유하는 바이러스 융합 단백질의 신규 클래스가 향후에 확인될 수 있을 가능성이 있다. 클래스 I 융합 단백질 및 클래스 III 융합 단백질은 N-말단 신호 서열 및 C-말단 막횡단 및 세포질 도메인을 포함하는 상당한 구조적 특징들을 공유한다. 이들은 초기 융합 전 삼량체가 부분적 해리를 겪음으로써 융합 후 삼량체를 형성하기 위해 요구된 상당한 구조적 재배열을 가능하게 한다는 점에서 유사한 융합 기작도 공유한다.

[0005] 바이러스 융합 단백질은 많은 의학적으로 중요한 외피 보유 바이러스들에 대한 보호성 중화 항체 반응의 일차 표적이기 때문에 훌륭한 서브유닛 백신 후보이다. 그러나, 최근의 증거는 친연 감염 동안 유발된 넓은 교차반응 및 강력한 중화 항체가 주로 융합 전 형태와 반응하고 융합 후 형태와는 반응하지 않는다는 것을 보여주기 때문에, 융합 단백질의 고유 준안정성은 효과적인 서브유닛 백신 디자인에 대한 주요 장애물이다. 추가로, 바이러스 외피 융합 단백질의 융합 전 형태는 융합 후 형태에 존재하지 않는 에피토프를 함유한다(예를 들면, 문헌(Magro et al., 2012. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109(8):3089-3094) 참조). 따라서, 백신의 경우, 안정화된 융합 전 형태는 일반적으로 항원성 면에서 더 바람직한 것으로 간주된다. 그러나, 이 단백질을 재조합적으로 발현시키는 전통적인 방법은 전형적으로 조기 유발 및 구조적으로 더 안정한 융합 후 형태로의 입체구조적 전환을 야기한다.

[0006] 결과적으로, 외피 보유 바이러스에 대한 더 효과적인 면역 반응을 자극하기 위해 실질적으로 그의 융합 전 형태로 남아있는 안정화된 재조합 융합 단백질을 생성하는 신규 방법이 절실히 필요하다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 바이러스 융합 단백질의 융합 전 입체구조가 융합 단백질 비리온 표면 노출된 도메인(본원에서 "융합 엑토도메인 폴리펩타이드" 또는 "엑토도메인"으로서도 지칭됨)을, 서로 회합하여 역평행 2-나선 다발을 형성하

는 한 쌍의 상보적 헵타드 반복부(heptad repeat) 영역들을 포함하는 이종 모이어티에 다운스트림으로 작동가능하게 연결함으로써 모방될 수 있다는 확인으로부터 비롯된다. 이 모이어티는 융합 엑토도메인 폴리펩타이드를 안정화시키고 이것이 융합 후 입체구조로 재배열하는 것을 억제하는 일종의 '분자 클램프(clamp)'로서 작용한다. 본 발명의 분자 클램프 방법은 각각 인플루엔자, RSV, HIV, 홍역 바이러스 및 에볼라 바이러스의 융합 전 입체구조를 모방함으로써, 융합 전 입체구조에서 바이러스 외피 융합 단백질의 모방물질을 생성하기 위한 플랫폼으로서 적합한 키메라 폴리펩타이드를 생성하는 데 사용된다. 이렇게 생성된 키메라 폴리펩타이드는 자가-조립하여, 키메라 폴리펩타이드의 올리고머를 포함하고 천연 외피 보유 바이러스 융합 단백질 복합체의 융합 전 입체구조를 모방하는 인공 외피 보유 바이러스 융합 단백질 복합체를 형성할 수 있다. 이 자가-조립은 특히 재조합 발현 시스템에서 상기 인공 복합체가 용이하게 생성될 수 있게 한다. 본 발명의 키메라 폴리펩타이드를 사용함으로써 생성된 인공 복합체는 이하에 기재된 바와 같이 천연 외피 보유 바이러스 융합 단백질 복합체에 대한 중화 항체의 발생을 포함하는 면역 반응을 자극하는 방법 및 조성물에 유용하다.

[0008]

따라서, 한 양태에서, 본 발명은 회합에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 서로 회합하여 역평행 2-나선 다발을 형성하는 상보적 제1 헵타드 반복부(HR1) 영역 및 제2 헵타드 반복부(HR2) 영역을 포함하는 이종 구조 안정화 모이어티에 다운스트림으로 작동가능하게 연결된 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 폴리펩타이드를 포함하는 키메라 폴리펩타이드를 제공한다. HR1 영역 및 HR2 영역은 전형적으로 엑토도메인 폴리펩타이드에 대한 상보성을 결여하므로, 엑토도메인 폴리펩타이드의 구조적 요소와 역평행 2-나선 다발을 형성하기보다는 오히려 서로 함께 역평행 2-나선 다발을 우선적으로 형성한다. 일부 실시양태들에서, HR1 영역 및 HR2 영역은 각각 독립적으로 $(a-b-c-d-e-f-g)_n$ 또는 $(d-e-f-g-a-b-c)_n$ 로서 표시된, 아미노산 유형의 n회 반복된 7-잔기 패턴을 특징으로 하는데, 이때 패턴 요소 'a' 내지 'g'는 아미노산 유형이 위치하는 통상적인 헵타드 위치를 의미하고 n은 2 이상의 수이고, 적어도 50%(또는 적어도 51% 내지 적어도 99% 및 이들 사이의 모든 정수 퍼센트)의 통상적인 헵타드 위치 'a' 및 'd'는 소수성 아미노산 유형에 의해 점유되고, 적어도 50%(또는 적어도 51% 내지 적어도 99% 및 이들 사이의 모든 정수 퍼센트)의 통상적인 헵타드 위치 'b', 'c', 'e', 'f' 및 'g'는 친수성 아미노산 유형에 의해 점유되고, 소수성 아미노산 유형과 친수성 아미노산 유형 사이의 생성된 분포는 헵타드 반복부 영역을 확인할 수 있게 한다. 일부 실시양태들에서, HR1 영역 및 HR2 영역 중 하나 또는 둘 다는 내생성 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질 헵타드 반복부 영역 아미노산 서열을 포함하거나, 이러한 아미노산 서열로 구성되거나, 본질적으로 이러한 아미노산 서열로 구성된다. 이 유형의 대표적 예에서, HR1 영역 및 HR2 영역은 하나 이상의 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 각각 상보적 내생성 헵타드 반복부 A(HRA) 영역 및 헵타드 반복부 B(HRB) 영역을 포함하거나, 이러한 영역들로 구성되거나, 본질적으로 이러한 영역들로 구성된다. 일부 실시양태들에서, HRA 영역 아미노산 서열 및 HRB 영역 아미노산 서열은 동일한 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질로부터 유래한다. 다른 실시양태에서, HRA 영역 아미노산 서열 및 HRB 영역 아미노산 서열은 상이한 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질로부터 유래한다. 대표적 예에서, HR1 영역 및 HR2 영역은 오르토믹소바이러스(orthomyxovirus), 파라믹소바이러스(paramyxovirus), 레트로바이러스(retrovirus), 코로나바이러스(coronavirus), 필로바이러스(filovirus) 및 아레나바이러스(arenavirus)에 의해 발현된 융합 단백질의 HRA 영역 및 HRB 영역으로부터 독립적으로 선택된다.

[0009]

일부 실시양태들에서, 엑토도메인 폴리펩타이드는 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질 엑토도메인에 상응한다. 이 유형의 대표적 예에서, 엑토도메인 폴리펩타이드는 내생성 HRA 영역 및 내생성 HRB 영역 중 하나 또는 둘 다를 포함한다. 클래스 I 융합 단백질을 가진 비한정적 외피 보유 바이러스는 오르토믹소바이러스, 파라믹소바이러스, 레트로바이러스, 코로나바이러스, 필로바이러스 및 아레나바이러스를 포함한다.

[0010]

다른 실시양태에서, 엑토도메인 폴리펩타이드는 클래스 III 외피 보유 바이러스 융합 단백질 엑토도메인에 상응한다. 클래스 III 융합 단백질을 가진 대표적 외피 보유 바이러스는 랍도바이러스(rhabdovirus) 및 헤르페스바이러스(herpesvirus)를 포함한다.

[0011]

엑토도메인 폴리펩타이드(예를 들면, 클래스 I 또는 클래스 III)는 전체 전구체 엑토도메인 폴리펩타이드 또는 이의 부분을 포함할 수 있거나, 이러한 폴리펩타이드 또는 이의 부분으로 구성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 엑토도메인 폴리펩타이드는 내생성 신호 펩타이드, 엑토도메인의 내생성 헤드(head) 부분, 엑토도메인의 내생성 줄기(stem) 부분, 내생성 뮤신 유사 도메인, 내생성 막 근위 외부 영역 및 내생성 융합 펩타이드 중 어느 하나 이상을 결여한다. 엑토도메인 폴리펩타이드는 적합하게는 엑토도메인 폴리펩타이드에 상응하는 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 융합 후 형태에 존재하지 않는 적어도 하나의 융합 전 에피토프를 포함한다.

[0012]

일부 실시양태들에서, 구조 안정화 모이어티의 HR1 영역 및 HR2 영역은 일반적으로 약 1개 내지 약 100개의 아

미노산 잔기(및 이들 사이의 모든 정수의 아미노산 잔기), 전형적으로 약 1개 내지 약 100개의 아미노산 잔기(및 이들 사이의 모든 정수의 아미노산 잔기)로 구성된 링커에 의해 연결된다. 링커는 키메라 폴리펩타이드의 정제를 용이하게 하는 정제 모이어티, 키메라 폴리펩타이드에 대한 면역 반응을 조절하는 면역조절 모이어티, 키메라 폴리펩타이드를 특정 세포 하위유형으로 향하게 하는 세포 표적화 모이어티 및 구조적 유연성 부여 모이어티로부터 선택된 적어도 하나의 모이어티를 포함할 수 있다.

[0013] 키메라 폴리펩타이드는 합성에 의해 또는 재조합 수단에 의해 생성될 수 있다. 키메라 폴리펩타이드가 재조합적으로 생성되는 실시양태에서, 본 발명은 또 다른 양태에서 숙주 세포에서 작동될 수 있는 조절 요소에 작동가능하게 연결된, 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 키메라 폴리펩타이드에 대한 코딩 서열을 포함하는 핵산 구축물을 제공한다.

[0014] 관련 양태에서, 본 발명은 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 핵산 구축물을 함유하는 숙주 세포를 제공한다. 숙주 세포는 원핵 또는 진핵 숙주 세포일 수 있다.

[0015] 이종 구조 안정화 모이어티는 융합 후 입체구조로의 재배열로부터 엑토도메인 폴리펩타이드를 안정화시키는 데 유용할 뿐만 아니라, 관심 있는 임의의 이종 분자를 올리고며, 특히 삼량체로 올리고머화하는 데에도 유용하다. 따라서, 또 다른 양태에서, 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 바와 같이, 본 발명은 회합에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 서로 회합하여 역평행 2-나선 다발을 형성하는 상보적 제1 헬타드 반복부(HR1) 영역 및 제2 헬타드 반복부(HR2) 영역을 포함하는 이종 구조 안정화 모이어티에 작동가능하게 다운스트림 연결된 단백질성 분자를 포함하는 키메라 폴리펩타이드를 제공한다.

[0016] 본 발명의 키메라 폴리펩타이드는 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 자가-조립하여 키메라 폴리펩타이드 복합체를 형성할 수 있다. 따라서, 또 다른 양태에서, 본 발명은 키메라 폴리펩타이드 복합체의 형성에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 본원의 앞부분 및 다른 부분에서 넓게 정의된 키메라 폴리펩타이드들을 조합함으로써, 3개의 키메라 폴리펩타이드들을 포함하고 키메라 폴리펩타이드들의 각각의 구조 안정화 모이어티의 2-나선 다발의 올리고머화에 의해 형성된 6-나선 다발을 특징으로 하는 키메라 폴리펩타이드 복합체를 생성하는 단계를 포함하는, 키메라 폴리펩타이드 복합체를 제조하는 방법을 제공한다.

[0017] 관련 양태에서, 본 발명은 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 3개의 키메라 폴리펩타이드들을 포함하고 키메라 폴리펩타이드들의 각각의 구조 안정화 모이어티의 2-나선 다발의 올리고머화에 의해 형성된 6-나선 다발을 특징으로 하는 키메라 폴리펩타이드 복합체를 제공한다. 키메라 폴리펩타이드가 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 폴리펩타이드를 포함하는 일부 실시양태들에서, 키메라 폴리펩타이드의 자가-조립에 의해 형성된 키메라 폴리펩타이드 복합체는 관심 있는 외피 보유 바이러스 융합 단백질(예를 들면, 야생형 외피 보유 바이러스 융합 단백질) 또는 이의 복합체의 융합 후 형태에 존재하지 않는, 상기 외피 보유 바이러스 융합 단백질 또는 이의 복합체의 적어도 하나의 융합 전 에피토프를 포함한다.

[0018] 또 관련 다른 양태에서, 본 발명은 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 키메라 폴리펩타이드 또는 키메라 폴리펩타이드 복합체, 및 약학적으로 허용가능한 담체, 희석제 또는 보강제를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 실시양태들에서, 상기 조성물은 면역 조절 조성물이다.

[0019] 키메라 폴리펩타이드가 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 폴리펩타이드를 포함하는 일부 실시양태들에서, 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 복합체는 대상체 또는 생성 동물에서 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 이 융합 단백질의 복합체에 대한 면역 반응을 유발하는 데 유용하다. 따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 본 키메라 폴리펩타이드 복합체 또는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 이 융합 단백질의 복합체에 대한 면역 반응을 유발하는 방법으로서, 키메라 폴리펩타이드 복합체의 엑토도메인 폴리펩타이드가 외피 보유 바이러스의 융합 단백질에 상응하는 것인 방법을 제공한다.

[0020] 관련 양태에서, 본 발명은 후보 물질을 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 또는 키메라 폴리펩타이드 복합체와 접촉시키는 단계로서, 상기 엑토도메인 폴리펩타이드가 외피 보유 바이러스의 융합 단백질에 상응하는 것인 단계; 및 상기 후보 물질과 상기 키메라 폴리펩타이드 또는 키메라 폴리펩타이드 복합체의 결합을 검출하는 단계를 포함하는, 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 이 융합 단백질의 복합체에 결합하는 물질(예를 들면, 소분자 또는 거대분자)을 확인하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 후보 물질을 융합 단백질 또는 융합 단백질의 복합체와 접촉시키는 단계 및 상기 후보 물질과 상기 융합 단백질 또는 상기 복합체의 결합을 검출하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에

서, 후보 물질은 화합물 라이브러리(예를 들면, 소분자 또는 거대분자 라이브러리)의 부분이다. 이들 실시양태들의 일부에서, 상기 방법은 라이브러리로부터 후보 물질을 단리하는 단계를 추가로 포함한다. 적합하게는, 후보 물질은 키메라 폴리펩타이드 또는 키메라 폴리펩타이드 복합체, 바람직하게는 융합 단백질 또는 융합 단백질의 복합체에 특이적으로 결합한다.

[0021] 또 다른 관련 양태에서, 본 발명은 (1) 동물을 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 또는 키메라 폴리펩타이드 복합체, 또는 조성물로 면역화시키는 단계로서, 엑토도메인 폴리펩타이드가 외피 보유 바이러스의 융합 단백질에 상응하는 것인 단계; (2) 상기 융합 단백질 또는 이의 복합체와 면역상호작용하는 B 세포를 상기 동물로부터 확인하고/하거나 단리하는 단계; 및 (3) 그 B 세포에 의해 발현된 항원 결합 분자를 생성하는 단계를 포함하는, 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 이 융합 단백질의 복합체와 면역상호작용하는 항원 결합 분자(예를 들면, 항체, 예컨대, 중화 항체)를 제조하는 방법을 제공한다.

[0022] 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 면역화 방법에 의해 생성된 항원 결합 분자, 또는 이 항원 결합 분자와 동일한 에피토프 결합 특이성을 가진 유도체 항원 결합 분자도 본 발명의 추가 양태로서 제공된다. 유도체 항원 결합 분자는 항체 단편(예컨대, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일 쇄(scFv) 및 도메인 항체(예를 들면, 상어 항체 및 낙타 항체를 포함함), 및 항체를 포함하는 융합 단백질, 및 항원 결합/인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 형상(configuration)의 면역글로불린 분자로부터 선택될 수 있다.

[0023] 관련 양태에서, 본 발명은 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 항원 결합 분자, 및 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 보강제를 포함하는 면역 조절 조성물을 제공한다.

[0024] 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 바와 같이, 본 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 또는 이의 복합체뿐만 아니라, 조성물 및 항원 결합 분자도 외피 보유 바이러스 감염을 치료하거나 예방하는 데 유용하다. 따라서, 또 다른 양태에서, 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 바와 같이, 본 발명은 유효량의 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 또는 이의 복합체, 조성물 또는 항원 결합 분자를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 외피 보유 바이러스 감염을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 입체구조 특이적 단일클론 항체에 대한 ELISA RSV F 반응성을 보여주는 그래프이다. A. 융합 전 특이적 단일클론 항체 D25(Zhao et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2000. 97(26): 14172-7)는 23.4±12.5 nM의 친화성으로 키메라 클램프 안정화된 RSV F에 결합하나, 상응하는 안정화되지 않은 F 엑토도메인인 F 솔(sol)에는 결합하지 않는다. B. 융합 전 특이적 단일클론 항체 D25는 필적할만한 친화성(각각 1.2±0.2 nM 및 1.3±0.2 nM)으로 키메라 클램프 안정화된 RSV F DS cav 돌연변이체 및 대조군 키메라 폴돈(foldon) 안정화된 RSV F에 결합하나, 상응하는 안정화되지 않은 F 엑토도메인인 F 솔에는 결합하지 않는다. C. 넓게 교차중화하는 융합 전 특이적 단일클론 항체 MPE8(Corti et al., Nature 2013. 501(7467):439-43)은 필적할만한 친화성(각각 7.6±1.5 nM 및 10.8±2.4 nM)으로 키메라 클램프 안정화된 RSV F DS cav 돌연변이체 및 대조군 키메라 폴돈 안정화된 RSV F에 결합하나, 상응하는 안정화되지 않은 F 엑토도메인인 F 솔에는 결합하지 않는다.

도 2는 입체구조 특이적 단일클론 항체에 대한 ELISA 인플루엔자 H3 반응성을 보여주는 그래프이다. A. 헤드 특이적 항체 C05(Ekiert et al., Nature 2012. 489(7417): 526-32)는 H3솔, H3 클램프 및 QIV에 유사하게 결합하나, 융합 전 줄기 특이적 단일클론 항체 CR8043(Friesen, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2014. 111(1): 445-50)은 3.3±0.8 nM의 친화성으로 키메라 클램프 안정화된 인플루엔자 HA에 결합하나, 상응하는 HA 엑토도메인 또는 시판되는 QIV에는 결합하지 않는다.

도 3은 단백질 올리고머 상태의 크기 배제 크로마토그래피 분리를 보여주는 그래프이다. 키메라 클램프 안정화된 인플루엔자 HA는 대략 11 ml에서 수퍼덱스(Superdex) 200 증가 10/300 GL 컬럼으로부터의 그의 용출을 통해 확인될 때 가용성 삼량체로서 존재한다. 비교하건대, 단리 시 발현된 상응하는 HA 엑토도메인은 융집체로서 존재하는 단백질의 부분 및 단량체로서 존재하는 또 다른 부분과 일치하는 대략 8 ml 및 12 ml에서 컬럼으로부터 용출된다. 인플루엔자 HA의 융합 후 형태가 융합 펩타이드의 노출을 통해 단량체성 형태 또는 융집체로 해리할 수 있다는 것은 이전에 밝혀졌다(Weldon et al., PLoS One 2010. 5(9)). 시판되는 QIV는 8 ml에서 용출되었는데, 이것은 고분자량 융집체를 시사한다.

도 4는 백신접종 시 생성된 중화 면역 반응을 보여주는 그래프이다. 시판되는 (QIV) 백신을 접종받은 마우스로부터의 혈청은 대략 180의 IC50 값으로 인플루엔자 A/허베이 바오딩 안궈(Hebei Baoding Anguo)/51/2010(H3N2)에 대한 중화를 보였다. 비교하건대, 키메라 클램프 안정화된 인플루엔자 HA는 1:14,000(95% CI 11,000-17,000)의 IC50 값으로 크게 증가된 수준의 바이러스 중화 활성을 보인 반면, 상응하는 HA 엑토도메인을 접종받은 마우스로부터의 혈청은 1:20의 시험된 최고 용량에서 조차도 중화 활성을 보이지 않았다. H3솔 또는 QIV와의 예비항온처리는 H3N2 중화에 영향을 미치지 않았으나, H3클램프와의 예비항온처리는 H3H2 중화를 제거하였다.

도 5는 유도된 면역 반응의 서브도메인 특이성을 보여주는 그래프이다. H3솔, H3클램프 또는 시판되는 백신(QIV)을 접종받은 마우스로부터의 혈청은 H3의 헤드 및 줄기 서브도메인에 대한 상이한 반응성을 보였다. 키메라 클램프 안정화된 인플루엔자 HA로 면역화시킨 마우스로부터의 혈청은 줄기 도메인에 대한 가장 큰 반응성(총 H3 특이적 반응의 약 25%)을 보인 반면, H3솔 및 QIV로 면역화시킨 마우스로부터의 혈청은 훨씬 더 낮은 반응성을 보였다(각각 1% 및 4%).

도 6은 H5 교차반응성을 보여주는 그래프이다. ELISA를 이용하여 H5에 대한 반응성을 측정하였다. 배경 + 3 표준 편차보다 더 큰 반응성을 생성하는 최대 희석으로서 종점 역가를 계산하였다. H3솔, H3클램프, 시판되는 백신(QIV), H1클램프 및 H5클램프를 접종받은 마우스로부터의 혈청은 H5에 대한 상이한 반응성을 보였다. H3클램프 또는 H1클램프로 면역화시킨 마우스로부터의 혈청은 QIV보다 훨씬 더 큰 H5에 대한 교차반응성을 보였다(각각 27배 증가 및 81배 증가).

도 7은 H5 교차반응성을 책임지는 서브도메인을 보여주는 그래프이다. ELISA를 이용하여 H5에 대한 반응성을 측정하였다. 배경 + 3 표준 편차보다 더 큰 반응성을 생성하는 최대 희석으로서 종점 역가를 계산하였다. 마우스 혈청에 대한 총 H5 반응성이 표시되어 있다(회색 막대). 혈청과 H3줄기의 예비항온처리를 이용하여 ELISA 전에 줄기 특이적 항체를 미리 흡수시켰거나(백색 막대), 줄기 특이적 항체보다 경쟁에서 우월한 단일클론 항체 FI6v3을 첨가하였다(흑색 막대).

도 8은 가용성 삼량체성 클램프 안정화된 MERS 스파이크(Spike) 단백질의 정제를 보여주는 그래프이다. A. 발현 후 CHO 상청액으로부터 정제된 클램프 안정화된 MERS 스파이크의 SDS-PAGE. 대략 200 kDa에 있는 단백질 벤드는 회합된 글리칸을 포함하는 생성된 단량체성 MRES 단백질의 정확한 대략적 크기에 있고 CHO 상청액으로부터의 대조군 정제에서는 보이지 않는다. B. 수퍼덱스 6 10/300 GL 컬럼에서의 클램프 안정화된 MERS 스파이크 단백질의 크기 배제 크로마토그래피. 12.5 mM에서의 주요 단백질의 용출은 회합된 글리칸을 포함하는 응집되지 않은 삼량체성 MERS 단백질의 정확한 크기가 대략 600 kDa임을 시사한다.

도 9는 CHO 상청액으로부터 뮤신 유사 도메인을 결여하는 클램프 안정화된 에볼라(Ebola) GP 단백질을 정제하는 것을 보여주는 그래프이다. DTT를 사용하지 않은 SDS-PAGE 분석은 회합된 글리칸을 포함하는 생성된 에볼라 GP 단백질(천연 디설파이드 가교에 의해 연결된 GP1 및 GP2)의 정확한 크기인 대략 100 kDa에서 단백질 벤드를 보여준다. DTT를 사용한 SDS-PAGE 분석은 회합된 글리칸을 포함하는 푸린(Furin) 절단된 에볼라 GP 단백질의 정확한 크기인 대략 60 kDa 및 30 kDa에서 2개의 단백질 벤드를 보여준다.

도 10은 고도 중화 단일클론 항체에 대한 ELISA 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함) 반응성을 보여주는 그래프이다. 단일클론 항체 Kz52, 1H3, 2G4, 4G7 및 13C6(Murin et al., PNAS. 2014 11(48):17182-7)은 모두 높은 친화성으로 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함)에 결합한다.

도 11은 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함)의 열안정성을 보여주는 그래프이다. 정제된 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함)를 ELISA 플레이트에 결합시키고 30% 수크로스의 존재 하에서 견조하였다. 고도 중화 단일클론 항체 Kz52, 4G7 및 13C6(Murin et al., PNAS. 2014 11(48):17182-7)에 대한 반응성을 즉시 측정하였거나 37°C에서 14일 동안 항온처리한 후 측정하였다. 클램프 안정화된 단백질이 연장된 기간 동안 고온에서 안정하다는 것을 시사하는, 반응성의 유의미한 변화 없음이 확인되었다.

도 12는 BALB/C 마우스의 면역화 후 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함)에 대한 면역 반응을 보여주는 그래프이다. 1 µg의 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함), 1 µg의 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함) + 3 µg의 사포닌 보강제 Qui1 A, 또는 음성 대조군인 PBS를 사용하여 5마리 마우스들의 3개 군들을 피내로 면역화시켰다. 마우스를 0일째 날, 28일째 날 및 56일째 날 3회 면역화시켰고, 27일째 날(채혈 1), 55일째 날(채혈 2) 및 84일째 날(채혈 3)에 혈액을 채취하였다. A. 혈액 혈청 내의 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함)에 특이적인 항체를 ELISA로 정량하였다. B. 배경 + 3 표준 편차보다 더 큰 판독치를 생성할 수 있는 최종 희석을 계산함으로써 종점 역가를 계산하였다.

도 13은 에볼라 생바이러스인 자이르(Zaire) 균주를 중화시키기 위한 BALB/C 마우스의 면역화 후 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함)에 대한 면역 반응의 능력을 보여주는 그래프이다. 1 μ g의 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함) + 3 μ g의 사포닌 보강제 Quil A로 면역화시킨 마우스로부터의 혈청은 에볼라 생바이러스를 중화시킬 수 있었다. 플라크 형성 유닛의 50% 감소를 야기하는 기하 평균 역가는 52.8(95% CI 24.5-114.0)인 것으로 계산되었다.

도 14는 N-연결 글리코실화 부위의 도입을 통해 클램프 도메인의 면역침목을 보여주는 그래프이다. HIV GP160 기반 SSM에 기반을 둔 클램프 서열의 HRB 내의 4개의 별개의 돌연변이들을 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함)에서 생성하였다. 키메라 클램프 안정화된 인플루엔자 HA로 면역화시킨 마우스로부터의 혈청이 동일한 클램프 서열 또는 4개의 잠재적 부위들 중 하나에서 글리코실화를 포함하는 클램프 서열에 의해 안정화된 에볼라 GP 클램프(뮤신 유사 도메인을 결여함)에 대해 나타내는 반응성을 시험하였다. 반응성은 각각의 개별 부위에서 글리코실화에 의해 유의미하게 감소되었는데, 이것은 이 방법을 이용하여 클램프 도메인에 대한 반응성을 감소시킬 수 있다는 가설을 뒷받침한다. Kz52 친화성을 측정함으로써, 돌연변이된 클램프 서열을 포함하는 에볼라 GP(뮤신 유사 도메인을 결여함)의 정확한 폴딩을 확인하였다.

도 15는 8종의 바이러스들로부터의 정제된 클램프 안정화된 항원들의 SDS-PAGE를 보여주는 사진이다. 주황색 화살표에 의해 표시된 밴드는 절단되지 않은 생성물을 표시하고 황색 화살표는 절단된 생성물을 표시한다. 항원의 예측된 분자량은 다음과 같다: 인플루엔자 HA클램프 = 약 85 kDa, RSV F클램프 = 약 65 kDa, 에볼라 GP클램프 = 약 72 kDa, 니파(Nipah) F클램프 = 약 64 kDa, MERS S클램프 약 200 kDa, 라사(Lassa) GPC클램프 = 약 75 kDa, 홍역 = 약 65 kDa 및 HSV2-Gb클램프 = 약 100 kDa.

도 16은 인플루엔자 바이러스 H1N1pdm을 사용한 챠린지 후 마우스 보호 연구의 결과를 보여주는 그래프이다: (A/B) 마우스들(n=5)을 균주 Cal/09(H1N1pdm)로부터 유래한 H1솔, H1풀돈 또는 H1클램프로 백신접종한 후, 일치된 인플루엔자 균주로 챠린지하였다. (C/D) 마우스들을 균주 스위츠(Switz)/13(H3N2)으로부터 유래한 H3솔, H3풀돈 또는 H3클램프로 백신접종한 후, 상이한 균주 Cal/09(H1N1pdm)로 챠린지하였다.

도 17은 72시간 동안 43°C에서 클램프 안정화된 항원의 열안정성을 보여주는 그래프이다. 클램프 안정화된 백신 후보 및 대조군 단백질을 72시간 동안 43°C에서 항온처리하였고, 각각의 항원에 대한 3개의 잘 특정규명된 mAb 들에 대한 반응성을 열안정성의 척도로서 사용하였다. A. 융합 전 특이적 mAb D25, AM22 및 MPE8을 사용하여 RSV F클램프를, 풀돈 삼량체화 도메인 및 구조 기반 안정화 돌연변이를 사용하는 대안적 방법(McLellan et al., Science, 2013. 342(6158): p. 592-8)과 비교하였다. B. HA 줄기 특이적 mAb FI6V3 및 CR6261, 및 HA 헤드 특이적 mAb 5J8을 사용하여 인플루엔자 H1클램프를, 풀돈 삼량체화 도메인을 사용하는 대안적 방법과 비교하였다.

도 18은 클램프 안정화된 서브유닛 백신에 대한 면역 반응을 보여주는 그래프이다. RSV F클램프, F솔 또는 Fdscav 풀돈으로 면역화시킨 마우스로부터의 혈청(McLellan et al., Science, 2013. 342(6158):592-598)이 RSV를 중화시키는 능력을 시험하였다.

도 19는 분자 클램프의 포함이 삼량체성 융합 전 입체구조의 안정화를 용이하게 한다는 것을 보여주는 그래프 및 사진이다. 클램프 안정화된 니파 바이러스 융합 당단백질을 크기 배제 크로마토그래피로 분석하였다. 수퍼덱스 200 컬럼에서의 용출 부피는 가용성 삼량체성 단백질의 예측된 분자량과 상관관계를 가진다. 음성 염색 전자 현미경관찰(삽도)은 균질한 융합 전 단백질 입체구조의 존재를 확인시켜준다.

도 20은 클램프 안정화된 서브유닛 백신에 대한 면역 반응을 보여주는 그래프이다. 니파 F클램프로 면역화시킨 마우스로부터의 혈청이 니파 바이러스를 중화시키는 능력을 시험하였다. 모든 패널들에서, 표시된 값은 기하 표준 편차를 표시하는 오차 막대와 함께 개별 마우스의 기하 평균이다.

도 21은 분자 클램프의 포함이 클래스 3 바이러스 융합 단백질의 삼량체성 구조의 안정화를 용이하게 한다는 것을 보여주는 그래프 및 사진이다. 클램프 안정화된 HSV2 융합 당단백질 B(gB)를 크기 배제 크로마토그래피로 분석하였다. 수퍼로스 6 컬럼에서의 용출 부피는 가용성 삼량체성 단백질의 예측된 분자량과 상관관계를 가진다. 음성 염색 전자 현미경관찰(삽도)은 공개된 구조(Heldwein et al., Science, 2006. 313(5784): 217-20)와 유사한 균질한 삼량체성 입체구조의 존재를 확인시켜준다. 이 입체구조는 대부분의 중화 항체들에 결합하는 것으로 밝혀졌다(Cairns et al., JV, 2014. 88(5): 2677-2689).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

1. 정의

- [0027] 달리 정의되어 있지 않은 한, 본원에서 사용된 모든 기술 용어들 및 과학 용어들은 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 기술을 가진 자에 의해 통상적으로 이해되는 의미와 동일한 의미를 가진다. 본원에 기재된 방법 및 재료와 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있을지라도, 바람직한 방법 및 재료가 기재되어 있다. 본 발명의 목적을 위해, 하기 용어들이 이하에 정의되어 있다.
- [0028] 단수형 용어는 이 용어의 하나 또는 하나 초과(즉, 적어도 하나)의 문법적 객체를 지칭하기 위해 본원에서 사용된다. 예를 들면, "요소"는 하나의 요소 또는 하나 초과의 요소를 의미한다.
- [0029] 본원에서 사용된 바와 같이, "및/또는"은 관련된 항목들 중 하나 이상의 항목의 임의의 가능한 조합 및 모든 가능한 조합들뿐만 아니라, 택일적(또는)으로 해석될 때 조합의 결여도 의미하고 망라한다.
- [0030] 추가로, 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약" 및 "대략"은 측정가능한 값, 예컨대, 양, 용량, 시간, 온도, 활성, 수준, 수, 빈도, 퍼센트, 치수, 크기, 양, 중량, 위치, 길이 등을 언급할 때 특정된 양, 용량, 시간, 온도, 활성, 수준, 수, 빈도, 퍼센트, 치수, 크기, 양, 중량 위치, 길이 등의 $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0.5\%$ 또는 심지어 $\pm 0.1\%$ 의 편차를 포함하기 위한 것이다. 용어 "약" 및 "대략"이 기준 폴리펩타이드 내의 영역의 장소 또는 위치와 관련하여 사용되는 경우, 이 용어들은 최대 ± 20 개의 아미노산 잔기, 최대 ± 15 개의 아미노산 잔기, 최대 ± 10 개의 아미노산 잔기, 최대 ± 5 개의 아미노산 잔기, 최대 ± 4 개의 아미노산 잔기, 최대 ± 3 개의 아미노산 잔기, 최대 ± 2 개의 아미노산 잔기 또는 심지어 ± 1 개의 아미노산 잔기의 편차를 포함한다.
- [0031] 본원에서 사용된 용어 "보강제"는 조성물에서 특정 면역원(예를 들면, 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체)과 함께 사용될 때 항체 및 세포 면역 반응 중 어느 하나 또는 둘 다의 특이성의 강화 또는 확장을 포함하는, 생성된 면역 반응을 증강시킬 화합물을 지칭한다.
- [0032] 용어 "물질"은 임의의 화합물 또는 물질, 예컨대, 소분자, 핵산, 폴리펩타이드, 웨타이드, 약물, 이온 등(그러나 이들로 한정되지 않음)을 지칭하기 위해 본원에서 "화합물"과 상호교환가능하게 사용된다. "물질"은 합성 단백질성 독립체 및 비-단백질성 독립체, 및 천연 생성 단백질성 독립체 및 비-단백질성 독립체를 포함하나 이들로 한정되지 않는 임의의 화학물질, 독립체 또는 모이어티일 수 있다. 일부 실시양태들에서, 물질은 단백질, 올리고뉴클레오타이드, 리보자임, DNAAzyme, 당단백질, siRNA, 지단백질, 앱타머, 및 이들의 변형 및 조합 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는 핵산, 핵산 유사체, 단백질, 항체, 웨타이드, 앱타머, 핵산의 올리고머, 아미노산 또는 탄수화물이다. 일부 실시양태들에서, 핵산은 DNA 또는 RNA이고, 핵산 유사체는 예를 들면, PNA, pcPNA 및 LNA일 수 있다. 핵산은 단일 또는 이중 가닥일 수 있고, 관심 있는 단백질을 코딩하는 핵산, 올리고뉴클레오타이드, PNA 등을 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. 이러한 핵산 서열은 예를 들면, 전사 리프레서로서 작용하는 단백질을 코딩하는 핵산 서열, 안티센스 분자, 리보자임, 작은 억제 핵산 서열, 예를 들면, RNAi, shRNAi, siRNA, 마이크로 RNAi(mRNAi)(그러나, 이들로 한정되지 않음), 안티센스 올리고뉴클레오타이드 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 단백질 및/또는 웨타이드 물질 또는 이들의 단편은 관심 있는 임의의 단백질, 예를 들면, 돌연변이된 단백질; 치료 단백질; 절두된 단백질(그러나, 이들로 한정되지 않음)일 수 있고, 이때 상기 단백질은 정상적으로 세포에 부재하거나 세포에서 낮은 수준으로 발현된다. 관심 있는 단백질은 돌연변이된 단백질, 유전적으로 조작된 단백질, 웨타이드, 합성 웨타이드, 재조합 단백질, 키메라 단백질, 항체, 인간화된 단백질, 인간화된 항체, 키메라 항체, 변형된 단백질 및 이들의 단편을 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0033] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항원" 및 이의 문법적으로 동등한 표현(예를 들면, "항원성")은 특이적 체액성 또는 세포 면역의 생성물, 예컨대, 항체 분자 또는 T 세포 수용체에 의해 특이적으로 결합될 수 있는 화합물, 조성물 또는 물질을 지칭한다. 항원은 예를 들면, 햅텐, 단순한 중간 대사물질, 당(예를 들면, 올리고사카라이드), 지질 및 호르몬뿐만 아니라, 거대분자, 예컨대, 복합체 탄수화물(예를 들면, 폴리사카라이드), 인지질 및 단백질도 포함하는 임의의 유형의 분자일 수 있다. 항원의 통상의 범주는 바이러스 항원, 세균 항원, 진균 항원, 원생동물 및 다른 기생충 항원, 종양 항원, 자가면역 질환, 알레르기 및 이식 거부에 관여하는 항원, 독소, 및 다른 잡다한 항원들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.
- [0034] "항원 결합 분자"는 표적 항원에 대한 결합 친화성을 가진 분자를 의미한다. 이 용어는 항원 결합 활성을 나타내는 면역글로불린, 면역글로불린 단편 및 비-면역글로불린 유래 단백질 프레임워크까지 확장된다는 것을 이해할 것이다. 본 발명의 실시에 유용한 대표적 항원 결합 분자는 다중클론 항체 및 단일클론 항체뿐만 아니라, 이들의 단편(예컨대, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일 쇄(scFv) 및 도메인 항체(예를 들면, 상어 항체 및 낙타 항체를 포함함), 및 항체를 포함하는 융합 단백질, 및 항원 결합/인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 형상의 면역글로불린 분자도 포함한다. 항체는 임의의 클래스의 항체, 예컨대, IgG, IgA 또는 IgM(또는 이들의 서브

클래스)을 포함하고, 항체는 임의의 특정 클래스일 필요가 없다. 면역글로불린은 그의 중쇄의 불변 영역의 항체 아미노산 서열에 따라 상이한 클래스로 배정될 수 있다. 면역글로불린의 5개의 주요 클래스인 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 있고, 이들 중 여러 클래스들은 서브클래스(이소타입), 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 더 나누어질 수 있다. 면역글로불린의 상이한 클래스에 상응하는 중쇄 불변 영역은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로서 지칭된다. 면역글로불린의 상이한 클래스의 서브유닛 구조 및 3차원 형상은 잘 공지되어 있다. 항원 결합 분자는 이량체성 항체뿐만 아니라, 항체의 다가 형태도 포함한다. 일부 실시양태들에서, 항원 결합 분자는 중쇄 및/또는 경쇄의 부분이 특정 종으로부터 유래하거나 특정 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 유사한 반면, 상기 쇄(들)의 나머지 부분이 또 다른 종으로부터 유래하거나 또 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 유사한 키메라 항체일 수 있을 뿐만 아니라, 이러한 항체의 단편일 수도 있되, 단 이들은 원하는 생물학적 활성을 나타낸다(예를 들면, 미국 특허 제4,816,567호; 및 문헌(Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855) 참조). 일반적으로 비-인간(예를 들면, 설치류, 바람직하게는 마우스)의 가변 중쇄 및 경쇄로부터의 상보성 결정 영역(CDR)을 인간 가변 도메인 내로 전달함으로써 생성된 인간화된 항체도 고려된다. 그 다음, 인간 항체의 전형적인 잔기는 비-인간 대응물의 프레임워크 영역에서 치환된다. 인간화된 항체로부터 유래한 항체 성분의 사용은 비-인간 불변 영역의 면역원성과 관련된 잠재적 문제점을 피하게 한다. 비-인간, 특히 뮤런 면역글로불린 가변 도메인을 클로닝하는 일반적 기법은 예를 들면, 문헌(Orlandi et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 3833)에 기재되어 있다. 인간화된 단일클론 항체를 생성하는 기법은 예를 들면, 문헌(Jones et al., 1986, Nature 321:522), 문헌(Carter et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 4285), 문헌(Sandhu, 1992, Crit. Rev. Biotech. 12: 437), 문헌(Singer et al., 1993, J. Immun. 150: 2844), 문헌(Sudhir. ed., Antibody Engineering Protocols, Humana Press, Inc. 1995), 문헌(Kelley, "Engineering Therapeutic Antibodies," in Protein Engineering: Principles and Practice Cleland et al. (eds.), pages 399-434 (John Wiley & Sons, Inc. 1996)), 및 미국 특허 제5,693,762호(Queen et al.)(1997))에 기재되어 있다. 인간화된 항체는 항체의 항원 결합 영역이 짧은 꼬리 원숭이를 관심 있는 항원으로 면역화시킴으로써 생성된 항체로부터 유래한 "영장류화된" 항체를 포함한다. 인간화된 항체도 항원 결합 분자로서 고려된다.

[0035] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "역평행"은 중합체의 영역 또는 분절이 평행 배향으로 존재하되 반대 극성을 가진 단백질성 중합체를 의미한다.

[0036] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "특이적으로 결합한다"는 거대분자, 예컨대, 단백질 및 다른 생물체제를 포함하는 분자의 불균질한 집단의 존재 하에서 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체의 존재를 확인시켜주는 결합 반응을 의미한다. 특정 실시양태에서, 항원 결합 분자를 지칭할 때 용어 "특이적으로 결합한다"는 단백질 및 다른 생물체제의 불균질한 집단의 존재 하에서 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체의 존재를 확인시켜주는 결합 반응을 의미하기 위해 용어 "특이적으로 면역상호작용하는" 등과 상호교환가능하게 사용된다. 지정된 어세이 조건 하에서, 분자는 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체에 특이적으로 결합하고 샘플에 존재하는 다른 분자(예를 들면, 단백질 또는 항원)에 유의미한 양으로 결합하지 않는다. 항원 결합 분자 실시양태에서, 다양한 면역어세이 포맷들을 이용하여 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체와 특이적으로 면역상호작용하는 항원 결합 분자를 선택할 수 있다. 예를 들면, 고체상 ELISA 면역어세이를 관례적으로 이용하여 단백질과 특이적으로 면역상호작용하는 단일클론 항체를 선택한다. 특이적 면역반응성을 확인하기 위해 이용될 수 있는 면역어세이 포맷 및 조건의 설명에 대해서는 문헌(Harlow and Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York)을 참조한다.

[0037] 분자와 관련하여 사용될 때 용어 "키메라"는 분자가 2개 이상의 상이한 기원들 또는 공급원들로부터 유래한 부분, 이러한 기원들 또는 공급원들로부터 수득되거나 단리된 부분, 또는 이러한 기원들 또는 공급원들에 기반을 둔 부분을 함유한다는 것을 의미한다. 따라서, 폴리펩타이드는 상이한 기원의 2개 이상의 아미노산 서열들을 포함할 때 키메라이고, (1) 천연 상태에서 함께 발견되지 않는 폴리펩타이드 서열들(즉, 아미노산 서열들 중 적어도 하나는 그의 다른 아미노산 서열들 중 적어도 하나에 대한 이종성을 가짐), 또는 (2) 천연적으로 연결되지 않는 아미노산 서열들을 포함한다.

[0038] "코딩 서열"은 유전자의 폴리펩타이드 생성물 또는 유전자의 최종 mRNA 생성물(예를 들면, 스플라이싱 후 유전자의 mRNA 생성물)에 대한 코드에 기여하는 임의의 핵산 서열을 의미한다. 대조적으로, 용어 "비-코딩 서열"은 유전자의 폴리펩타이드 생성물 또는 유전자의 최종 mRNA 생성물에 대한 코드에 기여하지 않는 임의의 핵산 서열을 지칭한다.

[0039] 용어 "코일드 코일(coiled coil)" 또는 "코일드 코일 구조"는 2개 이상의 α -나선들(가장 흔하게는 2개 내지 7

개의 α -나선들)이 로프의 가닥처럼 함께 감겨져 있는 단백질의 구조적 모티프를 지칭하기 위해 본원에서 상호 교환가능하게 사용된다(이량체 및 삼량체가 가장 흔한 유형이다). 많은 코일드 코일 유형의 단백질들은 중요한 생물학적 기능, 예컨대, 유전자 발현의 조절, 예를 들면, 전사 인자에 관여한다. 코일드 코일은 헵타드 반복부로서 지칭되는, 소수성(h) 아미노산 잔기와 극성(p) 아미노산 잔기의 반복된 패턴인 hpphпп 또는 hппphпп를 종종 함유하나 항상 함유하는 것은 아니다(본원의 하기 설명 참조). 이 반복 패턴을 가진 서열을 α -나선 이차 구조로 폴딩하는 것은 소수성 잔기가 좌측으로 도는 방식으로 나선 주위를 약하게 감아 양친매성 구조를 형성하는 '줄무늬'로서 제시되게 한다. 2개의 이러한 나선들이 물로 채워진 환경에서 스스로 배열하게 하는 가장 유리한 방식은 소수성 가닥들이 친수성 아미노산들 사이에 끼여진 상태로 서로를 감는 것이다. 따라서, α -나선의 올리고머화를 위한 열역학적 구동력을 제공하는 것은 소수성 표면의 매립이다. 코일드 코일 계면에서의 팩킹은 유난히 단단하다. α -나선은 평행할 수 있거나 역평행할 수 있고, 통상적으로 좌측으로 도는 수퍼코일을 채택한다. 불리하지만, 약간의 우측 코일드 코일도 자연 및 디자인된 단백질에서 관찰되었다. 용어 "코일드 코일" 또는 "코일드 코일 구조"는 통상의 일반적 지식에 기반을 둘 때 당분야에서 숙련된 자에게 명확할 것이다. 이와 관련하여, 코일드 코일 구조에 대한 평론, 예를 들면, 문헌(Cohen and Parry, 1990. Proteins 7:1-15); 문헌(Kohn and Hodges, 1998. Trends Biotechnol 16:379-389); 문헌(Schneider et al., 1998. Fold Des 3:R29-R40); 문헌(Harbury et al., 1998. Science 282:1462-1467); 문헌(Mason and Arndt, 2004. Chem-BioChem 5:170-176); 문헌(Lupas and Gruber, 2005. Adv Protein Chem 70:37-78); 문헌(Woolfson, 2005. Adv Protein Chem 70:79-112); 문헌(Parry et al., 2008. J Struct Biol 163:258-269); 및 문헌(Mcfarlane et al., 2009. Eur J Pharmacol 625:101-107)을 구체적으로 참조한다.

[0040]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "상보적" 및 이의 문법적으로 동등한 표현은 서로 하이브리드화할 수 있거나, 올리고머화(예를 들면, 이량체화)할 수 있거나, 상호작용할 수 있거나 다른 방식으로 복합체를 형성할 수 있는 2개 이상의 구조적 요소들(예를 들면, 웨타이드, 폴리웨타이드, 핵산, 소분자 또는 이들의 부분 등)의 특성을 의미한다. 예를 들면, "폴리웨타이드의 상보적 영역들"은 특정 실시양태에서 역평행 2-나선 다발을 특징으로 하는 복합체를 함께 형성할 수 있다.

[0041]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "복합체"는 서로 직접적으로 및/또는 간접적으로 접촉하는 분자들(예를 들면, 웨타이드들, 폴리웨타이드들 등)의 조립체 또는 응집체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, "접촉" 또는 보다 구체적으로 "직접적 접촉"은 끌어당기는 비공유 상호작용, 예컨대, 반 데르 발스 힘, 수소결합, 이온성 상호작용, 소수성 상호작용 등이 분자의 상호작용을 지배할 정도로 2개 이상의 분자들이 충분히 가깝게 있다는 것을 의미한다. 이러한 실시양태에서, 분자들(예를 들면, 웨타이드 및 폴리웨타이드)의 복합체는 이 복합체가 (예를 들면, 그의 성분 분자들의 응집되지 않거나 복합체화되지 않은 상태에 비해) 열역학적으로 유리하도록 하는 조건 하에서 형성된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 달리 기재되어 있지 않은 한, 용어 "복합체"는 2개 이상의 분자들(예를 들면, 웨타이드, 폴리웨타이드 또는 이들의 조합)의 조립체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 용어 "복합체"는 3개의 폴리웨타이드들의 조립체를 지칭한다.

[0042]

본원에서 사용된 용어 "화합물 라이브러리"는 복수의 상이한 구조의 분자들을 포함하는 화합물들의 임의의 집합체를 지칭한다. 화합물 라이브러리는 조합 화학적 라이브러리 또는 천연 생성물 라이브러리를 포함할 수 있다. 비공유 상호작용, 예를 들면, 수소결합, 이온성 결합, 반 데르 발스 인력 또는 소수성 상호작용을 포함하는 상호작용을 통해 본 발명의 키메라 폴리웨타이드 또는 복합체와 상호작용할 수 있거나 결합할 수 있거나, 이러한 키메라 폴리웨타이드 또는 복합체에 대한 친화성을 가진 임의의 유형의 분자가 화합물 라이브러리에 존재할 수 있다. 예를 들면, 본 발명에 의해 포함되는 화합물 라이브러리는 천연 생성 분자, 예컨대, 탄수화물, 모노사카라이드, 올리고사카라이드, 폴리사카라이드, 아미노산, 웨타이드, 올리고웨타이드, 폴리웨타이드, 단백질, 수용체, 핵산, 뉴클레오사이드, 뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, DNA 및 RNA 단편, RNA 및 RNA 단편 등을 포함하는 폴리뉴클레오타이드, 지질, 레티노이드, 스테로이드, 당웨타이드, 당단백질, 프로테오글리칸 등; 또는 천연 생성 분자의 유사체 또는 유도체, 예컨대, 웨타이드 모방물질 등; 및 비천연 생성 분자, 예컨대, 조합 화학 기법을 이용함으로써 생성된 "소분자" 유기 화합물; 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0043]

본 명세서 전체에서, 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 용어 "포함한다", "포함하고" 및 "포함하는"은 언급된 단계 또는 요소, 또는 단계 또는 요소의 군을 포함하되, 임의의 다른 단계 또는 요소, 또는 단계 또는 요소의 군을 배제하지 않는다는 것을 함축하는 것으로 이해될 것이다. 따라서, 용어 "포함하는" 등의 사용은 나열된 요소들이 요구되거나 필수적이나, 다른 요소가 임의적이고 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다는 것을 시사한다. "로 구성된"은 어구 "로 구성된" 앞에 나열된 요소들을 포함하고 이들로 한정된다는 것을 의미한다. 따라서, 어구 "로 구성된"은 나열된 요소들이 요구되거나 필수적이고 다른 요소가 존재할 수 없다는 것을 시사

한다. "로 본질적으로 구성된"은 이 어구 앞에 나열된 임의의 요소들을 포함하고 나열된 요소들에 대해 본 개시에서 특정된 활성 또는 작용을 방해하지 않거나 이러한 활성 또는 작용에 기여하지 않는 다른 요소로 한정된다는 것을 의미한다. 따라서, 어구 "로 본질적으로 구성된"은 나열된 요소들이 요구되거나 필수적이되, 다른 요소가 임의적이고 나열된 요소들의 활성 또는 작용에 영향을 미치는지 아니면 미치지 않는지에 따라 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다는 것을 시사한다.

[0044] 본원에서 사용된 바와 같이, 화학적 접합 또는 재조합 수단(예를 들면, 유전적 융합)을 포함하는 임의의 수단으로 2개 이상의 요소들 또는 성분들 또는 도메인들을 함께 연결하는 상황에서 용어 "접합된", "연결된", "융합된" 또는 "융합" 및 이들의 문법적으로 동등한 용어는 상호교환가능하게 사용된다. (예를 들면, 이종이작용성 가교결합제를 사용하는) 화학적 접합 방법은 당분야에서 공지되어 있다. 보다 구체적으로, 본원에서 사용된 바와 같이, "외피 보유 바이러스 융합 단백질 엑토도메인" - "구조 안정화 모이어티" 융합 또는 접합은 적합하게는 준안정한 융합 전 입체구조로 존재하는 외피 보유 바이러스 융합 단백질 엑토도메인과 구조 안정화 모이어티의 유전적 또는 화학적 접합을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 구조 안정화 모이어티는 링커, 예컨대, 글리신-세린(gly-ser) 링커를 통해 외피 보유 바이러스 융합 단백질 엑토도메인에 간접적으로 융합된다. 다른 실시양태에서, 구조 안정화 모이어티는 외피 보유 바이러스 융합 단백질 엑토도메인에 직접적으로 융합된다.

[0045] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 가진 아미노산 잔기로 대체되는 치환이다. 일반적으로 다음과 같이 하위분류될 수 있는, 유사한 측쇄를 가진 아미노산 잔기들의 패밀리는 당분야에서 정의되어 있다:

표 1

아미노산 하위분류

하위클래스	아미노산
산성	아스파르트산, 글루탐산
염기성	비탄형: 아르기닌, 라이신; 환형: 히스티딘
하전된	아스파르트산, 글루탐산, 아르기닌, 라이신, 히스티딘
작은	글리신, 세린, 알라닌, 쓰레오닌, 프롤린
극성/중성	아스파라긴, 히스티딘, 글루타민, 시스테인, 세린, 쓰레오닌
극성/큰	아스파라긴, 글루타민
소수성	티로신, 발린, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트립토판
방향족	트립토판, 티로신, 페닐알라닌
쇄 배향에 영향을 미치는 잔기	글리신 및 프롤린

[0046]

[0047] 보존적 아미노산 치환은 측쇄를 기준으로 한 분류도 포함한다. 예를 들면, 지방족 측쇄를 가진 아미노산의 군은 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신이고; 지방족-하이드록실 측쇄를 가진 아미노산의 군은 세린 및 쓰레오닌이고; 아미드 함유 측쇄를 가진 아미노산의 군은 아스파라긴 및 글루타민이고; 방향족 측쇄를 가진 아미노산의 군은 페닐알라닌, 티로신 및 트립토판이고; 염기성 측쇄를 가진 아미노산의 군은 라이신, 아르기닌 및 히스티딘이고; 황 함유 측쇄를 가진 아미노산의 군은 시스테인 및 메티오닌이다. 예를 들면, 이소류신 또는 발린에 의한 류신의 대체, 글루타메이트에 의한 아스파르테이트의 대체, 세린에 의한 쓰레오닌의 대체, 또는 구조적으로 관련된 아미노산에 의한 아미노산의 유사한 대체는 생성된 변이체 폴리펩타이드의 성질에 별로 영향을 미치지 않을 것이라고 예측하는 것이 합리적이다. 아미노산 변화가 기능성 폴리펩타이드를 야기하는지는 그의 활성을 어세이함으로써 용이하게 확인될 수 있다. 보존적 치환은 예시적 및 바람직한 치환이라는 표제 하에 표 2에 제시되어 있다. 본 발명의 범위 내에 속하는 아미노산 치환은 일반적으로 (a) 치환의 영역 내에 있는 웹타이드 골격의 구조, (b) 표적 부위에서의 분자의 전하 또는 소수성, 또는 (c) 측쇄의 용적을 유지하는 것에 대한 그들의 영향 면에서 유의미하게 상이하지 않는 치환들을 선택함으로써 달성된다. 치환이 도입된 후, 생물학적 활성에 대해 변이체를 스크리닝한다.

표 2

예시적 및 바람직한 아미노산 치환

원래의 잔기	예시적 치환	바람직한 치환
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln, His, Lys, Arg	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser	Ser
Gln	Asn, His, Lys,	Asn
Glu	Asp, Lys	Asp
Gly	Pro	Pro
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleu	Leu
Leu	Norleu, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Ile, Phe	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala	Leu
Pro	Gly	Gly
Ser	Thr	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Leu, Met, Phe, Ala, Norleu	Leu

[0048]

[0049] 용어 "구축물"은 상이한 공급원들로부터의 하나 이상의 단리된 핵산 서열을 포함하는 재조합 유전적 분자를 지칭한다. 따라서, 구축물은 상이한 기원의 2개 이상의 핵산 서열들이 단일 핵산 분자로 조립되어 있는 키메라 분자이고, (1) 천연 상태에서 함께 발견되지 않는 조절 서열 및 코딩 서열을 포함하는 핵산 서열(즉, 뉴클레오파이드 서열들 중 적어도 하나는 그의 다른 뉴클레오파이드 서열들 중 적어도 하나에 대한 이종성을 가짐), 또는 (2) 천연적으로 연결되지 않는 기능적 RNA 분자들 또는 단백질들의 부분들을 코딩하는 서열, 또는 (3) 천연적으로 연결되지 않는 프로모터들의 부분들을 함유하는 임의의 구축물을 포함한다. 대표적 구축물은 핵산 분자를 포함하는, 게놈 삽입 또는 자율 복제를 할 수 있는, 임의의 공급원으로부터 유래한 임의의 재조합 핵산 분자, 예컨대, 플라스미드, 코스미드, 바이러스, 자율 복제 폴리뉴클레오파이드 분자, 파지, 또는 선형 또는 원형 단일 가닥 또는 이중 가닥 DNA 또는 RNA 핵산 분자를 포함하고, 이때 하나 이상의 핵산 분자는 작동가능하게 연결된다. 본 발명의 구축물은 일반적으로 구축물 내에 함유된 관심 있는 핵산 서열, 예를 들면, 표적 핵산 서열 또는 조절제 핵산 서열의 발현을 유도하기 위해 필요한 요소를 포함할 것이다. 이러한 요소는 (관심 있는 핵산 서열의 전사를 유도하기 위해) 이 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 조절 요소, 예컨대, 프로모터를 포함할 수 있고, 종종 폴리아데닐화 서열도 포함한다. 본 발명의 일부 실시양태들 내에서, 구축물은 벡터 내에 함유될 수 있다. 벡터는 구축물의 성분 이외에, 예를 들면, 하나 이상의 선택 마커, 하나 이상의 복제 기점, 예컨대, 원핵 기점 및 진핵 기점, 적어도 하나의 다중 클로닝 부위, 및/또는 숙주 세포의 게놈 내로의 구축물의 안정한 삽입을 용이하게 하는 요소를 포함할 수 있다. 2개 이상의 구축물들이 단일 핵산 분자, 예컨대, 단일 벡터 내에 함유될 수 있거나, 2개 이상의 별개의 핵산 분자들, 예컨대, 2개 이상의 별개의 벡터들 내에 함유될 수 있다. "발현 구축물"은 일반적으로 관심 있는 뉴클레오파이드 서열에 작동가능하게 연결된 적어도 하나의 조절 서열을 포함한다. 이 방식에서, 예를 들면, 발현될 뉴클레오파이드 서열과 작동가능하게 연결된 프로모터는 숙주 세포를 포함하는 유기체 또는 이의 부분에서의 발현을 위해 발현 구축물에 제공된다. 본 발명의 실시를 위해, 구축물 및 숙주 세포를 제조하고 사용하는 통상적인 조성물 및 방법은 당분야에서 숙련된 자에게 잘 공지되어 있다(예

를 들면, 문헌(Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition Volumes 1, 2, and 3. J. F. Sambrook, D. W. Russell, and N. Irwin, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2000) 참조).

[0050] "에 상응한다" 또는 "에 상응하는"은 기준 아미노산 서열에 대한 상당한 서열 유사성 또는 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 의미한다. 일반적으로, 아미노산 서열은 기준 아미노산 서열의 적어도 일부에 대한 적어도 약 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 97%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 심지어 최대 100% 서열 유사성 또는 동일성을 나타낼 것이다.

[0051] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "도메인"은 공통된 물리화학적 특징, 예컨대, 소수성, 극성, 구형 및 나선형 도메인 또는 성질, 예컨대, 리간드 결합, 막 융합, 신호 전달도입, 세포 침투 등(그러나, 이들로 한정되지 않음)을 공유하는 분자 또는 구조의 부분을 지칭한다. 종종, 도메인은 단백질의 나머지 부분과 무관하게 그의 삼차 구조를 유지하는 능력을 가진 풀딩된 단백질 구조를 가진다. 일반적으로, 도메인은 단백질의 구별된 기능적 성질을 책임지고, 많은 경우들에서 단백질 및/또는 도메인의 나머지 부분의 기능의 손실 없이 다른 단백질에 추가될 수 있거나, 제거될 수 있거나 전달될 수 있다. 도메인은 그의 영역 또는 부분과 같은 공간을 차지할 수 있고; 도메인은 분자의 상이한 비-인접 영역들도 포함할 수 있다. 단백질 도메인의 예로는 세포 또는 세포외 국소화 도메인(예를 들면, 신호 웨პ타이드; SP), 면역글로불린(Ig) 도메인, 막 융합(예를 들면, 융합 웨პ타이드; FP) 도메인, 엑토도메인, 막 근위 외부 영역(MPER) 도메인, 막횡단(TM) 도메인 및 세포질(C) 도메인이 있으나 이들로 한정되지 않는다.

[0052] 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 이 융합 단백질의 복합체에 대한 면역 반응의 유발, 또는 질환 또는 질병의 치료 또는 예방과 관련하여 "유효량"은 이러한 유발, 치료 또는 예방을 필요로 하는 개체에게 단일 용량 또는 일련의 용량들의 부분으로서 투여되는, 상기 유발, 치료 또는 예방에 효과적인 양을 의미한다. 유효량은 치료되는 개체의 건강 및 신체 상태, 치료되는 개체의 분류학적 군, 조성물의 제형, 의학적 상황의 평가 및 다른 관련 요인에 따라 달라질 것이다. 상기 양은 관례적인 시험을 통해 결정될 수 있는 상대적으로 넓은 범위 내에 속할 것으로 예측된다.

[0053] 용어 "내생성"은 숙주 유기체 또는 이의 세포에 존재하고/하거나 이 유기체 또는 이의 세포 내에서 천연적으로 발현된 폴리웨პ타이드 또는 이의 부분을 의미한다. 예를 들면, "내생성" 엑토도메인 폴리웨პ타이드 또는 이의 부분은 외피 보유 융합 단백질의 엑토도메인 폴리웨პ타이드, 또는 외피 보유 바이러스에서 천연적으로 발현된 엑토도메인의 부분을 의미한다.

[0054] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "내생성 HRA 영역"은 천연 생성 융합 단백질의 융합 단백질 전구체 형태의 아미노산 서열 내의 HRA 영역과 실질적으로 동일한 위치에서 클래스 I 엑토도메인 폴리웨პ타이드에 존재하는 HRA 영역을 지칭한다. 클래스 I 융합 단백질의 비한정적 예의 내생성 HRA 영역의 대략적인 아미노산 위치는 표 3에 나열되어 있다.

표 3

선택된 클래스 I 융합 단백질 내의 HRA 영역의 대략적인 위치

클래스 I 융합 단백질	HRA 영역	
	시작 위치	종결 위치
인플루엔자 A 헤마글루티닌(HA)	356	390
인플루엔자 B HA	383	416
RSV 융합 단백질 (F)	164	196
hMPV F	126	169
PIV F	136	168
홍역 F	138	171
헨드라	136	169
니파 F	136	169
HIV 당단백질(GP) 160	539	587
에볼라 GP	557	593
마르부르그 GP	582	598
SARS 스파이크 단백질(S)	892	1013
MERS S	984	1105

[0055]

[0056] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "내생성 HRB 영역"은 천연 생성 융합 단백질의 융합 단백질 전구체 형태의 아미노산 서열 내의 HRB 영역과 실질적으로 동일한 위치에서 클래스 I 엑토도메인 폴리펩타이드에 존재하는 HRB 영역을 지칭한다. 클래스 I 융합 단백질의 비한정적 예의 내생성 HRB 영역의 대략적인 아미노산 위치는 표 4에 나열되어 있다.

표 4

선택된 클래스 I 융합 단백질 내의 HRB 영역의 대략적인 위치

클래스 I 융합 단백질	HRB 영역	
	시작 위치	종결 위치
인플루엔자 A HA	421	469
인플루엔자 B HA	436	487
RSV F	488	524
hMPV F	456	490
PIV F	458	493
홍역 F	454	493
헨드라	456	487
니파 F	456	487
HIV GP160	631	667
에볼라 GP	600	635
마르부르그 GP	611	627
SARS S	1145	1187
MERS S	1248	1291

[0057]

- [0058] 용어 "내생성 생성"은 유기체 내에서의 핵산의 발현, 및 유기체 내에서의 핵산의 발현 생성물의 관련된 생성 및 /또는 분비를 의미한다. 특정 실시양태에서, 유기체는 다세포 유기체(예를 들면, 척추동물, 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 영장류, 예컨대, 인간)이고, 핵산은 다세포 유기체의 세포 또는 조직 내에서 발현된다.
- [0059] 본원에서 사용된 바와 같이, "외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 폴리펩타이드"는 신호 펩타이드를 갖거나 갖지 않은 성숙 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 비리온 표면 노출된 부분을 함유하되 천연 생성 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 막횡단 도메인 및 세포질 꼬리를 결여하는 폴리펩타이드를 지칭한다.
- [0060] 용어 "에피토프" 및 "항원성 결정인자"는 항체에 특이적으로 결합할 수 있거나(이러한 에피토프는 종종 "B 세포 에피토프"로서 지칭됨) 주조직적합성 복합체(MHC) 단백질(예를 들면, 클래스 I 또는 클래스 II)에 의해 T 세포 수용체에 제시될 수 있는(이러한 에피토프는 종종 "T 세포 에피토프"로서 지칭됨) 항원, 전형적으로 단백질 결정인자를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. B 세포 에피토프가 펩타이드 또는 폴리펩타이드인 경우, 이 에피토프는 전형적으로 3개 이상의 아미노산, 일반적으로 적어도 5개, 보다 통상적으로 적어도 8개 내지 10개의 아미노산을 포함한다. 아미노산은 폴리펩타이드의 일차 구조에서 인접 아미노산 잔기일 수 있거나(종종 인접 펩타이드 서열로서 지칭됨), 폴딩된 단백질에서 공간적으로 병치되게 될 수 있다(종종 비-인접 펩타이드 서열로서 지칭됨). T 세포 에피토프는 MHC 클래스 I 또는 MHC 클래스 II 분자에 결합할 수 있다. 전형적으로, MHC 클래스 I 결합 T 세포 에피토프는 길이가 8개 내지 11개의 아미노산이다. 클래스 II 분자는 길이가 10개 내지 30개의 잔기이거나 더 길 수 있고 최적 길이가 12개 내지 16개의 잔기일 수 있는 펩타이드에 결합한다. MHC 분자에 결합하는 잠정적 T 세포 에피토프의 능력은 실험에 의해 예측될 수 있고 확인될 수 있다(Dimitrov et al., 2010. Bioinformatics 26(16):2066-8).
- [0061] 용어 "나선 다발"은 나선들이 서로 실질적으로 평행하거나 역평행하도록 폴딩된 복수의 펩타이드 나선들을 지칭한다. 2-나선 다발은 서로 실질적으로 평행하거나 역평행하도록 폴딩된 2개의 나선들을 가진다. 마찬가지로, 6-나선 다발은 서로 실질적으로 평행하거나 역평행하도록 폴딩된 6개의 나선들을 가진다. "실질적으로 평행하거나 역평행"은 나선들의 측쇄들이 서로 상호작용할 수 있도록 나선들이 폴딩된다는 것을 의미한다. 예를 들면, 나선들의 소수성 측쇄들은 서로 상호작용하여 소수성 코어를 형성할 수 있다.
- [0062] 본원에서 사용된 용어 "이종"은 그 자신의 서열과 엑토도메인 폴리펩타이드의 융합의 생성물이 야생형 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 전구체 또는 성숙 형태와 상이한 서열을 갖도록 선택된 서열을 가진 임의의 단백질 성 모이어티를 의미한다.
- [0063] 용어 "숙주"는 진핵 숙주이든 아니면 원핵 숙주이든 관계 없이 본 발명의 구축물이 도입될 수 있는 임의의 유기체 또는 이의 세포, 특히 RNA 침묵이 일어나는 숙주를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 용어 "숙주"는 효모 및 진균과 같은 단세포 진핵생물뿐만 아니라, 비한정적 예로서 무척추동물(예를 들면, 곤충, 자포동물, 극피동물, 선충류 등); 진핵 기생충(예를 들면, 말라리아 기생충, 예컨대, 플라스모蘼 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*), 연충 등); 척추동물(예를 들면, 어류, 양서류, 파충류, 조류, 포유동물); 및 포유동물(예를 들면, 설치류, 영장류, 예컨대, 인간 및 비-인간 영장류)을 포함하는 동물과 같은 다세포 진핵생물을 포함하는 진핵생물을 지칭한다. 따라서, 용어 "숙주 세포"는 적합하게는 이러한 진핵생물의 세포뿐만 아니라 이러한 진핵생물로부터 유래한 세포주도 포함한다.
- [0064] 본원에서 "면역상호작용"의 언급은 특히 분자들 중 하나가 면역 시스템의 성분인 경우, 분자들 또는 모방물질들 사이의 임의의 상호작용, 반응 또는 다른 형태의 회합의 언급을 포함한다.
- [0065] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "면역원성 조성물" 또는 "면역원성 제형"은 척추동물, 특히 동물, 예컨대, 포유동물에게 투여될 때 면역 반응을 유도할 제제를 지칭한다.
- [0066] "링커"는 2개의 분자들을 연결하고 종종 2개의 분자들을 바람직한 형상으로 배치하는 데 기여하는 분자 또는 분자의 군(예컨대, 단량체 또는 중합체)을 의미한다.
- [0067] 본원에서 사용된 바와 같이, 단백질(예를 들면, 외피 보유 바이러스 엑토도메인 폴리펩타이드)과 관련하여 사용된 용어 "준안정한"은 조건의 변화 시 보다 더 안정한 입체구조적 상태로 신속히 전환하는 불안정한 입체구조적 상태를 지칭한다. 예를 들면, 융합 전 형태의 외피 보유 바이러스 융합 단백질은 불안정한 준안정한 입체구조로 존재하고, 예를 들면, 숙주 세포와의 융합 시 보다 더 안정한 융합 후 입체구조로 전환한다.
- [0068] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "모이어티"는 분자의 특징적인 화학적, 생물학적 및/또는 의학적 성질을 책임

지는 작용기, 작용기의 세트, 및/또는 문자 내의 원자들의 특정 군일 수 있는 문자의 부분을 지칭한다.

[0069] 용어 "중화 항원 결합 문자"는 표적 문자 또는 리간드와 결합하거나 상호작용하고 표적 항원과 결합 파트너, 예컨대, 수용체 또는 기질의 결합 또는 회합을 방해함으로써, 문자의 상호작용으로부터 비롯될 생물학적 반응을 방해하는 항원 결합 문자를 지칭한다. 본 발명의 경우, 중화 항원 결합 문자는 적합하게는 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 준안정한 또는 융합 전 형태와 회합하고 바람직하게는 융합 단백질과 세포 막의 결합 및/또는 융합을 방해하거나 감소시킨다.

[0070] 용어 "올리고머"는 적어도 원칙적으로 무한한 수의 단량체들로 구성된 중합체와 대조적으로 하나 초파의, 그러나 제한된 수의 단량체 유닛들로 구성된 문자를 지칭한다. 올리고머는 이량체, 삼량체, 사량체, 오량체, 육량체, 칠량체, 팔량체, 구량체, 십량체 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 올리고머는 단백질과 같은 거대분자의 비공유 결합에 의해 형성된 거대분자 복합체일 수 있다. 이 의미에서, 동종올리고머는 동일한 문자에 의해 형성될 것이고, 대조적으로 이종올리고머는 적어도 2개의 상이한 문자들로 만들어질 것이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 올리고머는 3개의 폴리펩타이드 서브유닛들로 구성된 삼량체성 폴리펩타이드 복합체이다. 이 실시양태에서, 삼량체성 폴리펩타이드는 3개의 동일한 폴리펩타이드 서브유닛들로 구성된 "동종삼량체성 폴리펩타이드 복합체", 또는 적어도 하나의 서브유닛 폴리펩타이드가 동일하지 않은 3개의 폴리펩타이드 서브유닛들로 구성된 "이종삼량체성 폴리펩타이드 복합체"일 수 있다. "폴리펩타이드 서브유닛"은 2개의 다른 폴리펩타이드 서브유닛들과 함께 삼량체성 폴리펩타이드 복합체를 형성하는 단일 아미노산 쇄 또는 단량체이다.

[0071] 본원에서 사용된 용어 "작동가능하게 연결된" 또는 "작동가능하게 결합된"은 기재된 성분들이 이들을 이들의 의도된 방식으로 작용할 수 있게 하는 관계로 존재하도록 병치되어 있다는 것을 의미한다. 예를 들면, 관심 있는 뉴클레오타이드 서열(예를 들면, 코딩 서열 및/또는 비-코딩 서열)에 "작동가능하게 연결된" 조절 서열(예를 들면, 프로모터)은 조절 서열이 조절 서열에 맞는 조건 하에서 관심 있는 뉴클레오타이드 서열의 발현을 허용하도록 그 뉴클레오타이드 서열을 기준으로 위치되고/되거나 배향되는 것을 의미한다. 조절 서열은 관심 있는 뉴클레오타이드 서열의 발현을 유도하는 작용을 하는 한, 그 뉴클레오타이드 서열과 인접할 필요가 없다. 따라서, 예를 들면, 프로모터와 코딩 서열 사이에 개재 비-코딩 서열(예를 들면, 번역되지 않으나 전사되는 서열)이 존재할 수 있고, 프로모터 서열은 여전히 코딩 서열에 "작동가능하게 연결된" 것으로 간주될 수 있다. 마찬가지로, 외피 보유 바이러스 융합 액토도메인 폴리펩타이드를 이종 구조 안정화 모이어티에 "작동가능하게 연결하는"은 상보적 HR1 영역 및 HR2 영역이 그들의 회합에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 서로 회합하여 역평행 2-나선 다발을 형성할 수 있도록 구조 안정화 모이어티를 위치시키고/시키거나 배향하는 것을 포함한다.

[0072] 본원에서 상호교환가능하게 사용된 용어 "환자", "대상체", "숙주" 또는 "개체"는 치료 또는 예방이 요구되는 임의의 대상체, 구체적으로 척추동물 대상체, 훨씬 더 구체적으로 포유동물 대상체를 지칭한다. 본 발명의 범위 내에 속하는 적합한 척추동물은 영장류(예를 들면, 인간, 원숭이 및 유인원)을 포함하는 척색동물 아문의 임의의 구성원을 포함하나 이들로 한정되지 않고, 원숭이 종, 예컨대, 마카카(*Macaca*) 속의 원숭이 종(예를 들면, 사이노몰구스(*cynomologus*) 원숭이, 예컨대, 마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*), 및/또는 붉은털 원숭이(마카카 물라타(*Macaca mulatta*)) 및 개코원숭이(파피오 우르시누스(*Papio ursinus*)), 및 마모셋(칼리트릭스(*Callithrix*) 속의 종), 다람쥐 원숭이(사이미리(*Saimiri*) 속의 종) 및 타마린(사귀누스(*Saguinus*) 속의 종)뿐만 아니라, 유인원 종, 예컨대, 침팬지(판 트로글로다이테스(*Pan troglodytes*), 설치류(예를 들면, 마우스, 래트, 기니 피그), 토끼목(예를 들면, 토끼, 산토끼), 솟과 동물(예를 들면, 소), 양과 동물(예를 들면, 양), 염소과 동물(예를 들면, 염소), 돼지과 동물(예를 들면, 돼지), 말과 동물(예를 들면, 말), 갯과 동물(예를 들면, 개), 고양잇과 동물(예를 들면, 고양이), 조류(예를 들면, 닭, 칠면조, 오리, 거위, 애완 조류, 예컨대, 카나리아, 앵무새 등), 해양 포유동물(예를 들면, 돌고래, 고래), 과충류(뱀, 개구리, 도마뱀 등) 및 어류도 포함한다. 바람직한 대상체는 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 이 융합 단백질의 복합체에 대한 면역 반응을 이끌어낼 필요가 있는 인간이다. 그러나, 상기 언급된 용어들은 증상이 존재한다는 것을 내포하지 않는다는 것을 이해할 것이다.

[0073] "약학적으로 허용가능한 담체"는 인간을 포함하는 동물, 바람직하게는 포유동물에게의 국소 또는 전신 투여에 안전하게 사용될 수 있는 고체 또는 액체 충전제, 희석제 또는 캡슐화 물질을 의미한다. 당분야에서 통상의 기술을 가진 자에게 공지되어 있을 바와 같이, 대표적 약학적으로 허용가능한 담체는 임의의 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 계면활성제, 항산화제, 보존제(예를 들면, 항균제, 항진균제), 등장화제, 흡수 지연제, 염, 보존제, 약물, 약물 안정화제, 겔, 결합제, 부형제, 봉제제, 윤활제, 감미제, 풍미제, 안료, 이들의 유사 물질 및 조합을 포함한다(예를 들면, 본원에 참고로 도입된 문헌(Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed.

Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329) 참조). 임의의 통상적인 담체가 활성 성분(들)에 적합하지 않은 경우를 제외하고, 약학 조성물에서의 이의 사용이 예상된다.

[0074] 본원에서 사용된 용어 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 mRNA, RNA, cRNA, cDNA 또는 DNA를 표시한다. 상기 용어는 전형적으로 리보뉴클레오타이드 또는 데옥시뉴클레오타이드, 또는 이를 중 어느 한 유형의 뉴클레오타이드의 변형된 형태인 뉴클레오타이드의 중합체성 형태로서, 길이가 적어도 10개의 염기인 중합체성 형태를 지칭한다.

[0075] "폴리펩타이드", "펩타이드", "단백질" 및 "단백질성 분자"는 아미노산 잔기의 중합체를 포함하거나 이러한 중합체로 구성된 분자, 및 이의 변이체 및 합성 유사체를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 따라서, 이 용어들은 천연 생성 아미노산 중합체뿐만 아니라, 하나 이상의 아미노산 잔기가 합성 비천연 생성 아미노산, 예컨대, 상응하는 천연 생성 아미노산의 화학적 유사체인 아미노산 중합체에도 적용된다.

[0076] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 외피 보유 바이러스의 융합 단백질의 "융합 후 입체구조"는 말기 입체구조로 존재하고(즉, 융합 과정의 말기에 형성되고) 에너지 면에서 가장 유리한 상태인 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 구조를 지칭한다. 융합 후 입체구조에서, 융합 단백질의 융합 펩타이드 또는 루프는 융합 단백질 막횡단 도메인과 가깝게 인접한다. 헤어핀 구조의 형성을 용이하게 하는 특정 구조적 요소는 외피 보유 융합 단백질의 클래스에 따라 달라진다. 예를 들면, 클래스 I 융합 단백질의 융합 후 입체구조는 개별 클래스 I 융합 단백질의 내생성 HRA 영역과 내생성 HRB 영역 사이의 상호작용을 통해 3개의 내생성 HRB 영역들 및 3개의 내생성 HRA 영역들을 포함하는 6-나선 다발을 특징으로 하는 헤어핀 구조를 형성하는 것을 특징으로 한다. 대안적으로, 클래스 III 융합 단백질의 융합 후 입체구조는 내부 융합 루프와 C-말단 막횡단 영역 사이의 상호작용을 통해 헤어핀 구조의 형성을 용이하게 하는 것을 특징으로 한다. 개별 바이러스 융합 단백질의 융합 후 입체구조는 전자 현미경관찰 및/또는 x-선 결정학에 의해 확인되고, 이러한 구조는 음성적으로 염색된 전자 현미경사진에서 관찰될 때, 및/또는 융합 전 에피토프의 결여에 의해 용이하게 식별될 수 있다.

[0077] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 외피 보유 바이러스의 융합 단백질의 "융합 전 입체구조"는 준안정한 입체구조(즉, 에너지 면에서 가장 유리한 말기 입체구조가 아닌 절반-안정한 입체구조)로 존재하고 적절한 유발 시 말기 융합 후 입체구조로 입체구조적으로 재배열될 수 있는 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 구조를 지칭한다. 전형적으로, 바이러스 융합 단백질의 융합 전 입체구조는 융합 전 입체구조 내부에 위치하고 바이러스 또는 숙주 세포 막과 상호작용하지 않는, 융합 펩타이드 또는 융합 루프로서 지칭되는 소수성 서열을 함유한다. 유발 시, 이 소수성 서열은 숙주 세포 막 내로 삽입되고, 융합 단백질은 융합 후 헤어핀 유사 입체구조로 붕괴한다. 바이러스 융합 단백질의 융합 전 입체구조는 외피 보유 융합 단백질의 클래스에 따라 달라진다. 각각의 클래스는 나중에 에너지 면에서 유리한 융합 후 입체구조로 회합하는 비-상호작용 구조적 요소들을 특징으로 한다. 예를 들면, 클래스 I 융합 단백질의 융합 전 입체구조는 삼량체의 개별 융합 단백질의 내생성 HRB 영역과 상호작용하지 않음으로써 6-나선 다발을 특징으로 하는 헤어핀 구조의 형성을 허용하지 않는 내생성 HRA 영역에 의해 좌우된다. 대안적으로, 클래스 III 융합 단백질의 융합 전 입체구조는 삼량체의 개별 융합 단백질의 C-말단 영역에서 융합 루프(들)와 상호작용하지 않음으로써, 헤어핀 구조의 형성을 허용하지 않는 중심 α -나선형 코일드 코일에 의해 좌우된다. 개별 바이러스 융합 단백질의 융합 전 입체구조는 전자 현미경관찰 및/또는 x-선 결정학에 의해 확인되고, 이러한 구조는 음성적으로 염색된 전자 현미경사진에서 관찰할 때, 및/또는 융합 후 입체구조에 존재하지 않는 융합 전 에피토프에 의해 용이하게 식별될 수 있다.

[0078] "조절 요소", "조절 서열", "제어 요소", "제어 서열" 등은 코딩 서열의 업스트림(5' 비-코딩 서열)에, 내부에, 또는 다운스트림(3' 비-코딩 서열)에 위치하고 회합된 코딩 서열의 전사, RNA 프로세싱 또는 안정성, 또는 번역에 직접적으로 또는 간접적으로 영향을 미치는 뉴클레오타이드 서열을 지칭하기 위해 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 조절 요소는 인핸서, 프로모터, 번역 리더 서열, 인트론, Rep 인식 요소, 유전자간 영역 및 폴리아데닐화 신호 서열을 포함한다. 이들은 합성 서열 및 천연 서열뿐만 아니라, 합성 서열과 천연 서열의 조합일 수 있는 서열도 포함한다.

[0079] 용어 "레플리콘"은 세포 내에서 폴리뉴클레오타이드 복제의 자율 유닛으로서 작용하는, 즉 그 자신의 제어 하에서 복제할 수 있는 임의의 유전적 요소, 예를 들면, 플라스미드, 염색체, 바이러스, 코스미드 등을 지칭한다.

[0080] "자가-조립"은 서로에 대해 고차 구조의 성분(예를 들면, 분자)의 천연 인력에 의존하는 고차 구조의 자발적 조립의 과정을 지칭한다. 이것은 전형적으로 크기, 형태, 조성 또는 화학적 성질을 기반으로 분자의 무작위 이동 및 결합의 형성을 통해 일어난다.

[0081]

본원에서 사용된 용어 "서열 동일성"은 서열들이 비교 원도우(window) 상에서 뉴클레오타이드와 뉴클레오타이드의 비교 또는 아미노산과 아미노산의 비교에 기반을 둘 때 동일한 정도를 지칭한다. 따라서, "서열 동일성의 퍼센트"는 비교 원도우 상에서 2개의 최적으로 정렬된 서열들을 비교하고, 동일한 핵산 염기(예를 들면, A, T, C, G, I) 또는 동일한 아미노산 잔기(예를 들면, Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Lys, Arg, His, Asp, Glu, Asn, Gln, Cys 및 Met)가 두 서열들에 존재하는 위치의 수를 확인하여 일치된 위치의 수를 산출하고, 일치된 위치의 수를 비교 원도우 내의 위치의 총 수(즉, 원도우 크기)로 나누고, 결과를 100과 곱하여 서열 동일성의 퍼센트를 산출함으로써 계산된다. 본 발명은 본 발명의 방법 및 시스템에서 전체 길이 IL-22 폴리펩타이드 및 이의 생물학적 활성 단편의 사용을 고려한다. 전형적으로, 전체 길이 IL-22 폴리펩타이드의 생물학적 활성 단편은 상호작용, 예를 들면, 분자내 또는 분자간 상호작용에 참여할 수 있다.

[0082]

"유사성"은 동일하거나 상기 표 1 및 2에서 정의된 보존적 치환을 구성하는 아미노산의 퍼센트 수를 지칭한다. 유사성은 서열 비교 프로그램, 예컨대, GAP(Deveraux et al. 1984, Nucleic Acids Research 12: 387-395)을 이용함으로써 측정될 수 있다. 이 방식에서, 본원에서 인용된 서열과 유사한 또는 실질적으로 상이한 길이의 서열은 정렬 내로의 갭의 삽입에 의해 비교될 것이고, 이러한 갭은 예를 들면, GAP에 의해 사용된 비교 알고리즘에 의해 결정될 것이다.

[0083]

2개 이상의 폴리뉴클레오타이드들 또는 폴리펩타이드들 사이의 서열 관계를 기술하기 위해 사용된 용어는 "기준 서열", "비교 원도우", "서열 동일성", "서열 동일성의 퍼센트" 및 "실질적인 동일성"을 포함한다. "기준 서열"은 길이가 적어도 12개, 종종 15개 내지 18개, 종종 적어도 25개인, 뉴클레오타이드 및 아미노산 잔기를 포함하는 단량체 유닛이다. 2개의 폴리뉴클레오타이드들은 (1) 2개의 폴리뉴클레오타이드들 사이에 유사한 서열(즉, 완전한 폴리뉴클레오타이드 서열의 단지 부분), 및 (2) 2개의 폴리뉴클레오타이드들 사이에 상이한 서열을 각각 포함할 수 있기 때문에, 2개의 (또는 더 많은) 폴리뉴클레오타이드들 사이의 서열 비교는 전형적으로 "비교 원도우" 상에서 2개의 폴리뉴클레오타이드들의 서열들을 비교하여 서열 유사성의 국소 영역을 확인하고 비교 함으로써 수행된다. "비교 원도우"는 2개의 서열들이 최적으로 정렬된 후 서열이 동일한 수의 인접 위치들의 기준 서열과 비교되는, 적어도 6개, 통상적으로 약 50개 내지 약 100개, 보다 통상적으로 약 100개 내지 약 150개의 인접 위치들의 개념적 분절을 지칭한다. 비교 원도우는 2개의 서열들의 최적 정렬을 위해 (추가 또는 결실을 포함하지 않는) 기준 서열에 비해 약 20% 이하의 추가 또는 결실(즉, 갭)을 포함할 수 있다. 비교 원도우를 정렬하기 위한 서열들의 최적 정렬은 알고리즘(위스콘신 제네티克斯 소프트웨어 팩키지 릴리스(Wisconsin Genetics Software Package Release) 7.0의 GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA, 제네티克斯 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group), 미국 위스콘신주 매디슨 사이언스 드라이브 575 소재)의 전산화된 실행 또는 검사에 의해 수행될 수 있고, 가장 우수한(즉, 비교 원도우 상에서 가장 높은 퍼센트 상동성을 야기하는) 정렬은 선택된 다양한 방법들 중 임의의 방법에 의해 생성될 수 있다. 예를 들면, 문헌(Altschul et al., 1997, Nucl. Acids Res. 25:3389)에 개시된 프로그램의 BLAST 패밀리도 참조할 수 있다. 서열 분석의 상세한 논의는 문헌(Ausubel et al., "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons Inc, 1994-1998, Chapter 15)의 유닛 19.3에서 확인될 수 있다.

[0084]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "단일 쇄"는 웹타이드 결합에 의해 선형적으로 연결된 아미노산 단량체들을 포함하는 문자를 지칭한다.

[0085]

본원에서 사용된 바와 같이, "소분자"는 3 킬로달톤(kDa) 미만, 전형적으로 1.5 킬로달톤 미만, 보다 바람직하게는 약 1 킬로달톤 미만의 분자량을 가진 조성물을 지칭한다. 소분자는 핵산, 웹타이드, 폴리펩타이드, 웹타이드 모방물질, 탄수화물, 지질 또는 다른 유기(탄소 함유) 또는 무기 분자일 수 있다. 본 설명을 기반으로, 당분야에서 속련된 자는 화학적 및/또는 생물학적 혼합물의 광범위한 라이브러리, 종종 진균, 세균 또는 조류 추출물을 본 발명의 어세이들 중 임의의 어세이로 스크리닝하여 생물활성을 조절하는 화합물을 확인할 수 있다는 것을 인식할 것이다. "유기 소분자"는 3 킬로달톤 미만, 1.5 킬로달톤 미만 또는 심지어 약 1 kDa 미만의 분자량을 가진 유기 화합물(또는 무기 화합물(예를 들면, 금속)과 착물을 형성한 유기 화합물)이다.

[0086]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "치료", "치료하는" 등은 원하는 약리학적 효과 및/또는 생리학적 효과를 수득하는 것을 의미한다. 상기 효과는 질환 또는 이의 증상을 완전히 또는 부분적으로 예방한다는 관점에서 예방적 효과일 수 있고/있거나, 질환 및/또는 질환에 기인할 수 있는 불리한 영향을 부분적으로 또는 완전히 치유한다는 관점에서 치료적 효과일 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "치료"는 포유동물, 특히 인간에서의 임의의 질환 치료를 커버하고, (a) 질환에 잘 걸릴 수 있으나 아직 질환을 가진 것으로서 진단되지 않은 대상체에서 질환의 발생을 예방하는 것; (b) 질환을 억제하는 것, 즉 그의 발생을 정지시키는 것; 및 (c) 질환을 완화하는

것, 즉 질환의 퇴행을 야기하는 것을 포함한다.

[0087] 용어 "야생형", "천연" 및 "천연 생성"은 유전자 또는 유전자 생성물이 천연 생성 공급원으로부터 단리될 때 그 유전자 또는 유전자 생성물의 특성을 가진다는 것을 의미하기 위해 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 야생형, 천연 또는 천연 생성 유전자 또는 유전자 생성물(예를 들면, 폴리펩타이드)은 집단에서 가장 빈번하게 관찰되는 유전자 또는 유전자 생성물이고, 따라서 유전자 또는 유전자 생성물의 "정상" 또는 "야생형" 형태는 임의로 디자인된다.

[0088] 구체적으로 달리 언급되어 있지 않은 한, 본원에 기재된 각각의 실시양태는 각각의 모든 실시양태에 준용되어야 한다.

2. 키메라 폴리펩타이드

[0089] 본 발명은 부분적으로 융합 전 입체구조의 외피 보유 바이러스 융합 단백질 엑토도메인 폴리펩타이드를 인위적으로 안정화시키거나 '클램핑하는' 신규 방법에 기반을 둔다. 이 '분자 클램핑' 방법은 키메라 폴리펩타이드를 형성하기 위해 구조 안정화 모이어티와 엑토도메인 폴리펩타이드의 융합 또는 연결을 이용한다. 구조 안정화 모이어티는 전형적으로 엑토도메인 폴리펩타이드에 대한 상보성을 결여함으로써, 엑토도메인 폴리펩타이드의 구조적 요소와 회합하기보다는 오히려 서로 우선적으로 회합하는 상보적 헵타드 반복부들을 포함하는 단일 쇄 폴리펩타이드이다. 상보적 헵타드 반복부들의 회합에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 상보적 헵타드 반복부들을 서로 회합함으로써, 엑토도메인 폴리펩타이드가 융합 후 입체구조로 재배열하는 것을 억제하는 역평행 2-나선 다발을 형성한다. 구조 안정화 모이어티의 2-나선 다발은 삼량체화하여 고도로 안정한 6-나선 다발을 형성함으로써, 인공 외피 보유 바이러스 융합 단백질 복합체를 형성하기 위한 키메라 폴리펩타이드의 자가-조립을 가능하게 한다. 이로써 조립된 복합체는 천연 외피 보유 바이러스 융합 단백질 복합체의 융합 전 입체구조를 모방할 수 있고 3개의 키메라 폴리펩타이드들을 포함함으로써, 키메라 폴리펩타이드의 각각의 구조 안정화 모이어티의 코일드 코일 구조에 의해 형성된 6-나선 다발을 특징으로 한다.

2.1 구조 안정화 모이어티

[0090] 본 발명자들은 역평행 형상으로 폴딩되어, 융합 전 입체구조에서 작동가능하게 연결된 외피 보유 바이러스 엑토도메인 폴리펩타이드를 안정화시키는 역평행 2-나선 다발을 형성하는 상보적 헵타드 반복부들을 포함하는 단일 쇄 폴리펩타이드 모이어티를 구축하였다. 2-나선 다발은 적합하게는 코일드 코일 구조를 형성한다. 코일드 코일 폴딩은 모티 단백질, DNA 결합 단백질, 세포외 단백질 및 바이러스 융합 단백질을 포함하는 매우 다양한 단백질들에서 일어난다(예를 들면, 문헌(Burkhard et al., 2001. Trends Cell Biol 11:82-88) 참조). 코일드 코일은 모티프의 폴딩(조립, 올리고머화)을 기능적 특징으로 한다. 즉, 코일드 코일 구조의 형성은 많은 경우들에서 상이한 단백질 쇄들의 비-공유 회합을 유도한다. 코일드 코일은 평행, 역평행 또는 혼합된 위상으로 배열된 a-나선들의 2 가닥, 3 가닥, 4 가닥 또는 5 가닥 조립체를 구조적 특징으로 한다(예를 들면, 문헌(Lupas, 1996. Trends Biochem Sci 21:375-382) 참조). 통상적으로, 나선은 좌측 또는 우측으로 도는 방식으로 서로의 주변을 약하게 둘러싼다(휘감는다, 감는다)(수퍼코일링(supercoiling)으로서 지칭됨). 본 발명의 2-나선 다발은 일반적으로 매우 안정한 6-나선 코일드 코일 다발을 형성하기 위해 삼량체화하는 강한 성향으로 코일드 코일 구조를 형성한다는 것이 이해될 것이다.

2.1.1 헵타드 반복부

[0091] 알파-나선형 코일드 코일은 그의 아미노산 서열 수준에서 특징규명되었다. 즉, 각각의 나선은 일련의 헵타드 반복부들로 구성된다. 헵타드 반복부(헵타드 유닛, 헵타드)는 hpphпп로서 코딩될 수 있는 7-잔기 서열 모티프이고, 이때 각각의 'h'는 소수성 잔기를 표시하고, 각각의 'p'는 극성 잔기이다. 종종, p-잔기는 h-위치에서 관찰되고, 반대의 경우도 가능하다. 헵타드 반복부는 패턴 a-b-c-d-e-f-g(abcdefg) 또는 d-e-f-g-a-b-c(defgabc)에 의해 종종 코딩되기도 하고, 이 경우 표시 'a' 내지 'g'는 전형적인 아미노산 유형이 관찰되는 통상적인 헵타드 위치를 지칭한다. 약정에 의해, 표시 'a' 및 'd'는 코일드 코일에서 코어 잔기(묻혀있는 중심 잔기)의 위치를 표시한다. 코어 a-위치 및 d-위치에서 관찰된 전형적인 아미노산 유형은 소수성 아미노산 잔기 유형이고; 모든 다른 위치들(비-코어 위치들)에서 우세한 극성(친수성) 잔기 유형이 관찰된다. 따라서, 통상적인 헵타드 패턴 'hphпп'는 패턴 표시 'abcdefg'와 일치한다('hphпп' 패턴은 표시 'defgabc'와 일치하고, 이 표시는 d-위치에서 소수성 잔기로 출발하는 코일드 코일을 위해 사용된다). 본 발명의 헵타드 반복부 영역은 코일드 코일 구조의 개별 a-나선에서 적어도 2개, 적합하게는 3개 이상의 연속(중단되지 않은) 헵타드 반복부들을 포함한다. 나선에서 각각의 일련의 연속 헵타드 반복부들은 '헵타드 반복부 서열'(HRS)로서 표시된다. 헵타드 반복

부 서열의 시작 및 종결은 바람직하게는 이용가능한 경우 실험에 의해 확인된 3차원(3D) 구조를 기반으로 확인된다. 3D 구조가 이용가능하지 않은 경우, 헵타드 반복부 서열의 시작 및 종결은 바람직하게는 $(\text{hpph}^n\text{pp})_n$ 또는 $(\text{h}^n\text{ppph}^n)_n$ 패턴과 실제 아미노산 서열의 최적 중첩을 기반으로 확인되고, 이때 'h' 및 'p'는 각각 소수성 잔기 및 극성 잔기를 표시하고, 'n'은 2 이상의 수이다. 각각의 헵타드 반복부 서열의 시작 및 종결은 각각 a-위치 또는 d-위치에서 첫 번째 소수성 잔기 및 마지막 소수성 잔기인 것으로 간주된다. 통상적인 H-잔기는 바람직하게는 발린, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 티로신, 트립토판, 히스티딘, 글루타민, 쓰레오닌, 세린 및 알라닌으로 구성된 군, 보다 바람직하게는 발린, 이소류신, 류신 및 메티오닌으로 구성된 군으로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 이소류신이다. 통상적인 p-잔기는 바람직하게는 글리신, 알라닌, 시스테인, 세린, 쓰레오닌, 히스티딘, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 라이신 및 아르기닌으로 구성된 군으로부터 선택된다. 이 방법이 헵타드 반복부 서열로의 아미노산 잔기의 명확한 배정을 허용하지 않는 경우, 더 전문화된 분석 방법, 예컨대, 문현(Lupas et al., 1991. Science 252:1162-1164; <http://www.russell.embl-heidelberg.de/cgi-bin/coils-svr.pl>)의 COILS 방법을 적용할 수 있다.

[0095]

특정 실시양태에서, 각각의 헵타드 반복부 영역(HR1, HR2)은 독립적으로 예를 들면, 내용이 전체로서 본원에 참고로 도입된 국제 특허출원 공보 제WO 2010/066740호에 기재된 바와 같이 $(\text{a-b-c-d-e-f-g})_n$ 또는 $(\text{d-e-f-g-a-b-c})_n$ 으로서 표시된 아미노산 유형의 n회 반복된 7-잔기 패턴을 특징으로 하는데, 이때 패턴 요소 'a' 내지 'g'는 아미노산 유형이 위치하는 통상적인 헵타드 위치를 표시하고, n은 2 이상의 수이고, 적어도 50%(또는 적어도 51% 내지 적어도 99%, 및 이들 사이의 모든 정수 퍼센트)의 통상적인 헵타드 위치 'a' 및 'd'는 소수성 아미노산 유형에 의해 점유되고, 적어도 50%(또는 적어도 51% 내지 적어도 99%, 및 이들 사이의 모든 정수 퍼센트)의 통상적인 헵타드 위치 'b', 'c', 'e', 'f' 및 'g'는 친수성 아미노산 유형에 의해 점유됨으로써, 소수성 아미노산 유형과 친수성 아미노산 유형 사이의 분포는 헵타드 반복부 영역을 확인할 수 있게 한다. 특정 실시양태에서, 적어도 50%, 70%, 90% 또는 100%의 통상적인 헵타드 위치 'a' 및 'd'는 발린, 이소류신, 류신, 메티오닌 또는 이들의 비천연 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산에 의해 점유된다. 후자 아미노산은 더 표준적인(더 자주 관찰되는) 코일드 코일 코어 잔기에 상응한다. 다른 실시양태에서, 적어도 50%, 70%, 90% 또는 100%의 통상적인 헵타드 위치 'a' 및 'd'는 이소류신에 의해 점유된다. 일부 실시양태들에서, 적어도 50%, 70%, 90% 또는 100%의 통상적인 헵타드 위치 'b', 'c', 'e', 'f' 및 'g'는 글리신, 알라닌, 시스테인, 세린, 쓰레오닌, 히스티딘, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 라이신, 아르기닌 또는 이들의 비천연 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산에 의해 점유된다. 이 유형의 설명적 예에서, HR1 영역 및 HR2 영역은 서열 IEEIQKQIAAIQKQIAAIQKQIYRM[서열번호 1]을 포함하거나, 이러한 서열로 구성되거나, 본질적으로 이러한 서열로 구성된다.

[0096]

특정 실시양태에서, 구조 안정화 모이어티(본원에서 "SSM"으로서도 지칭됨)의 HR1 영역 및 HR2 영역은 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 적어도 하나의 내생성 헵타드 반복부를 포함한다. 적합하게는, HR1 영역 및 HR2 영역은 주로 하나 이상의 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 각각 상보적 HRA 영역 및 HRB 영역에 의해 형성된다. HRA 영역 아미노산 서열 및 HRB 영역 아미노산 서열은 동일한 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질로부터 유래할 수 있다. 대안적으로, 이들은 상이한 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질들로부터 유래할 수 있다. 대표적 예에서, HR1 영역 및 HR2 영역은 오르토믹소바이러스(예를 들면, 인플루엔자 A(Inf A), 인플루엔자 B(Inf B), 인플루엔자 C(Inf C)), 파라믹소바이러스(예를 들면, 홍역(MeV), 우역 바이러스(RPV), 개 홍역 바이러스(CDV), RSV, 인간 메타뉴모바이러스(HMPV), 파라인플루엔자 바이러스(PIV), 볼거리 바이러스(MuV), 헨드라 바이러스(HeV), 나파 바이러스(NiV), 뉴캐슬병 바이러스(NDV)), 레트로바이러스(예를 들면, 인간 T 세포 백혈병 바이러스 1형(HTLV-1), HTLV-2, HTLV-3, HIV-1, HIV-2), 월로바이러스(예를 들면, 자이르(Zaire)(ZEBOV), 레斯顿(Reston)(REBOV) 및 수단(Sudan)(SEBOV) 균주를 포함하는 에볼라 바이러스(EBOV), 마르부르그 바이러스(MARV)), 아레나바이러스(예를 들면, 라사 바이러스(LASV), 립프구성 맥락수막염 바이러스(LCMV), 주닌(Junin) 바이러스(JUNV)) 및 코로나바이러스(예를 들면, HCoV 229E, HCoV OC43, HCoV HKU1, HCoV EMC를 포함하는 인간 코로나바이러스(HCoV), 인간 토로바이러스(HToV), 중동 호흡기 증후군 바이러스(MERS-CoV), 중증 급성 호흡기 증후군 바이러스(SARS-CoV))의 HRA 영역 및 HRB 영역으로부터 독립적으로 선택된다.

[0097]

예시적 HRA 영역 아미노산 서열은 표 5의 서열들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다:

표 5

선택된 클래스 I 융합 단백질의 HRA 영역 서열

바이러스	HRA 영역 서열
HIV GP160	SGIVQQQNLLRAIEAQHQHLLQTVWGIKQLQARILA[서열번호 2] (GenPept dbjBAF31430.1)
RSV F	LHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLGNGVSVLTSKVLDLK[서열번호 3] (GenPept gbAHL84194.1)
HMPV F	IRLESEVTAIKNALKKTNEAVSTLGNNGVRVLATAVRELK[서열번호 4] (GenPept gbAAN52913.1)
PIV F	KQARSDEIQLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIKSVQ[서열번호 5] (GenPept gbAAB21447.1)
MeV F	MLNSQAIDNLRASLETTNQAIQAIRQAGQEMILAVQGVQ[서열번호 6] (GenPept dbjBAB60865.1)
HeV F	MKNADNINKLKSIIESTNEAVVKLQETAEKTVYVLTALQ[서열번호 7] (GenPept NP_047111.2)
Inf A HA	ENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGTGQAIDLKSTQAAI[서열번호 8] (GenPept gbAEC23340.1)
Inf B HA	HGYTSHGAHGVAVALKSTQEAINKITKNLNLYL[서열번호 9] (GenPept gbAFH57854.1)
EBOV GP	GLRQLANETTQALQLFLRATTELRTFSILNRKAIDFL[서열번호 10] (GenPept NP_066246.1)
MARV GP	LANQTAKSLELLLRVTTEERTFSLINRHAIIDLTRWG[서열번호 11] (GenPept YP_001531156.1)
MERS S	ISASIGDIIQRLDVLEQDAQIDRLINGRLTLNAFVAQQLVRSESAALSAQLAKDKVNE[서열번호 12] (GenPept gbAHX00711.1)
SARS S	ISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSE[서열번호 13] (GenPept gbAAR86788.1)

[0098]

예시적 HRB 영역 아미노산 서열은 표 6의 서열들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다:

표 6

선택된 클래스 I 융합 단백질의 HRB 영역 서열

바이러스	HRB 영역 서열
HIV GP160	HTTWMEWDREINNYTSЛИHSLIEESQNQQEKNEQELLE [서열번호 14] (GenPept dbjBAF31430.1)
RSV F	FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTTN[서열번호 15] (GenPept gbAHL84194.1)
hMPV F	FNVALDQVFESIENSQALVDQSNRILSSAEKGNTG[서열번호 16] (GenPept gbAAN52913.1)
PIV F	IELNKAKSDEESKEWIRRNSNQKLDSIGNWHQSSTT[서열번호 17] (GenPept gbAAB21447.1)
MeV F	LERLDVGTNLGNAIAKLEDAKELLESSDQILRSMKGLSST[서열번호 18] (GenPept dbjBAB60865.1)
HeV F	ISSQISSMNQSLQQSKDYIKEAQKILDtvNPS[서열번호 19] (GenPept NP_047111.2)
Inf A HA	RIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELVLALENQHTIDLTDSEMSKLFERTRR[서열번호 20] (GenPept gbAEC23340.1)
Inf B HA	DEILELDEKVDDLRADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKKML[서열번호 21] (GenPept gbAFH57854.1)
EBOV GP	HDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTL[서열번호 22] (GenPept NP_066246.1)
MARV GP	IGIEDLSKNISEQIDQI[서열번호 23] (GenPept YP_001531156.1)
MERS S	NFGSLTQINTTLLDLTYEMLSLQQVVKALNESYIDLKELGNYT[서열번호 24] (GenPept gbAHX00711.1)
SARS S	DVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK[서열번호 25] (GenPept gbAAR86788.1)

[0100]

- [0101] HR1 영역과 HR2 영역은 회합하여, 열역학적으로 안정하고 클래스 I 바이러스 융합 단백질의 융합 후 입체구조를 대표하는, 전형적으로 3개의 HR1 영역들 및 3개의 HR2 영역들로 구성된 육량체인 올리고머를 형성할 수 있다. 강한 올리고머화 성향을 가진 HR1 영역 및 HR2 영역은 본원에서 "상보적" 헵타드 반복부 영역으로서 지칭된다. 이러한 헵타드 반복부 영역의 비한정적 예는 표 7에 나열된 영역이다.
- [0102] 특정 실시양태에서, 헵타드 반복부 영역들 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 구조 안정화 모이어티는 특히 역평행 2-나선 다발로 폴딩될 때 구조 안정화 모이어티에 대한 면역 반응의 유발 또는 생성을 억제하는 면역침묵 또는 면역억제 모이어티를 포함한다. 이 실시양태는 엑토도메인 폴리펩타이드 또는 이의 복합체에 대한 보다 강한 또는 향상된 면역 반응의 생성을 허용할 수 있기 때문에 유리하다. 면역침묵 모이어티는 글리코실화 효소, 특히 글리코실트랜스퍼라제에 의해 특이적으로 인식되고 글리코실화되는 글리코실화 부위일 수 있다. 글리코실화는 N-연결 또는 O-연결 글리코실화일 수 있다. N-연결은 탄수화물 모이어티가 아스파라긴 잔기의 측쇄에 부착하는 것을 지칭한다. 트리펩타이드 서열 N-X-S 및 N-X-T(이때, X는 P를 제외한 임의의 아미노산임)는 탄수화물 모이어티가 효소에 의해 아스파라긴 측쇄에 부착하기 위한 인식 서열이고, 이 서열들은 통상적으로 '글리코실화 부위'로서 지칭된다. O-연결 글리코실화는 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시라이신도 사용될 수 있지만, 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 자일로스 중 하나가 하이드록시아미노산, 가장 통상적으로 세린 또는 쓰레오닌에 부착하는 것을 지칭한다. 면역침묵 모이어티는 헵타드 반복부 영역들 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 구조 안정화 모이어티 내로 삽입될 수 있다.
- [0103] 다른 실시양태에서, 비자연 또는 비천연 아미노산은 확장된 유전적 코드를 사용함으로써 헵타드 반복부 영역들 중 하나 또는 둘 다 내로 도입될 수 있다. 비천연 아미노산은 원하는 부위에서 티로실-tRNA/아미노아실-tRNA 합성효소 오르토고날(orthogonal) 쌍 및 넌센스 코돈을 사용함으로써 생합성에 의해 원하는 위치 내로 도입된다. 외부 공급원으로부터의 비천연 또는 비자연 아미노산은 키메라 폴리펩타이드를 발현할 수 있는 구축물을 발현하는 세포에게 공급되고, 이 방법은 일시적으로 조절된 변형을 가능하게 하기 위해 화학적 가교결합 기(예를 들면, 아지드 또는 할로알칸), 추적가능한 마커(예를 들면, 형광 또는 방사성) 및 감광성 기를 포함하거나 이들로 한정되지 않는, 광범위한 물리적 속성을 가진 측쇄를 도입할 수 있다. 다양한 모이어티들이 구조 안정화 모이어티에의 화학적 추가에 의해 이 비천연 아미노산들에 공유결합되어 유리한 성질을 제공할 수 있다.

표 7

상보적 헬타드 반복부 영역 서열		
비-아이러스	HR1 영역 서열	HR2 영역 서열
합성	IEEIQKQIAAIQKQIAAIQKQTYRM[서열번호_26]	IEEIQKQIAAIQKQIAAIQKQTYRM[서열번호_27]
HIV GP160	SGIVQQQNLLRAEQQHLLQLTVWGIKQLQARILAI[서열번호_28] (GenPept gbAHLS4194.1)	HTTMEWDRINNYSLHSIIESQNQQKEQEELI[서열번호_29] (GenPept gbIBAF31430.1)
RSV F	LHLEGEVNKIKSALLSTNIKAVVSLSLNGVSVLTSKVLDLK[~열번호_30] (GenPept gbAHLS4194.1)	FDASTSQVNKEKINQSIAFIRKSDELLHNAGKSTTI[서열번호_31] (GenPept gbAHLS4194.1)
hMPV F	IRLESEVTAIKNALKKTNEAVSTLNGVRVRLATAVRELK[서열번호_32] (GenPept gbAAN52913.1)	FNVALDQVFESTIENSQALVDQSNRILSSAEKGNTG[서열번호_33] (GenPept gbAAN52913.1)
PIV F	KQARSDETEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIKSVQI[~열번호_34] (GenPept gbAB21447.1)	IELNKAKSDELESKEWIRRSNQKLDSIGNLGNWHQSSTT[서열번호_35] (GenPept gbAB21447.1)
Mev F	MLNSQADNLRLASLETTNQATEATRQAGQEMILAVQGVQ[서열번호_36] 36 (gbIBAB60865.1)	LERLDVGTLGNATAKLEDAKELLESSDQILRSMKGLSST[서열번호_37] (GenPept gbIBAB60865.1)
Hev F	MKNADNINKUKSIIESTNEAVVVKLQETAEKTVYVLTALQI[~열번호_38] (GenPept NP_047111.2)	ISSQISSMNQLQSKDVIKEAQKILDVTNPS[서열번호_39] (GenPept NP_047111.2)
Inf A HA	ENGWEGMVGDGWYGRPHQNSEGTOADLKSTQAAI[~열번호_40] (GenPept gbAECC23340.1)	RIQDLEKYYEDTKIDLWSYNAELVLAENOHTIDLTDSENSKLFERTTR[서열번호_41] (GenPept gbAECC23340.1)
Inf B HA	HGTTSGAHGVAVAADLKSTQEAINKTNLNLY[서열번호_42] (GenPept gbAFH57854.1)	DETELEDERVDDLRADTISQSQUELAVLUSNEGINSDEHLALERKLKKML[서열번호_43] (GenPept gbAFH57854.1)
EBOV GP	GLRQPLANETTQALQEI RATTTERTSILNRKAIDEI[~열번호_44] (GenPept NP_066246.1)	HDWTKNITDKDQTHDFVDKTL[서열번호_45] (GenPept NP_066246.1)
MARV GP	LANQTAKSLELLRVTTERTSILNRHAIDFLTRW[서열번호_46] (GenPept YP_001531156.1)	IGIEDLSKNISEQIDQI[서열번호_47] (GenPept YP_001531156.1)
MERS S	ISASIGDIDQIDLVQDQIDRLINGRLTINAFAVQAQQLVRSSEALSQAQAKDKV NEG[서열번호_48] (GenPept gbAHX00711.1)	GSGGGNGFSUTQINTTLLDTYEMISLQQVVKALNESYDILKELGNTY[서열번호_49] (GenPept gbAHX00711.1)
SARS S	ISSVLNDILSLRDLKVEAEQIDRLITGRLQSLQTVVTQQLRRAEIRASANLAATKMS EGI[서열번호_50] (GenPept gbAAR86788.1)	GSGGGDVDLGDTGSINASVUNIQKEIDRLNEAKNLNESLTDILOELGK[서열번호_51] (GenPept gbAAR86788.1)

[0104]

[0105]

추가 실시양태는 상기 예들의 임의의 가능한 조합, 또는 구조 안정화 모이어티에 공유결합된 추가 비천연 화학적 추가를 포함할 수 있다.

[0106]

임의적으로, 하나 이상의 추가 시스테인 잔기를 HR1 영역 및/또는 HR2 영역 내로 삽입하여 디설파이드 결합을 형성할 수 있고, 구조 안정화 모이어티의 역평행 α-나선형 코일드 코일 구조를 더 안정화시킬 수 있다.

[0107]

2.1.2 링커

[0108]

본 발명의 구조 안정화 모이어티는 적합하게는 헬타드 반복부 영역(본원에서 HR1 및 HR2로서도 지칭됨)을 분리하는 링커를 포함한다. 상기 링커는 일반적으로 헬타드 반복부 서열에 명확히 배정될 수 없는 임의의 아미노산 잔기를 포함한다. 링커는 단백질 공학 분야에서 상이한 기능적 유닛들의 상호연결, 예를 들면, 항체 가변 경쇄

(VL) 및 가변 중쇄(VH)로부터 유래한 단일 쇄 가변 단편(scFv) 구축물의 생성에 종종 사용된다. 링커는 일반적으로 용액에서 입체구조적으로 유연하고, 적합하게는 주로 극성 아미노산 잔기 유형으로 구성된다. 유연성 링커에서 전형적인 (빈번하게 사용되는) 아미노산은 세린 및 글리신이다. 보다 덜 바람직하게는, 유연성 링커는 알라닌, 쓰레오닌 및 프롤린도 포함할 수 있다. 따라서, 구조 안정화 모이어티의 개재 링커는 바람직하게는 입체구조 면에서 유연하여, 적합하게는 α-나선형 코일드 코일 구조를 채택하는 2-나선 다발로서 HR1과 HR2의 여유 있는(방해받지 않는) 회합을 보장한다. 본원에서 예상된 폴리펩타이드에 사용하기에 적합한 링커는 숙련된 자에게 명확할 것이고, 링커가 구조 안정화 모이어티의 특징적인 2-나선 다발 구조의 조립을 허용하고 적합하게는 손상시키지 않는다는 의미에서 구조적으로 유연한 한, 일반적으로 당분야에서 아미노산 서열을 연결하는 데 사용되는 임의의 링커일 수 있다.

[0109] 숙련된 자는 임의적으로 제한된 수의 관례적인 실험을 수행한 후 최적 링커를 결정할 수 있을 것이다. 개재 링커는 적합하게는 일반적으로 적어도 1개의 아미노산 잔기로 구성된, 통상적으로 적어도 2개의 아미노산 잔기로 구성된 아미노산 서열이고, 이때 편리함을 이유로 선택된 비-임계 상한은 약 100개의 아미노산 잔기이다. 특정 실시양태에서, 링커는 약 1개 내지 약 50개의 아미노산 잔기, 또는 약 50개 내지 약 100개의 아미노산 잔기, 통상적으로 약 1개 내지 약 40개의 아미노산 잔기, 전형적으로 약 1개 내지 약 30개의 아미노산 잔기로 구성된다. 비한정적 예에서, 링커는 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 상보적 HRA 영역 및 HRB 영역을 연결하는 아미노산의 수와 거의 동일한 수의 아미노산을 가진다. 구체적으로, 비한정적 실시양태에서, 링커 서열의 아미노산 잔기들 중 적어도 50%는 프롤린, 글리신 및 세린으로 구성된 군으로부터 선택된다. 추가 비한정적 실시양태에서, 링커 서열의 아미노산 잔기들 중 적어도 60%, 예컨대, 적어도 70%, 예를 들면, 80%, 보다 구체적으로 90%는 프롤린, 글리신 및 세린으로 구성된 군으로부터 선택된다. 다른 특정 실시양태에서, 링커 서열은 본질적으로 극성 아미노산 잔기로 구성되고; 이러한 특정 실시양태에서, 링커 서열의 아미노산 잔기들 중 적어도 50%, 예컨대, 적어도 60%, 예를 들면, 70% 또는 80%, 보다 구체적으로 90% 또는 최대 100%는 글리신, 세린, 쓰레오닌, 알라닌, 프롤린, 히스티딘, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 라이신 및 아르기닌으로 구성된 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 링커 서열은 [GGSG]_nGG, [GGGGS]_n, [GGGGG]_n, [GGGKGGGG]_n, [GGGNNGGG]_n, [GGGCAGGG]_n를 포함할 수 있고, 이때 n은 1 내지 10, 적합하게는 1 내지 5, 보다 적합하게는 1 내지 3의 정수이다.

[0110] 헵타드 반복부 영역이 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 각각 상보적 HRA 영역 및 HRB 영역을 포함하거나, 이러한 영역들로 구성되거나, 본질적으로 이러한 영역들로 구성되는 특정 실시양태에서, 링커는 HRA 영역과 HRB 영역을 연결하는 개재 천연 생성 아미노산 서열을 포함하거나, 이러한 아미노산 서열로 구성되거나, 본질적으로 이러한 아미노산 서열로 구성된다. 개재 서열은 전체 길이 또는 거의 전체 길이 서열일 수 있거나, 전체 길이 개재 천연 생성 아미노산 서열의 하나 이상의 부분을 포함할 수 있거나, 이러한 부분으로 구성될 수 있거나, 본질적으로 이러한 부분으로 구성될 수 있다. 다른 실시양태에서, 링커는 야생형 클래스 I 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 HRA 영역과 HRB 영역 사이에 끼어있는 천연 생성 아미노산 서열을 결여한다. 상기 실시양태들 중 임의의 실시양태에서, 링커는 하나 이상의 비천연 생성 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0111] 구조 안정화 모이어티의 헵타드 반복부 영역을 분리하고 바람직하게는 구조적 유연성을 도입하여 이 영역의 역평행 회합을 용이하게 하는 것 이외에, 링커는 하나 이상의 보조 기능을 포함할 수 있다. 예를 들면, 링커는 키메라 폴리펩타이드의 정제를 용이하게 하는 정제 모이어티 및/또는 키메라 폴리펩타이드에 대한 면역 반응을 조절하는 적어도 하나의 면역조절 모이어티를 포함할 수 있다.

[0112] 정제 모이어티는 전형적으로 친화성 결합을 통해 키메라 폴리펩타이드의 회수를 가능하게 하는 아미노산 스트레이치를 포함한다. 다수의 정제 모이어티들 또는 '태그들'이 당분야에서 공지되어 있고, 이들의 설명적 예로는 바이오틴 카복실 담체 단백질-태그(BCCP-태그), Myc-태그(c-myc-태그), 칼모듈린(Calmodulin)-태그, FLAG-태그, HA-태그, His-태그(헥사히스티딘-태그, His6, 6H), 말토스 결합 단백질-태그(MBP-태그), Nus-태그, 키틴(Chitin) 결합 단백질-태그(CBP-태그), 글루타티온-S-트랜스퍼라제-태그(GST-태그), 녹색 형광 단백질-태그(GFP-태그), 폴리글루타메이트-태그, 아밀로이드 베타-태그, 티오레독신(Thioredoxin)-태그, S-태그, 소프트태그(Softag) 1, 소프트태그 3, 스트렙(Strep)-태그, 스트렙타비딘 결합 웨პ타이드-태그 (SBP-태그), 바이오틴-태그, 스트렙타비딘-태그 및 V5-태그가 있다.

[0113] 면역조절 모이어티는 키메라 폴리펩타이드 또는 이의 복합체에 의해 유발된 면역 반응을 조절하기 위해 링커 내로 도입될 수 있다. 이러한 모이어티의 비한정적 예로는 예를 들면, 앞에 기재된 면역침묵 또는 면역억제 모이어티, 병원성 유기체로부터 유래한 항원성 모이어티를 포함하는 항원성 모이어티, 또는 다른 질병 관련 항원성

모이어티, 예컨대, 암 또는 종양 관련 항원이 있다. 예시적 병원성 유기체는 바이러스, 세균, 진균 기생충, 조류 및 원생동물, 및 아메바를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 특정 실시양태에서, 항원성 모이어티는 병원성 바이러스의 항원으로부터 유래한다. 질환의 원인이 되는 예시적 바이러스는 홍역, 볼거리, 풍진, 소아마비, A형 간염, B형 간염(예를 들면, 진뱅크 수납번호 E02707), C형 간염(예를 들면, 진뱅크 수납번호 E06890) 및 다른 간염 바이러스, 인플루엔자, 아데노바이러스(예를 들면, 4형 및 7형), 광견병(예를 들면, 진뱅크 수납번호 M34678), 황열, 앱스테인-바 바이러스 및 다른 헤르페스바이러스, 예컨대, 파필로마바이러스, 에볼라 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 일본 뇌염(예를 들면, 진뱅크 수납번호 E07883), 뎅기(예를 들면, 진뱅크 수납번호 M24444), 한타바이러스, 센다이 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 오르토믹소바이러스, 수포성 구내염 바이러스, 비스나 바이러스, 사이토메갈로바이러스 및 인간 면역결핍 바이러스(HIV)(예를 들면, 진뱅크 수납번호 U18552)를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 이러한 바이러스들로부터 유래한 임의의 적합한 항원은 본 발명의 실시에 유용하다. 예를 들면, HIV로부터 유래한 예시적 레트로바이러스 항원은 gag, pol 및 env 유전자의 유전자 새성물, Nef 단백질, 역전사효소 및 다른 HIV 성분들과 같은 항원들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 간염 바이러스 항원의 예시적 예로는 B형 간염 바이러스의 S, M 및 L 단백질, B형 간염 바이러스의 전구-S 항원, 및 다른 간염, 예를 들면, A형 간염, B형 간염 및 C형 간염과 같은 항원들이 있으나 이들로 한정되지 않는다. 인플루엔자 바이러스 항원의 예시적 예로는 헤마글루터닌 및 뉴라미니다제, 및 다른 인플루엔자 바이러스 성분과 같은 항원들이 있으나 이들로 한정되지 않는다. 홍역 바이러스 항원의 예시적 예로는 홍역 바이러스 융합 단백질 및 다른 홍역 바이러스 성분과 같은 항원들이 있으나 이들로 한정되지 않는다. 풍진 바이러스 항원의 예시적 예로는 단백질 E1 및 E2, 및 다른 풍진 바이러스 성분과 같은 항원들; VP7sc 및 다른 로타바이러스 성분과 같은 로타바이러스 항원들이 있으나 이들로 한정되지 않는다. 사이토메갈로바이러스 항원의 예시적 예로는 외피당단백질 B 및 다른 사이토메갈로바이러스 항원 성분과 같은 항원들이 있으나 이들로 한정되지 않는다. 호흡기 세포융합 바이러스 항원의 비한정적 예로는 RSV 융합 단백질, M2 단백질 및 다른 호흡기 세포융합 바이러스 항원 성분과 같은 항원들이 있으나 이들로 한정되지 않는다. 헤르페스 심플렉스 바이러스 항원의 예시적 예로는 즉시 초기 단백질, 당단백질 D 및 다른 헤르페스 심플렉스 바이러스 항원 성분과 같은 항원들이 있으나 이들로 한정되지 않는다. 대상포진 바이러스 항원의 비한정적 예로는 9PI, gpII 및 다른 대상포진 바이러스 항원 성분과 같은 항원들이 있으나 이들로 한정되지 않는다. 일본 뇌염 바이러스 항원의 비한정적 예로는 단백질 E, M-E, M-E-NS 1, NS 1, NS 1-NS2A, 80% E 및 다른 일본 뇌염 바이러스 항원 성분과 같은 항원들이 있다. 광견병 바이러스 항원의 대표적 예로는 광견병 당단백질, 광견병 핵단백질 및 다른 광견병 바이러스 항원 성분과 같은 항원들이 있다. 파필로마바이러스 항원의 예시적 예로는 L1 및 L2 캡시드 단백질뿐만 아니라 자궁경부암과 관련된 E6/E7 항원도 있으나 이들로 한정되지 않는다. 바이러스 항원의 추가 예에 대해서는 문현(Fundamental Virology, Second Edition, eds. Fields, B. N. and Knipe, D. M., 1991, Raven Press, New York)을 참조한다. 특정 실시양태에서, 바이러스 항원은 엑토도메인 폴리펩타이드에 상응하는, 외피 보유 바이러스의 항원이다. 다른 실시양태에서, 바이러스 항원은 엑토도메인 폴리펩타이드에 상응하는, 상이한 외피 보유 바이러스의 항원이다.

[0114] 일부 실시양태들에서, 하나 이상의 암 또는 종양 관련 항원이 링커 내로 삽입된다. 이러한 항원은 MAGE-2, MAGE-3, MUC-1, MUC-2, HER-2, 고분자량 흑색종 관련 항원 MAA, GD2, 암배아 항원(CEA), TAG-72, 난소 관련 항원 OV-TL3 및 MOV 18, TUAN, 알파-페토 단백질(AFP), OFP, CA-125, CA-50, CA-19-9, 신장 종양 관련 항원 G250, EGP-40(EpCAM으로서도 공지되어 있음), S100(악성 흑색종 관련 항원), p53, 전립선 종양 관련 항원(예를 들면, PSA 및 PSMA), p21ras, Her2/neu, EGFR, EpCAM, VEGFR, FGFR, MUC-I, CA 125, CEA, MAGE, CD20, CD19, CD40, CD33, A3, A33 항체에 특이적인 항원, BrE3 항원, CD1, CD1a, CD5, CD8, CD14, CD15, CD16, CD21, CD22, CD23, CD30, CD33, CD37, CD38, CD40, CD45, CD46, CD52, CD54, CD74, CD79a, CD126, CD138, CD154, B7, Ia, Ii, HM1.24, HLA-DR(예를 들면, HLA-DR10), NCA95, NCA90, HCG 및 서브유닛, CEA(CEACAM5), CEACAM-6, CSAp, EGP-I, EGP-2, Ba 733, KC4 항원, KS-I 항원, KS1-4, Le-Y, MUC2, MUC3, MUC4, P1GF, ED-B 피브로넥틴, NCA 66a-d, PAM-4 항원, PSA, PSMA, RS5, SI00, TAG-72, TIOI, TAG TRAIL-RI, TRAIL-R2, p53, 테나신(tenascin), 인슐린 성장 인자-1(IGF-I), Tn 항원 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

[0115] 링커에 포함되는 항원성 모이어티 또는 모이어티들은 전체 길이 항원 또는 항원의 부분에 상응할 수 있다. 항원의 부분이 사용될 때, 항원의 부분은 B 세포 에피토프 및/또는 T 세포 에피토프(예를 들면, 세포독성 T 립프구(CTL) 에피토프 및/또는 T 헬퍼(Th) 에피토프)를 포함하는, 관심 있는 항원의 하나 이상의 에피토프를 포함할 수 있다. 다수의 항원들의 에피토프는 문현에 공지되어 있거나 당분야에서 숙련된 자에게 공지된 관례적인 기법을 이용함으로써 확인될 수 있다. 다른 실시양태에서, 링커는 면역화된 개체 내에서 특정 세포 유형에게로의 전달을 제공할 수 있는 또 다른 세포 표적화 모이어티를 포함할 수 있다. 관심 있는 세포 집단은 B 세포, 마크로

폴드 세포 및 항원 제시 세포(APC)를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 후자 예에서, 표적화 모이어티는 APC, 예컨대, 수지상 세포 또는 대식세포에 의한 키메라 폴리펩타이드 또는 이의 복합체의 향상된 인식을 용이하게 한다. 이러한 표적화 서열은 회합된 엑토도메인 폴리펩타이드의 에피토프의 APC 제시를 향상시킴으로써, 엑토도메인 폴리펩타이드에 대한 항체 면역 반응 및 세포 면역 반응 중 어느 하나 또는 둘 다의 강화 또는 확장을 포함하는, 생성된 면역 반응을 증강시킬 수 있다. APC 표적화 모이어티의 비한정적 예로는 APC 표면 수용체, 예컨대, 만노스 특이적 렉틴(만노스 수용체), IgG Fc 수용체, DC-SIGN, BDCA3(CD141), 33D1, SIGLEC-H, DCIR, CD11c, 열 쇼크 단백질 수용체 및 스캐빈저(scavenger) 수용체(그러나, 이들로 한정되지 않음)에 결합하는 리간드를 포함한다. 특정 실시양태에서, APC 표적화 모이어티는 서열 FYPYSYHSTPQRP(Uriel, et al., J. Immunol. 2004 172: 7425-7431) 또는 NWYLPWLGTNDW(Sioud, et al., FASEB J 2013 27(8): 3272-83)를 포함하거나, 이러한 서열로 구성되거나, 본질적으로 이러한 서열로 구성된 수지상 세포 표적화 모이어티이다.

[0116] 2.2 외피 보유 바이러스 융합 단백질 및 엑토도메인 폴리펩타이드

본 발명의 분자 클램핑 방법은 클래스 I 융합 단백질 및 클래스 III 융합 단백질을 포함하는 다양한 엑토도메인 폴리펩타이드들을 안정화시키는 데 유용하고, 이 폴리펩타이드들의 야생형 대응물들은 그들의 융합 전 형태에서 삼량체로 조립된다. 비한정적 클래스 I 융합 단백질은 오르토믹소바이러스의 융합 단백질(예를 들면, Inf A, Inf B 및 Inf C의 HA 단백질), 파라믹소바이러스의 융합 단백질(예를 들면, MeV, RPV, CDV, RSV, HMPV, PIV, MuV, HeV, NiV 및 NDV의 F 단백질), 레트로바이러스의 융합 단백질(예를 들면, HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3, HIV-1, HIV-2의 외피 당단백질), 필로바이러스의 융합 단백질(예를 들면, EBOV, ZEBOV, REBOV, SEBOV 및 MARV의 당단백질), 아레나바이러스의 융합 단백질(예를 들면, LASV, LCMV 및 JUNV의 당단백질 및 안정한 신호 펩타이드(SSP)), 및 코로나바이러스의 융합 단백질(예를 들면, HCoV, HToV, SARS-CoV 및 MERS-CoV의 S 단백질)을 포함한다. 대표적 클래스 III 융합 단백질은 랍도바이러스의 융합 단백질(예를 들면, 광견병 바이러스(RABV), 호주 박쥐 리사바이러스(ABL), 소 유행열 바이러스(BEFV) 및 수포성 구내염 바이러스(VSV)의 당단백질(G)) 및 헤르페스바이러스의 융합 단백질(예를 들면, 인간 헤르페스 바이러스 1형(HHV-1; 헤르페스 심플렉스 바이러스 1형(HSV-1)으로서도 공지되어 있음), HHV-2(HSV-2로서도 공지되어 있음), HHV-3(대상포진 바이러스(VZV)로서도 공지되어 있음), HHV-4(엡스테인 바 바이러스(EBV)로서도 공지되어 있음) 및 HHV-5(사이토메갈로바이러스(CMV)로서도 공지되어 있음)의 당단백질(gB, gD, gH/L))을 포함한다.

엑토도메인 폴리펩타이드는 전체 길이 전구체 엑토도메인 폴리펩타이드 또는 이의 부분을 포함할 수 있거나, 이러한 폴리펩타이드 또는 이의 부분으로 구성될 수 있다. 일부 실시양태들에서, 엑토도메인 폴리펩타이드는 내생성 신호 펩타이드, 엑토도메인의 내생성 헤드 부분, 엑토도메인의 내생성 출기 부분, 내생성 뮤신 유사 도메인, 내생성 막 근위 외부 영역(MPER) 및 내생성 융합 펩타이드 중 어느 하나 이상을 결여한다. 대안적으로 또는 추가로, 야생형 또는 기준 융합 단백질의 하나 이상의 내생성 단백질분해성 절단 부위(예를 들면, 하나 이상의 푸린(furin) 절단 부위)를 변경시키거나 결실시켜, 엑토도메인 폴리펩타이드를 프로테아제(예를 들면, 세포 프로테아제, 예컨대, 푸린)에 의한 단백질분해성 절단에 덜 민감하게 만들 수 있다.

본 발명의 엑토도메인 폴리펩타이드는 전체 길이 외피 보유 바이러스 전구체 융합 단백질에 존재하는 다양한 구조적 및 기능적 모이어티들 또는 도메인들의 위치에 대한 지식을 이용함으로써 구축될 수 있다. 이러한 전구체 단백질들 및 이들의 관련 도메인들의 비한정적 예는 예시적 엑토도메인 폴리펩타이드 실시양태의 구축과 관련하여 이하에 논의되어 있다.

[0120] 2.2.1 Inf A HA

예시적 Inf A HA 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

```
MKTIIIALSYIFCLALGQDLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTLVKTTDDQIEVTNATELVQSSSTGKICNN
PHRILDGIDCTLIDALLGDPHCDVFQNETWDLFVERSKAFSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTLREFITEG
FTWTGVTQNGGSNACKRGPGSGFFSRLNWLTSGSTYPVLNVTPNNDNFDKLYIWGIHHPSTNQEQT
TSLYVQASGRVTVSTRRSQQTIPNIGSRPWVRGLSSRISIYWTIVKPGDVLVINSNGNLIAPRGYFKMR
TGKSSIMRSDAPIIDTCISECTPNGSIPNDKPFQNVNKITYGACPKYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRG
LFGAIAGFIENGWEGMIDGWYGFRHQNSEGTGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRVIEKTNEKFHQIEKE
FSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTSEMNLFEKTRRQLRENAEMGNGCF
KIYHKCDNACIESIRNGTYDHDVYRDEALNNRFQIKGVELSGYKDWLWISFAISCFLLCVLLGFIMW
ACQRGNIRCNICI[서열번호 52] (GenPept gbAEC23340.1).
```

[0122]

- [0123] 이 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:
- [0124] SP = 1-16
- [0125] 엑토도메인 = 17-529
- [0126] 푸린 절단 부위 = 345-346
- [0127] FP = 346-355
- [0128] HRA 영역 = 356-390
- [0129] HRB 영역 = 421-470
- [0130] MPER = 470-529
- [0131] TM = 530-553
- [0132] C = 534-556
- [0133] 헤드 영역 = 51-328, 403-444,
- [0134] 줄기 영역 = 17-58, 327-401, 442-509.
- [0135] Inf A HA 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:
- [0136] 엑토도메인 1-529:
- MKTIIAFSCILCLIFAQKLPGSDNSMATLCLGHHAVPNGTLVKTITDDQIEVTNATELVQSSSTGRICNSP
HQILDGKNCTLIDALLGDPHCDDFQNKEWDLFVERSTAYSNCYPYYVPDYATLRSVLASSGNLEFTQES
FNWTGVAQDGSSYACRRGSVNSFFSRLNWLYNLNYKYPEQNVTMPNNNDKFQDKLYIWGVHHPGTDKD
QTNLVQASGRVIVSTKRSQQTVIPNIGSRPWVRGVSSIISIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKIQ
SGKSSIMRSDAHIDECNSECITPNGSIPNDKPFQNVNKITYGACPRYVKQNTLKLATGMNRVPEKQTR
GIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGTGQAADLKSTQAAINQITGKLNRVIKKTNEKFHQIEK
EFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMSKLFERTRRQLRENAEDMGNGC
FKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDIYRNEALNNRFQIKGVQLKSGYKD[서열번호 53] (GenPept
[gbAEC23340.1](#)).
- [0137] 엑토도메인 마이너스 SP 18-529:
- KLPGSDNSMATLCLGHHAVPNGTLVKTITDDQIEVTNATELVQSSSTGRICNSPHQILDGKNCTLIDAL
LGDPHCDDFQNKEWDLFVERSTAYSNCYPYYVPDYATLRSVLASSGNLEFTQESFNWTGVAQDGSSY
ACRRGSVNSFFSRLNWLYNLNYKYPEQNVTMPNNNDKFQDKLYIWGVHHPGTDKDQTNLVQASGRVIV
STKRSQQTVIPNIGSRPWVRGVSSIISIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKIQSGKSSIMRSDAHID
ECNSECITPNGSIPNDKPFQNVNKITYGACPRYVKQNTLKLATGMNRVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWE
GMVDGWYGFRHQNSEGTGQAADLKSTQAAINQITGKLNRVIKKTNEKFHQIEKEFSEVEGRIQDLEKY
VEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMSKLFERTRRQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIGSI
RNGTYDHDIYRNEALNNRFQIKGVQLKSGYKD[서열번호 54] (GenPept [gbAEC23340.1](#)).
- [0139] 엑토도메인 마이너스 SP 마이너스, MPER 18-469:
- KLPGSDNSMATLCLGHHAVPNGTLVKTITDDQIEVTNATELVQSSSTGRICNSPHQILDGKNCTLIDAL
LGDPHCDDFQNKEWDLFVERSTAYSNCYPYYVPDYATLRSVLASSGNLEFTQESFNWTGVAQDGSSY
ACRRGSVNSFFSRLNWLYNLNYKYPEQNVTMPNNNDKFQDKLYIWGVHHPGTDKDQTNLVQASGRVIV
STKRSQQTVIPNIGSRPWVRGVSSIISIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKIQSGKSSIMRSDAHID
ECNSECITPNGSIPNDKPFQNVNKITYGACPRYVKQNTLKLATGMNRVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWE
GMVDGWYGFRHQNSEGTGQAADLKSTQAAINQITGKLNRVIKKTNEKFHQIEKEFSEVEGRIQDLEKY
VEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMSKLFERTRR[서열번호 55] (GenPept
[gbAEC23340.1](#)).

[0142] 엑토도메인 18-341, 346-529 플러스 변경된 푸린 절단 부위:

KLPGSDNSMATLCLGHHAVPNGTLVKTITDDQIEVTNATELVQSSSTGRICNSPHQILDGKNCTLIDAL
LGDPHCDDFQNKEWDLFVERSTAYSNCYPYYVPDYATLRSVLASSGNLEFTQESFNWTGVAQDGSSY
ACRRGSVNSFFSRLNWLYNLNYKYPEQNVTPNNDKFDKLYIWGVHHPGTDKDQTNLVQASGRVIV
STKRSQQTVIPNIGSRPWVRGSSIISIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKIQSGKSSIMRSDAHID
ECNSECITPNGSIPNDKPFQNVNKITYGACPRYVKQNTLKLATGMNRNPVERRRKKRGIFGAIAGFIENG
WEGMVWDGWYGFRHQNSEGTGQAADLKSTQAAINQITGKLNRVIKKTNEKFHQIEKEFSEVEGRIQDL
EKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMSKLFERTRRQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACI
GSIRNGTYDHDIYRNEALNNRFQIKGVQLKSGYKD[서열번호 56] (GenPept [gbAEC23340.1](#)).

[0143]

줄기 도메인 1-58, 327-401, 442-509 플러스 링커 영역:

MKTIIALSYILCLVFAQKLPGNNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTITNDQIEVTNATELGFGQNTLKLATG
MRNVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWEGMLDGWYGRHQNSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGMLNRILIG
SGGSGELLVALLNQHTIDLTDSEMNKLFEKTKKQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDH
DVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKD[서열번호 57] (GenPept [gbAEC23340.1](#)).

[0144]

헤드 도메인 1-18, 51-328, 403-444 플러스 링커 영역:

MKTIIALSYILCLVFAQKEVTNATELVQNSSTGGICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWD
LFVERSCKSNCYPYDVPDYASLRSVLASSGTLEFNNEFNDQIFLYAQASGRITVSTKRSQQTVIPNIGSRPR
LTHSKFKYPALNVTMPNNEEFDKLYIWGVHHPGTDNDQIFLYAQASGRITVSTKRSQQTVIPNIGSRPR
VRNIPSRSIISIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCNCSECITPNGSIPNDKPF
QNVNRITYGACPRYVKQNGSGSGKTNEKFHQIEKEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELL[서
열번호 58] (GenPept [gbAEC23340.1](#)).

[0145]

2.2.2 Inf B HA

[0146] 대표적 Inf B HA 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MKAIIVLLMVTSNADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVPLTTPTKSHFANLKGQTTRGKLC
NCFNCTLDVALGRPCKMGNTPSAKVSILHEVKPATSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYENIRLSTSNN
NTETAPGGPYKVGTSGSCPNVANGNGFFNTMAWVIPHDKNNKTAINPVTVEPYICSEGEDQITVWG
SDDKTQMERLYGDSNPQKFSSANGVTTHYSQIGGFPNQTEDEGLKQSGRIVVDYMVQKPGKTGT
VYQRGILLPKVWCASGRSKVIGSLPLIGEADCLHEKYGLNKSQYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPLK
LANGTKYRPPAKLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKN
LNLYLSELEVKNLQLRSLGAMNELHDEILELDEKVDDLRADEISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKL
KKMLGPSAVEIGNGCFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGDFSLPTFDSLNTAASLNDGDNHTILYY
STAASSLAVTLMIAIFIVYMSRDNVSCSICL[서열번호 59] (GenPept [gbAFH57854.1](#)).

[0147]

이) 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0148]

SP = 1-16

[0149]

엑토도메인 = 17-547

[0150]

푸린 절단 부위 = 361-362

[0151]

FP = 362-382

[0152]

HRA 영역 = 383-416

[0153]

HRB 영역 = 436-487

[0154]

MPER = 488-547

[0155]

TM = 548-573

[0156]

C = 574-584

[0161] 헤드 영역 = 48-344, 418-456

[0162] 줄기 영역 = 17-47, 345-417, 457-547

[0163] Inf B HA 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0164] 엑토도메인 1-547:

MKAIIVLLMVTSNADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTGVIPLTTPTKSHFANLKGQTTRGKLC
NCFNCTDLDVALGRPKCMGNTPSAKSVILHEVKPATSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYENIRLSTS
NTETAPGGPYKVGTSGSCPNVANGNGFFNTMAWVIPKDNNKTAIPVTVEVPYICSEGEDQITVWG
SDDKTQMERLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDEGLKQSGRIVVDYMQKPGKTGT
VYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKS
KPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPLK
LANGTKYRPPAKLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVA
AIDLKSTQEAINKITKN
LNYLSELEVKNLQRLSGAMNELHDEILELDEKVDDLRA
DTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKL
KKMLGPSAVEIGNGCFETKH
KCNCQTCLDRIAAGTFNAGDFSLPTFD
SLNITAASLNDGLDNHT[서열번호 60] (GenPept gbAFH57854.1).

[0165] 엑토도메인 마이너스 SP 17-547:

RICKTGTSSNSPHVVKTATQGEVNVTGVIPLTTPTKSHFANLKGQTTRGKLC
NCFNCTDLDVALGRPKCMGNTPSAKSVILHEVKPATSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYENIRLSTS
NTVINTETAPGGPYKVGT
GSCPNVANGNGFFNTMAWVIPKDNNKTAIPVTVEVPYICSEGEDQITVWG
FHSDDKTQMERLYGDS
NPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDEGLKQSGRIVVDYMQKPGKTGTIVYQRGILLPQKV
WCA
SGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKS
KPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPLK
LANGTKYRPPAKLLKE
RGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVA
AIDLKSTQEAINKITKN
LNYLSELEVKNLQRLS
GAMNELHDEILELDEKVDDLRA
DTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKL
KKMLGPSAVEIGNGC
FETKH
KCNCQTCLDRIAAGTFNAGDFSLPTFD
SLNITAASLNDGLDNHT[서열번호 61] (GenPept
gbAFH57854.1).

[0166] 엑토도메인 마이너스 SP, 마이너스 MPER 17-487:

RICKTGTSSNSPHVVKTATQGEVNVTGVIPLTTPTKSHFANLKGQTTRGKLC
NCFNCTDLDVALGRPKCMGNTPSAKSVILHEVKPATSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYENIRLSTS
NTVINTETAPGGPYKVGT
GSCPNVANGNGFFNTMAWVIPKDNNKTAIPVTVEVPYICSEGEDQITVWG
FHSDDKTQMERLYGDS
NPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDEGLKQSGRIVVDYMQKPGKTGTIVYQRGILLPQKV
WCA
SGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKS
KPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPLK
LANGTKYRPPAKLLKE
RGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVA
AIDLKSTQEAINKITKN
LNYLSELEVKNLQRLS
GAMNELHDEILELDEKVDDLRA
DTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKL
KKMLGPSAVEIGNGC
FETKH
KCNCQTCLDRIAAGTFNAGDFSLPTFD
SLNITAASLNDGLDNHT[서열번호 62] (GenPept
gbAFH57854.1).

[0167] 엑토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 철단 부위 17-355, 362-547:

RICKTGTSSNSPHVVKTATQGEVNVTGVIPLTTPTKSHFANLKGQTTRGKLC
NCFNCTDLDVALGRPKCMGNTPSAKSVILHEVKPATSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYENIRLSTS
NTVINTETAPGGPYKVGT
GSCPNVANGNGFFNTMAWVIPKDNNKTAIPVTVEVPYICSEGEDQITVWG
FHSDDKTQMERLYGDS
NPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDEGLKQSGRIVVDYMQKPGKTGTIVYQRGILLPQKV
WCA
SGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKS
KPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPLK
LANGTKYRPPARRRK
KRAFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVA
AIDLKSTQEAINKITKN
LNYLSELEVKNLQRLS
LSGAMNELHDEILELDEKVDDLRA
DTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKL
KKMLGPSAVEIGN
GCFETKH
KCNCQTCLDRIAAGTFNAGDFSLPTFD
SLNITAASLNDGLDNHT[서열번호 63] (GenPept
gbAFH57854.1).

[0172] 줄기 도메인 1-47, 345-417, 457-547 플러스 링커 영역:

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTGVIPPLGSGLANGTKYRPPAKLLKERGFF
 GAIAGFLEGGWEGMIAWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKLNLYLSGSGGSGIELAVLLSN
 EGIINSEDEHLLALERKLKKMLGPSAVEIGNGCFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGDFSLPTFDNLNTA
 ASLNDDGLDNHT[서열번호 64] (GenPept gbAFH57854.1).

[0173]

[0174] 헤드 도메인 1-17, 48-344, 418-456 플러스 링커 영역:

MKAIIVLLMVVTSNADRTTPTKSHFANLKGTRGKLCPCNFNCTLDVALGRPKCMGNTPSAKVSIL
 HEVKPATSGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYENIRLSTSNTVINTETAPGGPYKVGTSSCPNVANGNGFF
 NTMAWVIPKDNNKTAINPVTVEPYICSEGEDQITVWFHSDDKTQMERLYGDSNPQKFTSSANGVTT
 HYVSQJGGFPNQTEDEGLKQSGRIVVDYMQKPGKTGTIVYQRGILLPQKVWCASGRSKVIK GSLPLIG
 EADCLHEKYGGLNKS KPYYTGEHAKAIGNCPIWKPLKGSGGSGELEVKNLQRLSGAMNELHDEILEL
 DEKVDDLRA DTISSQ[서열번호 65] (GenPept gbAFH57854.1).

[0175]

[0176] 2.2.3 RSV F

[0177] 비) 한정적 RSF F 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MELLILKANA ITTILT AVTFCFAS GQNITEEFYQ STCSA VSKG YLS ALRTG WY TS VITI EL SNIK KNKC NG
 TDA KV KLIK QELD KYK NAVTEL QLL MQST QAT NN RARREL PRFM NY TL NNAK KT NV TLS KKR K RRFL GF
 LLGVG SAI ASGV A VSK VL HLEG EVN KIKS ALL STN KAV VSL SNG VSL TSK VLD LKN YID KQLL PIV NK Q
 SC SIS NIET VIE FQQ KNN RL LEIT REFS VNA GVT P VSTY ML TN SELL S LIND MP IT ND QKK LMS NN VQ IV
 RQQ S Y SIMS II KEV LAY VV QL PLY GVID TPCW KL HT SP LCT NT KEGS NICL RT DRG WY C DNAG SVS
 FFP QA ET CKV QNS RV FC DTM NS LT PSE VN LC NV D IF NP K YD CE IM TS KTD VSS VIT SL GAI VSC Y GKT
 KCT ASN KNR GI KTF SNG CDY VSN KG VDT VSVG NT LY VNK QEG KSL Y VK GEPI INF YD PLV FP S DEF D
 AS IS QV NE KIN QSL AF IRK S DELL HNV NAG KST TN IM IT II IV VILL S LIA VG LLY C AR ST P VTL SKD
 QLS GINNIA FSN [서열번호 66] (GenPept gbAHL84194.1).

[0178]

[0179] 이) 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0180] SP = 1-23

[0181] 엑토도메인 = 24-524

[0182] 푸린 절단 부위 = 109-110, 136-137

[0183] FP = 137-163

[0184] HRA 영역 = 164-196

[0185] HRB 영역 = 488-524

[0186] TM = 525-548

[0187] C = 549-574

[0188] D25 상호작용 도메인 = 61-97, 193-240

[0189] RSV F 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0190] 엑토도메인 1-524:

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
TDAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSSLKRRFLGF
LLGVGSIAISGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQ
SCSISNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
RQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWLHTSPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
FFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTPSEVNLCNVDIFNPKYDCEIMTSKTDVSSSVITSLGAI
KCTASNKRGIKTFSGCDYVSNKGVDTSVGNTLYVNQEGKSLYVKGEP
ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTTN[서열번호 67] (GenPept gbAHL84194.1).

[0191]

[0192] RSV F의 엑토도메인(1-520):

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
TDAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSSLKRRFLGF
LLGVGSIAISGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQ
SCSISNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
RQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWLHTSPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
FFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTPSEVNLCNVDIFNPKYDCEIMTSKTDVSSSVITSLGAI
KCTASNKRGIKTFSGCDYVSNKGVDTSVGNTLYVNQEGKSLYVKGEP
ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK[서열번호 146].

[0193]

[0194] 엑토도메인 마이너스 SP 24-524:

SGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNGTDAVKLIKQELDKYKNAVTEL
QLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSSLKRRFLGFLLGVGSIAISGVAVSKVLHLEG
EVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLEI
TREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVL
PLYGVIDTPCWLHTSPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVSF
PLYPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTPSEVNLCNVDIFNPKYDCEIMTSKTDVSSSVITSLGAI
VSCYGKT
KCTASNKRGIKTFSGCDYVSNKGVDTSVGNTLYVNQEGKSLYVKGEP
ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTTN[서열번호 68] (GenPept gbAHL84194.1).

[0195]

[0196] 엑토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 철단 부위 24-524:

SGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNGTDAVKLIKQELDKYKNAVTEL
QLLMQSTQATNNWAWWELPRFMNYTLNNAKKTNTLSSLNNNNNNFLGFLLGVGSAISGVAVSKVLHLEG
EVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLEI
TREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVL
PLYPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTPSEVNLCNVDIFNPKYDCEIMTSKTDVSSSVITSLGAI
VSCYGKT
KCTASNKRGIKTFSGCDYVSNKGVDTSVGNTLYVNQEGKSLYVKGEP
ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTTN[서열번호 69] (GenPept gbAHL84194.1).

[0197]

[0198] D25 상호작용 도메인 61-97, 193-240 플러스 링커 영역:

LSNIKKNCNGTDAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMGGDLKNYIDKQLLPIVNQSCSISNIETVIEF
QQKNNRLLEITREFSVN[서열번호 70] (GenPept gbAHL84194.1).

[0199]

[0200] 2.2.4 hMPV F

[0201]

예시적 hMPV F 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MSWKVVIIFSLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVDENLTCADGPSLIKTEL
 DLTKSALRELRTVSADQLAREEQIENPRQSRFVLGAIALGVATAAAVTAGVIAKTIRLESEVTAIKNAL
 KTNEAVSTLNGNRVRLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIADLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDN
 AGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSIVYMVQLPIFGVID
 TPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQS
 KECNINISTTNPCKVSTGRHPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGNSRVGIIKQLNKGCSYITNQDADT
 VTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPSSFDPKFPEDQFNVALDQVFESIENSQALVDQSNRILSSAEK
 GNTGFIIVILIAVLGSTMILVSFIIKKPTGAPPELSGVTNNGFIPHН[서열번호 71] (GenPept

[gbAAN52913.1](#)).

[0202]

이 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0203]

SP = 1-19

[0204]

엑토도메인 = 1-490

[0205]

푸린 철단 부위 = 102-103

[0206]

FP = 103-125

[0207]

HRA 영역 = 126-169

[0208]

HRB 영역 = 456-490

[0209]

TM = 491-514

[0210]

C = 515-539

[0211]

hMPV F 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0212]

엑토도메인 1-490:

MSWKVVIIFSLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVDENLTCADGPSLIKTEL
 DLTKSALRELRTVSADQLAREEQIENPRQSRFVLGAIALGVATAAAVTAGVIAKTIRLESEVTAIKNAL
 KTNEAVSTLNGNRVRLATAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIADLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDN
 AGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSIVYMVQLPIFGVID
 TPCWIVKAAPSCSEKKGNYACLLREDQGWYCQNAGSTVYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQS
 KECNINISTTNPCKVSTGRHPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGNSRVGIIKQLNKGCSYITNQDADT
 VTIDNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPSSFDPKFPEDQFNVALDQVFESIENSQALVDQSNRILSSAEK
 GNTG[서열번호 72] (GenPept [gbAAN52913.1](#)).

[0213]

엑토도메인 마이너스 SP 20-490:

KESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVDENLTCADGPSLIKTELDLTSALRELRTVSADQL
 AREEQIENPRQSRFVLGAIALGVATAAAVTAGVIAKTIRLESEVTAIKNALKTNEAVSTLNGNRVRLA
 TAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIADLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELA
 RAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSIVYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKK
 NYACLLREDQGWYCQNAGSTVYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQSKECNINISTTNPCKVST
 GRHPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGNSRVGIIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQ
 HVIKGRPSSFDPKFPEDQFNVALDQVFESIENSQALVDQSNRILSSAEKGNTG[서열번호 73]

(GenPept [gbAAN52913.1](#)).

[0214]

[0217] 엑토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 철단 부위 20-490:

KESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTELDLTKSALRELRTVSADQL
AREEQIENP/QSNFVLGAIALGVATAAAVATAGVAIAKTIRESVTAIKNALKKTNEAVSTLGNGVRVLA
TAVRELKDFVSKNLTRAINKNKCDIADLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSNDAGITPAISLDLMTDAELA
RAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSVVIYMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSEKKG
NYACLLREDQGWYCQNAGSTVYPNEKDCTERGDHVFCDTAAGINAEQSKECNINISTTNYPCKVST
GRHPISMVALSPLGALVACYKGVSIGNSNRVGIKQLNKGCSYITNQDADTVTIDNTVYQLSKVEGEQ
HVIKGRPSSSFDPVKFPEDQFNVALDQVFESIENSQALVDQSNRILSSAEKGNTG[서열번호 74]

(GenPept [gbAAN52913.1](#)).

[0218]

2.2.5 PIV F

[0220]

예시적 PIV F 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MPTSIILLIITTMIMASFCQIDITKLQHVGVLVNSPKGMKISQNFETRYLILSLIPKIEDNSNSCGDQQIKQY
KRLLDRRIIPLYDGLRLQKDVIDVSNQESNENTDPRTKRFFGGVIGTIALGVATSAQITAVALVEAKQAR
SDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIKSVQDYVNKEIVPSIARLGCEAAGLQLGIALTQHYSELTN
IFGDNIGSLQEKGIGKLQGIAISLYRTNITEIFTTSTVDKYDIYDLLFTESIKVRVIDVLDNDSITLQVRLPLL
TRLLNTQIYKVDSISYNIQNREWIPLPSHIMTKGAFLGGADVKECIEAFSSYICPSDPGFVLNHEMES
LSGNISQCPRTVVTSDIVPRYAFVNGGVVANCITTCNGIGNRINQPPDQGVKIITHKECNTIGINGM
LFNTNKEGTTLAFYTPNDITLNNSVALDPIDISIELNKAKSDEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSSTTIII
VLIMIIILFIINVTTIIIAVKYYRIQKRNRVDQNDKPYVLTN[서열번호 75] (GenPept [gbAAB21447.1](#)).

[0221]

이) 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0223]

SP = 1-19

[0224]

엑토도메인 = 1-493

[0225]

푸린 철단 부위 = 109-110

[0226]

FP = 110-135

[0227]

HRA 영역 = 136-168

[0228]

HRB 영역 = 458-493

[0229]

TM = 494-516

[0230]

C = 517-536

[0231]

PIV F 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0232]

엑토도메인 1-493:

MPTSIILLIITTMIMASFCQIDITKLQHVGVLVNSPKGMKISQNFETRYLILSLIPKIEDNSNSCGDQQIKQY
KRLLDRRIIPLYDGLRLQKDVIDVSNQESNENTDPRTKRFFGGVIGTIALGVATSAQITAVALVEAKQAR
SDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIKSVQDYVNKEIVPSIARLGCEAAGLQLGIALTQHYSELTN
IFGDNIGSLQEKGIGKLQGIAISLYRTNITEIFTTSTVDKYDIYDLLFTESIKVRVIDVLDNDSITLQVRLPLL
TRLLNTQIYKVDSISYNIQNREWIPLPSHIMTKGAFLGGADVKECIEAFSSYICPSDPGFVLNHEMES
LSGNISQCPRTVVTSDIVPRYAFVNGGVVANCITTCNGIGNRINQPPDQGVKIITHKECNTIGINGM
LFNTNKEGTTLAFYTPNDITLNNSVALDPIDISIELNKAKSDEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSSTT[서
열번호 76] (GenPept [gbAAB21447.1](#)).

[0233]

[0234] 엑토도메인 마이너스 SP 20-493:

IDITKLQHVGVLVNSPKGMKISQNFETRYLILSLIPKIEDNSCGDQQIKQYKRLLDRILLIPLYDGLRLQK
 DVIVSNQESNENTDPRTKRFGGVIGTIALGVATSAQITAVALVEAKQARS DIEKLKEAIRDTNKAVQS
 VQSSIGNLIVAIKSQDYVNKEIVPSIARLGCEAAGLQLGIALTQHYSELTNIFGDNIGSLQEKGIKLQGI
 ASLYRTNITEIFTTSTVDKYDIYDLLFTESIKVRVIDVDLNDYSITLQVRLPLLTRLNTQIYKVDSISYNIQ
 NREWYIPLPSHIMTKGAFLGGADVKECIEAFSSYICPSDPGFVLNHEMESCLSGNISQCPRTVVTSDIVP
 RYAFVNGGVVANCITTCTCNGIGNRINQPPDQGVKIITHKECNTIGINGMLFNTNKEGTLAFYTPNDIT
 LNNSVALDPIDISIELNKAKSLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSSTT[서열번호 77] (GenPept

[gbAAB21447.1\).](#)

[0235] 엑토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 절단 부위 20-493:

IDITKLQHVGVLVNSPKGMKISQNFETRYLILSLIPKIEDNSCGDQQIKQYKRLLDRILLIPLYDGLRLQK
 DVIVSNQESNENTDPNTKNFFGGVIGTIALGVATSAQITAVALVEAKQARS DIEKLKEAIRDTNKAVQ
 SVQSSIGNLIVAIKSQDYVNKEIVPSIARLGCEAAGLQLGIALTQHYSELTNIFGDNIGSLQEKGIKLQG
 IASLYRTNITEIFTTSTVDKYDIYDLLFTESIKVRVIDVDLNDYSITLQVRLPLLTRLNTQIYKVDSISYNI
 QNREWYIPLPSHIMTKGAFLGGADVKECIEAFSSYICPSDPGFVLNHEMESCLSGNISQCPRTVVTSDIV
 PRYAFVNGGVVANCITTCTCNGIGNRINQPPDQGVKIITHKECNTIGINGMLFNTNKEGTLAFYTPNDI
 TLNNVALDPIDISIELNKAKSLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSSTT[서열번호 78] (GenPept

[gbAAB21447.1\).](#)

[0238] 2.2.6 MeV F

[0239] 대표적 MeV F 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MGLKVNVSIAFMAVLLTLQTPTGQIHWGNLSKIGVVGIGSASYKVMTRSSHQSLVIKMPNITLLNNCT
 RVEIAEYRLLLRTVLEPIRDALNAMTQNIRPVQSVASSRRHKRFAGVVLAGAALGVATAAQITAGIALHQ
 SMLNSQAIDNLRASLETTNQAIERQAGQEMILAVQGVQDYINNEIPLSMNQLSCDLIGQKGLKLLRY
 YTEILSLFGPSLRDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILESRGIKARITHVDTESYLIVLS
 IAYPTLSEIKGVIVHRLEGVSYNIGSQEWYTTVPKYVATQGYLISNFDESSCTFMPGTCSQNALYPMS
 PLLQECLRGSTKSCARTLVSGSGFNRFILSQGNLIANCASILCKCYTTGTIINQDPDKILTYIAADHCPVV
 EVNGVTIQVGSRRYPDAVYLHRIDLGPILLERLDVGTNLGNAIAKLEDAKELLESSDQILRSMKGLSST
 CIVYILIAVCLGLIGIPALICCRCRNKKGEQVGMSRPGLKPDLTGTSKSYVRSI[서열번호 79]

(GenPept [bjBab60865.1\).](#)

[0240] [0241] 이 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0242] SP = 1-24

[0243] 엑토도메인 = 1-493

[0244] 푸린 절단 부위 = 112-113

[0245] FP = 113-137

[0246] HRA 영역 = 138-171

[0247] HRB 영역 = 454-493

[0248] TM = 494-517

[0249] C = 518-550

[0250] MeV F 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0251] 엑토도메인 1-493:

MGLKVNVSIAIFMAVLLTLQPTGQIHWGNLSKIGVVGIGSASYKVMTRSSHQLVIKLMPNITLLNNCT
RVEIAEYRRLRTVLEPIRDALNAMTQNIRPVQSVASSRRHKRFAGVVLAGAALGVATAAQITAGIALHQ
SMLNSQAIDNLRASLETTNQAIQEIRQAGQEMILAVQGVQDYINNELIPSMNQLSCDLIGQKGLKLLRY
YTEILSLFGPSLRDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILESRGIKARITHVDTESYLIVLS
IAYPTLSEIKGVIVHRLEGVSYNIGSQEWYTTVPKYVATQGYLISNFDESSCTFMPEGTVCSQNALYPMS
PLLQECLRGSTKSCARTLVSGSGNRFILSQGNLIANCASILCKCYTTGTIINQDPDKILTYIAADHCPVV
EVNGVTIQVGSRRYPDAVYLHRIDLGPILLERLDVGTNLGNIAKLEDAKELLESSDQILRSMKGLSST

[서열번호 80] (GenPept [bjBAB60865.1](#)).

[0252]

엑토도메인 마이너스 SP 25-493:

IHWGNLSKIGVVGIGSASYKVMTRSSHQLVIKLMPNITLLNNCTRVEIAEYRRLRTVLEPIRDALNAM
TQNIRPVQSVASSRRHKRFAGVVLAGAALGVATAAQITAGIALHQSMLNQAIIDNLRASLETTNQAIIEA
IRQAGQEMILAVQGVQDYINNELIPSMNQLSCDLIGQKGLKLLRYTEILSLFGPSLRDPISAEISIQAL
SYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILESRGIKARITHVDTESYLIVLSIAYPTLSEIKGVIVHRLEGVSINI
GSQEWYTTVPKYVATQGYLISNFDESSCTFMPEGTVCSQNALYPMSPLLQECLRGSTKSCARTLVSGSF
GNRFILSQGNLIANCASILCKCYTTGTIINQDPDKILTYIAADHCPVVEVNGVTIQVGSRRYPDAVYLHRI
DLGPILLERLDVGTNLGNIAKLEDAKELLESSDQILRSMKGLSST[서열번호 81] (GenPept

[bjBAB60865.1](#))

[0253]

엑토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 절단 부위:

IHWGNLSKIGVVGIGSASYKVMTRSSHQLVIKLMPNITLLNNCTRVEIAEYRRLRTVLEPIRDALNAM
TQNIRPVQSVASSNNHKNFAGVVLAGAALGVATAAQITAGIALHQSMLNQAIIDNLRASLETTNQAIIEA
IRQAGQEMILAVQGVQDYINNELIPSMNQLSCDLIGQKGLKLLRYTEILSLFGPSLRDPISAEISIQAL
SYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILESRGIKARITHVDTESYLIVLSIAYPTLSEIKGVIVHRLEGVSINI
GSQEWYTTVPKYVATQGYLISNFDESSCTFMPEGTVCSQNALYPMSPLLQECLRGSTKSCARTLVSGSF
GNRFILSQGNLIANCASILCKCYTTGTIINQDPDKILTYIAADHCPVVEVNGVTIQVGSRRYPDAVYLHRI
DLGPILLERLDVGTNLGNIAKLEDAKELLESSDQILRSMKGLSST[서열번호 82] (GenPept

[bjBAB60865.1](#)).

[0254]

2.2.7 HeV F

[0255]

비한정적 HeV F 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MATQEVRKLCLLCGIIVLVLSEGLGILHYEKLSKIGLVKGITRKYKIKSNPLTKDIVIKMIPNVSNVSKCT
GTVMENYKSRLTGILSPIKGAIELYNNNTHDLVGDVKLAGVVMAGIAIGIATAAQITAGVALYEAMKNA
DNINKLKSSIESTNEAVVQLQETAEKTVYVLALQDYINTNLVPTIDQISCKQTELALDLALKYLSDLLF
VFGPNLQDPVNSNSMTIQASQAFGGNYETLLRTLGYATEDFDDLLESDSIAGQIVYVDLSSYYIIVRVYFP
ILTEIQQAYVQELLPSFNNNDNSEWISIVPNFVLIRNTLISNIEVKYCLTKKSVICNQDYATPMTASVREC
LTGSTDKCPRELVSSHVPRFALS GGVLFANCISVTCQCQTTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCTTVVLGNI
IISLGKYLGSINYNSEIAVGPPVYTDKVDISSQISSMNQSLQQSKDYIKEAQKILDtvNPSLISMISMII
LYVLSIAALCIGLTFISFVIVEKKRGNYSRLDDRQVRPVSNGLYYIGT[서열번호 83] (GenPept

NP_047111.2).

[0256]

이) 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0261]

SP = 1-20

[0262]

엑토도메인 = 1-487

[0263]

푸린 절단 부위 = 109-110

[0264]

FP = 110-135

[0265]

HRA 영역 = 136-169

[0266] HRB 영역 = 456-587

[0267] TM = 488-518

[0268] C = 519-546

[0269] HeV F 액토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 액토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0270] 액토도메인 1-487:

MATQEVRLKCLLCGIIVLVLSEGLGILHYEKLSKIGLVKGITRKYKIKSNPLTKDIVIKMIPNVSNVSKCTGTVMENYKSRLTGILSPIKG
GTVMENYKSRLTGILSPIKGAIELYNNNTHDLVGDVLAGVVMAGIAIGIATAAQITAGVALYEAMKNA
DNINKLKSSIESTNEAVVKLQETAEKTVVLTALQDYINTNLVPTIDQISCKQTELALDLALSKEYLSDLLF
VFGPNLQDPVSNSMTIQQAISQAFGGNYETLRTLGYATEDFDDLLESDSIAGQIVYVDLSSYYIIVRVYFP
ILTEIQQAYVQELLPVSFNNNSEWISIVPNFVLIRNTLISNIEVKYCLITKKSVICNQDYATPMTASVREC
LTGSTDKCPRELVVSSHVPRFALSFGGVLFANCISVTCQCQTTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCTTVVLGNII
IISLGKYLGSINYNSEIAVGPPVYTDKVDISSQISSMNQSLQQSKDYIKEAQKILDVNPS[서열번호
84] (GenPept NP_047111.2).

[0271] 액토도메인 마이너스 SP 21-487:

SLEGLGILHYEKLSKIGLVKGITRKYKIKSNPLTKDIVIKMIPNVSNVSKCTGTVMENYKSRLTGILSPIKG
AIELYNNNTHDLVGDVLAGVVMAGIAIGIATAAQITAGVALYEAMKNADNINKLKSSIESTNEAVVKLQ
ETAEKTVVLTALQDYINTNLVPTIDQISCKQTELALDLALSKEYLSDLLFVFGPNLQDPVSNSMTIQQAISQ
AFGGNYETLRTLGYATEDFDDLLESDSIAGQIVYVDLSSYYIIVRVYFPILTEIQQAYVQELLPVSFNN
NSEWISIVPNFVLIRNTLISNIEVKYCLITKKSVICNQDYATPMTASVRECLTGSTDKCPRELVVSSHVPR
FALSGGVLFANCISVTCQCQTTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCTTVVLGNIIISLGKYLGSINYNSEIAVG
PPVYTDKVDISSQISSMNQSLQQSKDYIKEAQKILDVNPS[서열번호 85] (GenPept NP_047111.2).

[0272] 액토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 철단 부위 21-487:

SLEGLGILHYEKLSKIGLVKGITRKYKIKSNPLTKDIVIKMIPNVSNVSKCTGTVMENYKSRLTGILSPIKG
AIELYNNNTHDLVGDVLAGVVMAGIAIGIATAAQITAGVALYEAMKNADNINKLKSSIESTNEAVVKLQ
QETAEKTVVLTALQDYINTNLVPTIDQISCKQTELALDLALSKEYLSDLLFVFGPNLQDPVSNSMTIQQAISQ
QAFGGNYETLRTLGYATEDFDDLLESDSIAGQIVYVDLSSYYIIVRVYFPILTEIQQAYVQELLPVSFNN
DNSEWISIVPNFVLIRNTLISNIEVKYCLITKKSVICNQDYATPMTASVRECLTGSTDKCPRELVVSSHVPR
FALSGGVLFANCISVTCQCQTTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCTTVVLGNIIISLGKYLGSINYNSEIAVG
GPPVYTDKVDISSQISSMNQSLQQSKDYIKEAQKILDVNPS[서열번호 86] (GenPept
NP_047111.2).

[0273] 2.2.8 NiV F

[0274] 대표적 NiV F 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MVVIIDKRCYCNCLLILMISECSVGILHYEKLSKIGLVKGITRKYKIKSNPLTKDIVIKMIPNVSNMSQC
TGSVMENYKTRLNGILTPIKGALEIYKNNTNDLVDVRLAGVIMAGVAIGIATAAQITAGVALYEAMKNA
DNINKLKSSIESTNEAVVKLQETAEKTVVLTALQDYINTNLVPTIDKISCKQTELSDLALSKEYLSDLLFV
FGPNLQDPVSNSMTIQQAISQAFGGNYETLRTLGYATEDFDDLLESDSITQIIVYVDLSSYYIIVRVYFPIL
TEIQQAYIQELLPVSFNNNSEWISIVPNFVLIRNTLISNIEIGFCLITKRSVICNQDYATPMTNNMRECLT
GSTEKCPRELVVSSHVPRFALSNGVLFANCISVTCQCQTTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCPTAVLGNVII
SLGKYLGSVNYNSEGIAIGPPVFTDKVDISSQISSMNQSLQQSKDYIKEAQRLLDVNPSLISMISMIIIL
YVLSIASLCLIGLTFISFIIVEKKRNTYSRLEDRRVRPTSSGDLYYIGT[서열번호 87] (GenPept NP
112026).

[0275] 이 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0276] SP = 1-20

[0277] 액토도메인 = 1-487

- [0282] 푸린 절단 부위 = 109-110
- [0283] FP = 110-135
- [0284] HRA 영역 = 136-169
- [0285] HRB 영역 = 456-487
- [0286] TM = 488-518
- [0287] C = 519-546
- [0288] NiV F 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:
- [0289] 엑토도메인 1-487:
 MVVILDKRCYCMLLILMISECSVGILHYEKLISKIGLVGVTRKYKIKSNPLTKDIVIKMIPNVSNMSQC
 TGSVMENYKTRLNGILTPIKGALEIYKNNTNDLVDVRLAGVIMAGVAIGIATAAQITAGVALYEAMKNA
 DNINKLKSSIESTNEAVVKLQETAEKTVVLTALQDYINTNLVPTIDKISCKQTELSDLALSKYLSDLLFV
 FGPNLQDPVSNSMTIQAIQSQAFGGNYETLLRTLGYATEDFDDLLESDSITGQIIYVDLSSYYIVRVYFPIL
 TEIQQAYIQELLPVSFNNDNSEWISIVPNFILVRNLTISNIEIGFCLITKRSVICNQDYATPMTNMRECLT
 GSTEKCPRELVVSSHVPRFALSNGVLFANCISVTCQCQTTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCPTAVLGNVII
 SLGKYLGSVNYYSEGIAIGPPVFTDKVDISSQISSMNQLQQSKDYIKEAQRLLDTVNPS[서열번호 88]
 [0290] (GenPept NP 112026).
- [0291] 엑토도메인 마이너스 SP:
 SECSVGILHYEKLISKIGLVGVTRKYKIKSNPLTKDIVIKMIPNVSNMSQC
 TGSVMENYKTRLNGILTPIKGALEIYKNNTNDLVDVRLAGVIMAGVAIGIATAAQITAGVALYEAMKNA
 DNINKLKSSIESTNEAVVKLQETAEKTVVLTALQDYINTNLVPTIDKISCKQTELSDLALSKYLSDLLFV
 FGPNLQDPVSNSMTIQAIQSQAFGGNYETLLRTLGYATEDFDDLLESDSITGQIIYVDLSSYYIVRVYFPIL
 TEIQQAYIQELLPVSFNNDNSEWISIVPNFILVRNLTISNIEIGFCLITKRSVICNQDYATPMTNMRECLT
 GSTEKCPRELVVSSHVPRFALSNGVLFANCISVTCQCQTTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCPTAVLGNVII
 SLGKYLGSVNYYSEGIAIGPPVFTDKVDISSQISSMNQLQQSKDYIKEAQRLLDTVNPS[서열번호 88] (GenPept NP 112026).
 [0292] (GenPept NP 112026).
- [0293] 엑토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 절단 부위:
 SECSVGILHYEKLISKIGLVGVTRKYKIKSNPLTKDIVIKMIPNVSNMSQC
 TGSVMENYKTRLNGILTPIKGALEIYKNNTNDLVDVRLAGVIMAGVAIGIATAAQITAGVALYEAMKNA
 DNINKLKSSIESTNEAVVKLQETAEKTVVLTALQDYINTNLVPTIDKISCKQTELSDLALSKYLSDLLFV
 FGPNLQDPVSNSMTIQAIQSQAFGGNYETLLRTLGYATEDFDDLLESDSITGQIIYVDLSSYYIVRVYFPIL
 TEIQQAYIQELLPVSFNNDNSEWISIVPNFILVRNLTISNIEIGFCLITKRSVICNQDYATPMTNMRECLT
 GSTEKCPRELVVSSHVPRFALSNGVLFANCISVTCQCQTTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCPTAVLGNVII
 SLGKYLGSVNYYSEGIAIGPPVFTDKVDISSQISSMNQLQQSKDYIKEAQRLLDTVNPS[서열번호 89] (GenPept NP 112026).
 [0294] (GenPept NP 112026).
- [0295] 2.2.9 HIV GP160

[0296] 예시적 HIV GP160 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MRVKGTRKNYWWRWGTMLLGMLMICSAAEQLWVTYYGVPVWEATTLFCASDAKAVNTEVHNW
 WATHACVPTDPNPQEVVLENVTENFNWKNDMVEQMQEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLNCTNW
 DGRNGTMNTTSTRNTTANISRWEIMEGEIKNCFSNVTTTSIRNMHKEYALFYKLDVMPIDNGSSYTLIN
 CNTSVITQACPVSFEPPIHYCTPAGFALLKCNDFNGTGPCKNVSTVQCTHIGRPVVSTQLLNGSL
 AEEEIVIRSENLTNAKTIIVQLNETVVINCRPGNNTRKSIHIGPGRAYATGDIIGDIRQAHCNLSEAS
 WNKTQIATKLREQFVNKTIFNQSSGGDPEIVMHSFNCGGEFFYCDTQLFNSAWFSNNTGLNYNN
 GSNTGGNITLPCRIKQIVNRWQEVGKAMYAPPIRGNTCSSNITGLLTRDGNNVTNESEIFRPGGGN
 MKDNWRSELYKYKVVKIEPLGVAPTRAKRRVQREKRAVGTIGAMFLGFLGAAGSTMGAASLTQVA
 RQLSGIVQQQNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARVLAVERYLKDDQQLLGIGWGCSRLICTTAVP
 WNASWSNKSDDIWNNTWMQWEIDNYTGLIYRLIEESQTQQEKNEQDLLQLDTWASLWNWFS
 ISNWLWYIKIFIMIVAGLVGLRIFFAVLSIVNVRVRQGSPLSFQTHLPAQRGPDRPGGIEEGGERDNGR
 SIRLVDGFLALIWIWDDLRSCLFSYHRLRDLLLVKRVVELLHRGWEILKYWWNLLQYWSQELKNSAVS
 LFNAIAIAVAEGTDRVIEGIQRIGRGLHIPPRIRQGLERALL[서열번호 91] (GenPept

[dbjBAF31430.1](#)).

[0297] [0298] 이 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0299] SP = 1-28

[0300] 엑토도메인 = 1-688

[0301] 푸린 결단 부위 = 508-509

[0302] FP = 509-538

[0303] HRA 영역 = 539-587

[0304] HRB 영역 = 631-667

[0305] MPER = 668-688

[0306] TM = 689-711

[0307] C = 712-861

[0308] GP41 = 509-861

[0309] GP120 = 1-508

[0310] HIV GP160 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0311] 엑토도메인 1-688:

MRVKGTRKNYWWRWGTMLLGMLMICSAAEQLWVTYYGVPVWEATTLFCASDAKAVNTEVHNW
 WATHACVPTDPNPQEVVLENVTENFNWKNDMVEQMQEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLNCTNW
 DGRNGTMNTTSTRNTTANISRWEIMEGEIKNCFSNVTTTSIRNMHKEYALFYKLDVMPIDNGSSYTLIN
 CNTSVITQACPVSFEPPIHYCTPAGFALLKCNDFNGTGPCKNVSTVQCTHIGRPVVSTQLLNGSL
 AEEEIVIRSENLTNAKTIIVQLNETVVINCRPGNNTRKSIHIGPGRAYATGDIIGDIRQAHCNLSEAS
 WNKTQIATKLREQFVNKTIFNQSSGGDPEIVMHSFNCGGEFFYCDTQLFNSAWFSNNTGLNYNN
 GSNTGGNITLPCRIKQIVNRWQEVGKAMYAPPIRGNTCSSNITGLLTRDGNNVTNESEIFRPGGGN
 MKDNWRSELYKYKVVKIEPLGVAPTRAKRRVQREKRAVGTIGAMFLGFLGAAGSTMGAASLTQVA
 RQLSGIVQQQNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARVLAVERYLKDDQQLLGIGWGCSRLICTTAVP
 WNASWSNKSDDIWNNTWMQWEIDNYTGLIYRLIEESQTQQEKNEQDLLQLDTWASLWNWFS

ISNWLWYIK[서열번호 92] (GenPept [dbjBAF31430.1](#)).

[0313]

엑토도메인 마이너스 SP:

EQLWVTVYYGVPVWKEATTLFCASDAKAVNTEVHNWATHACVPTDPNPQEVVLENVTENFNMWKN
 DMVEQMEDIISLWDQSLKPCVKLPLCCTLNCTNWDRNGTMNTSTRNTTANISRWEIMEGEIKN
 CSFNVTTSIRNMHKEYALFYKLDVMPIDNGSSYTLINCNTSVITQACPKVSFEPIHYCTPAGFALLKC
 NDKFNGTGPKCNVSTQCTHGIRPVSTQLLLNGSLAEEEIVRSENLTNAKTIIVQLNETVVINCTR
 PGNTRKSIHIGPGRAYATGDIIGDIRQAHCLNSEASWNKTLKQIATKLREQFVNKTIIIFNQSSGGDP
 EIVMHSFNCGGEFFYCDTTQLFNSAWFSNNTGLNYNNNGNTGGNITLPCRIKQIVNRWQEVGKAMYAP
 PIRGNITCSSNITGLLTRDGGNNVNESEIFRPGGGNMKDNWRSELYKYKVVIEPLGVAPTRAKRRV
 VQREKRAVGTIGAMFLGFLGAAGSTMGAASLTQTVQARQLLSGIVQQQNLLRAIEAQHQHLLQLTVWG
 IKQLQARVLAVERYLKDDQQLGIWGCSGRILCTTAVPWNASWSNKSLEDDIWNNTWMQWEKEIDNY
 TGLIYRLIEESQTQQEKNEQDLLQLDTWASLWNWFSISNWLYIK[서열번호 93] (GenPept [bjBAF31430.1](#)).

[0314]

[0315]

엑토도메인 마이너스 SP, 마이너스 MPER:

EQLWVTVYYGVPVWKEATTLFCASDAKAVNTEVHNWATHACVPTDPNPQEVVLENVTENFNMWKN
 DMVEQMEDIISLWDQSLKPCVKLPLCCTLNCTNWDRNGTMNTSTRNTTANISRWEIMEGEIKN
 CSFNVTTSIRNMHKEYALFYKLDVMPIDNGSSYTLINCNTSVITQACPKVSFEPIHYCTPAGFALLKC
 NDKFNGTGPKCNVSTQCTHGIRPVSTQLLLNGSLAEEEIVRSENLTNAKTIIVQLNETVVINCTR
 PGNTRKSIHIGPGRAYATGDIIGDIRQAHCLNSEASWNKTLKQIATKLREQFVNKTIIIFNQSSGGDP
 EIVMHSFNCGGEFFYCDTTQLFNSAWFSNNTGLNYNNNGNTGGNITLPCRIKQIVNRWQEVGKAMYAP
 PIRGNITCSSNITGLLTRDGGNNVNESEIFRPGGGNMKDNWRSELYKYKVVIEPLGVAPTRAKRRV
 VQREKRAVGTIGAMFLGFLGAAGSTMGAASLTQTVQARQLLSGIVQQQNLLRAIEAQHQHLLQLTVWG
 IKQLQARVLAVERYLKDDQQLGIWGCSGRILCTTAVPWNASWSNKSLEDDIWNNTWMQWEKEIDNY
 TGLIYRLIEESQTQQEKNEQDLLQ[서열번호 94] (GenPept [bjBAF31430.1](#)).

[0316]

[0317]

엑토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 절단 부위:

EQLWVTVYYGVPVWKEATTLFCASDAKAVNTEVHNWATHACVPTDPNPQEVVLENVTENFNMWKN
 DMVEQMEDIISLWDQSLKPCVKLPLCCTLNCTNWDRNGTMNTSTRNTTANISRWEIMEGEIKN
 CSFNVTTSIRNMHKEYALFYKLDVMPIDNGSSYTLINCNTSVITQACPKVSFEPIHYCTPAGFALLKC
 NDKFNGTGPKCNVSTQCTHGIRPVSTQLLLNGSLAEEEIVRSENLTNAKTIIVQLNETVVINCTR
 PGNTRKSIHIGPGRAYATGDIIGDIRQAHCLNSEASWNKTLKQIATKLREQFVNKTIIIFNQSSGGDP
 EIVMHSFNCGGEFFYCDTTQLFNSAWFSNNTGLNYNNNGNTGGNITLPCRIKQIVNRWQEVGKAMYAP
 PIRGNITCSSNITGLLTRDGGNNVNESEIFRPGGGNMKDNWRSELYKYKVVIEPLGVAPTRAKRRV
 VQREKRAVGTIGAMFLGFLGAAGSTMGAASLTQTVQARQLLSGIVQQQNLLRAIEAQHQHLLQLTVWG
 IKQLQARVLAVERYLKDDQQLGIWGCSGRILCTTAVPWNASWSNKSLEDDIWNNTWMQWEKEIDNY
 TGLIYRLIEESQTQQEKNEQDLLQLDTWASLWNWFSISNWLYIK[서열번호 95] (GenPept [bjBAF31430.1](#)).

[0318]

[0319]

GP41 엑토도메인 509-688:

VVQREKRAVGTIGAMFLGFLGAAGSTMGAASLTQTVQARQLLSGIVQQQNLLRAIEAQHQHLLQLTVWG
 GIKQLQARVLAVERYLKDDQQLGIWGCSGRILCTTAVPWNASWSNKSLEDDIWNNTWMQWEKEIDNY
 YTGLIYRLIEESQTQQEKNEQDLLQLDTWASLWNWFSISNWLYIK[서열번호 96] (GenPept [bjBAF31430.1](#)).

[0320]

2.2.10 EBOV GP

[0322] 대표적 EBOV GP 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MGVTGILQLPRDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNL
 EGNGVATDVPSATKRWGFRSGVPPKVVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYV
 HKVSGTGPCAGDFAFHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTAEGVVAFLILPQAKKDFSSHPLREPVNATED
 PSSGYYSTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTYVQLESRFTPQFLLQNLNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNP
 EIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIRSEELSFTVVSNGAKNISGQSPARTSSDPGTNTTEDHKIMASENSS
 AMVQVHSQGREAAVSHLTLATISTSPQLSLTTKPGPDNSTHNTPVYKLDISEATQVEQHHRTDNDST
 ASDTPSATTAAGPPKAENTNTSKSTDFLDPATTSPOQNHSETAGNNNTHHQDTGEESASSGKLGLITN
 TIAGVAGLITGRRTRREAVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNQDG
 LICGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTFSILNRKAIDFLQRWGGTCHILGPDCIEPHDWTKNITDKID
 QIIHDFVDKTPDQGDNDNWWTGWRQWIPAGIGVTGVIAVIALFCICKFVF[서열번호 97]

(GenPept [NP_066246.1](#)).

[0324] 이 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0325] SP = 1-27

[0326] 엑토도메인 = 1-650

[0327] 푸린 철단 부위 = 501-502

[0328] 카텝신 철단 부위 = 191-192, 201-202

[0329] FP = 511-556

[0330] HRA 영역 = 557-593

[0331] HRB 영역 = 600-635

[0332] MPER = 636-650

[0333] TM = 651-669

[0334] C = 670-676

[0335] 뮤신 유사 도메인 = 312-461

[0336] EBOV GP 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0337] 엑토도메인 1-650:

MGVTGILQLPRDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNL
 EGNGVATDVPSATKRWGFRSGVPPKVVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYV
 HKVSGTGPCAGDFAFHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTAEGVVAFLILPQAKKDFSSHPLREPVNATED
 PSSGYYSTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTYVQLESRFTPQFLLQNLNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNP
 EIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIRSEELSFTVVSNGAKNISGQSPARTSSDPGTNTTEDHKIMASENSS
 AMVQVHSQGREAAVSHLTLATISTSPQLSLTTKPGPDNSTHNTPVYKLDISEATQVEQHHRTDNDST
 ASDTPSATTAAGPPKAENTNTSKSTDFLDPATTSPOQNHSETAGNNNTHHQDTGEESASSGKLGLITN
 TIAGVAGLITGRRTRREAVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNQDG
 LICGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTFSILNRKAIDFLQRWGGTCHILGPDCIEPHDWTKNITDKID
 QIIHDFVDKTPDQGDNDNWWTGWRQ[서열번호 98] (GenPept [NP_066246.1](#))

[0338]

[0339]

엑토도메인 마이너스 SP:

QRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNLENGVATDVSATKRWGRSGVPPK
 VVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGECLPAAPDGIRGFPRCRYVHKVSGTGPCAGDFAFHKEAFFLYD
 RLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKKDFFSSHPLREPVNATEDPSSGGYYSTTIRYQATGFGTNETEYL
 EVDNLTIVQLESRFTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNPEIDTTIGEWFETKKNLTRKIRSE
 ELSFTVVSNGAKNISGQSPARTSSDPGTNTTEDHKIMASENSSAMVQVHSQGREAAVSHLTLATIS
 TSPQLTTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNPEIDTTIGEWFETKKNLTRKIRSE
 DFLDPATTTSPQNHSETAGNNNTHQDTGEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGRRTRREAIVNAQPK
 CNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNDGLICGLRQLANETTQALQLFLRATTEL
 RTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLQGDNDNWWTG

WRQ[서열번호 99] (GenPept [NP_066246.1](#)).

[0340]

엑토도메인 마이너스 SP, 마이너스 MPER:

QRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNLENGVATDVSATKRWGRSGVPPK
 VVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGECLPAAPDGIRGFPRCRYVHKVSGTGPCAGDFAFHKEAFFLYD
 RLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKKDFFSSHPLREPVNATEDPSSGGYYSTTIRYQATGFGTNETEYL
 EVDNLTIVQLESRFTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNPEIDTTIGEWFETKKNLTRKIRSE
 ELSFTVVSNGAKNISGQSPARTSSDPGTNTTEDHKIMASENSSAMVQVHSQGREAAVSHLTLATIS
 TSPQLTTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNPEIDTTIGEWFETKKNLTRKIRSE
 DFLDPATTTSPQNHSETAGNNNTHQDTGEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGRRTRREAIVNAQPK
 CNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNDGLICGLRQLANETTQALQLFLRATTEL
 RTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTL[서열번호 100]

(GenPept [NP_066246.1](#)).

[0342]

엑토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 철단 부위:

QRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNLENGVATDVSATKRWGRSGVPPK
 VVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGECLPAAPDGIRGFPRCRYVHKVSGTGPCAGDFAFHKEAFFLYD
 RLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKKDFFSSHPLREPVNATEDPSSGGYYSTTIRYQATGFGTNETEYL
 EVDNLTIVQLESRFTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNPEIDTTIGEWFETKKNLTRKIRSE
 ELSFTVVSNGAKNISGQSPARTSSDPGTNTTEDHKIMASENSSAMVQVHSQGREAAVSHLTLATIS
 TSPQLTTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNPEIDTTIGEWFETKKNLTRKIRSE
 DFLDPATTTSPQNHSETAGNNNTHQDTGEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGGNNTNEAIVNAQPK
 KCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNDGLICGLRQLANETTQALQLFLRATTEL
 LRTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTL[서열번호 101]

(GenPept [NP_066246.1](#)).

[0343]

엑토도메인 마이너스 SP, 마이너스 뮤신 유사 도메인:

QRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNLENGVATDVSATKRWGRSGVPPK
 VVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGECLPAAPDGIRGFPRCRYVHKVSGTGPCAGDFAFHKEAFFLYD
 RLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKKDFFSSHPLREPVNATEDPSSGGYYSTTIRYQATGFGTNETEYL
 EVDNLTIVQLESRFTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNPEIDTTIGEWFETKKNLTRKIRSE
 ELSFTVGGNNNTHQDTGEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGRRTRREAIVNAQPKCNPNLHYWTT
 QDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNDGLICGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTFSILNRKAID
 FLLQRWGGTCHILGPDCIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLQGDNDNWWTGWRQ[서열번호
 102] (GenPept [NP_066246.1](#)).

[0346]

[0347] 엑토도메인 마이너스 뮤신 유사 도메인:

MGVTGILQLPRDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNL
 EGNGVATDVPSATKRWGFRSGVPPKVNVYEAGEWAENCYLEIKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYV
 HKVSGTGPCAGDFAFHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKFFFSSHPLREPVNATED
 PSSGYYSTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTVQLESRFTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNP
 EIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIRSEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGRRTRREAIVNAQPKCNPNLH
 YWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNQDGGLICLRQLANETTQALQLFLRATTELRTFSILN
 RKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCIEPHDWTKNITDKIDQIHDVDKT[서열번호 154]

[0348]

2.2.11 MARV GP

[0350] 비한정적 MARV GP 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MKTTCFLISLILIQGTKNLPILEIASNNQPQNVDSCSGTLQKTEDVHLMGFTLSQKVADSPLEASKR
 WAFRTGVPPKNVEYTEGEEAKTCYNISVTDPSGKSLLDPPTNIRDYPKCKTIHHIQGQNPHAQGIALHL
 WGAFFLYDRIASSTTMYRGKVFTEGNIAAMIVNKTVHKMIFSRQGQGYRHMNLTSTNKYWTSSNGTQT
 NDTGCFGALQEYNSTKNQTCAPS KIPPLPTARPEIKLTSTPTDATKLNTTDPSSDEDLATSGSGS
 REPHHTSDAVTKQGLSSTMPPTPSPQPSTPQQGGNNNTNHSQDAVTELDKNNTTAQPSMPPHNTTTIST
 NNTSKHNFSLSAPLQNTNDNTQSTITENEQTSAPSITTLPPGNPTTAKSTSSKKGPATTAPNTTNEH
 FTSPPPPTSSTAQHLVYFRRKRSILWREGDMFPFLDGLINAPIFDPPNTKTIFDESSSGASAEDQH
 ASPNISLTSLSYFPNINENTAYSGENENDCAELRIWSVQEDDLAAGLSWIPFFPGIEGLYAVLIKQNQ
 NLVCRLRLANQTAKSLELLRVTTEERTFSLINRAIDFLTRWG GTCKVLGPDC CIGIEDLSKNISEQI
 DQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTS DWGVLTNLGILLLSIAVLIALSCICRIFTKYIG[서열번호 103]

[0351]

(GenPept YP_001531156.1).

[0352]

이) 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0353]

SP = 1-19

[0354]

엑토도메인 = 1-650

[0355]

푸린 철단 부위 = 434-435

[0356]

FP = 526-549

[0357]

HRA 영역 = 582-598

[0358]

HRB 영역 = 611-627

[0359]

MPER = 628-650

[0360]

TM = 651-669

[0361]

C = 670-681

[0362]

뮤신 유사 도메인 = 244-425

[0363]

MARV GP 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0364]

엑토도메인 1-650:

MKTTCFISLILIQGTKNLPILEIASNNQPQNVDSVCSGTLQKTEDVHLMGFTLSGQKVADSPLEASKR
 WAFRGVPPKNVEYTEGEAEAKTCYNISVTDPGSKSLLDPPTNIRDYPKCKTIHHIQGQNPHAQGIALHL
 WGAFFLYDRIASTTMYRGKVTEGNIAAMIVNKTVHKMIFSRQGQGYRHMNLTSTNKYWTSSNGTQT
 NDTGCFGALQEYNSTKNQTCAPSKIPPLPTARPEIKLTSTPTDATKLNTDPSSDEDLATSGSGSGE
 REPHHTSDAVTKQGLSSTMPPTPSPQPSTPQQGGNNNTNHSQDAVTELKDKNNTAQPSMPPHNTTIST
 NNNTSKHNFSTLSAPLQNTNDNTQSTITENEQTSAPSITLPPGNPTTAKSSTSKGPATTAPNTTNEH
 FTSPPPTPSSTAQHLVYFRRKRSILWREGDMFPFLDGLINAPIFDPPVNTKTIFDESSSSGASAEDQH
 ASPNISLTSLSYFPNINENTAYSGENENDCDAELRIWSVQEDDLAAGLSWIPFFGPGIEGLYAVLIKQNQ
 NLVCRLRRLANQTAKSLELLRVTTEERTFSLINRHAIDFLLTRWGGTCKVLGPDCCIGIEDLSKNISEQI
 DQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTDWG[서열번호 104] (GenPept YP_001531156.1).

[0365]

[0366]

엑토도메인 마이너스 SP 20-650:

PILEIASNNQPQNVDSVCSGTLQKTEDVHLMGFTLSGQKVADSPLEASKRWAFRGVPPKNVEYTEGE
 EAETCYNISVTDPGSKSLLDPPTNIRDYPKCKTIHHIQGQNPHAQGIALHLWGAFFLYDRIASTTMYRG
 KVFTEGNIAAMIVNKTVHKMIFSRQGQGYRHMNLTSTNKYWTSSNGTQTNDTGFALQEYNSTKNQ
 TCAPSKIPPLPTARPEIKLTSTPTDATKLNTDPSSDEDLATSGSGSGEREPHHTSDAVTKQGLSSTM
 PPTPSPQPSTPQQGGNNNTNHSQDAVTELKDKNNTAQPSMPPHNTTISTNNNTSKHNFSTLSAPLQNTT
 NDNTQSTITENEQTSAPSITLPPGNPTTAKSSTSKGPATTAPNTTNEHFTSPPPTPSSTAQHLVYFR
 RKRSILWREGDMFPFLDGLINAPIFDPPVNTKTIFDESSSSGASAEDQHASPNISLTSLYFPNINENT
 AYSGENENDCDAELRIWSVQEDDLAAGLSWIPFFGPGIEGLYAVLIKQNQNNLVCRRLRRLANQTAKSLE
 LLRVTTEERTFSLINRHAIDFLLTRWGGTCKVLGPDCCIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLG
 GKWWTDWG[서열번호 105] (GenPept YP_001531156.1).

[0367]

[0368]

엑토도메인 마이너스 SP, 마이너스 MPER 20-627:

PILEIASNNQPQNVDSVCSGTLQKTEDVHLMGFTLSGQKVADSPLEASKRWAFRGVPPKNVEYTEGE
 EAETCYNISVTDPGSKSLLDPPTNIRDYPKCKTIHHIQGQNPHAQGIALHLWGAFFLYDRIASTTMYRG
 KVFTEGNIAAMIVNKTVHKMIFSRQGQGYRHMNLTSTNKYWTSSNGTQTNDTGFALQEYNSTKNQ
 TCAPSKIPPLPTARPEIKLTSTPTDATKLNTDPSSDEDLATSGSGSGEREPHHTSDAVTKQGLSSTM
 PPTPSPQPSTPQQGGNNNTNHSQDAVTELKDKNNTAQPSMPPHNTTISTNNNTSKHNFSTLSAPLQNTT
 NDNTQSTITENEQTSAPSITLPPGNPTTAKSSTSKGPATTAPNTTNEHFTSPPPTPSSTAQHLVYFR
 RKRSILWREGDMFPFLDGLINAPIFDPPVNTKTIFDESSSSGASAEDQHASPNISLTSLYFPNINENT
 AYSGENENDCDAELRIWSVQEDDLAAGLSWIPFFGPGIEGLYAVLIKQNQNNLVCRRLRRLANQTAKSLE
 LLRVTTEERTFSLINRHAIDFLLTRWGGTCKVLGPDCCIGIEDLSKNISEQIDQI[서열번호 106]
 (GenPept YP_001531156.1).

[0369]

[0370]

엑토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 철단 부위:

PILEIASNNQPQNVDSVCSGTLQKTEDVHLMGFTLSGQKVADSPLEASKRWAFRGVPPKNVEYTEGE
 EAETCYNISVTDPGSKSLLDPPTNIRDYPKCKTIHHIQGQNPHAQGIALHLWGAFFLYDRIASTTMYRG
 KVFTEGNIAAMIVNKTVHKMIFSRQGQGYRHMNLTSTNKYWTSSNGTQTNDTGFALQEYNSTKNQ
 TCAPSKIPPLPTARPEIKLTSTPTDATKLNTDPSSDEDLATSGSGSGEREPHHTSDAVTKQGLSSTM
 PPTPSPQPSTPQQGGNNNTNHSQDAVTELKDKNNTAQPSMPPHNTTISTNNNTSKHNFSTLSAPLQNTT
 NDNTQSTITENEQTSAPSITLPPGNPTTAKSSTSKGPATTAPNTTNEHFTSPPPTPSSTAQHLVYFN
 NNNSILWREGDMFPFLDGLINAPIFDPPVNTKTIFDESSSSGASAEDQHASPNISLTSLYFPNINENT
 AYSGENENDCDAELRIWSVQEDDLAAGLSWIPFFGPGIEGLYAVLIKQNQNNLVCRRLRRLANQTAKSLE
 LLRVTTEERTFSLINRHAIDFLLTRWGGTCKVLGPDCCIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLG
 GKWWTDWG[서열번호 107] (GenPept YP_001531156.1).

[0371]

[0372]

엑토도메인 마이너스 SP, 마이너스 뮤신 유사 도메인:

PILEIASNNQPQNVDSDVCSGTLQKTEDVHLMGFTLSGQKVADSPLEASKRWAFRTGVPKNVEYTEGE
 EAKTCYNISVTDPGKSLLDPPTNIRDYPKCKTIHHIQGQNPQAQGIALHLWGAFFLYDRIASTTMYRG
 KVFTEGNIAAMIVNKTVHKMIFSRQGQGYRHMNLTSTNKYWTSSNGQTNDTCFGALQEYNSTKNQ
 TCAPSKIPPLPTARPEIKLGGAQHQLVYFRRKRSILWREGDMFPFLGLINAPIDFDPVPNTKTIFDESS
 SGASAEEDQHASPNISLTLSYFPNINENTAYSGENENDCDAELRIWSQEDDLAAGLSWIPFFGPGIEG
 LYTAVLINKQNNLVCRRLANQTAKSLELLRVTTEERTFSLINRHAIDFLLTRWGGTCKVLGPDCIGI
 EDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSWG[서열번호 108] (GenPept

YP_001531156.1).

[0373] 2.2.12 SARS-CoV S

[0374] 예시적 SARS-CoV S 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MFIFLLFLTLTSGSDLDRCTTFDDVQAPNYTQHTSSMRGVYYPDEIFRSDTLYLTQDLFLPFYSNVTGFH
 TINHTFGNPVIPFKDGIFYFAATEKSNNVRGVVFGSTMNNKSQSIIINNSTNVIRACNFELCDNPFFAV
 SKPMGTQTHTMIFDNAFNCTFEYISDAFSLDVSEKSGNFKHLREFVFKNKDGFLYVYKGYQPIDVVRDL
 PSGFNTLKPIFKLPLGINITNFRAILTAFSPAQDIWGTSAAYFVGYLKPTTFMLKYDENGTTDAVDCSQ
 NPLAELKCSVKSFEIDKGIFYQTSNFRVVPSGDVVRFPNITNLCPFGEVFNATKFPSVYAKERKKISNCVA
 DYSVLYNSTFFSTFKCYGVSATKLNDLCFSNVYADSFVVKGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPDDFMG
 CVLAWNTRNIDATSTGNYYNKYRYLRHGKLRPFERDISNVPFSPDGKPCPPALNCYWPLNDYGFYTT
 GIGYQPYRVVLSFELLNAPATCGPKLSTDLIKNCVNFNGLTGTGVLTSSKRFQPFQQFGRDVS
 DFTDSVRDPKTSEILDISPCAFGGVSVITPGTNASSEAVLYQDVNCTNSAAIHADQLTPAWRIYSTG
 NNVFQTQAGCLIGAEHVDTSYECDIPIGAGICASYHTSLLSTSQKSIVAYTMSLGADSSIAYSNNIA
 IPTNFSISITTEVMPVSMAKTSVDCNMICGDESTECANLLQYGSFCTQLNRALSGIAAEQDRNTREVFA
 QVKQMYKPTTLKYFGGFNFSQLPDPLKPTKRSFIEDLLFNKVTLAGFMQYGECLGDINARDLICAQ
 KFNGLTVLPLLTDMMIAAYTAALVSGTAGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK
 QIANQFNKAISQIQESLTTTSTALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAE
 VQIDRLITGRLQLSQLTYVTQQLIRAAEIRASANLAATMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSPQAAPHG
 VVFLHVTYVPSQERNFTTAPACHEGKAYFPREGVFVNGTSWFITQRNFFSPQIITTDNTFVSGNCDVV
 IGIINNNTVYDPLQPELDSFKGELDKYFKNHTSPDVLDISGINASVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDL
 QELGKYEQYIKWPWYVWLGFIAGLIAIVMVTILLCCMTSCSCLKGACSCGSCCKFDEDDSEPVLKGV
 KLHYT[서열번호 109] (GenPept [gbAAR86788.1](#)).

[0375]

[0376] 이) 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0377] SP = 1-13

[0378] 엑토도메인 = 1-1199

[0379] 인간 기도 트립신 유사 프로테아제 절단 부위 = 667-668

[0380] FP = 770-788

[0381] HRA 영역 = 892-1013

[0382] HRB 영역 = 1145-1187

[0383] MPER = 1188-1199

[0384] TM = 1200-1216

[0385] C = 1217-1255

[0386] SARS-CoV S 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0388]

엑토도메인 1-1199:

MFIFLLFLTLTSGSDLRCTTFDDVQAPNYTQHTSSMRGVYYPDEIFRSDTLYLTQDLFLPFYSNVTGFH
 TINHTFGNPVIPFKDGIYFAATEKSNVVRGWVFGSTMNNKSQSIVIINNSTNVIRACNFELCDNPFFAV
 SKPMGTQTHTMIFDNAFNCTFEYISDAFSLDVSEKSGNFKHLREFVKNDGFLYVYKGYQPIDVVRDL
 PSGFNTLKP1FKLPLGINITNFRAILTAFPSAQDIWGTSAAYFVGYLKPTTFMLKYDENGTITDAVDCSQ
 NPLAELKCSVKSFEIDKGIYQTSNFRVPSGDVVRFPNITNLCPGEVFNATKFPSVYAKERKISNCVA
 DYSVLYNSTFFFSTFKCYGVSAKLNLCFSNVYADSFVVKGDDVRQIAPGQGTGVIADYNKLPDDFMG
 CVLAWNTRNIDATSTGNYYKRYLRHGKLRFERDISNVPFSPDGKPCPPALNCYWPLNDYGFYTT
 GIGYQPYRVVVLSELNAPATVCGPKLSTDLIKNCVNFNGLTGTGVLPSSKRFQPFQQFGRDVS
 DFTDSVRDPKTSEILDISPCAFCGGSVITPGTNASSEAVLYQDVNCTNSAAIHADQLTPAWRIYSTG
 NNVFQTQAGCLIGAEHVDTSYECDIPIGAGICASYHTSLLSTSQKSIVAYTMSLGADSSIAYSNNIA
 IPTNFSISITTEVMPVSMAKTSVDCNMYICGDSTECANLLQYGSFCTQLNRALSGIAAEQDRNTREVFA
 QVKQMYKTPTLKYFGGFNFSQILPDPLKPTKRSFIEDLLFNKVTLADAGFMKQYGECLGDINARDLICAQ
 KFNGLTVLPPLLDDMIAAYTAALVSGTAGWTGFAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK
 QIANQFNKAISQIQLQESLTTSALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRDKVEAE
 VQIDRLITGRLQLSQLTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSPFPQAAPHG
 VVFLHVTYVPSQERNFTTAPACHEGKAYFPREGVFVFNGETSWFITQRNFFSPQIITTDNTFVSGNCVV
 IGIINNTVYDPLQPELDSFKGELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDL
 QELGKYEQYIKWPWYVW[서열번호 110] (GenPept [gbAAR86788.1](#)).

[0389]

[0390]

엑토도메인 마이너스 SP:

SDLDRCTTFDDVQAPNYTQHTSSMRGVYYPDEIFRSDTLYLTQDLFLPFYSNVTGFHTINHTFGNPVIP
 KDGYFAATEKSNVVRGWVFGSTMNNKSQSIVIINNSTNVIRACNFELCDNPFFAVSKPMGTQTHTMI
 FDNAFNCTFEYISDAFSLDVSEKSGNFKHLREFVKNDGFLYVYKGYQPIDVVRDLPNGFNTLKP1FKL
 PLGINITNFRAILTAFPSAQDIWGTSAAYFVGYLKPTTFMLKYDENGTITDAVDCSQNPLAELKCSVKS
 FEIDKGIYQTSNFRVPSGDVVRFPNITNLCPGEVFNATKFPSVYAKERKISNCVADYSVLYNSTFS
 TFKCYGVSAKLNLCFSNVYADSFVVKGDDVRQIAPGQGTGVIADYNKLPDDFMGCVLAWNTRNIDA
 TSTGNYYKRYLRHGKLRFERDISNVPFSPDGKPCPPALNCYWPLNDYGFYTTGIGYQPYRVVVL
 FELLNAPATVCGPKLSTDLIKNCVNFNGLTGTGVLPSSKRFQPFQQFGRDVSDFDSVRDPKTSE
 ILDISPCAFCGGSVITPGTNASSEAVLYQDVNCTNSAAIHADQLTPAWRIYSTGNNVFQTQAGCLIG
 AEHVDTSYECDIPIGAGICASYHTSLLSTSQKSIVAYTMSLGADSSIAYSNNIAIPTNFSISITTEVM
 PVSMAKTSVDCNMYICGDSTECANLLQYGSFCTQLNRALSGIAAEQDRNTREVFAQVKQMYKTPTLK
 YFGGFNFSQILPDPLKPTKRSFIEDLLFNKVTLADAGFMKQYGECLGDINARDLICAQKFNGLTVLPPLL
 DDMIAAYTAALVSGTAGWTGFAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKQIANQFNKAISQI
 QESLTTSALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRDKVEAEVQIDRLITGRLQLS
 QTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSPFPQAAPHGVVFLHVTYVPSQE
 RNFTTAPACHEGKAYFPREGVFVFNGETSWFITQRNFFSPQIITTDNTFVSGNCVVIGIINNTVYDPLQ
 ELDSDKGELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWP
 WYVW[서열번호 111] (GenPept [gbAAR86788.1](#)).

[0391]

- [0392] 엑토도메인 마이너스 SP, 마이너스 MPER:
SDLDRCTTFDDVQAPNYTQHTSSMRGVYYPDEIFRSDTLYLTQDLFLPFYSNVTGFHTINHTFGNPVIPF
KDGIFYAATEKSNNVRGWVFGSTMMNKSQSVIIINNSTNVIRACNFELCDNPFFAVSKPMGTQTHMI
FDNAFNCTFEYISDAFSLDVSEKSGNFKHLREFVKNKDGFLYVYKGYPIDVVRDLSGFNTLKPIFKL
PLGINITNFRAILTAFSPAQDIWGTSAAYFVGYLKPTTFMLKYDENGTITDAVDCSQNPLAEKCSVKS
FEIDKGKIYQTSNFRVVPSPGDVVRFPNITNLCPFGEVFNATKFPSVYAWERKKISNCVADYSVLYNSTFFS
TFKCYGVSATKLNDLCFSNVYADSFVVKGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPPDFMGCVLAWNTRNIDA
TSTGNINYKYRYLRHGKLRFPERDISNPFSPDGKPCPPALNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVVL
FELLNAPATVCGPLKSLTDIKNQCVNFNGLTGTGLVTPSSKRFPQQFGRDVSDFDSVRDPKTSE
ILDISPACFGGSVITPGTNASSEVAVLYQDVNCTNVSAAIHADQLTPAWRIYSTGNNVFTQAGCLIG
AEHVDTSYECDIPIGAGICASYHTVSLLRSTSQKSIVAYTMSLGADSSIAYSNNTIAPTNFSISITTEVM
PVSMAKTSVDCNMYICGDSTECANLLQYGSFCTQLNRALSGIAAEQDRNTRREVFAQVKQMYKTPTLK
YFGGFNFSQLPDKLKRSFIEDLLFNKVTLADAGFMQYGECLGDINARDLICAQKFNGLTVLPPLL
DDMIAAYTAALVSGTAGWTGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKQIANQFNKAISQI
QESLTTTSTALGKLQDVNVNQNAQALNTLVQLSSNFGAISSVLNDILSRDLKVEAEVQIDRLITGRLQSL
QTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSPQAAPHGVVFLHVTYVPSQE
RNFTTAPACHEGKAYFPREGVFVNGTSWFTQRNFFSPQIITTDNTFVSGNCDDVIGIINNTVYDPLQP
ELDSFKGELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVNNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK[서열번호
112] (GenPept [gbAAR86788.1](#)).
- [0393] 2.2.13 MERS-CoV S
- [0395] 예시적 MERS-CoV S 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:
MIHSVFLMFLLPTTESYVDVGPDSVKSACIEVDIQQTFFDKTWPRPIDVSKADGIIYPQGRRTYSNITITY
QGLFPYQGDHDMYVYSAGHATGTPQKLFVANYSQDVQFANGFVVRIGAAANSTGTVIISPSTSAT
IRKIYPAFMLGSSVGNFSDGKMGRRFNHTLVLPLGCGTLLRAFYCILEPRSGNHCAGNSYTSFATYHT
PATDCSDGNYNRNASLNSKEYFNLNRNCTFMYTINYTEDEILEWFGITQTAQGVHLFSSRYVDLYGGNM
FQFATLPVYDTIKYYSIIPHSIRSIQSDRKAWAAFYVYKLQPLTFLLDFSDVQYIRRAIDCGFNDLSQLHC
SYESFDVESGVYSSFEAKPGSVEQAEGVECDFSPILLSGTQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSFS
VNDFTCSQISPAIASNCYSSLIDYFSYPLSMKSDLGVSSAGPISQFNYKQFSNPTCLILATVPHNLTT
ITKPLKSYINKCSRLLSDDRTEVPQLVNANQYSPCVSIVPSTVWEDGDYRKQLSPLEGGGWLVASGS
TVAMTEQLQMGFGITVQYGTDTNSVCPKLEFANDTKIASQLGNCVEYSLYGVSGRGVFQNCTAVGVRQ
QRFYDAYQNLVGYSSDDGNYCLRACVSPVSIYDKEKTHATLFGSVAEHISSSMSQYSRSTRS
MLKRRDSTYGPLQTPVGCVLGVNSSLFVEDCKLPLGQSLCALPDTPLTSPRSVRSPGEMRLASIAFN
HPIQVDQFNSSYFKLISPTNFSFGVTQEYIQTTLQKVTVDCKQYICNGFQKCEQLREYGQFCSKINQAL
HGANLRQDDSVRNLFASVKSSQSSPIPGFGDFNLTLEPVSIITGSRARSARSAIEDLLFDKVTIADPGY
MQGYDDCMQQGPASARDLICAQYVAGYKVLPPMDVNMEAAYTSSLGSIAGVGVWTAGLSSFAIPFA
QSIFYRLNGVGITQQVLEQDAQIDRLINGRLLNAFVAQQLVRSESAALSAQLAKDKVNECVKAQ
SKRSGFCGQGTHIVSFVVAAPNGLYFMHVGYPSNHIEVVSAYGLCDAANPTNCIAPVNGYFIKTNTR
IVDEWSYTGSSFYSPEPITSNNTKYVAPQVYQNIITLPPPLGNSTGIDFQDELDEFFKNVTSIPNFG
SLTQINTTLLDTYEMSLQQVVKALNESYIDLKEGLNYTYYNKWPWYIWLGFIAGLVALALCVFFILCCT
GCGTNCMGMGLKCNRCCDRYEYDLEPHKVHVH[서열번호 113] (GenPept [gbAHX00711.1](#)).
- [0397] 이 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:
- [0398] SP = 1-21
- [0399] 엑토도메인 = 1-1301
- [0400] 푸린 절단 부위 = 751-752, 887-888
- [0401] FP = 888-891, 951-980
- [0402] HRA 영역 = 984-1105

- [0403] HRB 영역 = 1248-1291
- [0404] MPER = 1292-1301
- [0405] TM = 1302-1318
- [0406] C = 1319-1353
- [0407] MERS-CoV S 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:
- [0408] 엑토도메인 1-1301:
- MIHSVFLMFLPTESYDVGPDGVSKSACIEVDIQQTFFDKTWPRPIDVSKADGIIYPQGRRTYSNITITY
QGLFPYQGDHGDMYVYSAGHATGTPQKLFVANYSQDVKQFANGFVRIGAAANSTGTVIISPSTSAT
IRKIYPAFMLGSSVGNFSKGKMRFFNHTLVLPGCGTLLRAFYCILEPRSGNHCPAGNSYTSFATYHT
PATDCSDGNYNRNASLNSFKEYFNLNRCTFMYTINYTEDEILEWFGITQTAQGVHLFSSRYVDLYGGNM
FQFATLPVYDTIKYYSIIPHSIRSIQSDRKAWAAFYVYKLQPLTFLLDFSVDGYIRRайдCFNDSLSQLHC
SYESFDVESGVYVSVSSFEAKPSGSVVEQAEGVECDFSPLLSGTPPQVYNFKRLVFTNCNLYNLTKLLSFS
VNDFTCSQISPAIAASNCYSSLIDYFSYPLSMKSDLGVSSAGPISQFNYKQSFSNPTCLILATVPHNLTT
ITKPLKYSYINKCSRLLSDDRETEVPQLVNANQYSPCVSIVPSTVWEDGDYYRKQLSPLEGGGWLVASGS
TVAMTEQLQMGFGITVQYGDTNSVCPLKFANDTKIASQLGNCEYSLYGVSGRGVFQNCTAVGVRQ
QRFVYDAYQNLVGYSSDDGNYYCLRACVSVPSVIYDKEKTHATLFGSVACEHISSTMSQYSRSTRS
MLKRRDSTYGPLQTPVGCVLGVNSSLFVEDCKLPLGQSLCALPDTPSTLPRSVRSVPGEMLASIAFN
HPIQVDQFNSSYFKLSIPTNFSFGVTQEYIQTTLQKVTVDCKQYICNGFQKCEQLLREYGQFC SKINQAL
HGANLRQDDSVRNLFASFVKSSQSSPIIPGFGGDFNLTLLEPVSI TGSRSAI EDLLFDKVTIADPGY
MQGYDDCMQQGPASARDLICAQYVAGYKVLPLMDVNMEAAYTSSLGSIAGVGVWTAGLSSFAAIPFA
QSIFYRLNGVGITQQVLSENQKLIANKFNQALGAMQTGFTTNEAFRKVQDAVNNAQALSKLASELS
NTFGAISASIGDIIQRLDVLEQDAQIDRLINGRLLNAFVAQQLVRSESAALSAQLAKDKVNECVKAQ
SKRSGFCGQGTHIVSFVVNAPNGLYFMHVGYPSNHIEVVSAYGLCDAANPTNCIAPVNGYFIKTNTR
IVDEWSYTGSFYSPEPITSLNTKYVAPQVTVQNI STNLPPPLGNSTGIDFQDELDEFFKNVSTSIPNFG
SLTQINTTLLDTYEMLSLQQVVKALNESYIDLKE LGNYTYYNKWPWYIWL[서열번호 114] (GenPept
gbAHX00711.1).
- [0409]
- [0410] 엑토도메인 마이너스 SP 22-1301:
- GPDGVSKSACIEVDIQQTFFDKTWPRPIDVSKADGIIYPQGRRTYSNITITYQGLFPYQGDHGDMYVYSAG
HATGTPQKLFVANYSQDVKQFANGFVRIGAAANSTGTVIISPSTSATIRKIYPAFMLGSSVGNFSDG
KMGRFFNHTLVLPGCGTLLRAFYCILEPRSGNHCPAGNSYTSFATYHTPATDCSDGNYNRNASLNSF
KEYFNLNRCTFMYTINYTEDEILEWFGITQTAQGVHLFSSRYVDLYGGNMFQFATLPVYDTIKYYSIIPHS
IRSIQSDRKAWAAFYVYKLQPLTFLLDFSVDGYIRRайдCFNDSLSQLHC SYESFDVESGVYVSVSSFEAK
PSGSVVEQAEGVECDFSPLLSGTPPQVYNFKRLVFTNCNLYNLTKLLSFSVNDFTCSQISPAIAASNCY
SLIDYFSYPLSMKSDLGVSSAGPISQFNYKQSF SNPTCLILATVPHNLTTITKPLKYSYINKCSRLLSDD
RTEVPQLVNANQYSPCVSIVPSTVWEDGDYYRKQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMGFGITVQY
GTDTSVCPLKFANDTKIASQLGNCEYSLYGVSGRGVFQNCTAVGVRQRFVYDAYQNLVGYYSD
DGNYYCLRACVSVPSVIYDKEKTHATLFGSVACEHISSTMSQYSRSTRSMLKRRDSTYGPLQTPVGC
VGLVNSSLFVEDCKLPLGQSLCALPDTPSTLPRSVRSVPGEMLASIAFNHPIQVDQFNSSYFKLSIPT
NFSFGVTQEYIQTTLQKVTVDCKQYICNGFQKCEQLLREYGQFC SKINQALHGANLRQDDSVRNLFASF
KSSQSSPIIPGF GGDFNLTLLEPVSI TGSRSAI EDLLFDKVTIADPGYQM QGYDDCMQQGPASARD
LICAQYVAGYKVLPLMDVNMEAAYTSSLGSIAGVGVWTAGLSSFAAIPFAQSIFYRLNGV GITQQVLS
NQKLIANKFNQALGAMQTGFTTNEAFRKVQDAVNNAQALSKLASELSNTFGAISASIGDIIQRLDVL
EQDAQIDRLINGRLLNAFVAQQLVRSESAALSAQLAKDKVNECVKAQSKRSGFCGQGTHIVSFVN
APNGLYFMHVGYYPSNHIEVVSAYGLCDAANPTNCIAPVNGYFIKTNTRIVDEWSYTGSFYSPEPITS
LNTKYVAPQVTVQNI STNLPPPLGNSTGIDFQDELDEFFKNVSTSIPNFGSLTQINTTLLDTYEMLSQ
QVVKALNESYIDLKE LGNYTYYNKWPWYIWL[서열번호 115] (GenPept [gbAHX00711.1](#)).

[0412]

엑토도메인 마이너스 SP, 마이너스 MPER 22-1291:

GPDSVKSACIEVDIQQTFFDKTWPRPIDVSKADGIYPQGRRTYSNITITYQGLFPYQGDHGDMDYVYSAG
 HATGTPQKLFVANYSQDVQKFANGFVRIGAAANSTGTVIISPSTSATIRKIYPAFMLGSSVGNFSDG
 KMGRFFNHTLVLLPDGCGLLRAFYCILEPRSGNHCPAGNSYTSFATYHTPATDCSDGNYNRNASLNSF
 KEYFNLRNCTMFYTNTDEILEWFGITQTAQGVHLFSSRYVDLYGGNMFQFATLPVYDTIKYSSIPH
 IRSIQSDRKAWAAFYVYKLQPLTFLLDFSVDGYIRRRAIDCGFNDLSQLHCSYESFDVESGVYSVSSFEAK
 PSGSVVEQAEGVECDFSPILLSGTTPQVYNFKRLVFTNCNLYNLTKLSSLFSVNDFTCSQISPAIASNCYS
 SLILDYFSYPLSMKSDLGVSSAGPISQFNQKQSFSNPTCLILATVPHNLTTITKPLKSYINKCSRLLSDD
 RTEVPQLVNANQYSPCVSIVPSTVWEDGYYRKQLSLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMFGITVQY
 GTDTNSVCPKLEFANDTKIASQLGNCVEYSLYGVSGRGVFQNCTAVGVRQQRFVYDAYQNLVGYYS
 DGNYYCLRACSVPSVSIYDKEETKTHATLFGSVACEHISSTMSQYSRSTRSMLKRRDSTYGPLQTPVGC
 VLGLVNSSLFVEDCKLPLGQSLCALPDTPSTLTPRSVRSPGEMLASIAFNHPIQVDQFNSSYFKLSIPT
 NFSFGVTQEYIQTIIQKVTVDCQYICNGFQKCEQLLREYGQFCSKINQALHGANLRQDDSVRNLFAS
 KSSQSSPIIPGFGGDFNLTLEPVSISTGSRSAIEDLLFDKVTIADPGYMQGYDDCMQQGPASARD
 LICAQYVAGYKVLPPMDVNMEAAYTSSLGSIAGVGWTAGLSSFAAIIPFAQSIFYRLNGVGITQQVSE
 NQKLIANKFNQALGAMQTGFTTNEAFRKVQDAVNNNAQALSKLASELSNTFGAISASIGDIIQRLDV
 EQDAQIDRLINGRLLTNAFVAQQLVRSESAALSAQLAKDKVNECVKAQSKRSRGFCGQGTHIVSFVN
 APNGLYFMHVGYYPSNHIEVVSAYGLCDAANPTNCIAPVNGYFIKTNTRIVDEWSYTGSSFYPEPITS
 LNTKYVAPQVTYQNISTNLPPLLGNSTGIDFQDELDEFFKNVSTSIPNFGSLTQINTTLLDTYEMLSQ
 QVVKALNESYIDLKELGNYTY[서열번호 116] (GenPept [gbAHX00711.1](#)).

[0413]

엑토도메인 마이너스 SP 플러스 변경된 푸린 절단 부위:

GPDSVKSACIEVDIQQTFFDKTWPRPIDVSKADGIYPQGRRTYSNITITYQGLFPYQGDHGDMDYVYSAG
 HATGTPQKLFVANYSQDVQKFANGFVRIGAAANSTGTVIISPSTSATIRKIYPAFMLGSSVGNFSDG
 KMGRFFNHTLVLLPDGCGLLRAFYCILEPRSGNHCPAGNSYTSFATYHTPATDCSDGNYNRNASLNSF
 KEYFNLRNCTMFYTNTDEILEWFGITQTAQGVHLFSSRYVDLYGGNMFQFATLPVYDTIKYSSIPH
 IRSIQSDRKAWAAFYVYKLQPLTFLLDFSVDGYIRRRAIDCGFNDLSQLHCSYESFDVESGVYSVSSFEAK
 PSGSVVEQAEGVECDFSPILLSGTTPQVYNFKRLVFTNCNLYNLTKLSSLFSVNDFTCSQISPAIASNCYS
 SLILDYFSYPLSMKSDLGVSSAGPISQFNQKQSFSNPTCLILATVPHNLTTITKPLKSYINKCSRLLSDD
 RTEVPQLVNANQYSPCVSIVPSTVWEDGYYRKQLSLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMFGITVQY
 GTDTNSVCPKLEFANDTKIASQLGNCVEYSLYGVSGRGVFQNCTAVGVRQQRFVYDAYQNLVGYYS
 DGNYYCLRACSVPSVSIYDKEETKTHATLFGSVACEHISSTMSQYSRSTRSMLKRRDSTYGPLQTPVGC
 VLGLVNSSLFVEDCKLPLGQSLCALPDTPSTLTPNSVNSVPGEMRLASIAFNHPIQVDQFNSSYFKLSIPT
 TNFSFGVTQEYIQTIIQKVTVDCQYICNGFQKCEQLLREYGQFCSKINQALHGANLRQDDSVRNLFAS
 VKSSQSSPIIPGFGGDFNLTLEPVSISTGNSANSASAIEDLLFDKVTIADPGYMQGYDDCMQQGPASAR
 DLICAQYVAGYKVLPPMDVNMEAAYTSSLGSIAGVGWTAGLSSFAAIIPFAQSIFYRLNGVGITQQVLS
 ENQKLIANKFNQALGAMQTGFTTNEAFRKVQDAVNNNAQALSKLASELSNTFGAISASIGDIIQRLDV
 LEQDAQIDRLINGRLLTNAFVAQQLVRSESAALSAQLAKDKVNECVKAQSKRSRGFCGQGTHIVSFVV
 NAPNGLYFMHVGYYPSNHIEVVSAYGLCDAANPTNCIAPVNGYFIKTNTRIVDEWSYTGSSFYPEPIT
 SLNTKYVAPQVTYQNISTNLPPLLGNSTGIDFQDELDEFFKNVSTSIPNFGSLTQINTTLLDTYEMLSL
 QQVKALNESYIDLKELGNYTYNNKWPWYIWL[서열번호 117] (GenPept [gbAHX00711.1](#)).

[0415]

2.2.14 VSV G

[0417] 예시적 VSV G 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MKCLLYLAFLFIGVNCKFTIVFPHNQKGNWKNVPSNYHCPSSDLNWHNDLIGTAIQVKMPKSHKAI
 QADGWMCHASKWVTTCDFRWYGPKYITQSIRSFTPSVEQCKESIEQTQGTWLNPQFPPQSCGYATV
 TDAEAVIVQVTPHHLVDEYTGEWVDSQFINGKCSNYICPTVHNSTWHSDYKVKGCDNLISMDIT
 FFSEDGEGLSLGKEGTGFRSNYFAYETGGKACKMQYCKHWGVRLPSGVWFEMADKDLFAARFPECP
 EGSSISAPSQTSDVSLIQLDVERILDYSLCQETWSKIRAGLPISPVDLSYLAPKNPGTGPFTIINGTLKY
 FETRYIRVDIAAPILSRMVGMSGTTTERELWDDWAPYEDVEIGPNGVLRTSSGYKFPLYMIGHGMLDS
 DLHLSSKAQVFEHPhiQDAASQLPDESFFGDTGLSKNPIELVEGWFSWKSIAFFFIIIGLIIGLFLV
 LRGVIHLCIQLKHTKKRQIYTDIEMNRLG[서열번호 118] (GenPept [gbADX53329.1](#)).

[0418]

이 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0419]

SP = 1-17

[0420]

엑토도메인 = 1-462

[0421]

MPER = 421-462

[0422]

TM = 462-483

[0423]

C = 484-510

[0424]

VSV G 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0425]

엑토도메인 1-462:

MKCLLYLAFLFIGVNCKFTIVFPHNQKGNWKNVPSNYHCPSSDLNWHNDLIGTAIQVKMPKSHKAI
 QADGWMCHASKWVTTCDFRWYGPKYITQSIRSFTPSVEQCKESIEQTQGTWLNPQFPPQSCGYATV
 TDAEAVIVQVTPHHLVDEYTGEWVDSQFINGKCSNYICPTVHNSTWHSDYKVKGCDNLISMDIT
 FFSEDGEGLSLGKEGTGFRSNYFAYETGGKACKMQYCKHWGVRLPSGVWFEMADKDLFAARFPECP
 EGSSISAPSQTSDVSLIQLDVERILDYSLCQETWSKIRAGLPISPVDLSYLAPKNPGTGPFTIINGTLKY
 FETRYIRVDIAAPILSRMVGMSGTTTERELWDDWAPYEDVEIGPNGVLRTSSGYKFPLYMIGHGMLDS
 DLHLSSKAQVFEHPhiQDAASQLPDESFFGDTGLSKNPIELVEGWFSWKSIAFFFIIIGLIIGLFLV
 LRGVIHLCIQLKHTKKRQIYTDIEMNRLG[서열번호 119]

[0426]

(GenPept [gbADX53329.1](#)).

[0427]

엑토도메인 마이너스 SP:

FTIVFPHNQKGNWKNVPSNYHCPSSDLNWHNDLIGTAIQVKMPKSHKAIQADGWMCHASKWVTT
 CDFRWYGPKYITQSIRSFTPSVEQCKESIEQTQGTWLNPQFPPQSCGYATVTDAAEAVIVQVTPHHLV
 DEYTGEWVDSQFINGKCSNYICPTVHNSTWHSDYKVKGCDNLISMDITFFSEDGEGLSLGKEGTG
 FRSNYFAYETGGKACKMQYCKHWGVRLPSGVWFEMADKDLFAARFPECPEGSSISAPSQTSDVSLI
 QDVERILDYSLCQETWSKIRAGLPISPVDLSYLAPKNPGTGPFTIINGTLKYFETRYIRVDIAAPILSRMV
 GMISGTTTERELWDDWAPYEDVEIGPNGVLRTSSGYKFPLYMIGHGMLSDLHLSSKAQVFEHPhiQD
 AASQLPDESFFGDTGLSKNPIELVEGWFSWKSIAFFFIIIGLIIGLFLV[서열번호 120] ([gbADX53329.1](#)).

[0428]

엑토도메인 마이너스 SP, 마이너스 MPER:

FTIVFPHNQKGNWKNVPSNYHCPSSDLNWHNDLIGTAIQVKMPKSHKAIQADGWMCHASKWVTT
 CDFRWYGPKYITQSIRSFTPSVEQCKESIEQTQGTWLNPQFPPQSCGYATVTDAAEAVIVQVTPHHLV
 DEYTGEWVDSQFINGKCSNYICPTVHNSTWHSDYKVKGCDNLISMDITFFSEDGEGLSLGKEGTG
 FRSNYFAYETGGKACKMQYCKHWGVRLPSGVWFEMADKDLFAARFPECPEGSSISAPSQTSDVSLI
 QDVERILDYSLCQETWSKIRAGLPISPVDLSYLAPKNPGTGPFTIINGTLKYFETRYIRVDIAAPILSRMV
 GMISGTTTERELWDDWAPYEDVEIGPNGVLRTSSGYKFPLYMIGHGMLSDLHLSSKAQVFEHPhiQD
 AASQLPDESFFGDTGLSKNPIELVEGWFSWKSIAFFFIIIGLIIGLFLV[서열번호 121] (GenPept [gbADX53329.1](#)).

[0429]

2.2.15 RABV GP

[0433] 예시적 RABV GP 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MIPQTLLFVPLLVSLSLCFGKFPPIYTIKDGLGPSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMEVKVGYIS
 AIKVNGFTCTGVVTEAETYTNFVGVTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPyPDYH
 WLRTVKTTKESLVIISPSVSDLDPYDKSLHSRVFPGKCSGITVSSTYCPTNHDTIWMPEPNRPLGTSC
 DIFTNSRGKRASKGSKTCGFDERGLYKSLKGACKLKLCGVGLRLMDGTWAAIQTSDEAKWCPPDQ
 LVNIHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEDA
 HYKSVRTWNEIIPSKGCLRGGRCPHVNGVFFNGIILGPDPGHVLIPEMQSSLQQHMELLESSVIPLM
 HPLADPSTVFKDGEAEDFVEVHLPDVHKQVSGVDLGLPSWGKYVLMSVGTTLIALMLMILLTCCRKA
 NGAESIQHRLGETGRKVSVTSQNGRVISSWESYKSGGETKL[서열번호 122]

(GenPept [gbAFM52658.1](#)).

[0435] 이 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0436] SP = 1-20

[0437] 엑토도메인 = 1-458

[0438] TM = 459-478

[0439] C = 479-524

[0440] RABV GP 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0441] 엑토도메인 1-458:

MIPQTLLFVPLLVSLSLCFGKFPPIYTIKDGLGPSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMEVKVGYIS
 AIKVNGFTCTGVVTEAETYTNFVGVTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPyPDYH
 WLRTVKTTKESLVIISPSVSDLDPYDKSLHSRVFPGKCSGITVSSTYCPTNHDTIWMPEPNRPLGTSC
 DIFTNSRGKRASKGSKTCGFDERGLYKSLKGACKLKLCGVGLRLMDGTWAAIQTSDEAKWCPPDQ
 LVNIHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEDA
 HYKSVRTWNEIIPSKGCLRGGRCPHVNGVFFNGIILGPDPGHVLIPEMQSSLQQHMELLESSVIPLM
 HPLADPSTVFKDGEAEDFVEVHLPDVHKQVSGVDLGLPSWGK[서열번호 123] (GenPept

[gbAFM52658.1](#)).

[0442] 엑토도메인 마이너스 SP:

FPIYTIPDKLGPSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMEVKVGYISAIVNGFTCTGVVTEAETYTNFVGVTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPyPDYH
 WLRTVKTTKESLVIISPSVSDLDPYDKSLHSRVFPGKCSGITVSSTYCPTNHDTIWMPEPNRPLGTSCDIFTNSRGKRASKGSKTCGFDERGLYKSLKGACKLKLCGVGLRLMDGTWAAIQTSDEAKWCPPDQLVNIHDFRSDEIEHLVVEELVK
 KREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEDAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRGGRCPHVNGVFFNGIILGPDPGHVLIPEMQSSLQQHMELLESSVIPLMHPLADPSTVFKDGEAEDFVEVHLPDVHKQVSGVDLGLPSWGK[서열번호 124] (GenPept [gbAFM52658.1](#)).

[0443] 2.2.16 HSV1 Gb

[0446] 예시적 HSV1 Gb 전구체는 하기 아미노산 서열을 가진다:

MRQGAPARGCRWFVVAALLGLTLGVLVASAAPSSPGTPGVAATQAANGGPATPAPPALGAAPTGDP
 KPKKNKKPKNPTPPRPGDNATVAAGHATLREHLRDIKAESTDANFYC PPPGTATVVQFEQPRRCPTR
 PEGQNYTEGIAVVFKENIAPYKFKATMYYKDVTVSQVWFGHRYSQFMGIFEDRAPVPFEEVIDKINAKG
 VCRSTAKYVRNNLETTAFHRDDHETDMELKPANAATRTSGWHTDLKYNPSRVEAFHRYGTTVNCIV
 EEVDARSVYPYDEFVLATGDFVYMSPFYGYREGSHTEHTSYAADRFKQVDGFYARDLTTKARATAPTR
 NLLTPKFTVAWDWVPKRPSVCTMTKWQEVDEMLRSEYGGSFRSSDAISTTFTTNLTEYPLSRVDLG
 DCIGKDARDAMDRIFARRYNATHIKVGQPQYYLANGGFLIAYQPLLSNTLAELYVREHLREQSRKPPNPT
 PPPPGASANASVERIKTTSSIEFARLQFTYNHIQRHVNDMLGRVIAWCELQNHELTWNNEARKLPNA
 IASATVGRRVSARMLGDVMAVSTCPVAADNVIVQNSMRISSSRPGACYSRPLVSFRYEDQGPLVEGQL
 GENNELRLTRDAIEPCTVGHRRYFTFGGGYVYFEYAYSHQLSRADITVSTFIDLNITMLEDHEFVPLEV
 YTRHEIKDSGLLDYTEVQRRNQLHDLRFADIDTVIHADANAAMFAGLGAFFEGMGDLGRAVGKVMGI
 VGGVSAVSGVSSFMSNPFGALAVGLLVLAGLAAAFFAFRYVMRLQSNSPMKALYPLTTKELKNPTNPDA
 SGEGEGGDFDEAKLAEAREMIRYMALVSAMEHTEHKAKKKGTSAKVTDMVMRKRRNTNYTQV

[0447] PNKGDADEDL[서열번호 125] (GenPept [gbAAF04615.1](#)).

[0448] 이 서열은 하기 도메인들/모이어티들을 포함한다:

[0449] SP = 1-24

[0450] 엑토도메인 = 1-774

[0451] TM = 775-795

[0452] C = 796-904

[0453] HSV1 Gb 엑토도메인 폴리펩타이드의 비한정적 예로는 하기 엑토도메인 폴리펩타이드들이 있다:

[0454] 엑토도메인 1-774:

MRQGAPARGCRWFVVAALLGLTLGVLVASAAPSSPGTPGVAATQAANGGPATPAPPALGAAPTGDP
 KPKKNKKPKNPTPPRPGDNATVAAGHATLREHLRDIKAESTDANFYC PPPGTATVVQFEQPRRCPTR
 PEGQNYTEGIAVVFKENIAPYKFKATMYYKDVTVSQVWFGHRYSQFMGIFEDRAPVPFEEVIDKINAKG
 VCRSTAKYVRNNLETTAFHRDDHETDMELKPANAATRTSGWHTDLKYNPSRVEAFHRYGTTVNCIV
 EEVDARSVYPYDEFVLATGDFVYMSPFYGYREGSHTEHTSYAADRFKQVDGFYARDLTTKARATAPTR
 NLLTPKFTVAWDWVPKRPSVCTMTKWQEVDEMLRSEYGGSFRSSDAISTTFTTNLTEYPLSRVDLG
 DCIGKDARDAMDRIFARRYNATHIKVGQPQYYLANGGFLIAYQPLLSNTLAELYVREHLREQSRKPPNPT
 PPPPGASANASVERIKTTSSIEFARLQFTYNHIQRHVNDMLGRVIAWCELQNHELTWNNEARKLPNA
 IASATVGRRVSARMLGDVMAVSTCPVAADNVIVQNSMRISSSRPGACYSRPLVSFRYEDQGPLVEGQL
 GENNELRLTRDAIEPCTVGHRRYFTFGGGYVYFEYAYSHQLSRADITVSTFIDLNITMLEDHEFVPLEV
 YTRHEIKDSGLLDYTEVQRRNQLHDLRFADIDTVIHADANAAMFAGLGAFFEGMGDLGRAVGKVMGI
 VGGVSAVSGVSSFMSNP[서열번호 126] (GenPept [gbAAF04615.1](#)).

[0456]

액토도메인 마이너스 SP 25-775:

VLVASAAPSSPGTPGVAATQAANGGPATPAPPALGAAPTGDPKPKKNKKPKNPTPPRAGDNATVAAGHATLREHLRDIKAESTDANFYVCPPPTGATVVQFEQPRRCPTRPEGQNYTEGIAVVFKENIAPYKFKATMYYKDVTVSQVWFGHRYSQFMGIFEDRAPVPFEEVIDKINAKGVRSTAKYVRNNLETTAFHRDDHETDMELKPANAATRTSRGWHTTDLKYNPNSRVEAFHRYGTTVNCIVEEV DARS VYPYDEFVLATGDFVYMSPFYGYREGSHTEHTSYAADRFKQVDGFYARDLTTKARATAPTRNLLTPPKFTVAWDWVPKRPSVCTMTKWQEVDMLRSEYGGSFRSSDAISTTFTNLTEYPLSRVDLGDCIGKDARDAMDRIFARRYNATHIKVGQPQYYLANGGFLIAYQPLLSNTLAELYVREHLREQSRKPPNPTPPPGASANASVERIKTTSSIEFARLQFTYNHIQRHVNDMLGRVIAWCELNQHELTWNNEARLKNPNAIASATVGRVSARMLGDVMAVSTCVPVAADNVIVQNSMRISSRPGACYSRPLVSFRYEDQGPLVEGQLGENNELRLTRDAIEPCTVGHRRYFTFGGGYVYFEEYAYSHQLSRADITVSTFIDLNITMLEDHEFVPLEVYTRHEIKDSGLLDYTEVQRRNQLHDLRFADIDTVIHADANAAMFAGLGAFFEGMGLGRAVGKVVMGIVGGVSAVSGVSSFMSNP[서열번호 127] (GenPept [gbAAF04615.1](#)).

[0457]

[0458]

본 발명의 키메라 폴리펩타이드를 제조하는 데 사용되는 액토도메인 폴리펩타이드 서열은 외피 보유 바이러스 융합 단백질 내에서 천연적으로 발견될 수 있고/있거나, 천연 융합 단백질 서열에 비해 하나 이상(예를 들면, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개 또는 30개)의 단일 아미노산 돌연변이(삽입, 결실 또는 치환)를 가질 수 있다. 예를 들면, F 단백질의 푸린 절단 서열을 제거하도록 이 단백질을 돌연변이시킴으로써, 세포내 프로세싱을 방해하는 것은 공지되어 있다. 특정 실시양태에서, 액토도메인 폴리펩타이드는 SP 도메인, TM 도메인 및 C 도메인 중 어느 하나 이상을 결여하고, 임의적으로 천연 융합 단백질 서열에 비해 하나 이상(예를 들면, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개 또는 30개)의 단일 아미노산 돌연변이(삽입, 결실 또는 치환)를 함유한다.

[0459]

본 발명은 임의의 원하는 외피 보유 바이러스 융합 단백질 아미노산 서열, 예컨대, 서열번호 2 내지 127의 아미노산 서열, 또는 서열번호 2 내지 127에 대한 동일성 또는 유사성을 가진 서열을 사용할 수 있다. 전형적으로, 상기 서열은 서열번호 2 내지 127에 대한 적어도 75% 동일성 또는 유사성, 예를 들면, 서열번호 2 내지 127에 대한 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성 또는 유사성을 가질 것이다.

[0460]

2.3 대표적 키메라 폴리펩타이드 구축물

[0461]

본 발명의 키메라 폴리펩타이드의 비한정적 예는 이하에 기재되어 있다:

[0462]

2.3.1 Inf A HA 액토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MKTIIAFSCILCLIFAQKLPGSDNSMATLCLGHHAVPNGTLVKTITDDQIEVTNATELVQSSSTGRICNSPHQILDGKNCTLIDALLGDPHCDDFQNKEWDLFVERSTAYSNCYPYVPDYATLRSVLASSGNLEFTQESFNWTGVAQDGSSYACRRGSVNSFFSRLNWLYNLYKYPEQNVTPNNDKFDKLYIWGVHHPGTDKDKQTNLVQASGRIVSTKRSQQTVIPNIGSRPWVRGVSSIISIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKIQSGKSSIMRSDAHIDECNSECITPNGSIPNDKPFQNVNKITYGACPRYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWEGMVWDGWWGFRHQNSEGTGQAADLKSTQAAINQITGKLNRVIKKTNEKFHQIEKEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMSKLFERTRRQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHLLQLTVWGIQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLE[서열번호 128].

[0463]

2.3.2 Inf A HA 줄기 도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MKTIIIALSYILCLVFAQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTIIDQIEVTNATELGFGQNTLKLATGMRNVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWEGMLDGWYGRHQNSERGRGQAADLKSTQAAIDQINGMLNRLIGSGGSGEULLVALLNQHTIDLTDSEMNKLFEKTKKQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDGGRSRGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIQLQARILAGGSGHTTWEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLE[서열번호 129].

[0466]

2.3.3 Inf A H5 엑토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MGWSCIILFLVATATGVHSEDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVAQDILEKTHNGKLCDLDGVK
 PLILRDCSAGWLLGNPMCDENPVEWVSYIVEKANPVDLCPGDFNDYEELKHLLSRINHFEKIQIIP
 KSSWSSHEASLGVSSACPYQGKSSFRNVVWLIKKNSTYPTIKRSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAE
 QTKLYQNPTTYISVGTSNLQRVPRIATRSKVNGQSGRMEFFWTILRPNDAINFESNGNFIAPAYAKI
 VKKGDSIMKSELEYGNCNAKCQTPGMAGNSMPFHNIHPLTIGECPKYVKSNRVLATGLRNPQRER
 RRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGMVGDWGYHHSNEQGSGYAADKESTQKAIDGVTNKVNLSIDKMNT
 QFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDN
 AKELNGNCFEEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGSGIVQQQNNLLRAIEA
 QQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHSILIEESQNQPAKDEQELLE[서열
 번호 130].

[0467]

[0468]

2.3.4 Inf B HA 엑토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MKAIIVLLMVTSNADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVPIPLTTPTKSHFANLKGQTTRGKLC
 NCFNCTLDVALGRPKCMGNTPSAKVSLHEVKPATSGCFPIMHDRKIRQLPNLLRGYENIRLSTSNSVI
 NTETAPGGPYKVGTSSCPNVANGNGFFNTMAWVIPKDNNKTAIPVTVEPYICSEGEDQITVWGFH
 SDDKTQMERLYGDSNPQKFSSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDEGLKQSGRIIVDYMVQKPGKTGTI
 VYQRGILLPQKVCASGRSKVIGSLPLIGEADCLHEKYGGLNKSKPYTGEHAKAIGNCPIWVKTPLK
 LANGTKYRPPAKLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAHGWHGTYSHGAHVAVAADLKSTQEAINKITKN
 LNYLSELEVKNLQLRSGAMNLEHDEILEDEKVDDLRADETISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKL
 KKMLGPSAVEIGNGCFETKHKCNQTCILDRIAAGTFNAGDFSLPTFDSLNTAASLNDGDNHTGGSG
 IVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHSILIEESQNQ
 QEKENQEELLE[서열번호 131].

[0469]

[0470]

2.3.5 RSV F 엑토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
 TDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKRKRRFLGF
 LLGVGSIAISGVAVSKVLHLEGEVNVKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQK
 SCSISNIETVIEFQQKNNRLLITEFESVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
 RQQSYSIMSIIKEEVLAYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPCTTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQAETCKVQSNRVCDFTMNSLTPSEVNLNVIFNPKYDCEIMTSKTDVSSSVITSLGAIIVSCYGKT
 KCTASNKRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYVNVKQEGKSLYVKGEPINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTTNGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQL
 QARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHSILIEESQNQKEQELLE[서열번호 132].

[0471]

[0472]

2.3.6 RSV F(1-520) - HIV GP160 기반 SSM:

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
 TDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKRKRRFLGF
 LLGVGSIAISGVAVSKVLHLEGEVNVKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQK
 SCSISNIETVIEFQQKNNRLLITEFESVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
 RQQSYSIMSIIKEEVLAYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPCTTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQAETCKVQSNRVCDFTMNSLTPSEVNLNVIFNPKYDCEIMTSKTDVSSSVITSLGAIIVSCYGKT
 KCTASNKRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYVNVKQEGKSLYVKGEPINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAG
 GSGGGHTTWEWDREINNYTSIHSILIEESQNQPAKDEQELLE[서열번호 147].

[0473]

[0474] 2.3.7 RSV F(1-520) – DScav 돌연변이 – HIV GP160 기반 SSM:

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
 TDAKVKLICKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKNTVTLSSLKRRFLGF
 LLGVGSIAISGVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTFVKVLDLKNYIDKQLLPILNKQ
 SCSISNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
 RQQSYSIMCIKEEVLAYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQAETCKVQSNSRVFCDTMNSLTPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT
 KCTASNKNRGIIKTFNSNGCDYVSNKGVDTSVGNTLYVNKQEGKSLYVGEPINFYDPLVFPSEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQTVWGIKQLQARILAG
 GSGGGHTTWEWDREINNYTSIHSLEEESQNQPAKDEQELLE[서열번호 150].

[0475]

[0476] 2.3.8 hMPV F 엑토도메인 – HIV GP160 기반 SSM

MSWKVVIIFSLLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVRLTGWYTNVFTLEVGDVENLTCADGPSLIKTEL
 DLTKSALRELRTVSADQLAREEQIENPRQSRFVLGAIALGVATAAAVTAGVIAKTIIRLESEVTAKNALK
 KTNEAVSTLNGNGVRVLATARELKDFVSKNLTRAINKNKCDIADLKMAVSFSQFNRRFLNVVRQFSDN
 AGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSAGQIKLMLENRAMVRRKGFGILIGVYGSIVYMVQLPIFGVID
 TPCWIVKAAPSCSEKKGNAYCALLREDQGWYCQNAGSTVYPNEKDCETRGDHVFCDTAAGINVAEQS
 KECHNINISTTNYPCKVSTGRHPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGNSNRVGIIKQLNKGCSYITNQDADT
 VTIDNTVYQLSKVGEQHVIKGRPVSSSDPVPKFEDQFVALIDQVFESIENSQALVDQSNRILSSAEK
 GNTGGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQTVWGIKQLQARILAGGGGGHTTWEWDREINNYTSIHS
 LIEESQNQQEKEQELLE[서열번호 133].

[0477]

[0478] 2.3.9 PIV F 엑토도메인 – HIV GP160 기반 SSM

MPTSIILLIITTMIMASFCQIDITKLQHVGVLVNSPKGMKISQNFETRYLILSLIPKIEDNSCGDQQIKQY
 KRLLDRLLIPLYDGLRLQKDIVSNQESNENTDPRTKRFFGGVIGTIALGVATSAQITAALVEAKQAR
 SDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIKSVQDVYVNKEIVPSIARLGCEAAGLQLGIALTQHYSELTN
 IFGDNIGSLQEKGIGLQGIASLYRTNITEIFTTSTVDKYDIYDLLFTESIKVRVIDVDLNDYSITLQVRLPLL
 TRLLNTQIYKVDSISYNIQNREWIYIPLPSHIMTKGAFLGGADVKECIEAFSSYICPSDPGFVLNHEMES
 LSGNISQCPRTVVTSDIVPRYAFVNGGVVANCITTTCTCNGIGNRINQPPDQGVKIITHKECNTIGINGM
 LFNTNKEGTЛАFYTPNDITLNNSVALDPIDISIELNKAKSDEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSSTTG
 GSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQTVWGIKQLQARILAGGGGGHTTWEWDREINNYTSIHSLEEES
 QNQQEKEQELLE[서열번호 134].

[0479]

[0480] 2.3.10 MeV F 엑토도메인 – HIV GP160 기반 SSM

MGLKVNVSIAIFMAVLLTQPTGQIHWNLSKIGVVGIGSASYKVMTRSSHQSLVIKLMNPNTLLNNCT
 RVEIAEYRLLLRTVLEPIRDALNAMTQNIRPVQSVASSRRHKRFAGVVLAGAALGVATAAQITAGIALHQ
 SMLNSQAIDNLRASLETTNQAIEMAILQAGQEMILAVQGVQDYINNELIPSQMNQLSCDLIGQKGLKLLRY
 YTEILSLFGPSLRDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILESRGIKARITHVDTESYLIVLS
 IAYPTLSEIKGVIVHRLEGVSYNIGSQEWYTTVPKYVATQGYLISNFDESSCTFMPGETVCSQNALYPMS
 PLLQECLRGSTKSCARTLVSGSGNRFILSQGNLIANCASILCKCYTTGTIINQDPDKILTYIAADHCPVV
 EVNGVTIQVGSSRRYPDADVYLHRIDLGPILLERLDVGTNLGNAIAKLEDAKELLESSDQILRSMKGLSST
 GGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQTVWGIKQLQARILAGGGGGHTTWEWDREINNYTSIHSLEEES
 SQNQQEKEQELLE[서열번호 135].

[0481]

[0482] 2.3.11 HeV F 엑토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MATQEVRKLCLCGIIVLVSLEGLGILHYEKLSQLIGLVKGTRKYKIKSNPLTKDIVIKMIPNVNSVSKCT
GTVMENYKSRLTGILSPIKGAIELYNNNTHDLVGDVKLAGVVMAGIAIGIATAAQITAGVALYEAMKNA
DNINKLKSSIESTNEAVVKLQETAEKTVVLTALQDYINTNLVPTIDQISCKQTELALDLALKYLSDLLF
VFGPNLQDPVSNMSMTIQAISQAFGGNYETLLRTLGYATEDFDDLLESDSIAGQIVYVDLSSYYIIVRVYFP
ILTEIQQAYVQELLPVSFNNDNSEWISIVPNFVLIRNTLISNIEVKYCLITKKSVICNQDYATPMTASVREC
LTGSTDKCPRELVSSHVPRFALSGGVLFANCISVTCQCQTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCTVVLGNI
IISLGKYLGSINYNSEIAVGPPVYTDKVDISSQISSMNQLQSKDYIKEAQKILDtvNPSSGGSGIVQQ
QNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWMEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNE
EQELLE[서열번호 136].

[0483] 2.3.12 NiV F 엑토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MVVILDKRCYCNCLLILMISECSVGILHYEKLSQLIGLVKGTRKYKIKSNPLTKDIVIKMIPNVNSMSQC
TG SVMENYKTRLNGILTPIKGALEIYKNNTHDLVGDVRLAGVIMAGVAIGIATAAQITAGVALYEAMKNA
DNINKLKSSIESTNEAVVKLQETAEKTVVLTALQDYINTNLVPTIDKISCKQTELSDLALKYLSDLLFV
FGPNLQDPVSNMSMTIQAISQAFGGNYETLLRTLGYATEDFDDLLESDSITQIIYVDLSSYYIIVRVYFPIL
TEIQQAYIQELLPVSFNNDNSEWISIVPNFILVRNTLISNIEIGFCLITKRSVICNQDYATPMTNNMRECLT
GSTEKCPRELVSSHVPRFALSNGVLFANCISVTCQCQTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCPTAVLGNVII
SLGKYLGSVNYSSEGIAIGPPVFTDKVDISSQISSMNQLQSKDYIKEAQRLLDtvNPSSGGSGIVQQ
NNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWMEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNE
QELLE[서열번호 137].

[0484] 2.3.13 HIV GP160 엑토도메인 - RSV F 기반 SSM

MRVMGIERNYPCWWTWGIMILGMIIICNTAENLWVTVYYGVPWKDANTTLFCASDAKAYDTEVHN
WATHACVPTDPSQELKMENVTEEFNMWKNNMVEQMHTDIISLWDQSLKPCVQLTPLCVTLDCSYNI
TNINITNSITNSSVNMRREEIKNCFSNMTTELDRDKNRKVSLFYKLDVVQINNGNNSSNLYRILNCNTSAL
TQACPKVTFEPPIHYCAPAGYAILKCNDKEFNGTGLCKNVSTVQYTHGIRPVVSTQLLNGLAEGKVM
IRSENITNNVKNIIQLNESVTINCRPNNNRRSRVIRGPQTFYATGDIIGDIRQAHCNVSGSQWNKT
LHQVVEQLRKYWNNTIIFNSSGGDLEITTHSFNCAGEFFYCNTSGLFNSTWNGTTSSMSNGTITLP
CRIKQIINMWQRVGQAMYAPPIQGVICKCESNITGLITRDGGVNSSDSETFRPGGGDMRDNRSELYK
YKVVKIEPLGVAPTKARRRVVEREKRAVTGAVFIGFLGTAGSTMGAWSITLTQARKLLSGIVQQQSNL
LRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARVLAYERLDRDQQLGIWGCSGKLCPTNVPWNSSWSNKLDEIW
ENMTWLQWDKEISNYTIKIYELIEESQIQQERNEKDLELDKWASLWNWFDISKWLWYIKGGGVNKIK
SALLSTNKAVVSLNSNGVSVLTSKVLDLKGGGGHHHHGGFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHN
[서열번호 138].

[0485] 2.3.14 EBOV GP 엑토도메인, 마이너스 뮤신 유사 도메인(1-311,462-650)- HIV GP160 기반 SSM

MGVTGILQLPRDRFKRTSFLWVIIIFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNL
EGNGVATDVPSATKRWGFRSGVPPKVNVEAGEWAENCYNLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYV
HKVSGTGPCAGDFAHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKDFFSSHPLREPVNATED
PSSGYYSTTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTYVQLESRFTPQFLLQLNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNP
EIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIRSEELSFTVVGNNNTHHQDTGEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGG
RRTRREAIVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPIFGPAAEGIYIEGLMHNQDGLICGLRQLANET
TQALQLFLRATTRELTSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCIEPHDWTKNITDKIDQIHFVDKTL
DQGDNDNWWWTGWRQGGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWME
WDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNEQELLE[서열번호 139].

[0490] 2.3.15 MARV GP 엑토도메인, 마이너스 뮤신 유사 도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MKTTCFISLILIQGTKNLPILEIASNNQPQNVDSVCSTQLQKTEDVHLMGFTLSQQVKADSPLEASKR
 WAFRGVPPKNVEYTEGEEAKTCYNISVTDPGKSLLDPPTNIRDYPKCKTIHHIQGQNPHAGIALHL
 WGAFFFLYDRIASTTMYRGKVFTEGNIAAMIVNKTVHKMIFSRQGQGYRHMNLSTNKYWTSSNGTQT
 NDTGCFGALQEYNSTKNQTCAPS KIPPLPTARPEIKLGGAQHLVYFRRKRSILWREGDMFPFLDGLINA
 PIDFDPPVNTKTIFDESSSSGASAEEQHASNLSLTSLYFPNINENTAYSGENENDCAELRIWSVQE
 DDLAAGLWSWIPFFPGPIEGLYTAVLIKQNQNNLVCRLLRANQTAKSLELLLRVTTEERTFSLINRHAI
 LTRWGGETCKVLGPDCIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSDWGGSGIVQQQN
 NLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSQGGHTWMWEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQ
 ELLE[서열번호 140].

[0491]

2.3.16 SARS-CoV S 엑토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MFIFLLFLTLTSGSDLDRCTTFDDVQAPNYTQHTSSMRGVYYPDEIFRSDTLYLTQDLFLPFYSNVTGFH
 TINHTFGNPVIPFKDGIYFAATEKSNNVRGVVFGSTMNNKSQSIIINNSTNVIRACNFELCDNPFFAV
 SKPMGTQTHTMIFDNAFNCTFEYISDAFSLDVSEKSGNFKHLREFVFKNDGFLVYKGYQPIDVVRDL
 PSGFNTLKPIFIKLPLGINITNFRAILTAFSPAQDIWGTSAAYFVGYLKPTTFMLKYDENGTTDAVDCSQ
 NPLAELKCSVKSFEIDKGIVYQTSNFRVPSGDVVRFPNITNLCFGEVFNATKFPSVYAWERKKISNCVA
 DYSVLYNSTFFSTFKCYGVSATKLNDLCSNVYADSFVKGDDVRQIAPGQQTGVIADYNKLPDDFMG
 CVLAWNTRNIDATSTGNYYKRYRLRGKLRPFERDISNVPFSPDGKPCPPALNCYWPLNDYGFYTT
 GIGYQPYRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTDLIKNCVNFNGLTGTGVLTSSKRFQPFQQFGRDVS
 DFTDSVRDPKTSEIDISPACFGGSVITPGTNASSEAVLYQDVNCTNVSAAIADQLTPAWRIYSTG
 NNVFTQAGCLIGAEHVDTSYECDIPIGAGICASYHTSLLSTSQKSIVAYTMSLGADSSIAYSNNIA
 IPTNFSISITTEVMPVSMAKTSVDCNMYICGDSTECANLLLQYGSCTQLNRALSGIAAEQDRNTREVFA
 QVKQMYKPTLKYFGGFNFSQILPDPLKPTKRSFIEDLLFNKVTLAGFMKQYGECLGDINARDLICAQ
 KFNGLTVLPPLLDDMIAAYTAALVSGTATAGWTFGAGAAQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQK
 QIANQFNKAISQIQESLTTSTALGKLQDVNNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAE
 VQIDRLITGRLQLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSPQAA
 VVFLHVTYVPSQERNFTTAPACHEGKAYFPREGVFVNGTSWFITQRNFFSPQIITTDNTFVSGNCVV
 IGIINNTVYDPLQPELDSFKGELDKYFKNHTSPDVLDGDISGINASVNNIQQKEIDRLNEAKNLNESLIDL
 QELGKYEQYIKWPWVWGGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSQGGHTWM
 EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLE[서열번호 141].

[0493]

[0494]

2.3.17 MERS-CoV S 엑토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MIHSVFLMFLPTESYDVGPDSVKSACIEVDIQQTFFDKTWPRPIDVSKADGIIYPQGRRTYSNITITY
 QGLFPYQGDHGDMYVYSAGHATGTPQKLFVANYSQDVQFANGFVRIGAAANSTGTVIISPSTSAT
 IRKIYPAFMLGSSVGNFSDGKMGRRFNHTLVLLPDGCGLRAFYCILEPRSGNHCPAGNSYTSFATYHT
 PATDCSDGNYNRNASLNSFKEYFNLRNCTFMYTINYTEDEILEWFGITQTAQGVHLFSSRYVDLYGGNM
 FQFATLPVYDTIKYYSIIPHRSIRSIQSDRKAWAAFYVYKLQPLTFLLDFSDGYIRRайдCGFNDLSQLHC
 SYESFDVESGVYSSFEAKPGSVEAQEGVECDFSPILLSGTTPQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFS
 VNDFTCSQISPAIAASNCYSSLILDYFSYPLSMKSDLGVSSAGPISQFNYKQSFSNPTCLLATVPHNLTT
 ITKPLKSYINKCSRLLSDDRTEVPQLVNANQYSPCVSIVPSTVWEDGDYRKQLSLEGGGWLVASGS
 TVAMTEQLQMGFGITVQYGTDTNSVCPLKFANDTKIASQLGNCVEYSLYGVSGRGVFQNCTAVGVRQ
 QRFVYDAYQNLVGYSDDGNYYCLRACSVSPVSVIYDKEKTHATLFGSVACEHISSTMSQYSRSTRS
 MLKRRDSTYGPLQTPVGCVLGLVNSSLFVEDCKLPLGQSLCALPDTPLTRPSRSVPGEMLASIAFN
 HPIQVDQFNSSYFKLSIPTNFSFGVTQEYIQTTLQKVTVDCKQYICNGFQKCEQLLREYGQFCSKINQAL
 HGANLRQDDSVRNLFASVKSSQSSPIPGFGGDFNLTLLEPVSISTGSRSARSAIEDLLFDKVTIADPGY
 MQGYDDCMQQGPASARDLICAQYVAGYKVLPPMDVNMEAAYTSSLLGSIAGVGWTAGLSSFAIPFA
 QSIFYRLNGVGITQQVLSHQNKLIANKFNQALGAMQTGFTTNEAFRKVQDAVNNAQALKASELS
 NTFGAISASIGDIIQRDVLEQDAQIDRLINGRLTLNAFVAQQLVRSESAALSAQLAKDKVNECVKAQ
 SKRSGFCGQGTHIVSFVVNPNGLYFMHVGYPSNHEVVSAYGLCDAANPTNCIAPVNGYFIKTNTR
 IVDEWSYTGSSFSPEPITSLNTKYVAPQVTYQNISTNLLPPLGNSTGIDFQDELDEFFKNVSTSIPNFG
 SLTQINTTLLDLTYEMLSLQQVVKALNESYIDLKELGNYTYYNKWPWYIWLGGSGIVQQQNLLRAIEA
 QQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNEQELLE[서열
 번호 142].

[0495]

2.3.18 VSV G 엑토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MKCLLYLAFLFIGVNCKFTIVFPHNQKGWNKVNPSNYHYCPSSDLNWHNDLIGTAIQVKMPKSHKAI
 QADGWMCHASKWVTTCDFRWYGPKYITQSIRSFTPSVEQCKESIEQTQKQGTWLNPQFPPQSCGYATV
 TDAEAIVQVTPHHVLVDEYTGEWVDSQFINGKCSNYICPTVHNSTWHSDYKVKGLCDSNLISMDIT
 FFSEDEGELSSLGKEGTGFRSNYFAYETGGKACKMQYCKHWGVRLPSGVWFEMADKDLFAARFPECP
 EGSSISAPSQTSDVSLIQLDVERILDYSLCQETWSKIRAGLPISPVDLSYLAPKNPGTGPFTAINGTLKY
 FETRYIRVDIAAPILSRMVGGMISGTTTERELWDDWAPYEDVEIGPNGVLRSSGYKFPLYMIGHGMLDS
 DLHLSSKAQVFEHPhiQDAASQLPDESLLFGDTGLSKNPIELVEGFSSWKGGSGIVQQQNLLRAI
 EAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNEQELLE[서
 열번호 143].

[0497]

2.3.19 RABV GP 엑토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MIPQTLLFVPLLVSLSLCFGKFPYTIPIDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMEKVGYIS
 AIKVNGFTCTGVVTEAETYTNFVGYVTTFKRKHFRTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYPDYH
 WLRTVKTTKESLVIISPSVSDLDPYDKSLHSRVFPSGKCSGITVSSTYCPTNHDTIWMPPENPRLGTSC
 DIFTNSRGKRASKGSKTCGFDERGLYKSLKGACKLKGVLGLRLMDGTWAAIQTSDAEKWCPPDQ
 LVNIHDTRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEDA
 HYKSVRTWNEIIPSKGCLRGGCRPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLQQHMELESSVIPLM
 HPLADPSTVFKDGDEAEDFVEVHLPDVHKQVSGVDLGLPSWGKGGSGIVQQQNLLRAIEAQQHLLQ
 LTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNEQELLE[서열번호
 144].

[0499]

[0500]

2.3.20 HSV1 Gb 엑토도메인 - HIV GP160 기반 SSM

MRQGAPARGRRWFVVAALLLTLGVLVSAAPSSPGPGVAAATQAANGGPATPAPPAPGAPPTGDP
 KPKKNKKPKPPKPPRAGDNATVAAGHATLREHLRDIKAENTDANFYVCPPPTGATVVQFEQPRRCPTR
 PEGQNYTEGIAVVFKENIAPYKFATMYYKDVTVSQVWFGHRYSQFMGIFEDRAPVPFEEVIDKINAKG
 VCRSTAKYVRNNLETTAFHRDDHETDMELKPANAATRTSRGWHTDLKYNPSRVEAFHRYGTTVNCIV
 EEVADARSVYPYDEFVLATGDFVYMSPFYGYREGSHTEHTSYAADRFKQVDGFYARDLTTKARATAPTR
 NLLTPPKFTVAWDWVPKRPSVCTMTKWQEVDMLRSEYGGSFRSSDAISTTFTTNLTEYPLSRVDLG
 DCIGKDARDAMDRIFARRYNATHIKVGQPQYYLANGGFLIAYQPLLSNTLAELYVREHLREQSRKPPNPT
 PPPPGASANASVERIKTTSSIEFARLQFTYHICRHVNNDMLGRVIAIWCELQNHELTWNNEARKLNPNA
 IASATVGRVSARMLGDVMAVSTCPVAADNVIVQNSMRISSRPGACYSRPLVSFRYEDQGPLVEGQL
 GENNELRLTRDAIEPCTVGHRRYFTFGGGYVYFEYAYSHQLSRADITTVSTFIDLNTMLEDHEFPLEV
 YTRHEIKDSGLLDYTEVQRNNQLHDLRFADIDTVIHADANAAMFAGLGAFFEGMDLGRAVGKVMGI
 VGGVSAVSGVSSFMSNPGGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTW
 MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQUELLE[서열번호 145].

[0501]

2.4 보편적인 올리고머화 도메인으로서의 구조 안정화 모이어티의 사용

[0502]

구조 안정화 모이어티는 융합 후 입체구조로의 재배열에 대해 본 발명의 엑토도메인 폴리펩타이드를 안정화시키는 데 유용할 뿐만 아니라, 관심 있는 임의의 이종 분자를 올리고며, 특히 삼량체로 올리고머화하기 위한 보편적인 올리고머화 도메인(UOD)으로서도 유용하다. 특정 실시양태에서, UOD는 이종 단백질성 분자의 업스트림 또는 다운스트림에서 융합되어 키메라 폴리펩타이드를 형성한다. 전형적으로, UOD는 이종 단백질성 분자의 다운스트림에서 융합된다. 본원에 기재된 엑토도메인 실시양태와 마찬가지로, UOD의 상보적 헵타드 반복부들을 이들의 회합에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 회합하는 것은 삼량체화하여 매우 안정한 6-나선 다발을 형성함으로써, 삼량체성 폴리펩타이드 복합체를 형성하기 위한 키메라 폴리펩타이드의 삼량체화를 가능하게 하는 역행 2-나선 다발의 형성을 야기한다.

[0504]

이종 단백질성 분자는 천연 또는 비천연 폴리펩타이드일 수 있다. 일부 실시양태들에서, 이종 폴리펩타이드는 치료 폴리펩타이드이거나 치료 폴리펩타이드를 포함한다. 다양한 질환들의 치료에 유용한, 리간드 및 수용체 둘다를 포함하는 매우 다양한 치료 폴리펩타이드들이 당분야에서 공지되어 있다. 공지되어 있는 표적의 다양한 예들 및 치료 폴리펩타이드에 대한 적응증이 표 8에 제시되어 있다.

표 8

펩타이드 표적	적용증	명칭/회사
	종양학	
GNRH 수용체	완화적 전립선암 치료	류프로렐린(Leuprorelin)/타케다(Takeda) 히스터렐린(Histrelin)/밸레라 고세렐린(Valera Goserelin)/아스트라제네카(AstraZeneca)
CXCR4 길항제	줄기 세포 이동제, NHL, MM 간세포 암종	모조빌(Mozobil)/아노르메드 인코포레이티드(AnorMED Inc)(현재 젠자임(Genzyme)) CTCE-9908/케모카인 케라퓨틱스(Chemokine Therapeutics)
인테그린 알파 V-베타 3 길항제	머리 및 목, 교모세포종	실렌기타이드(Cilengitide)/머크(Merck)
안지오포이에틴 수용체 키나제 길항제	유방, 난소, 신장 세포 암종	AMG-386 펩티바디(peptibody)/암젠(Amgen), 타케다
IGF1-R 길항제	간세포 암종	알로스테라 파미슈티칼스(Alloster Pharmaceuticals)
가스트린 방출 펩타이드 수용체 bFGF	염증, 암, 항-혈관신생 다양한 암들	아카데믹(Academic)
젤라티나제 억제제	암	CTT 테크놀로지스(Technologies)
GCSFR 아고니스트	호중구감소증	제마타이드(Gematide)/아피맥스(Affymax)
각질세포 GFR	점막염	케라타이드(Keratide)/아피맥스
VEGF-R2/c-met 수용체	암	다이아스(Dyax)로부터의 디펩타이드
	자가면역	
TPO	ITP	엔플레이트 펩티바디(Nplate peptibody)/암젠(Amgen)
GLP-2 유사체	크론 전장염	테두글루타이드(Teduglutide)/NPS 알렐릭스(Allelix)
Treg	MS	코파손(Copaxone)/테바(Teva)
GPCR 아고니스트	다양한	컴퓨жен(Compugen)
	당뇨병	
GLP-1 유사체 /R 아고니스트		GLP-1 (7-37)/바이오렉시스 화이자(Biorexus Pfizer) 엑세나타이드(Exenatide)/아밀린(Amylin) 리라글루타이드(Liraglutide)/노보 노르디스크(Novo Nordisk) ZP10/질란드(Zealand) 파마(Pharma)/사노피-아바네티스(Sanofi-Avanetis) 프람리니타이드(Pramlinitide)/아밀린
전구체도 펩타이드		큐어디엠(CureDM)
글루카곤 길항제		글루카곤
	비만	PYY/다수의 회사들 옥신토모듈린 TKS-1225/티아키스(Thiakis)/와이어쓰(Wyeth)
옥신토모듈린 EPO	빈혈성 만성 신장 질환	헤마타이드(Hematide)/아피맥스(Affimax)

칼시토닌 PH 수용체	골다공증	캡시토닌(Capsitonin)/골 의학적 테리파라타이드(Teriparatide)/릴리(Lilly)
	심혈관	
BNP	울혈성 심부전	네시리티아이드(Nesiritide)/스시오스(Scios)
IIb/IIa 길항제	심근경색	엠티피비타이드(Eptifibatide)/COR 쇄라퓨틱스(Therapeutics)/쉐링 플로우(Schering Plough)
트롬빈 억제제	혈전증, 혀혈성 심장 질환	비발리루딘(Bivalirudin)/TMC/쉐러(Scherrer)
브라디카닌 B2 길항제	유전성 혈관부종	이카티반트(Icatibant)/헥스트(Hoechst)
GAP 연접 조절제	심장 부정맥	로티갑타이드(Rotigaptide)/질란드/와이어쓰
FPLRG1 아고니스트	재판류 손상	컴퓨젠
BNP/ANP	울혈성 심부전	이중특이적/아카데믹(Academic)
	말단비대증	
소마토스타틴 수용체 아고니스트	말단비대증 및 신경내분비암	옥트레오타이드(Octreotide)/발레라 파마슈티칼스 란레오타이드(Valera Pharmaceuticals)/입센(Ibsen)
	야뇨증	
바소프레신 V1 아고니스트		데스모프레신(Desmopressin)/오펜 쇄라퓨틱스(Orphan Therapeutics)/립프레신 터립프레신(Lypressin Terlipressin)/오펜 쇄라퓨틱스
	산통	
옥시토신 길항제	조산을 중단시킴	레토시반(Retosiban)/GSK/ 아토시반(Atosiban)/페링(Ferring)
	항바이러스	
HIV 융합 단백질 차단제	HIV	엔푸비 라타이드(Enfuvirtide)/로슈(Roche)
면역자극	HepC, Hep C	티말파신(Thymalfasin)/리젤팔리스(RegeneRx) SCV-07/스시클론(SciClone)
CXCR4 길항제	HIV	아노르메드 인코포레이티드(현재 젠자임)
CCR5 길항제	HIV	
CXCR4/CCR5 이중특이적	HIV	젠자임
	항균	
	스타필로코커스 아우레우스	답타마이신 바시트라신(Daptamycin Bacitracin)
	안질환	그라미디신(Gramidicin)/바슈&롭 콜리스틴((Bausch&Lomb Colistin) 페시가난(Pexiganan) 오미가난(Omiganan)
	스타필로코커스 아우레우스	소마(Xoma)-629
글리코포린 길항제	밀라리아	아카데믹
	CNS	
노르에피네프린 수송자 길항제	중증 만성 통증	코노톡신(Conotoxin)/제놈(Xenome)
	항우울제	네미피타이드(Nemifitide)

[0506]

포르밀 웨타이드 수용체 유사 1 아고니스트/길항제	COPD	다양한 아카데mic스, 바이엘(Bayer) 2003 특허
IL4/IL 13 길항제 프로키네티신 수용체-1 및 프로키네티신 수용체-2	천식	시네어젠 아카데믹(Synairgen Academic)

[0507]

본 발명의 UOD는 예를 들면, 특히 CD1a-e, CD2(LFA-2), CD2R, CD3 γ, CD3 δ, CD3 ε, CD4-7, CD8a, CD8b, CD9, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CDw12, CD13, CD14, CD15, CD15s, CD15u, CD16a(Fc γ RIIIA), CD16b(Fc γ RIIIB), CDw17, CD18(인테그린 β2), CD19-28, CD29(인테그린 β1), CD30, CD31(PE-CAM-1), CD32(Fc γ RII), CD33(Siglec-3), CD34-41, CD42a-d, CD43, CD44, CD44R, CD45, CD45RA, CD45RB, CD45RO, DC47, CD47R, CD48, CD49a-f(VLA-1-6), CD50(ICAM-3), CD51, CD52, CD53, CD54(ICAM-1), CD55, CD56(N-CAM), CD57, CD58(LFA-3), CD59, CD60a-c, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD63, CD64, CD65, CD65s, CD66a-f, CD68, CD69, CD70, CD71,

CD72, CD73, CD74, CD75, CD75s, CD77, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, DC83, CDw84, CD85, CD86-CD91, CDw92, CD93, CD94-CD99, CD99R, CD100-CD106, CD107a, CD107b, CD108-CD112, CDw113, CD114(G-CSFR), CD115(M-CSFR), CD116, CD117, CD118, CDw119, CD120a, CD120b, CD121a(IL-1R I형), CDw121b(IL-1R, II형), CD122(IL-2R β), CDw123(IL-3R), CD124(IL-4R), CDw125(IL-5R), CD126(IL-6R), CD127(IL-7R), CDw128, CDw128b(IL-8R β), CD129(IL-9R), CD130(IL-6R β), CDw131, CD132, CD133, CD134(Ox-40), CD135-CD139, CD140a(PDGFR α), CD140b(PDGFR β), CD141-CD144, CDw145, CD146, CD147, CD148, CD15, CD151, CD152(CTLA-4), CD153(CD30L), CD154(CD40L), CD155, CD156a-c, CD157, CD158a, CD158b, CD159a, CD159c, CD160, CD161, CD162, CD162R, CD163, CD164, CD165, CD166, CD167a, CD168, CD169, CD170, CD171, CD172a, CD172b, CD172g, CD173, CD174, CD175, CD175s, CD176, CD178(FasL), CD179a, CD179b, CD180, CD181(CXCR1), CD182(CXCR2), CD183(CXCR3), CD184(CXCR4), CD185(CXCR5), CDw186(CXCR6), CD191(CCR-1), CD192(CCR2), CD193(CCR3), CD194(CCR4), CD195(CCR5), CD196(CCR6), CD197(CCR7), CDw198(CCR8), CDw199(CCR9), CD200(Ox-2), CD201, CD202b, CD203c, CD204(대식세포 스캐빈저 R), CD207(란게린(Langerin)), CD208(DC-LAMP), CD209(DC-SIGN), CDw210(IL-10R), CD212(IL-12-R β 1), CD213a1(IL-13-R α 1), CD213a2(IL-13-R α 2), CDw217(IL-17-R), CDw218a(IL-18R α), CDw218b(IL-18R β), CD220(인슐린-R), CD221(IGF-1R), CD222(IGF-II R), CD223-234, CD235a(글리코포린 A), CD235ab(글리코포린 A/B), CD235b(글리코포린 B), CD236(글리코포린 C/D), CD236R(글리코포린 C), CD238, CD239, CD240CE, CD240D, CD241-CD249, CD252(Ox40L), CD254(RANKL), CD256(APRIL), CD257(BAFF), CD258(LIGHT), CD261(TRAIL-R1), CD262(TRAIL-R2), CD263(DcR1), CD264(DcR2), CD256(RANK), CD266(TWEAK-R), CD267(TACI), CD268(BAFFR), CD269(BCMA), CD271(NGFR), CD272(BTLA), CD273(PD-L2), CD274(PD-L1), CD275(B7-H2), CD276(B7-H3), CD277, CD278(ICOS), CD279(PD1), CD280, CD281(TLR1), CD282(TLR2), CD283(TLR3), CD284(TLR4), CD289(TLR9), CD292, CDw293, CD294, CD295(렙틴R), CD296, CD297, CD298(Na⁺/K⁺-ATPase β 3 서브유닛), CD299(L-SIGN), CD300a, CD300c, CD300e, CD301-CD307, CD309(VEGF-R2), CD312, CD314-322, CD324, CDw325, CD326, CDw327, CDw328, CDw329, CD331-CD337, CDw338, CD339, B7-H4, Xedar, CCR10, CCR11, CX3CR1, 케모카인 유사 수용체-1(ChemR23), 보체 수용체, DARC, IL-11R, IL-12R, IL-13R, IL-15R, IL-20R, IL-21R, IL-22R, IL-23R, IL-27R, IL-28R, IL-31R, XCR1, CX3CR1, 케모카인 결합 단백질 2(D6), 인터페론 수용체, 백혈구 관련 Ig 유사 수용체 패밀리, LILRC1 및 LILRC2를 포함하는 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 패밀리, 류코트리엔 수용체, LAMP, 네틴 유사 단백질 1-4, IgSF8, 면역글로불린 유사 전사체 패밀리 LT1-6, EDAR, 간질 유래 인자(SDF), 흉선 간질 림포포이에틴 수용체, 에리쓰로포이에틴 수용체, 트롬보포이에틴 수용체, 표피 성장 인자 수용체, 섬유모세포 성장 인자 수용체 FGF1-4, 간세포 성장 인자 수용체(HGF-R), epaCAM, 인슐린 유사 성장 인자 수용체 IGF1-R 및 IGF2-R, 피브로넥틴, 피브로넥틴 류신 풍부 막횡단 단백질 FLRT1-3, Her2, 3 및 4, CRELD1 및 2, 8D6A, 지단백질 수용체(LDL-R), C형 렉틴 유사 패밀리 구성원, 예컨대, CLEC-1, CLEC-2, CLEC4D, 4F, 및 렉틴(Dectin) 1 및 2, 레이일린(layilin), 성장 호르몬 수용체, 프로락틴 방출 호르몬 수용체(PPRP), 코르티코트로핀 방출 호르몬 수용체(CRHR), 여포 자극 호르몬 수용체(FSHR), 고나도트로핀 방출 호르몬 수용체(GNRHR), 티로트로핀 방출 호르몬 수용체(TRHR), 소마토스타틴 수용체 SSTR1-SSTR5, 바소프레신 수용체 1A, 1B, 2, 옥시토신 수용체, 황체형성 호르몬/유모생식선자극호르몬(choriogonadotropin) 수용체(LHGR), 티로트로핀 수용체, 심방나트륨 인자 수용체 NPR1-3, 아세틸콜린 수용체(AChR), 칼시토닌 수용체(CT), 콜레시스토키닌(Cholecystokinin) 수용체 CCKAR 및 CCKBR, 혈관작용성 장 웹타이드 수용체 VPAC1 및 2, δ-오피오이드 수용체, κ-오피오이드 수용체, μ-오피오이드 수용체, σ 수용체 σ 1 및 σ, 칸나비노이드 수용체 R1 및 2, 안지오텐신 수용체 AT1-4, 브라디키닌 수용체 V1 및 2, 타카기닌 수용체 1(TACR1), 칼시토닌 수용체 유사 수용체(CRLR), 갈라닌(galanin) 수용체 R1-3, GPCR 뉴로펩타이드 수용체 뉴로펩타이드 B/W R1 및 2, 뉴로펩타이드 FF 수용체 R1 및 R2, 뉴로펩타이드 S 수용체 R1, 뉴로펩타이드 Y 수용체 Y1-5, 뉴로텐신 수용체, I형 및 II형 액티빈 수용체, 액티빈 수용체 유사 키나제(Alk-1 및 Alk-7), 베타글리칸, BMP 및 액티빈 막 결합된 억제제(BAMBI), 크립토(cripto), Trk 수용체 TrkA, TrkB, TrkC, AXL 수용체 패밀리, LTK 수용체 패밀리, TIE-1, TIE-2, Ryk, 뉴로필린(Neuropilin) 1, Eph 수용체 EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHA9, EPHA10, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB5, EPHB6, 멜라노코르틴(melanocortin) 수용체 MC-3 및 MC-4, AMICA, CXADR, 코르티코트로핀 방출 호르몬 결합 단백질, 클래스 I 제한된 T 세포-회합된 분자, MHCⅠ, MHCⅡ, 암포테린에 의해 유도되는 유전자 및 ORF(AMIGO), APJ, 아시알로당단백질(asialoglycoprotein) 수용체 1 및 2(ASGPR), 뇌 특이적 혈관신생 억제제 3(BAI-3), 기저 세포 부착 분자/루테란(Lutheran) 혈액 군 당단백질(BCAM/Lu), 캐드헤린, CDCP1, 낭성 섬유증 막횡단 전도도 조절제 MRP-7, 콘드로렉틴(condrolectin), 폐 서팩틴(surfactin), 클라우딘(claudin), ANTHR2, 콜라겐, 보체 수용체, 콘택틴(contactin) 1-6, 쿠불린(cubulin), 엔도글리칸, EpCAM(상피 세포 부착 분자), 내피 단백질 C 수용체(EPCR), Eph 수용체, 글루카곤 유사 웹타이드 수용체 GLP-1R 및 2R, 글루타메이트 수용체, 글루코스 수송제, 글리신 수

용체, 글리피칸, G-단백질 커플링된 담즙산 수용체, G-단백질 커플링된 수용체 15, KLOTHO 패밀리 구성원, 렙틴 수용체, LIMPII, LINGO, NOGO, 램프관 내피 히알루로난 수용체 1(LYVE-1), 골수 억제 C형 렙틴 유사 수용체 CLEC12A, 네오게닌(neogenin), 네프린(nephrin), NETO-1, NETO-2, NMDA 수용체, 오피오이드 결합 세포 부착 분자, 파골세포 억제 렙틴 관련 단백질, 온코스타틴(oncostatin) 수용체, 파골세포 관련 수용체, 오스테오액티빈(osteoaactivin), 트롬빈 수용체, 포도플라닌(podoplanin), 포리민(porimin), 칼륨 채널, Pref-1, 줄기 세포 인자 수용체, 세마포린, SPARC, 스캐빈저 수용체 A1, 스타빌린(stabilin), 신데칸(syndecan), T 세포 수용체, TCAM-1, T 세포 사이토카인 수용체 TCCR, 트롬보스폰딘, TIM1-6, 톨(toll) 유사 수용체, 골수 세포에서 발현된 유발 수용체(TREM) 및 TREM 유사 단백질, TROP-2, 또는 이들의 임의의 모방물질 또는 유사체를 포함하는, TNF 수용체 수퍼패밀리 구성원, Ig 수퍼패밀리 구성원, 사이토카인 수용체 수퍼패밀리 구성원, 케모카인 수용체 수퍼패밀리 구성원, 인테그린 패밀리 구성원, 성장 인자 수용체 패밀리, 호르몬 수용체, 오피오이드 수용체, 다른 신경펩타이드 수용체 및 이온 채널을 비롯한 삼량체화된 가용성 수용체를 생성하는 데 사용될 수 있다.

[0508]

나아가, 본 발명의 UOD는 예를 들면, 특히 RANK-L, 램포톡신(LT)- α , LT- β , LT- α 1 β 2, zLIGHT, BTLA, TL1A, FasL, TWEAK, CD30L, 4-1BB-L(CD137L), CD27L, OX40L(CD134L), GITRL, CD40L(CD154), APRIL(CD256), BAFF, EDA1, IL-1 α , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17A, IL-17F, IL-17A/F, IL-18, IL-1g, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35, IFN-감마, IFN-알파, IFN-베타, TNF- α , TNF- β , G-CMF, GM-CSF, TGF- β 1, 2 및 3, TGF- α , 카디오토로핀(cardiotrophin)-1, 백혈병 억제 인자(LIF), 베타셀룰린(betacellulin), 암피레귤린(amphiregulin), 흥선 간질 립포포이에틴(TSLP), flt-3, CXCL1-16, CCL1-3, CCL3L1, CCL4-CCL8, CCL9/10, CCL11-28, XCL1, XCL2, CX3CL1, HMG-B1, 열 쇼크 단백질, 케메린(chemerin), 데펜신(defensin), 대식세포 이동 억제 인자(MIF), 온코스타틴(oncostatin) M, 리미틴(limitin), 혈관 내피 성장 인자 VEGF A-D 및 PIGF, 렌즈 상피 유래 성장 인자, 에리쓰로포이에틴, 트롬보포이에틴, 혈소판 유래 성장 인자, 표피 성장 인자, 섬유모세포 성장 인자 FGF1-14 및 16-23, 간세포종 유래 성장 인자, 해파소신(hepassocin), 간세포 성장 인자, 혈소판 유래 내피 성장 인자(PD-ECGF), 인슐린 유사 성장 인자 IGF1 및 IGF2, IGF 결합 단백질(IGFBP 1-6), GASPS(성장 및 분화 인자 관련 혈청 단백질), 결합 조직 성장 인자, 에피겐(epigen), 에피레귤린(epiregulin), 발생학적 동맥 및 신경 능선 표피 성장 인자(DANCE), 교세포 성숙 인자- β , 인슐린, 성장 호르몬, 안지오게닌(angiogenin), 안지오포이에틴(angiopoietin) 1-4, 안지오포이에틴 유사 단백질 1-4, 인테그린 α V β 3, α V β 5 및 α 5 β 1, 에리쓰로포이에틴, 트롬보포이에틴, 프로락틴 방출 호르몬, 코르티코트로핀 방출 호르몬(CRH), 고나도트로핀 방출 호르몬, 티로트로핀 방출 호르몬, 소마토스타틴, 바소프레신, 옥시토신, 데목시토신, 카베토신, 황체형성 호르몬(LH) 및 용모생식선자극호르몬, 갑상선 자극 호르몬, ANP, BNP, CNP, 칼시토닌, CCK a, CCK B, 혈관작용성 장 펩타이드 1 및 2, 엔세팔린(encephalin), 디노르핀(dynorphin), β -엔도르핀(endorphin), 모르핀(morphine), 4-PPBP, [1] SA 4503, 디톨릴구아니딘, 시라메신 안지오텐신, 칼리딘(kallidin), 브라디키닌, 타키카닌, 물질 P, 칼시토닌, 갈라닌, 뉴로펩타이드 Y1-5, 뉴로펩타이드 S, 뉴로펩타이드 FF, 뉴로펩타이드 B/W, 뇌 유래 신경영양성 인자 BDNF, NT-3, NT-4/5, 액티빈 A, AB, B 및 C, 인히빈(inhibin), 물러리안(Mullerian) 억제 호르몬(MIH), 골 형태형성 단백질 BMP2, BMP3, BMP4, BMP5, BMP6, BMP7, BMP8a, BMP8b, BMP10, BMP15, 성장 분화 인자 GDF1, GDF2, GDF3, GDF5, GDF6, GDF7, 미오스타틴/GDF8, GDF9, GDF10, GDF11, GDF15, 신경 성장 인자(NGF), 뇌 유래 신경영양성 인자(BDNF), 뉴로트로핀-3(NT-3) 및 뉴로트로핀-4(NT-4), 아르테민(artemin), 퍼세핀(persephin), 뉴르투린(neurturin), GDNF, 아그린(agrin), 에프린(ephrin) 리간드 EFNA1, EFNA2, EFNA3, EFNA4, EFNA5, EFNB1, EFNB2, EFNB3, 아디포넥틴(adiponectin), α 2-마크로글로불린, 아그레칸(agrecan), 아구ти 관련 단백질(AgRP), α -멜라닌세포 자극 호르몬, 알부민, 아멜로블라스틴(ameloblastin), 플라스미노겐, 안지오스타틴, 아포지단백질 A1, AII, B, B100, E, 아밀로이드, 오토파진(autophagin), TGF-베타에 의해 유도된 단백질 Ig H3), 비글리칸, 백혈구 세포 유래 케모탁신 LECT2, C-반응성 단백질, 보체 성분, 코르дин(chordin), 코르дин 유사 단백질, 콜렉틴(collectin), 클루스테린(clusterin) 유사 단백질 1, 코르티솔, 반 빌레브란트(van willebrandt) 인자, 사이토스타틴, 엔도스타틴, 엔도렙펠린(endorepellin), 에프린 리간드, 페투인(fetuin), 피콜린(ficolin), 글루카곤, 그라놀라이신(granulysin), 그렘린(gremlin), HGF 활성화제 억제제 HAI-1 및 2, 칼릴크레인(kallikrein), 라미닌(laminin), 렙틴, 리포칼린, 만난 결합 렙틴(MBL), 메테오린(meteorin), MFG-E8, 대식세포 갈락토스 N-아세틸-갈락토사민 특이적 렙틴(MGL), 미드카인, 미오실린, 네스틴(nestin), 조골세포 특이적 인자 2, 오스테오폰틴(osteopontin), 오스테오크린(osteocrin), 오스테오애드헤린(osteoadherin), 펜트락신(pentraxin), 퍼세핀, 태반 성장 인자, 릴렉신(relaxin), 레시스틴(resistin) 및 레시스틴 유사 분자, 줄기 세포 인자, 스타니오칼신(stanniocalcin), VE-스타틴, 물질 P, 테나신, 비트로넥틴, 조직 인자, 조직 인자 경로 억제제뿐만 아니라, 분

비된 단백질 데이터베이스(Chen Y et al., 2005. Nucleic Acids Res 33 Database Issue:D169-173)에 나열된 인간 세크레토ーム(secretome)에서 확인된 7000종 초과의 임의의 다른 단백질들, 또는 이들의 임의의 모방물질 또는 유사체를 포함하는, TNF 수퍼페밀리 구성원, 사이토카인 수퍼페밀리 구성원, 성장 인자, 케모카인 수퍼페밀리 구성원, 전구혈관신생 인자, 전구아폽토시스 인자, 인테그린, 호르몬 및 다른 가용성 인자를 비롯한 상기 수용체들 중 임의의 수용체의 리간드를 삼량체화하는 데 사용될 수 있다.

[0509] 추가로, 본 발명의 UOD는 효소, 예를 들면, 안지오텐신 전환 효소(ACE), 매트릭스 메탈로프로테아제, 트롬보스 폰딘 I형 모티프를 가진 ADAM 메탈로프로테아제(ADAMTS1, 4, 5, 13), 아미노펩ти다제, 베타-부위 APP 절단 효소 (BACE-1 및 BACE-2), 카마제(chymase), 칼릴크레인(kallikrein), 리일린(reelin), 서핀(serpin), 또는 이들의 임의의 모방물질 또는 유사체를 삼량체화하는 데 사용될 수 있다.

[0510] 또한, 본 발명의 UOD는 화학요법제 및 독소, 예컨대, 소분자 독소, 또는 세균, 진균, 식물 또는 동물 유래 효소 활성 독소, 또는 이들의 단편을 삼량체화하여 치료 목적을 위한 표적화된 화합물, 예를 들면, 칼리케아미신, 슈도모나스 외독소, 디프테리아 독소, 리신, 사포린, 아폽토시스 유도 펩타이드 또는 이들의 임의의 유사체의 효능을 증가시키는 데 사용될 수 있다.

[0511] 다른 실시양태에서, 본 발명의 UOD는 특히 암 백신을 위한 항원, 예를 들면, 대장암 항원 A33, α-페토단백질, 뮤신 1(MUC1), CDCP1, 암배아 항원 세포 부착 분자, Her-2, Her-3, Her-4, 메소텔린, CDCP1, NETO-1, NETO-2, 신데칸, 루이스Y, CA-125, 흑색종 관련 항원(MAGE), 티로시나제, 상피 종양 항원(ETA)을 융합시키는 데 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 감염성 질환의 치료를 위해 바이러스 외피 항원 또는 진균 항원을 융합시키는 데에도 사용될 수 있다.

2.5 키메라 폴리펩타이드 구축물을 제조하는 방법

[0513] 본 발명의 키메라 폴리펩타이드는 화학적 합성 또는 재조합 수단에 의해 제조될 수 있다. 통상적으로, 임의의 적합한 방법이 이용될 수 있을지도, 키메라 폴리펩타이드는 적합한 숙주 세포에서 키메라 폴리펩타이드를 코딩하는 재조합 구축물의 발현에 의해 제조된다. 적합한 숙주 세포는 예를 들면, 곤충 세포(예를 들면, 애데스 애깁티(*Aedes aegypti*), 오토그라파 칼리포르니카(*Autographa californica*), 봄비스 모리(*Bombyx mori*), 드로 소필라 멜라노가스터(*Drosophila melanogaster*), 스포도프테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 및 트리 코플루시아 니(*Trichoplusia ni*)), 포유동물 세포(예를 들면, 인간, 비-인간 영장류, 말, 소, 양, 개, 고양이 및 설치류(예를 들면, 햄스터)), 조류 세포(예를 들면, 닭, 오리 및 거위), 세균(예를 들면, 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 및 스트렙토코커스 종(*Streptococcus spp.*)), 효모 세포(예를 들면, 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*), 칸디다 알비坎스 (*Candida albicans*), 칸디다 말토사(*Candida maltosa*), 한세눌라 폴리모르프스(*Hansenula polymorpha*), 클루이 베로마이세스 프라길리스(*Kluyveromyces fragilis*), 클루이베로마이세스 락티스(*Kluyveromyces lactis*), 피키아 궐러리몬디이(*Pichia guillermondii*), 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*), 쉬조사카로마이세스 품베 (*Schizosaccharomyces pombe*) 및 야로위아 리폴라이티카(*Yarrowia lipolytica*)), 테트라하이메나(*Tetrahymena*) 세포(예를 들면, 테트라하이메나 써모파일(*Tetrahymena thermophile*) 또는 이들의 조합을 포함한다. 많은 적합한 곤충 세포들 및 포유동물 세포들은 당분야에서 잘 공지되어 있다. 적합한 곤충 세포는 예를 들면, Sf9 세포, Sf21 세포, Tn5 세포, 슈네이더(Schneider) S2 세포, 및 하이 파이브(High Five) 세포(모체 트리코플루시아 니 BTI-TN-5B1-4 세포주(인비트로젠(Invitrogen))으로부터 유래한 클론 단리물)를 포함한다. 적합한 포유동물 세포는 예를 들면, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 인간 배아 신장 세포(전형적으로 전단된 아데노바이러스 5형 DNA에 의해 형질전환된 HEK293 세포), NIH-3T3 세포, 293-T 세포, Vero 세포, HeLa 세포, PERC.6 세포(ECACC 수탁번호 96022940), Hep G2 세포, MRC-5(ATCC CCL-171), WI-38(ATCC CCL-75), 태아 붉은털 원숭이 폐 세포(ATCC CL-160), 마딘-다비(Madin-Darby) 소 신장("MDBK") 세포, 마딘-다비 개 신장("MDCK") 세포(예를 들면, MDCK(NBL2), ATCC CCL34; 또는 MDCK 33016, DSM ACC 2219), 새끼 햄스터 신장(BHK) 세포, 예컨대, BHK21-F, HKCC 세포 등을 포함한다. 적합한 조류 세포는 예를 들면, 닭 배아 줄기 세포(예를 들면, EB^x 세포), 닭 배아 섬유모세포, 닭 배아 생식 세포, 오리 세포(예를 들면, 문헌(Vaccine 27:4975-4982 (2009)) 및 국제 특허출원 공보 제WO2005/042728호에 기재된 AGE1.CR 및 AGE1.CR.pIX 세포주(ProBioGen)), EB66 세포 등을 포함한다.

[0514] 적합한 곤충 세포 발현 시스템, 예컨대, 바클로바이러스 시스템은 당분야에서 숙련된 자에게 공지되어 있고, 예를 들면, 문헌(Summers and Smith, Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No. 1555 (1987))에 기재되어 있다. 바클로바이러스/삽입물 세포 발현 시스템을 위한 재료 및 방법은 특히 인비트로젠(캘리포니아주 샌 디에고 소재)으로부터 키트 형태로 상업적으로 입수될 수 있다. 조류 세포 발현 시스템도 당분야에서 숙련된

자에게 공지되어 있고, 예를 들면, 미국 특허 제5,340,740호, 제5,656,479호, 제5,830,510호, 제6,114,168호 및 제6,500,668호; 유럽 특허 제EP0787180B호; 유럽 특허출원 제EP03291813.8호; 및 국제 특허출원 공보 제WO 03/043415호 및 제WO 03/076601호에 기재되어 있다. 유사하게, 세균 및 포유동물 세포 발현 시스템도 당분야에서 공지되어 있고, 예를 들면, 문헌(Yeast Genetic Engineering (Barr et al., eds., 1989) Butterworths, London)에 기재되어 있다.

[0515] 본 발명의 키메라 폴리펩타이드를 코딩하는 재조합 구축물을 통상적인 방법을 이용함으로써 적합한 벡터에서 제조될 수 있다. 곤충 또는 포유동물 세포에서 재조합 단백질을 발현시키기에 적합한 다수의 벡터들이 당분야에서 잘 공지되어 있고 통상적이다. 적합한 벡터는 하기 성분들 중 하나 이상의 성분을 포함하나 이들로 한정되지 않는 다수의 성분들을 함유할 수 있다: 복제 기점; 선택가능한 마커 유전자; 하나 이상의 발현 조절 요소, 예컨대, 전사 조절 요소(예를 들면, 프로모터, 인핸서, 터미네이터), 및/또는 하나 이상의 번역 신호; 및 (예를 들면, 포유동물, 또는 이종 포유동물 또는 비-포유동물 종으로부터 유래한) 선택된 숙주 세포에서 분비 경로로 표적화하기 위한 신호 서열 또는 리더 서열. 예를 들면, 곤충 세포에서 발현시키기 위해, 적합한 바클로바이러스 발현 벡터, 예컨대, pFastBac(인비트로겐)을 사용하여 재조합 바클로바이러스 입자를 생성할 수 있다. 바클로바이러스 입자를 증폭하고 사용하여 곤충 세포를 감염시킴으로써 재조합 단백질을 발현시킬 수 있다. 포유동물 세포에서 발현시키기 위해, 원하는 포유동물 숙주 세포(예를 들면, 중국 햄스터 난소 세포)에서 구축물의 발현을 유도할 벡터를 사용한다.

[0516] 키메라 폴리펩타이드는 임의의 적합한 방법을 이용함으로써 정제될 수 있다. 침전 및 다양한 유형의 크로마토그래피, 예컨대, 소수성 상호작용, 이온 교환, 친화성, 퀄레이팅 및 크기 배제를 포함하는, 원하는 단백질을 정제하는 적합한 방법은 당분야에서 잘 공지되어 있다. 적합한 정제 체계는 이들 또는 다른 적합한 방법들 중 둘 이상의 방법들을 이용함으로써 생성될 수 있다. 원하는 경우, 키메라 폴리펩타이드는 단락 2.1.2에 기재된 바와 같이 정제를 용이하게 하는 정제 모이어티 또는 "태그"를 포함할 수 있다. 이러한 태그부착된 폴리펩타이드는 예를 들면, 퀄레이팅 크로마토그래피 또는 친화성 크로마토그래피에 의해 컨디셔닝된 배지로부터 편리하게 정제될 수 있다.

[0517] 키메라 폴리펩타이드는 추가 서열을 포함할 수 있다. 예를 들면, 발현 목적을 위해, 상이한 리더 웹타이드 대신에 관심 있는 이종 폴리펩타이드의 천연 리더 웹타이드(예를 들면, 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 천연 리더 웹타이드)를 사용할 수 있다.

3. 키메라 폴리펩타이드의 내생성 생성을 위한 핵산 구축물

[0519] 본 발명은 숙주 유기체, 적합하게는 척추동물, 바람직하게는 포유동물, 예컨대, 인간에서 키메라 폴리펩타이드를 내생적으로 생성하기 위한 핵산 구축물도 고려한다. 핵산 구축물은 자가-복제 염색체외 벡터/레플리콘(예를 들면, 플라스미드), 또는 숙주 세포 내로 삽입되는 벡터일 수 있다. 특정 실시양태에서, 핵산 구축물은 바이러스 벡터이다. 예시적 바이러스 벡터는 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터, 폭스바이러스 벡터, 백시니아 바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노바이러스 관련 바이러스 벡터, 헤르페스 바이러스 벡터, 플라비바이러스 벡터 및 알파바이러스 벡터를 포함한다. 바이러스 벡터는 생바이러스 벡터, 약독화된 바이러스 벡터, 복제 조건부 바이러스 벡터 또는 복제 결핍 바이러스 벡터일 수 있고, 전형적으로 비-병원성(불완전한) 복제 능력 바이러스 벡터이다.

[0520] 예를 들면, 바이러스 벡터가 백시니아 바이러스 벡터일 때, 본 발명의 키메라 폴리펩타이드를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 백시니아 바이러스 벡터 계놈의 비-필수 부위 내로 삽입될 수 있다. 이러한 비-필수 부위는 예를 들면, 문헌(Perkus et al., 1986. Virology 152:285); 문헌(Hruby et al., 1983. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:3411); 및 문헌(Weir et al., 1983. J. Virol. 46:530)에 기재되어 있다. 백시니아 바이러스와 함께 사용하기에 적합한 프로모터는 P7.5(예를 들면, 문헌(Cochran et al. 1985. J. Virol. 54:30) 참조); P11(예를 들면, 문헌(Bertholet, et al., 1985. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:2096) 참조); 및 CAE-1(예를 들면, 문헌(Patel et al., 1988. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:9431) 참조)을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 고도로 약독화된 백시니아 균주는 인간에서 사용되도록 더 허용될 수 있고, 리스터(Lister), 특정 계놈 결실을 함유하는 NYVAC(예를 들면, 문헌(Guerra et al., 2006. J. Virol. 80:985-998) 및 문헌(Tartaglia et al., 1992. AIDS Research and Human Retrovirus 8:1445-1447) 참조), 또는 MVA(예를 들면, 문헌(Gheradi et al., 2005. J. Gen. Virol. 86:2925-2936) 및 문헌(Mayr et al., 1975. Infection 3:6-14) 참조)를 포함한다. 암 요법을 위한 벡터로서 야바(Yaba) 유사 질환 바이러스의 사용을 기술하는 문헌(Hu et al., 2001. J. Virol. 75:10300-10308); 및 미국 특허 제5,698,530호 및 제6,998,252호도 참조한다. 예를 들면, 미국 특허 제5,443,964호도 참

조한다. 미국 특허 제7,247,615호 및 제7,368,116호도 참조한다.

[0521]

일부 실시양태들에서, 아데노바이러스 벡터는 관심 있는 키메라 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 사용될 수 있다. 바이러스 전달 벡터의 기반일 수 있는 아데노바이러스는 임의의 기원, 임의의 하위군, 임의의 하위유형, 하위유형의 혼합물, 또는 임의의 혈청형의 아데노바이러스일 수 있다. 예를 들면, 아데노바이러스는 하위군 A(예를 들면, 혈청형 12, 18 및 31), 하위군 B(예를 들면, 혈청형 3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35 및 50), 하위군 C(예를 들면, 혈청형 1, 2, 5 및 6), 하위군 D(예를 들면, 혈청형 8, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 20, 22 내지 30, 32, 33, 36 내지 39, 및 42 내지 48), 하위군 E(예를 들면, 혈청형 4), 하위군 F(예를 들면, 혈청형 40 및 41), 미분류된 혈청군(예를 들면, 혈청형 49 및 51), 또는 임의의 다른 아데노바이러스 혈청형의 아데노바이러스일 수 있다. 아데노바이러스 혈청형 1 내지 51은 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection)(ATCC, 버지니아주 마나사스 소재)으로부터 입수될 수 있다. 비-군 C 아데노바이러스, 및 심지어 비-인간 아데노바이러스를 사용하여 복제 결핍 아데노바이러스 벡터를 제조할 수 있다. 비-군 C 아데노바이러스 벡터, 비-군 C 아데노바이러스 벡터를 제조하는 방법, 및 비-군 C 아데노바이러스 벡터를 사용하는 방법은 예를 들면, 미국 특허 제5,801,030호, 제5,837,511호 및 제5,849,561호, 및 국제 특허출원 공보 제WO 97/12986호 및 제WO 98/53087호에 개시되어 있다. 임의의 아데노바이러스, 심지어 키메라 아데노바이러스는 아데노바이러스 벡터를 위한 바이러스 계놈의 공급원으로서 사용될 수 있다. 예를 들면, 인간 아데노바이러스는 복제 결핍 아데노바이러스 벡터를 위한 바이러스 계놈의 공급원으로서 사용될 수 있다. 아데노바이러스 벡터의 추가 예는 문헌(Molin et al., 1998. J. Virol. 72:8358-8361), 문헌(Narumi et al., 1998. Am J. Respir. Cell Mol. Biol. 19:936-941), 문헌(Mercier et al., 2004. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:6188-6193), 미국 특허 공보 제20150093831호, 제20140248305호, 제20120283318호, 제20100008889호, 제20090175897호 및 제20090088398호, 및 미국 특허 제6,143,290호, 제6,596,535호, 제6,855,317호, 제6,936,257호, 제7,125,717호, 제7,378,087호 및 제7,550,296호에서 발견될 수 있다.

[0522]

바이러스 벡터는 아데노 관련 바이러스(AAV)에 기반을 둘 수도 있다. AAV 기반 벡터의 설명에 대해서는 예를 들면, 미국 특허 제8,679,837호, 제8,637,255호, 제8,409,842호, 제7,803,622호 및 제7,790,449호, 및 미국 특허 공보 제20150065562호, 제20140155469호, 제20140037585호, 제20130096182호, 제20120100606호 및 제20070036757호를 참조한다. AAV 벡터는 예를 들면, 미국 특허 공보 제2007/01110724호 및 제2004/0029106호, 및 미국 특허 제7,465,583호 및 제7,186,699호에 기재된 자가-상보적(sc) AAV 벡터일 수도 있다.

[0523]

헤르페스 심플렉스 바이러스(HSV) 기반 바이러스 벡터도 본 발명의 키메라 폴리펩타이드의 내생성 생성에 적합하다. 많은 복제 결핍 HSV 벡터들은 복제를 방해하기 위해 하나 이상의 중간-초기 유전자를 제거하는 결실을 함유한다. 헤르페스 벡터의 장점은 장기간 DNA 발현을 야기할 수 있는 잠복 단계로 들어가는 그의 능력, 및 25 kb 까지 외생성 DNA를 수용할 수 있는 그의 큰 바이러스 DNA 계놈이다. HSV 기반 벡터의 설명에 대해서는 예를 들면, 미국 특허 제5,837,532호, 제5,846,782호, 제5,849,572호 및 제5,804,413호, 및 국제 특허출원 공보 제WO 91/02788호, 제WO 96/04394호, 제WO 98/15637호 및 제WO 99/06583호를 참조한다.

[0524]

레트로바이러스 벡터는 뮤런 백혈병 바이러스(MuLV), 긴 팔원숭이 유인원 백혈병 바이러스(GaLV), 제한숙주역(ecotropic) 레트로바이러스, 원숭이 면역결핍 바이러스(SIV), 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 및 이들의 조합에 기반을 둔 레트로바이러스 벡터들을 포함할 수 있다(예를 들면, 문헌(Buchscher et al., 1992. J. Virol. 66:2731-2739); 문헌(Johann et al., 1992. J. Virol. 66:1635-1640); 문헌(Sommerfelt et al., 1990. Virology 176:58-59); 문헌(Wilson et al., 1989. J. Virol. 63:2374-2378); 문헌(Miller et al., 1991. J. Virol. 65:2220-2224); 문헌(Miller et al., 1990. Mol. Cell Biol. 10:4239); 문헌(Kolberg, 1992. NIH Res. 4:43); 및 문헌(Cornetta et al., 1991. Hum. Gene Ther. 2:215) 참조).

[0525]

특정 실시양태에서, 레트로바이러스 벡터는 렌티바이러스 벡터이다. 숙련된 자에 의해 이해될 바와 같이, 바이러스 벡터, 예컨대, 렌티바이러스 벡터는 일반적으로 바이러스 벡터 계놈을 포함하는 바이러스 벡터 입자를 지칭한다. 예를 들면, 렌티바이러스 벡터 입자는 렌티바이러스 벡터 계놈을 포함할 수 있다. 렌티바이러스 벡터에 대하여, 벡터 계놈은 인간 유전자 요법 적용을 위해 확인된 렌티바이러스 계놈 기반 벡터들을 포함하는, 다수의 적합한 입수 가능한 렌티바이러스 계놈 기반 벡터들 중 임의의 렌티바이러스 계놈 기반 벡터로부터 유래할 수 있다(예를 들면, 문헌(Pfeifer et al., 2001. Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. 2:177-211) 참조). 적합한 렌티바이러스 벡터 계놈은 인간 면역결핍 바이러스(HIV-1), HIV-2, 고양이 면역결핍 바이러스(FIV), 말 감염성 빈혈 바이러스, 원숭이 면역결핍 바이러스(SIV) 및 매디(maedi)/비스나(visna) 바이러스에 기반을 둔 렌티바이러스 벡터 계놈을 포함한다. 표적 세포가 분열 세포이거나 분열하도록 자극받을 필요가 없을지라도, 렌티바이러스의 바람직한 특성은 상기 렌티바이러스가 분열 세포 및 비-분열 세포 둘 다를 감염시킬 수 있다는 점이다. 일반적

으로, 게놈 및 외피 당단백질은 생성된 바이러스 벡터 입자가 슈도타이핑되도록 상이한 바이러스에 기반을 둘 것이다. 바람직하게는 상기 바이러스 벡터의 안전성 특징이 도입된다. 안전성 특징은 본원에 더 상세히 기재된 바와 같이 자가-불활성화 LTR 및 삽입 결핍을 포함한다. 일부 실시양태들에서, 삽입 결핍은 벡터 게놈의 요소에 의해 부여될 수 있으나, 팩키징 시스템의 요소(예를 들면, 벡터 게놈의 부분이 아닐 수 있으나 트랜스로 공급될 수 있는 비-기능적 인테그라제(integrase) 단백질)로부터 유래할 수도 있다. 예시적 벡터는 팩키징 신호(psi), Rev 반응성 요소(RRE), 스플라이스 공여체, 스플라이스 수용체, 임의적으로 중심 폴리푸린 트랙(cPPT) 및 WPRE 요소를 함유한다. 일부 예시적 실시양태들에서, 바이러스 벡터 게놈은 렌티바이러스 게놈, 예컨대, HIV-1 게놈 또는 SIV 게놈으로부터의 서열을 포함한다. 바이러스 게놈 구축물은 렌티바이러스의 5' LTR 및 3' LTR로부터의 서열을 포함할 수 있고, 특히 렌티바이러스의 5' LTR로부터의 R 서열 및 U5 서열, 및 렌티바이러스로부터의 불활성화된 또는 자가-불활성화 3' LTR을 포함할 수 있다. LTR 서열은 임의의 종으로부터의 임의의 렌티바이러스로부터의 LTR 서열일 수 있다. 예를 들면, 이들은 HIV, SIV, FIV 또는 BIV로부터의 LTR 서열일 수 있다. 전형적으로, LTR 서열은 HIV LTR 서열이다.

[0526] 벡터 게놈은 불활성화된 또는 자가-불활성화 3' LTR을 포함할 수 있다(예를 들면, 문현(Zufferey et al., 1998. J. Virol. 72: 9873); 및 문현(Miyoshi et al., 1998. J. Virol. 72:8150) 참조). 자가-불활성화 벡터는 일반적으로 벡터 삽입 동안 5' LTR에 복제되는 3' 긴 말단 반복부(LTR)로부터의 인핸서 및 프로모터 서열의 결실을 가진다. 한 경우에서, 3' LTR의 U3 요소는 그의 인핸서 서열, TATA 박스, Sp1 및 NF-κB 부위의 결실을 함유한다. 자가-불활성화 3' LTR의 결과로서, 도입 및 역전사 후 생성된 프로바이러스는 불활성화된 5' LTR을 포함할 것이다. 이유는 벡터 게놈의 이동 위험 및 근처 세포 프로모터에 대한 LTR의 영향을 감소시킴으로써 안전성을 개선하는 것이다. 자가-불활성화 3' LTR은 당분야에서 공지되어 있는 임의의 방법에 의해 구축될 수 있다.

[0527] 임의적으로, 렌티바이러스 5' LTR로부터의 U3 서열은 바이러스 구축물에서 프로모터 서열, 예컨대, 이종 프로모터 서열로 대체될 수 있다. 이것은 팩키징 세포주로부터 회수되는 바이러스의 역가를 증가시킬 수 있다. 인핸서 서열도 포함될 수 있다. 팩키징 세포주에서 바이러스 RNA 게놈의 발현을 증가시키는 인핸서/프로모터 조합이 사용될 수 있다. 한 예에서, CMV 인핸서/프로모터 서열이 사용된다(예를 들면, 미국 특허 제5,385,839호 및 제5,168,062호 참조).

[0528] 일부 실시양태들에서, 삽입 돌연변이유발의 위험은 삽입 결함 벡터가 되도록 렌티바이러스 벡터를 구축함으로써 최소화된다. 비-삽입 벡터 게놈을 생성하기 위해 다양한 방법들이 추구될 수 있다. 이 방법들은 불활성 인테그라제와 함께 단백질을 코딩하도록 pol 유전자의 인테그라제 효소 성분 내로 돌연변이(들)를 조작하는 것을 수반한다. 벡터 게놈 그 자체는 예를 들면, 부착 부위들 중 하나 또는 둘 다를 돌연변이시키거나 결실시키거나, 결실 또는 변형을 통해 3' LTR 근위 폴리푸린 트랙(PPT)을 비-기능적 트랙으로 만듦으로써 삽입을 방해하도록 변형될 수 있다. 추가로, 비-유전적 방법들이 이용될 수 있고; 이들은 인테그라제의 하나 이상의 기능을 억제하는 약제를 포함한다. 상기 방법들은 상호 배타적이지 않다. 즉, 상기 방법들 중 하나 초과의 방법들이 한 번에 이용될 수 있다. 예를 들면, 인테그라제 및 부착 부위 둘 다가 비-기능적일 수 있거나, 인테그라제 및 PPT 부위가 비-기능적일 수 있거나, 부착 부위 및 PPT 부위가 비-기능적일 수 있거나, 이를 모두가 비-기능적일 수 있다.

[0529] 예시적 렌티바이러스 벡터는 예를 들면, 미국 특허 공보 제20150224209호, 제20150203870호, 제20140335607호, 제20140248306호, 제20090148936호 및 제20080254008호에 기재되어 있다.

[0530] 바이러스 벡터는 알파바이러스에 기반을 둘 수도 있다. 알파바이러스는 신드비스(Sindbis) 바이러스(및 베네수엘라 말 뇌염 바이러스(VEEV)), 아우라(Aura) 바이러스, 바반키(Babanki) 바이러스, 바마 포레스트(Barmah Forest) 바이러스, 베바루(Bebaru) 바이러스, 카바소우(Cabassou) 바이러스, 치쿤구니야(Chikungunya) 바이러스, 동부 말 뇌염 바이러스, 에버글라데스(Everglades) 바이러스, 포트 모간(Fort Morgan) 바이러스, 제타(Getah) 바이러스, 하이랜즈(Highlands) J 바이러스, 키질라가치(Kyzylagach) 바이러스, 마야로(Mayaro) 바이러스, 메 트리(Me Tri) 바이러스, 미들버그(Middelburg) 바이러스, 모소 다스 페드拉斯(Mosso das Pedras) 바이러스, 무캄보(Mucambo) 바이러스, 응두무(Ndumu) 바이러스, 오농-농(O'nyong-nyong) 바이러스, 피수나(Pixuna) 바이러스, 리오 네그로(Rio Negro) 바이러스, 로스 리버(Ross River) 바이러스, 연어 췌장 질환 바이러스, 셈리키 포레스트(Semliki Forest) 바이러스(SFV), 남부 코끼리 물범 바이러스, 토네이트(Tonate) 바이러스, 트로카라(Trocara) 바이러스, 우나(Una) 바이러스, 베네수엘라 말 뇌염 바이러스, 서부 말 뇌염 바이러스, 및 와타로아(Whataroa) 바이러스를 포함한다. 일반적으로, 이러한 바이러스들의 게놈은 숙주 세포의 세포질에서 번역될 수 있는 비구조적 단백질(예를 들면, 레플리콘) 및 구조적 단백질(예를 들면, 캡시드 및 외피)을 코딩한다. 로스 리버 바이러스, 신드비스 바이러스, SFV 및 VEEV 모두가 전이유전자 전달을 위한 바이러스 전달 벡터를 개발하는 데 사용되고 있다. 슈도타이핑된 바이러스는 알파바이러스 외피 당단백질과 레트로바이러스 캡시드

를 조합함으로써 형성될 수 있다. 알파바이러스 벡터의 예는 미국 특허 공보 제20150050243호, 제20090305344호 및 제20060177819호에서 확인될 수 있다.

[0531] 대안적으로, 바이러스 벡터는 플라비바이러스에 기반을 둘 수 있다. 플라비바이러스는 일본 뇌염 바이러스, 뎅기 바이러스(예를 들면, 뎅기-1, 뎅기-2, 뎅기-3, 뎅기-4), 황열 바이러스, 머리 밸리(Murray Valley) 뇌염 바이러스, 세인트 루이스(St. Louis) 뇌염 바이러스, 웨스트 나일(West Nile) 바이러스, 쿤진(Kunjin) 바이러스, 로시오(Rocio) 뇌염 바이러스, 일레우스(Ilheus) 바이러스, 진드기 매개 뇌염 바이러스, 중앙 유럽 뇌염 바이러스, 시베리아 뇌염 바이러스, 러시아 봄-여름 뇌염 바이러스, 캐사누르 포레스트(Kyasanur Forest) 질환 바이러스, 옴스크(Omsk) 출혈열 바이러스, 도약병(Louping iil) 바이러스, 파와산(Powassan) 바이러스, 네기쉬(Negishi) 바이러스, 압세타로브(Absettarov) 바이러스, 한살로바(Hansalova) 바이러스, 아포이(Apoi) 바이러스, 및 하이프르(Hypr) 바이러스를 포함한다. 플라비바이러스 벡터의 예는 미국 특허 공보 제20150231226호, 제20150024003호, 제20140271708호, 제20140044684호, 제20130243812호, 제20120294889호, 제20120128713호, 제20110135686호, 제20110014229호, 제20110003884호, 제20100297167호, 제20100184832호, 제20060159704호, 제20060088937호, 제20030194801호 및 제20030044773호에서 발견될 수 있다.

4. 키메라 폴리펩타이드 복합체

[0533] 본 발명의 키메라 폴리펩타이드는 키메라 폴리펩타이드 복합체를 형성하기에 적합한 조건 하에서 자가-조립할 수 있다. 따라서, 본 발명은 키메라 폴리펩타이드 복합체를 제조하는 방법으로서, 키메라 폴리펩타이드 복합체의 형성에 적합한 조건 하에서(예를 들면, 수성 용액에서) 본 발명의 키메라 폴리펩타이드들을 조합함으로써, 3개의 키메라 폴리펩타이드들을 포함하고 키메라 폴리펩타이드들의 각각의 구조 형성 모이어티의 코일드 코일 구조에 의해 형성된 6-나선 다발을 특징으로 하는 키메라 폴리펩타이드 복합체를 생성하는 단계를 포함하는 방법도 포함한다. 조합되는 키메라 폴리펩타이드들은 동일하거나 동일하지 않음으로써, 각각 동종삼량체 및 이종삼량체를 형성할 수 있다.

[0534] 일반적으로, 키메라 폴리펩타이드는 완충된 수성 용액(예를 들면, pH 약 5 내지 약 9)에서 자가-조립한다. 요구되는 경우, 리폴딩 및 자가-조립을 용이하게 하기 위해, 예컨대, 우레아, 소량의 유기 용매 또는 열을 포함시켜 키메라 폴리펩타이드를 약하게 변성시킴으로써 약한 변성 조건을 사용할 수 있다.

[0535] 키메라 폴리펩타이드의 임의의 적합한 제제가 상기 방법에서 사용될 수 있다. 예를 들면, 원하는 키메라 폴리펩타이드를 함유하는 컨디셔닝된 세포 배양 배지가 상기 방법에서 사용될 수 있다. 그러나, 상기 방법에서 정제된 키메라 폴리펩타이드를 사용하는 것이 바람직 할 수 있다.

[0536] 구조 안정화 모이어티/보편적인 올리고머화 도메인을 사용하여 엑토도메인 폴리펩타이드를 올리고머화하여 키메라 폴리펩타이드 복합체를 형성하는 특정 실시양태에서, 상기 복합체의 엑토도메인 폴리펩타이드 서브유닛은 융합 전 입체구조로 존재한다. 임의의 특정 작동 이론 또는 방식에 의해 구속받고자 하지는 않지만, 이종 구조 안정화 모이어티가 복합체 형성을 유도하고 엑토도메인 폴리펩타이드의 내부 모이어티 또는 도메인(예를 들면, 클래스 I 엑토도메인 폴리펩타이드의 HRA 영역 및 HRB 영역, 또는 클래스 III 엑토도메인의 C-말단 영역에 있는 중심 α -나선형 코일드 코일 및 융합 루프(들))이 상호작용하는 것을 방해하기 때문에, 엑토도메인 폴리펩타이드 삼량체의 융합 전 형태는 본원에 기재된 복합체에서 안정화된다고 생각된다. 이러한 내부 모이어티 또는 도메인의 상호작용은 융합 후 형태로의 리폴딩을 유발한다.

5. 스크리닝 방법

[0538] 본 발명은 바람직하게는 외피 보유 바이러스의 융합 단백질, 및/또는 상기 융합 단백질의 복합체에 특이적으로 결합하는 물질을 스크리닝하는 방법도 포함한다. 특정 실시양태에서, 외피 보유 바이러스 융합 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 또는 이의 복합체에의 결합에 대하여 화합물 라이브러리를 스크리닝한다.

[0539] 후보 물질은 소분자, 예컨대, 작은 유기 화합물 및 거대분자, 예컨대, 펩타이드, 폴리펩타이드 및 폴리사카라이드를 포함하는 다수의 화학적 클래스들을 포함한다. 후보 물질은 단백질과의 구조적 상호작용, 특히 수소결합에 필요한 작용기를 포함하고, 전형적으로 적어도 하나의 아민, 카보닐, 하이드록실 또는 카복실 기, 바람직하게는 적어도 2개의 화학적 작용기를 포함한다. 후보 화합물은 상기 작용기들 중 하나 이상의 작용기로 치환된 환형 탄소 또는 헤테로환형 구조물, 또는 방향족 또는 폴리방향족 구조물을 포함할 수 있다. 펩타이드, 사카라이드, 지방산, 스테로이드, 푸린, 피리미딘, 이들의 유도체, 구조적 유사체 또는 조합을 포함하나 이들로 한정되지 않는 생물분자들 중에서 후보 물질이 발견되기도 한다. 화합물 라이브러리는 세균, 진균, 식물 및 동물 추출물의 형태로 천연 화합물을 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 화합물 라이브러리는 천연 또는 합성에 의해

생성된 화합물을 포함할 수 있다.

[0540] 물질이 표적 단백질에 결합하는지, 및/또는 표적 단백질에 대한 물질의 친화성을 확인하는 방법은 당분야에서 공지되어 있다. 예를 들면, 물질과 표적 단백질의 결합은 다양한 기법들, 예컨대, 바이오레이어 간접측정(BLI), 웨스턴 블롯, 도트 블롯, 표면 플라스몬 공명 방법(SPR), 효소-연결 면역흡착 어세이(ELISA), AlphaScreen® 또는 AlphaLISA® 어세이, 또는 질량 분광측정 기반 방법(그러나, 이들로 한정되지 않음)을 이용함으로써 검출될 수 있고/있거나 정량될 수 있다.

[0541] 일부 실시양태들에서, 물질과 본 발명의 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체의 상호작용의 동력학적 파라미터를 특징규명하기 위해 당분야에서 공지되어 있는 임의의 표면 플라스몬 공명(SPR) 기반 어세이를 이용하여 물질을 어세이할 수 있다. BIACore 기계(비아코어 아베(Biacore AB); 스웨덴 업살라 소재); 1Asys 기계(어피니티 센서(Affinity Sensors); 매사추세츠주 프랭클린 소재); IBIS 시스템(원저 사이언티픽 리미티드(Windsor Scientific Limited); 영국 버크스 소재), SPR-CELLIA 시스템(니폰 레이저 앤드 일렉트로닉스 랩(Nippon Laser and Electronics Lab); 일본 훗카이도 소재) 및 SPR 검출기 스프리타(Spreeta)(텍사스 인스트루먼츠(Texas Instruments); 텍사스 달拉斯 소재)를 포함하나 이들로 한정되지 않는 상업적으로 입수될 수 있는 임의의 SPR 기계가 본원에 기재된 방법에서 이용될 수 있다. 예를 들면, 문현(Mullett et al. (2000) Methods 22: 77-91); 문현(Dong et al. (2002) Reviews in Mol Biotech 82: 303-323); 문현(Fivash et al. (1998) Curr Opin Biotechnol 9: 97-101); 및 문현(Rich et al. (2000) Curr Opin Biotechnol 11: 54-61)을 참조한다.

[0542] 일부 실시양태들에서, 물질과 본 발명의 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체 사이의 생물분자 상호작용은 Octet(포르테바이오 인코포레이티드(ForteBio Inc.))에서 BLI를 이용함으로써 어세이될 수 있다. BLI는 바이오센서 텁 위의 단백질 층의 두께의 변화를 실시간 측정함으로써 바이오센서 텁에 고정된 리간드(예컨대, 본 발명의 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체)와 분석물(예컨대, 시험 화합물) 사이의 결합을 감지하는 표지 부재 광학 분석 기법이다.

[0543] 일부 실시양태들에서, AlphaScreen(퍼킨엘머(PerkinElmer)) 어세이를 이용하여 시험 물질과 본 발명의 엑토도메인 폴리펩타이드 함유 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체의 결합을 특징규명할 수 있다. 두문자어 ALPHA는 증폭된 발광 근접 균질 어세이를 의미한다. AlphaScreen은 공여체 비드와 수용체 비드 사이의 에너지 전달에 의해 생성된 신호를 측정함으로써 공여체 비드 및 수용체 비드에 부착된 분자들(예컨대, 본 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체와 시험 화합물) 사이의 결합을 감지하는 비드 기반 근접 어세이이다(예를 들면, 문현(Eglen et al. (2008) Curr Chem Genomics 1:2-10) 참조).

[0544] 일부 실시양태들에서, AlphaLISA®(퍼킨엘머) 어세이를 이용하여 시험 물질과 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체의 결합을 특징규명할 수 있다. AlphaLISA는 전통적인 ELISA 어세이의 대안으로서 유로퓸 함유 수용체 비드 및 기능을 포함하도록 전술된 AlphaScreen 어세이로부터 변형된다(예를 들면, 문현(Eglen et al. (2008) Curr Chem Genomics 1:2-10) 참조).

[0545] 경쟁 면역어세이 및 비-경쟁 면역어세이를 포함하는 다양한 면역어세이 기법들이 이용될 수 있다. 용어 "면역어세이"는 유세포분석, FACS, 효소 면역어세이(EIA), 예컨대, 효소 배가된 면역어세이 기법(EMIT), 효소-연결 면역흡착 어세이(ELISA), IgM 항체 포획 ELISA(MAC ELISA) 및 마이크로입자 효소 면역어세이(MEIA), 나아가 모세관 전기영동 면역어세이(CEIA), 방사-면역어세이(RIA), 면역방사측정 어세이(IRMA), 형광 편광 면역어세이(FPIA) 및 화학발광 어세이(CL)를 포함하나 이들로 한정되지 않는 기법을 포함한다. 원하는 경우, 이러한 면역어세이는 자동화될 수 있다. 면역어세이는 레이저에 의해 유도된 형광과 함께 사용될 수도 있다. 리포좀 면역어세이, 예컨대, 유동-주사 리포좀 면역어세이 및 리포좀 면역센서도 본 발명에서 사용하기에 적합하다. 추가로, 예를 들면, 단백질/항체 복합체의 형성이 마커 농도의 함수로서 피크 속도 신호로 전환되는 광 산란을 증가시키는 혼탁측정 어세이도 본 발명의 방법에서 사용되기에 적합하다.

[0546] 일부 실시양태들에서, 차등 스캐닝 형광측정(DSF) 및 차등 정적 광 산란(DSLS)을 포함하는 열변성 방법을 이용하여 시험 물질과 본 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체의 결합을 어세이할 수 있다.

[0547] 일부 실시양태들에서, 질량 분광측정 기반 방법, 예컨대, 질량 분광측정에 커플링된 친화성 선택(AS-MS) 플랫폼(그러나, 이것으로 한정되지 않음)을 이용하여 시험 물질과 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체의 결합을 어세이할 수 있다. 이것은 단백질과 시험 화합물을 항온처리하고, 결합되지 않은 분자를 세척하여 제거하고,

탈복합체화 단계 후 리간드를 확인하기 위해 단백질-리간드 복합체를 MS로 분석하는 표지 부재 방법이다.

[0548] 일부 실시양태들에서, 예를 들면, 검출가능하게 표지부착된 단백질, 예컨대, 방사성표지부착된(예를 들면, ^{32}P , ^{35}S , ^{14}C 또는 ^3H), 형광 표지부착된(예를 들면, FITC) 또는 효소 표지부착된 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체 또는 시험 화합물을 사용하여 면역어세이 또는 크로마토그래피 검출로 시험 물질과 본 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체의 결합을 정량할 수 있다.

[0549] 일부 실시양태들에서, 본 발명은 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체와 시험 화합물 사이의 상호작용의 정도를 직접적으로 또는 간접적으로 측정하는 데 있어서 형광 편광 어세이 및 형광 공명 에너지 전달(FRET) 어세이의 이용을 고려한다.

[0550] 상기 실시양태들 전부가 고처리율 플랫폼으로 개발하기에 적합하다.

[0551] 가장 강력한 생체내 효과를 가진 화합물, 예를 들면, 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 이 융합 단백질의 복합체에 특이적으로 결합하고 바람직하게는 치료적으로 유용한 효과, 예를 들면, 감소된 바이러스 존재량, 감소된 감염 또는 이와 관련된 증상을 자극하거나 향상시키는 화합물을 찾기 위해 화합물을 동물 모델에서 더 시험할 수 있다. 이 분자들은 예를 들면, 화합물에 대해 순차적 변형, 분자 모델링, 및 합리적 약물 디자인에서 사용된 다른 관례적인 절차를 수행함으로써 약제의 추가 개발을 위한 "선도 화합물"로서 사용될 수 있다.

6. 항원 결합 분자

[0553] 본 발명의 엑토도메인 함유 키메라 폴리펩타이드 및 복합체는 바람직하게는 외피 바이러스 융합 단백질과 면역 상호작용하는 단백질(즉, "항원 결합 단백질")인 항원 결합 분자를 생성하는 데 유용하다. 특정 실시양태에서, 엑토도메인 함유 키메라 폴리펩타이드 및 복합체는 외피 바이러스 융합 단백질의 융합 후 형태에 존재하지 않는 적어도 하나의 융합 전 에피토프를 포함하므로, 외피 보유 바이러스 융합 단백질의 준안정한 또는 융합 전 형태와 면역상호작용하는 항원 결합 분자의 제조에 유용하다.

[0554] 당분야에서 통상의 기술을 가진 자는 잘 개발된 지식이 예를 들면, 전체로서 본원에 각각 참고로 도입된 문헌 (Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 6th ed., W.B. Saunders Company (2010)) 또는 문헌 (Murphy et al., Janeway's Immunobiology, 8th ed., Garland Science (2011))에 기재된 바와 같이 항원 결합 단백질의 기반이 된다는 것을 인식할 것이다.

[0555] 일부 실시양태들에서, 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 및 복합체와 면역상호작용하는 항원 결합 단백질은 항체이다. 항체는 정의 단락에 기재된 바와 같이 온전한 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 항체는 (전체 길이 중쇄 및/또는 경쇄를 가진 다중클론, 단일클론, 키메라, 인간화된 또는 인간 버전을 포함하는) 완전한 항체 분자를 포함할 수 있거나, 이의 항원 결합 단편을 포함할 수 있다. 항체 단편은 $\text{F}(\text{ab}')_2$, Fab, Fab', Fv, Fc 및 Fd 단편을 포함하고, 단일 도메인 항체, 단일 쇄 항체, 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv 내로 도입될 수 있다(예를 들면, 문헌(Hollinger and Hudson, 2005, Nature Biotechnology, 23, 9, 1126-1136) 참조). 피브로네틴 폴리펩타이드 모노바디를 포함하는, 미국 특허 제6,703,199호에 개시된 항체 폴리펩타이드와 같은 항체 폴리펩타이드도 포함된다. 단일 쇄 폴리펩타이드인 다른 항체 폴리펩타이드는 미국 특허 공보 제2005/0238646호에 개시되어 있다.

[0556] 관심 있는 항원에 대한 항체를 제조하는 다수의 방법들이 당분야에서 공지되어 있다. 예를 들면, 문헌(Kohler, G. et al., 1975, "Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Predefined Specificity," Nature 256:495-497)의 생식 방법 또는 이의 변형에 종종 기반을 둔 통상적인 하이브리도마 방법을 이용하여 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 및 복합체에 대한 단일클론 항체를 제조할 수 있다. 전형적으로, 비-인간 종, 예컨대, 마우스에서 단일클론 항체를 발생시킨다. 일반적으로, 면역화를 위해 마우스 또는 래트가 사용되나, 다른 동물도 사용될 수 있다. 마우스를 면역원성 양의 면역원, 이 경우 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체로 면역화시킴으로써 항체를 생성할 수 있다. 면역원은 주기적 간격, 예컨대, 2주마다 또는 매주 다회 투여될 수 있거나, 동물에서 생존력을 유지하도록 투여될 수 있다.

[0557] 항체 반응을 모니터링하기 위해, 작은 생물학적 샘플(예를 들면, 혈액)을 동물로부터 수득할 수 있고 면역원에 대한 항체 역가에 대해 시험할 수 있다. 비장 및/또는 여러 큰 림프절들을 제거할 수 있고 단일 세포로 해리시킬 수 있다. 원하는 경우, 세포 혼탁액을 항원으로 코팅된 플레이트 또는 웰에 적용함으로써 (비-특이적으로 부착된 세포의 제거 후) 비장 세포를 스크리닝할 수 있다. 항원에 특이적인 막-결합된 면역글로불린을 발현하는 B

세포는 플레이트에 결합할 것이고, 나머지 혼탁액에 의해 세정되지 않는다. 그 다음, 수득된 B 세포 또는 모든 해리된 비장 세포를 골수종 세포(예를 들면, X63-Ag8.653, 및 살크 인스티튜트(Salk Institute) 세포 분배 센터(캘리포니아주 샌 디에고 소재)로부터의 골수종 세포)와 융합시킬 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 사용하여 비장 또는 램프구를 골수종 세포와 융합시켜 하이브리도마를 형성할 수 있다. 그 다음, 하이브리도마를 선택 배지(예를 들면, 하이포잔틴, 아미노프테린, 타이미딘 배지, "HAT 배지"로서도 공지되어 있음)에서 배양한다. 그 다음, 생성된 하이브리도마를 제한 회석으로 플레이팅하고, 예를 들면, FACS(형광 활성화된 세포 분류) 또는 면역조직화학(IHC) 스크리닝을 이용하여 면역원에 특이적으로 결합하는 항체의 생성에 대해 어세이한다. 그 다음, 선택된 단일클론 항체 분비 하이브리도마를 시험관내(예를 들면, 조직 배양 병 또는 중공 섬유 반응기) 또는 생체내(예를 들면, 마우스의 복수)에서 배양한다.

[0558] 세포 융합 기법의 또 다른 대안으로서, 앱스테인-바 바이러스(EBV)-불멸화된 B 세포를 사용하여, 본 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체와 면역상호작용하는 단일클론 항체를 생성할 수 있다. 원하는 경우, 하이브리도마를 증폭하고 서브클로닝하고, 통상적인 어세이 절차(예를 들면, FACS, IHC, 방사면역어세이, 효소 면역어세이, 형광 면역어세이 등)로 항-면역원 활성에 대해 상청액을 어세이한다.

[0559] 따라서, 본 발명은 외피 보유 바이러스의 융합 단백질 또는 이 융합 단백질의 복합체와 면역상호작용하는 항원 결합 분자를 제조하는 방법으로서, (1) 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 바와 같이 동물을 키메라 폴리펩타이드 복합체 또는 조성물로 면역화시키는 단계로서, 키메라 폴리펩타이드 복합체의 엑토도메인 폴리펩타이드가 외피 보유 바이러스의 융합 단백질에 상응하는 것인 단계; (2) 상기 융합 단백질 또는 이의 복합체와 면역상호작용하는 B 세포를 동물로부터 단리하는 단계; 및 (3) 그 B 세포에 의해 발현된 항원 결합 분자를 생성하는 단계를 포함하는 방법도 고려한다. 본 발명은 이러한 방법에 의해 생성된 항원 결합 분자뿐만 아니라 이의 유도체도 포함한다. 본 발명의 항원 결합 분자를 생성할 수 있는 하이브리도마를 비롯한 세포, 및 세포로부터 항원 결합 분자를 생성하는 방법도 포함된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법 및 세포에 의해 생성된 항원 결합 분자는 바람직하게는 중화 항원 결합 분자이다.

[0560] 키메라 항체 및 인간화된 항체도 고려된다. 일부 실시양태들에서, 인간화된 단일클론 항체는 뮤린 항체의 가변 도메인(또는 이의 항원 결합 부위의 전부 또는 일부) 및 인간 항체로부터 유래한 불변 도메인을 포함한다. 대안적으로, 인간화된 항체 단편은 뮤린 단일클론 항체의 항원 결합 부위, 및 인간 항체로부터 유래한 (항원 결합 부위를 결여하는) 가변 도메인 단편을 포함할 수 있다. 조작된 단일클론 항체를 생성하는 절차는 문헌(Riechmann et al., 1988, Nature 332:323), 문헌(Liu et al., 1987, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84:3439), 문헌(Larrick et al., 1989, Bio/Technology 7:934) 및 문헌(Winter et al., 1993, TIPS 14:139)에 기재된 절차들을 포함한다. 한 실시양태에서, 키메라 항체는 CDR 이식된 항체이다. 항체를 인간화하는 기법은 예를 들면, 미국 특히 제5,869,619호, 제5,225,539호, 제5,821,337호, 제5,859,205호 및 제6,881,557호; 문헌(Padlan et al., 1995, FASEB J. 9:133-39); 문헌(Tamura et al., 2000, J. Immunol. 164:1432-41); 문헌(Zhang, W., et al., Molecular Immunology 42(12):1445-1451, 2005); 문헌(Hwang W. et al., Methods 36(1):35-42, 2005); 문헌(Dall'Acqua W F, et al., Methods 36(1):43-60, 2005); 및 문헌(Clark, M., Immunology Today 21(8):397-402, 2000)에 논의되어 있다.

[0561] 본 발명의 항체는 전체 인간 단일클론 항체일 수도 있다. 전체 인간 단일클론 항체는 당분야에서 통상의 기술을 가진 자에게 익숙할 임의의 수의 기법에 의해 생성될 수 있다. 이러한 방법은 인간 말초 혈액 세포(예를 들면, B 램프구를 함유함)의 앱스테인 바 바이러스(EBV) 형질전환, 인간 B 세포의 시험관내 면역화, 삽입된 인간 면역 글로불린 유전자를 보유하는 면역화된 형질전환 마우스로부터의 비장 세포의 융합, 인간 면역글로불린 V 영역 파지 라이브러리로부터의 단리, 또는 당분야에서 공지되어 있고 본원의 개시에 기반을 둔 다른 절차를 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

[0562] 비-인간 동물에서 인간 단일클론 항체를 생성하는 절차가 개발되었다. 예를 들면, 하나 이상의 내생성 면역글로불린 유전자가 다양한 수단들에 의해 불활성화된 마우스가 제조되었다. 불활성화된 마우스 유전자를 대체하기 위해 인간 면역글로불린 유전자가 마우스 내로 도입되었다. 이 기법에서, 인간 중쇄 및 경쇄 좌위의 요소는 내생성 중쇄 및 경쇄 좌위의 표적화된 파괴를 함유하는 배아 줄기 세포주로부터 유래한 마우스 품종 내로 도입된다(문헌(Bruggemann et al., Curr. Opin. Biotechnol. 8:455-58 (1997))도 참조). 예를 들면, 인간 면역글로불린 전이유전자는 마우스 램프 조직에서 B 세포 특이적 DNA 재배열 및 과다돌연변이를 겪는, 효모 인공 염색체의 미니-유전자 구축물 또는 트랜스좌위일 수 있다.

[0563] 동물에서 생성된 항체는 동물 내로 도입된 인간 유전 물질에 의해 코딩된 인간 면역글로불린 폴리펩타이드 쇄를

포함한다. 한 실시양태에서, 비-인간 동물, 예컨대, 형질전환 마우스를 본 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체 면역원으로 면역화시킨다.

[0564]

인간 또는 부분적으로 인간 항체의 생성을 위해 형질전환 동물을 생성하고 사용하는 기법의 예는 미국 특허 제5,814,318호, 제5,569,825호 및 제5,545,806호, 문헌(Davis et al., Production of human antibodies from transgenic mice in Lo, ed. Antibody Engineering: Methods and Protocols, Humana Press, NJ:191-200 (2003)); 문헌(Kellermann et al., 2002, Curr Opin Biotechnol. 13:593-97); 문헌(Russel et al., 2000, Infect Immun. 68:1820-26); 문헌(Gallo et al., 2000, Eur J. Immun. 30:534-40); 문헌(Davis et al., 1999, Cancer Metastasis Rev. 18:421-25); 문헌(Green, 1999, J Immunol Methods 231:11-23); 문헌(Jakobovits, 1998, Advanced Drug Delivery Reviews 31:33-42); 문헌(Green et al., 1998, J Exp Med. 188:483-95); 문헌(Jakobovits A, 1998, Exp. Opin. Invest. Drugs 7:607-14); 문헌(Tsuda et al., 1997, Genomics 42:413-21); 문헌(Mendez et al., 1997, Nat. Genet. 15:146-56); 문헌(Jakobovits, 1994, Curr Biol. 4:761-63); 문헌(Arbones et al., 1994, Immunity 1:247-60); 문헌(Green et al., 1994, Nat. Genet. 7:13-21); 문헌(Jakobovits et al., 1993, Nature 362:255-58); 문헌(Jakobovits et al., 1993, Proc Natl Acad Sci USA 90:2551-55); 문헌(Chen, J., M. et al. Int. Immunol. 5 (1993): 647-656); 문헌(Choi et al., 1993, Nature Genetics 4: 117-23); 문헌(Fishwild et al., 1996, Nature Biotech. 14: 845-51); 문헌(Harding et al., 1995, Annals of the New York Academy of Sciences); 문헌(Lonberg et al., 1994, Nature 368: 856-59); 문헌(Lonberg, 1994, Transgenic Approaches to Human Monoclonal Antibodies in Handbook of Experimental Pharmacology 113: 49-101); 문헌(Lonberg et al., 1995, Int. Rev. Immunol. 13: 65-93); 문헌(Neuberger, 1996, Nature Biotech. 14: 826); 문헌(Taylor et al., 1992, Nucleic Acids Research 20: 6287-95); 문헌(Taylor et al., 1994, Int. Immunol. 6: 579-91); 문헌(Tomizuka et al., 1997, Nature Genetics 16: 133-43); 문헌(Tomizuka et al., 2000, Proc Natl Acad Sci USA 97: 722-27); 문헌(Tuailion et al., 1993, Proc Natl Acad Sci USA 90: 3720-24); 문헌(Tuailion et al., 1994, J. Immunol. 152: 2912-20); 문헌(Lonberg et al., 1994, Nature 368:856, 1994); 문헌(Taylor et al., Int. Immunol. 6:579, 1994); 미국 특허 제5,877,397호; 문헌(Bruggemann et al., 1997 Curr. Opin. Biotechnol. 8:455-58); 및 문헌(Jakobovits et al., 1995. Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:525-35)에 기재되어 있다. 추가로, XenoMouse[®](아브제닉스(Abgenix), 현재 암젠 인코포레이티드(Amgen, Inc.))를 사용하는 프로토콜은 예를 들면, 미국 특허 공보 제05/0118643호, 국제 특허출원 공보 제WO 05/694879호, 제WO 98/24838호 및 제WO 00/76310호, 및 미국 특허 제7,064,244호에 기재되어 있다.

[0565]

본 발명은 본 발명의 항-키메라 폴리펩타이드/복합체 항체의 단편도 포함한다. 이러한 단편은 항체 유래 서열로만 구성될 수 있거나 추가 서열을 포함할 수 있다. 항원 결합 단편의 예로는 Fab, F(ab')₂, 단일 쇄 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디 및 도메인 항체가 있다. 다른 예는 문헌(Lunde et al., 2002, Biochem. Soc. Trans. 30:500-06)에서 제공되어 있다.

[0566]

단일 쇄 항체는 아미노산 가교(짧은 펩타이드 링커)를 통해 중쇄 가변 도메인 단편과 경쇄 가변 도메인 단편(Fv 영역)을 연결하여 단일 폴리펩타이드 쇄를 생성함으로써 형성될 수 있다. 이러한 단일 쇄 Fv(scFv)는 2개의 가변 도메인 폴리펩타이드들(V_L 및 V_H)을 코딩하는 DNA들 사이에 펩타이드 링커를 코딩하는 DNA를 융합시킴으로써 제조되었다. 생성된 폴리펩타이드들은 2개의 가변 도메인들 사이의 유연한 링커의 길이에 따라 스스로 다시 폴딩되어 항원 결합 단량체를 형성할 수 있거나 다량체(예를 들면, 이량체, 삼량체 또는 사량체)를 형성할 수 있다(Kortt et al., 1997, Prot. Eng. 10:423; Kortt et al., 2001, Biomol. Eng. 18:95-108). 상이한 V_L 및 V_H 포함 폴리펩타이드들을 조합함으로써, 상이한 에피토프에 결합하는 다량체성 scFv를 형성할 수 있다(Kriangkum et al., 2001, Biomol. Eng. 18:31-40). 단일 쇄 항체의 생성을 위해 개발된 기법은 미국 특허 제4,946,778호; 문헌(Bird, 1988, Science 242:423); 문헌(Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879); 문헌(Ward et al., 1989, Nature 334:544); 및 문헌(de Graaf et al., 2002, Methods Mol. Biol. 178:379-87)에 기재된 기법들을 포함한다.

[0567]

항체로부터 유래한 항원 결합 단편은 예를 들면, 항체의 단백질분해성 가수분해, 예를 들면, 통상적인 방법에 따른 전체 항체의 펩신 또는 파파인 분해에 의해 수득될 수도 있다. 예를 들면, 항체 단편은 펩신에 의한 항체의 효소적 절단을 통해 F(ab')₂로서 지칭되는 5S 단편을 제공함으로써 생성될 수 있다. 티올 환원제를 사용하여 이 단편을 더 절단하여, 3.5S Fab' 1가 단편을 생성할 수 있다. 임의적으로, 디설파이드 결합의 절단으로부터 비롯된 설프하이드릴 기에 대한 차단 기를 사용하여 절단 반응을 수행할 수 있다. 대안으로서, 파파인을 사용한 효소적 절단은 2개의 1가 Fab 단편 및 Fc 단편을 직접적으로 생성한다. 이 방법들은 예를 들면, 미국 특허 제

4,331,647호(Goldenberg); 문현(Nisonoff et al., Arch. Biochem. Biophys. 89:230, 1960); 문현(Porter, Biochem. J. 73:119, 1959); 문현(Edelman et al., in Methods in Enzymology 1:422 (Academic Press 1967)); 및 문현(Andrews, S. M. and Titus, J. A. in Current Protocols in Immunology (Coligan J. E., et al., eds), John Wiley & Sons, New York (2003), pages 2.8.1-2.8.10 and 2.10A.1-2.10A.5)에 기재되어 있다. 단편이 온전한 항체에 의해 인식되는 항원에 결합하는 한, 항체를 절단하는 다른 방법, 예컨대, 1가 경쇄-중쇄 단편(Fd)을 형성하기 위한 중쇄의 분리, 단편의 추가 절단, 또는 다른 효소적, 화학적 또는 유전적 기법도 이용될 수 있다.

[0568]

항체 단편의 또 다른 형태는 항체의 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 웹타이드이다. CDR은 관심 있는 CDR을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 구축함으로써 수득될 수 있다. 이러한 폴리뉴클레오타이드는 예를 들면, 항체 생성 세포의 mRNA를 주형으로서 사용하는 중합효소 연쇄 반응을 이용하여 가변 영역을 합성함으로써 제조된다(예를 들면, 문현(Larrick et al., Methods: A Companion to Methods in Enzymology 2:106, 1991); 문현(Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," in Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application, Ritter et al. (eds.), page 166 (Cambridge University Press 1995)); 및 문현(Ward et al., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," in Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Birch et al., (eds.), page 137 (Wiley-Liss, Inc. 1995)) 참조). 항체 단편은 본원에 기재된 항체의 적어도 하나의 가변 영역 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 따라서, 예를 들면, V 영역 도메인은 단량체일 수 있고, 적어도 10^{-7} M 이하의 친화성으로 본 엑토도메인 폴리웹타이드 또는 복합체에 독립적으로 결합할 수 있는 V_L 및 V_H 도메인일 수 있다.

[0569]

가변 영역 도메인은 임의의 천연 생성 가변 도메인 또는 이의 조작된 버전일 수 있다. 조작된 버전은 재조합 DNA 조작 기법을 이용함으로써 생성된 가변 영역 도메인을 의미한다. 이러한 조작된 버전은 예를 들면, 특정 항체의 아미노산 서열의 삽입, 결실 또는 변화에 의해 특정 항체 가변 영역으로부터 생성된 버전을 포함한다. 구체적인 예로는 적어도 하나의 CDR, 및 임의적으로 제1 항체로부터의 하나 이상의 프레임워크 아미노산 및 제2 항체로부터의 가변 영역 도메인의 나머지 부분을 함유하는 조작된 가변 영역 도메인이 있다.

[0570]

가변 영역 도메인은 C-말단 아미노산에서 적어도 하나의 다른 항체 도메인 또는 이의 단편에 공유부착될 수 있다. 따라서, 예를 들면, 가변 영역 도메인에 존재하는 V_H 도메인은 면역글로불린 CH1 도메인 또는 이의 단편에 연결될 수 있다. 유사하게는, V_L 도메인은 C_K 도메인 또는 이의 단편에 연결될 수 있다. 이 방식으로, 예를 들면, 항체는 Fab 단편일 수 있고, 이때 항원 결합 도메인은 그들의 C-말단에서 각각 CH1 및 C_K 도메인에 공유 결합된 회합된 V_H 및 V_L 도메인을 함유한다. CH1 도메인을 추가 아미노산으로 연장하여, 예를 들면, Fab' 단편에서 발견되는 헌지 영역 또는 헌지 영역 도메인의 부분을 제공할 수 있거나, 추가 도메인, 예컨대, 항체 CH2 및 CH3 도메인을 제공할 수 있다.

[0571]

7. 조성물

[0572]

본 발명은 본원의 앞부분 및 다른 부분에 넓게 기재된 바와 같이 키메라 폴리웹타이드 또는 복합체, 또는 키메라 폴리웹타이드 또는 복합체를 발현할 수 있는 핵산 구축물을 포함하는, 약학 조성물을 포함하는 조성물도 제공한다. 대표적 조성물은 키메라 폴리웹타이드 또는 복합체의 원하는 용도에 따라 선택된 완충제를 포함할 수 있고, 의도된 용도에 적합한 다른 물질도 포함할 수 있다. 의도된 용도가 면역 반응을 유도하는 것인 경우, 조성물은 "면역원성" 또는 "면역조절" 조성물로서 지정된다. 이러한 조성물은 예방 조성물(즉, 질병, 예컨대, 감염을 예방하기 위해 투여되는 조성물) 및 치료 조성물(즉, 질병, 예컨대, 감염을 치료하기 위해 투여되는 조성물)을 포함한다. 따라서, 본 발명의 면역조절 조성물은 예방, 호전, 완화 또는 치료 목적을 위해 수용자에게 투여될 수 있다.

[0573]

당분야에서 숙련된 자는 의도된 용도에 적합한 적절한 완충제를 용이하게 선택될 수 있고, 매우 다양한 완충제들이 당분야에서 공지되어 있다. 일부 경우, 조성물은 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함할 수 있고, 다양한 약학적으로 허용가능한 부형제들이 당분야에서 공지되어 있고 본원에서 상세히 논의될 필요가 없다. 약학적으로 허용가능한 부형제는 예를 들면, 문현(A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins); 문현(Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds 7.sup.th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins); 및 문현(Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3.sup.rd ed. Amer.

Pharmaceutical Assoc.)을 포함하는 다양한 공개문헌들에 충분히 기재되어 있다.

[0574] 일부 실시양태들에서, 조성물은 하나 초파의(즉, 상이한) 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체(예를 들면, 키메라 폴리펩타이드의 각각의 엑토도메인 폴리펩타이드는 상이한 외피 보유 바이러스 융합 단백질에 상응함), 또는 키메라 폴리펩타이드(들) 또는 복합체(들)를 발현할 수 있는 하나 이상의 핵산 구축물을 포함한다.

[0575] 본 발명의 약학 조성물은 주사에 의한 투여에 적합한 형태, 경구 섭취에 적합한 제형(예를 들면, 캡슐, 정제, 당의정, 엘릭시르), 국소 투여에 적합한 연고, 크림 또는 로션의 형태, 점안제로서 전달되기에 적합한 형태, 흡입, 예컨대, 비내 흡입 또는 경구 흡입에 의한 투여에 적합한 에어로졸 형태, 또는 비경구 투여, 즉 피하, 근육내 또는 정맥내 주사에 적합한 형태)로 존재할 수 있다.

[0576] 보충 활성 성분, 예컨대, 보강제 또는 생물학적 반응 변형제도 본 발명의 약학 조성물 내로 도입될 수 있다. 보강제(들)가 본 발명의 약학 조성물에 포함될 수 있을지라도, 이 약학 조성물이 반드시 보강제를 포함할 필요는 없다. 이러한 경우, 보강제의 사용으로부터 발생된 반응원성/reactogenicity 문제를 피할 수 있다.

[0577] 일반적으로, 본 발명의 약학 조성물과 관련하여 보강제 활성은 조성물에서 면역원성 성분(예를 들면, 본 발명의 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체)에 의해 (정량적으로 또는 정성적으로) 유도된 면역 반응을 향상시키는 능력을 포함하나 이것으로 한정되지 않는다. 이것은 면역 반응을 생성하기 위해 요구된 면역원성 성분의 용량 또는 수준을 감소시킬 수 있고/있거나, 원하는 면역 반응을 생성하기 위해 요구된 면역화의 수 또는 빈도를 감소시킬 수 있다.

[0578] 임의의 적합한 보강제가 본 발명의 약학 조성물에 포함될 수 있다. 예를 들면, 알루미늄 기반 보강제가 사용될 수 있다. 적합한 알루미늄 기반 보강제는 수산화알루미늄, 인산알루미늄 및 이들의 조합을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 사용될 수 있는 알루미늄 기반 보강제의 다른 구체적인 예는 유럽 특허 제1216053호 및 미국 특허 제6,372,223호에 기재되어 있다. 다른 적합한 보강제는 프로인트(Freund) 불완전 보강제 및 완전 보강제(딥코 레이보레이토리스(Difco Laboratories), 미시간주 디트로이트 소재); 머크(Merck) 보강제 65(머크 앤드 컴파니 인코포레이티드(Merck and Company, Inc.), 뉴저지주 라웨이 소재); AS-2(스미쓰클라인 비참(SmithKline Beecham), 웨슬베이니아주 필라델피아 소재); 알루미늄 염, 예컨대, 수산화알루미늄 겔(백반) 또는 인산알루미늄; 칼슘, 철 또는 아연의 염; 아실화된 티로신의 불용성 혼탁액; 아실화된 당; 양이온성 또는 음이온성 유도체화된 폴리사카라이드; 폴리포스파젠; 생체분해성 마이크로스피어; 모노포스포릴 지질 A 및 퀄(quil) A; 유럽 특허 제0399843호, 미국 특허 제7,029,678호 및 PCR 공보 제WO 2007/006939호에 기재된 수중유 에멀전을 포함하는 수중유 에멀전; 및/또는 추가 사이토카인, 예컨대, GM-CSF, 또는 인터류킨-2, 인터류킨-7 또는 인터류킨-12, 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 종양 괴사 인자(TNF), 모노포스포릴 지질 A(MPL), 콜레라 독소(CT) 또는 이의 성분 서브유닛, 열 불안정한 장독소(LT) 또는 이의 성분 서브유닛, 톨 유사 수용체 리간드 보강제, 예컨대, 리포폴리사카라이드(LPS) 및 이의 유도체(예를 들면, 모노포스포릴 지질 A 및 3-탈아실화된 모노포스포릴 지질 A), 플라비바이러스 NS1 및 뮤라밀 디펩타이드(MDP)를 포함한다.

[0579] 본 발명의 약학 조성물은 키트로 제공될 수 있다. 키트는 본 발명의 방법의 실시를 돋기 위한 추가 성분, 예를 들면, 투여 디바이스(들), 완충제(들) 및/또는 희석제(들)를 포함할 수 있다. 키트는 다양한 성분들을 수용하기 위한 용기, 및 본 발명의 방법에서 키트 성분을 사용하는 것에 대한 설명서를 포함할 수 있다.

8. 투여의 용량 및 경로

[0581] 조성물은 "유효량", 즉 대상체에서 의도된 목적을 달성하기에 효과적인 양으로 투여된다. 환자에게 투여되는 활성 화합물(들)의 용량은 시간의 경과에 따라 대상체에서 유리한 반응, 예컨대, 감염과 관련된 적어도 하나의 증상의 감소를 달성하기에 충분해야 한다. 투여되는 약학적 활성 화합물(들)의 양 또는 용량 빈도는 대상체의 연령, 성별, 체중 및 일반적 건강 상태를 포함하는, 치료되는 대상체에 의해 좌우될 수 있다. 이와 관련하여, 투여될 활성 화합물(들)의 정확한 양은 의사의 판단에 의해 좌우될 것이다. 당분야에서 숙련된 자는 원하는 치료 결과를 위해 본 발명의 약학 조성물에 포함될, 본원에 기재된 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체의 유효 무독성 양을 관례적 실험으로 결정할 수 있을 것이다.

[0582] 일반적으로, 본 발명의 약학 조성물은 투여 경로 및 (건강 상태를 포함하는) 수용자의 신체적 특성에 잘 맞는 방식으로 원하는 효과(들)(즉, 치료 효과, 면역원성 및/또는 보호 효과)를 이끌어내도록 투여될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 약학 조성물의 적절한 용량은 대상체의 신체적 특성(예를 들면, 연령, 체중, 성별), 화합물이 단일 약제로서 사용되는지 보강제 요법으로서 사용되는지, 환자의 MHC 제한의 유형, 바이러스 감염의 진행(즉, 병리학적 상태), 및 당분야에서 숙련된 자에 의해 인식될 수 있는 다른 요인을 포함하나 이들로 한정되지 않는

다양한 요인들에 의해 좌우될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 적절한 용량을 결정할 때 고려될 수 있는 다양한 일반적 고려사항은 예를 들면, 문헌(Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins); 및 문헌(Gilman et al., (Eds), (1990), "Goodman And Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics", Pergamon Press)에 기재되어 있다.

- [0583] 일부 실시양태들에서, 본 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체, 또는 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체를 발현할 수 있는 핵산 구축물의 "유효량"은 원하는 예방 또는 치료 효과를 달성하기에, 예를 들면, 감염과 관련된 증상을 감소시키고/시키거나 개체에서 감염성 물질의 수를 감소시키기에 충분한 양이다. 이 실시양태들에서, 유효량은 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체로 치료받지 않은 개체에서의 증상 또는 감염성 물질의 수에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80% 또는 적어도 약 90% 이상까지 감염과 관련된 증상을 감소시키고/시키거나 개체에서 감염성 물질의 수를 감소시킨다. 병원성 유기체에 의한 감염의 증상뿐만 아니라, 이러한 증상을 측정하는 방법도 당분야에서 공지되어 있다. 개체에서 병원성 유기체의 수를 측정하는 방법은 당분야에서 표준이다.
- [0584] 일부 실시양태들에서, 본 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체, 또는 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체를 발현할 수 있는 핵산 구축물의 "유효량"은 선택된 투여 경로에서 외피 보유 바이러스 융합 단백질에 대한 면역 반응을 이끌어내는 데 효과적인 양이다.
- [0585] 일부 실시양태들에서, 예를 들면, 키메라 폴리펩타이드가 이종 항원을 포함하는 경우, "유효량"은 그 항원에 대한 면역 반응을 이끌어내는 것을 용이하게 하기에 효과적인 양이다. 예를 들면, 이종 항원이 엑토도메인 폴리펩타이드의 기원인 유기체와 상이한 병원성 유기체로부터의 항원인 경우, 본 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체, 또는 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체를 발현할 수 있는 핵산 구축물의 "유효량"은 그 항원에 대한 면역 반응의 유발, 및 바람직하게는 그 병원성 유기체에 의한 감염 또는 감염과 관련된 증상으로부터의 숙주의 보호에 효과적인 양이다. 이 실시양태들에서, 유효량은 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체로 치료받지 않은 개체에서의 증상 또는 감염성 물질의 수에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80% 또는 적어도 약 90% 이상까지 병원성 유기체에 의한 감염과 관련된 증상을 감소시키고/시키거나 개체에서 병원성 유기체에 상응하는 감염성 물질의 수를 감소시킨다. 병원성 유기체에 의한 감염의 증상뿐만 아니라, 이러한 증상을 측정하는 방법도 당분야에서 공지되어 있다.
- [0586] 대안적으로, 이종 항원이 암 또는 종양 관련 항원인 경우, 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체, 또는 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체를 발현할 수 있는 핵산 구축물의 "유효량"은 투여 경로에서 암 또는 종양 세포 생장을 감소시키거나 억제하거나, 암 또는 종양 세포 질량, 또는 암 또는 종양 세포 수를 감소시키거나, 암 또는 종양이 형성될 가능성을 감소시키는 데 효과적인 면역 반응을 이끌어내기에 효과적인 양이다. 이 실시양태들에서, 유효량은 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체로 치료받지 않은 개체 내의 종양 성장 및/또는 종양 세포의 수에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80% 또는 적어도 약 90% 이상까지 개체 내의 종양 성장 및/또는 종양 세포의 수를 감소시킨다. 종양 성장 및 종양 세포의 수를 측정하는 방법은 당분야에서 공지되어 있다.
- [0587] 각각의 용량에서 키메라 폴리펩타이드 또는 복합체의 양은 코딩된 엑토도메인 폴리펩타이드에 대한 면역 반응을 유도하고/하거나, 전형적인 백신과 일반적으로 관련된 유의미한 부작용 없이 면역보호 또는 다른 면역치료 반응을 유도하는 양으로서 선택된다. 이러한 양은 어느 특정 엑토도메인 폴리펩타이드가 사용되는지, 백신 제형이 보강제를 포함하는지 아니면 포함하지 않는지, 및 다양한 숙주 의존적 요인들에 따라 달라질 것이다.
- [0588] 본 발명의 약학 조성물은 비경구(예를 들면, 정맥내)를 포함하나 이것으로 한정되지 않는 표준 경로에 의해 수용자에게 투여될 수 있다.
- [0589] 본 발명의 약학 조성물은 단독으로 또는 추가 치료제(들)와 함께 수용자에게 투여될 수 있다. 약학 조성물이 치료제(들)와 동시에 투여되는 실시양태에서, 치료는 동시적 또는 순차적일 수 있다(즉, 약학 조성물 투여에 이은 상기 치료제(들)의 투여, 또는 반대의 경우).
- [0590] 전형적으로, 치료 적용에 있어서, 치료는 질환 상태 또는 질병의 지속시간 동안 계속될 수 있다. 추가로, 개별 용량의 최적 양 및 간격이 치료되는 질환 상태 또는 질병의 성질 및 정도, 투여 경로 및 부위, 및 치료되는 특정 개체의 성질에 의해 좌우될 것이라는 것은 당분야에서 통상의 기술을 가진 자에게 자명할 것이다. 통상적인 기법을 이용하여 최적 조건을 결정할 수 있다.
- [0591] 많은 경우들(예를 들면, 예방 적용)에서, 본 발명의 약학 조성물을 수회 또는 다회 투여하는 것이 바람직할 수

있다. 예를 들면, 약학 조성물을 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회 또는 10회 이상 투여할 수 있다. 투여는 약 1주 내지 약 12주 간격, 일부 실시양태들에서 약 1주 내지 약 4주 간격으로 수행될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 의해 표적화되는 특정 병원체 또는 다른 질환 관련 성분에의 반복적 노출이 있는 경우 주기적 재투여가 바람직할 수 있다.

[0592] 치료 확인 시험의 통상적인 과정을 이용하여 투여의 최적 경과를 확인할 수 있다는 것도 당분야에서 통상의 기술을 가진 자에게 자명할 것이다.

[0593] 2개 이상의 독립체들이 대상체에게 "함께" 또는 "동시에" 투여되는 경우, 이들은 동일한 시간에 단일 조성물로 투여될 수 있거나, 동일한 시간에 별개의 조성물로 투여될 수 있거나, 상이한 시간에 별개의 조성물로 투여될 수 있다.

[0594] 본 발명의 일부 실시양태들은 약학 조성물을 다수의 별개의 용량으로 투여하는 것을 포함한다. 따라서, 본원에 기재된 감염의 예방(즉, 백신접종) 및 치료 방법은 예를 들면, 소정의 기간에 걸쳐 다수의 분리된 용량들을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 따라서, 본원에 개시된 감염의 예방(즉, 백신접종) 및 치료 방법은 프라이밍 용량의 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 프라이밍 용량을 투여한 후 부스터 용량을 투여 할 수 있다. 부스터는 재백신접종을 위한 것일 수 있다. 다양한 실시양태들에서, 약학 조성물 또는 백신을 적어도 1회, 2회 또는 3회 이상 투여한다.

[0595] 면역 반응을 측정하는 방법은 당분야에서 통상의 기술을 가진 자에게 공지되어 있다. 예시적 방법은 고체상 불균질 어세이(예를 들면, 효소-연결 면역흡착 어세이), 용액상 어세이(예를 들면, 전기화학발광 어세이), 증폭된 발광 근접 균질 어세이, 유세포분석, 세포내 사이토카인 염색, 기능적 T 세포 어세이, 기능적 B 세포 어세이, 기능적 단핵세포-대식세포 어세이, 수지상 및 세망 내피 세포 어세이, NK 세포 반응의 측정, 면역 세포에 의한 IFN- γ 생성, 조직 또는 생물학적 유체에서의 바이러스 RNA/DNA의 정량(예를 들면, 혈청 또는 다른 유체 또는 조직/장기에서의 바이러스 RNA 또는 DNA의 정량), 산화적 파열(burst) 어세이, 세포독성 특이적 세포 용해 어세이, 오량체 결합 어세이, 및 식세포작용 및 아폽토시스 평가를 포함한다.

[0596] 당분야에서 숙련된 자는 넓게 기재된 본 발명의 사상 또는 범위를 벗어나지 않으면서 특정 실시양태에 제시된 발명의 다수의 변경 및/또는 변형을 만들 수 있다는 것을 인식할 것이다. 따라서, 본 실시양태들은 모든 면에서 예시하기 위한 것으로서 간주되어야 하고 제한하기 위한 것으로서 간주되어서는 안 된다.

[0597] 본 발명이 용이하게 이해될 수 있도록, 지금부터 특정 바람직한 실시양태들이 하기 비한정적 실시예를 통해 기재될 것이다.

실시예

실시예 1

RSV F

[0601] 융합 전 입체구조로 제약된 바이러스 융합 단백질의 엑토도메인을 포함하는 키메라 폴리펩타이드를 생성하는 본 발명의 능력의 예시로서, 호흡기 세포융합 바이러스 융합 단백질에 대한 대표적 증거가 제공된다.

재료 및 방법

[0603] 키메라 폴리펩타이드 디자인:

[0604] 문헌(McLellan et al.,, Science, 2013. 342(6158):592-8)에 따라, RSV F의 엑토도메인뿐만 아니라 4개의 부위에서 돌연변이(S155C, S290C, S190F 및 V207L)를 포함하는 RSV-F 엑토도메인 돌연변이체(RSV F ds cav)도, HIV-1 GP160으로부터 유래한 한 쌍의 상보적 헵타드 반복부 영역들을 포함하는 다운스트림 이종 구조 안정화 모이어티(SSM)에 각각 작동가능하게 연결하였다. 이 SSM을 결여하는 대조군 엑토도메인 구축물, 및 폴든 SSM에 작동가능하게 연결된 RSV F ds cav(RSV F ds cav 폴든)를 포함하는 양성 대조군 구축물도 생성하였다. 관련 단백질들의 아미노산 서열은 이하에 제시되어 있다.

[0605]

RSV F의 엑토도메인(1-520):

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
 TDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKKRKRRFLGF
 LLGVGSIAISGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQK
 SCISI NIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
 RQQSYSIMSIKEEVAYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQAETCKVQSNRVCDFCDTMNSLTPSEVNLCVDIFNPKYDCEIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT
 KCTASNKRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTSVGNTLYVNQEGKSLYVGEPINFYDPLVFPSSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK[서열번호 146].

[0606]

RSV F의 엑토도메인(1-520) - HIV GP160 기반 SSM:

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
 TDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKKRKRRFLGF
 LLGVGSIAISGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQK
 SCISI NIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
 RQQSYSIMSIKEEVAYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQAETCKVQSNRVCDFCDTMNSLTPSEVNLCVDIFNPKYDCEIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT
 KCTASNKRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTSVGNTLYVNQEGKSLYVGEPINFYDPLVFPSSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARIAG

GSGGGHTTWMEWDREINNYTSЛИHSLIEESQNQPAKDEQELLE[서열번호 147].

[0607]

RSV F의 엑토도메인(1-520) - DScav 돌연변이 - HIV GP160 기반 SSM:

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
 TDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKKRKRRFLGF
 LLGVGSIAISGVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNQK
 SCISI NIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
 RQQSYSIMCIKEEVAYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQAETCKVQSNRVCDFCDTMNSLTPSEVNLCVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT
 KCTASNKRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTSVGNTLYVNQEGKSLYVGEPINFYDPLVFPSSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARIAG

GSGGGHTTWMEWDREINNYTSЛИHSLIEESQNQPAKDEQELLE[서열번호 150].

[0608]

RSV F의 엑토도메인(1-513) - DScav 돌연변이 - 폴돈 SSM(문현(McLellan et al., Science, 2013. 342(6158):592-8)에 따른 대조군):

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
 TDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKKRKRRFLGF
 LLGVGSIAISGVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNQK
 SCISI NIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
 RQQSYSIMCIKEEVAYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQAETCKVQSNRVCDFCDTMNSLTPSEVNLCVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT
 KCTASNKRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTSVGNTLYVNQEGKSLYVGEPINFYDPLVFPSSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSGSAWSH

PQFEK[서열번호 151]

[0612]

단백질 발현 및 정제:

[0613]

키메라 융합 단백질 RSV F 클램프, RSV F ds cav 클램프, RSV F ds cav 폴돈, 및 HIV-1 HRA 및 HRB 서열을 결여하는 대조군 RSV F 엑토도메인을 코딩하는 코돈 최적화된 DNA 서열을 CMV 프로모터의 다운스트림에서 pIRES-2 진핵 발현 벡터 내로 각각 도입하였다. 생성된 플라스미드를, 300 ml CHO 세포 중의 600 μ g 플라스미드 및 2.4 mg 선형 폴리에틸렌이민을 함유하는 화학적으로 규정된 CHO(CD-CHO) 배지(Gibco)에서 ml당 1×10^6 개 세포의 밀도로 생장된 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 내로 형질감염시켰다. 형질감염 시약과 4시간 동안 항온처리한 후, 세포를 펠렛화하였고, 8 mM 글루타맥스(Glutamax)(Gibco), 100 유닛/ml의 페니실린(Gibco), 100 μ g/ml의 스트렙토

마이신(Gibco), 7.5% CHO CD 효율적 공급원료 A(Gibco) 및 7.5% CHO CD 효율적 공급원료 B(Gibco)를 함유하는 300 ml의 CD-CHO에 재현탁하였다. 그 다음, 세포를 약 120 rpm에서 진탕하면서 37°C 및 5% CO₂에서 7일 동안 항온처리하였다. 7일 후, 세포를 6,000 x g에서 10분 동안 원심분리하여 제거하였고, 상청액을 여과하였다.

[0615] HiTrap NHS-활성화된 HP 컬럼(GE)에 공유커플링된 특이적 단일클론 항체를 사용하여 친화성 크로마토그래피로 재조합 단백질을 정제하였다. 키메라 클램프 안정화된 RSV F를 HIV-1 HRA 및 HRB에 의해 형성된 6-나선 다발에 결합하는 mAb 1281(Frey, et al., Nat Struct Mol Biol. 2010. 17(12):1486-91)로 정제하였다. mAb 101F(McLellan, et al. J Virol. 2010. 84(23):12236-44)를 사용하여 RSV F ds cav 클램프, RSV F ds cav 폴돈 키메라 단백질 및 대조군 RSV F를 정제하였다. 원하는 단백질의 정제를 SDS-PAGE로 확인하였다.

결과

[0617] 단백질 입체구조:

[0618] 입체구조 특이적 단일클론 항체로 단백질 입체구조를 평가하였다. 엑토도메인의 다운스트림에서 HIV-1 GP160 HR1 및 HR2 서열에 기반을 둔 SSM의 도입은 융합 엑토도메인 폴리펩타이드가 융합 후 입체구조로 재배열하는 것을 억제하는 일종의 '분자 클램프'로서 작용한다. 이러한 키메라 융합 단백질은 융합 전 입체구조로 안정화되는 반면, 상응하는 네이키드 엑토도메인(즉, 단독으로 발현됨)은 융합 후 형태를 형성한다는 것을 보여주는 증거가 도 1의 A 내지 C에 제시되어 있다.

[0619] 실시예 2

[0620] INFA HA

[0621] 융합 전 입체구조로 제약된 바이러스 융합 단백질의 엑토도메인을 포함하는 키메라 폴리펩타이드를 생성하는 본 발명의 능력의 또 다른 예시로서, 인플루엔자 A(INFA) 헤마글루티닌(HA) 단백질에 대한 대표적 증거가 제공되어 있다. 나아가, 앞서 언급된 방법을 통해 융합 전 입체구조로 제약된 키메라 단백질이 마우스에게 투여될 때 개선된 중화 면역 반응을 유도할 수 있다는 것을 보여주는, INFA HA 단백질에 대한 대표적 증거가 제공되어 있다.

재료 및 방법

[0623] 키메라 폴리펩타이드 디자인:

[0624] INFA HA의 엑토도메인을, HIV-1 GP160으로부터 유래한 한 쌍의 상보적 헵타드 반복부 영역들을 포함하는 다운스트림 이종 구조 안정화 모이어티에 작동가능하게 연결하였다. 생성된 키메라 단백질 및 이의 대조군의 아미노산 서열은 이하에 제공되어 있다.

[0625] INFA HA의 엑토도메인(1-529):

```
MKTIIIALSYILCLVFAQKLPGNNDNSTATLCGHHAVPNGTIVKTITNDQIEVTNATELVQSSSTGEICDSP
HQILDGKNCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERS KAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTLEFNNE
SFNWTGVTQNGTSSACIRRSKNSFFSRLNWLTHLNFKYPALNVTPMNNEQFDKLYIWGVHHPGTDKD
QIFLYAQASGRITVSTKRSQQTAIPNIGSRPRVRNIPSRIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKIRS
GESSIONRSDAPIGKCNSECITPNGSIPNDKFQNVNRITYGACPRYVKQNTLKLATGMRVNPKEKTRGI
FGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSEGRGQAADLKSTQAIDQINGKLNRLIGKTNEKFHQIEKE
FSEVEGRIQDLEYKVEDTKIDLWSYNAELLLVALENQHTIDLTDSEMNNKLFEEKTKQLRENAEDMGNGCF
KIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNNRFQIKGVELSGYKD[서열번호 148].
```

[0626]

[0627]

INFA HA의 엑토도메인(1-529) - HIV GP160 기반 SSM:

MKTIIIALSYILCLVFAQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNTGTVKTITNDQIEVTNATELVQSSSTGEICDSP
HQILDGKNCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERS KAYSNCYPDVPDYASLRSVLASSGTLEFNNE
SFNWTGVTQNGTSSACIRRSKNSFFSRLNWLTHLNFKYPALNV TMPNNEQFDKLYIWGVHHPGTDKD
QIFLYAQASGRITVSTKRSQTAIPNIGSRPRVRNIPSRI SYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGYFKIRS
GESSIONRSDAPIGKCNCSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQNTLK LATGMRVPEKQTRGI
FGAIAGFIENGWEGMV DGVYWGFRHQ NSEGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRLIGKTNEKFHQIEKE
FSEVEGRIQDLEYKVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNLFEKTKQLRENAEDMGNGCF
KIYHKCDNACIGGSIRNGTYDH D VYRDEALNNRFQIKGV E LSGYKDGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLL
QLTVWGIKQLQARIAGGSGGHTTWMEWDREINNYTSIHS LIEESQNQPAKDEQELLE[서열번호
149].

[0628]

단백질 발현 및 정제:

[0630]

키메라 융합 단백질 인플루엔자 H3 클램프, 또는 HIV-1 HRA 및 HRB 서열을 결여하는 대조군 엑토도메인을 코딩하는 코돈 최적화된 DNA 서열을 CMV 프로모터 다음에 pIRES-2 진핵 발현 벡터 내로 도입하였다. 생성된 플라스미드를 CHO 세포 내로 형질감염시켰고, 형질감염된 세포를 실시예 1에 따라 생장시키고 회수하였다.

[0631]

HiTrap NHS-활성화된 HP 컬럼(GE)에 공유커플링된 특이적 단일클론 항체를 사용하여 친화성 크로마토그래피로 재조합 단백질을 정제하였다. 키메라 클램프 안정화된 인플루엔자 HA를 HIV-1 HRA 및 HRB에 의해 형성된 6-나선 다발에 결합하는 mAb 1281(Frey, et al., Nat Struct Mol Biol. 2010. 17(12):1486-91)로 정제하였다. 인플루엔자 HA의 엑토도메인을 mAb C05(Ekiert, et al., Nature, 2012. 489(7417): 526-32)로 정제하였다. 원하는 단백질의 정제를 SDS-PAGE로 확인하였다. 2015 계절을 위한 시판되는 4가 인플루엔자 백신(QIV)을 사노피 파스퇴르(Sanofi Pasteur)로부터 구입하였다(FluquadriTM).

[0632]

결과

[0633]

단백질 입체구조:

[0634]

입체구조 특이적 단일클론 항체 및 크기 배제 크로마토그래피로 단백질 입체구조를 평가하였다. 각각의 엑토도메인의 다운스트림에서 HIV-1 GP160 HR1 및 HR2 서열에 기반을 둔 SSM의 도입은 융합 엑토도메인 폴리펩타이드가 융합 후 입체구조로 재배열하는 것을 억제하는 일종의 '분자 클램프'로서 작용한다. 이러한 키메라 융합 단백질은 융합 전 입체구조로 안정화되는 반면, 네이키드 엑토도메인(즉, 단독으로 발현됨)은 융합 후 형태를 형성한다는 것을 보여주는 증거가 도 2 및 3에 제시되어 있다.

[0635]

동물 면역화:

[0636]

면역원으로서 6-나선 다발 형성 모이어티를 도입함으로써 그의 융합 전 형태로 안정화된 바이러스 융합 단백질의 유용성을 시험하기 위해, BALB/c 마우스를 키메라 클램프 안정화된 인플루엔자 HA, 상응하는 안정화되지 않은 엑토도메인 또는 시판되는 QIV로 면역화시켰다. 군당 5마리의 BALB/c 마우스들을 3 µg의 사포닌 보강제 Quill-A와 함께 5 µg의 정제된 단백질(또는 PBS)로 면역화시켰다. 면역화는 피내 전달을 통해 달성되었고, 마우스를 3주 간격으로 2회 면역화시켰다. 두 번째 면역화로부터 3주 후, 마우스를 희생시켰고 혈청을 채취하였다. 각각의 군으로부터 풀링된 혈청의 중화 효과를 플라크 감소 중화 시험(PRNT)에서 인플루엔자 A/허베이 바오딩 안궈/51/2010(H3N2)에 대해 평가하였다. 키메라 클램프 안정화된 인플루엔자 HA를 백신접종받은 마우스로부터의 혈청은 1:14,000(95% CI 11,000-17,000)의 IC50 값으로 강한 중화 활성을 보인 반면, 상응하는 HA 엑토도메인을 백신접종받은 마우스로부터의 혈청은 1:20의 시험된 최고 용량에서조차도 중화 활성을 보이지 않았고, 시판되는 QIV를 백신접종받은 마우스로부터의 혈청은 약 1:180의 IC50 값으로 중화를 보였다. 따라서, HIV-1 HR1 및 HR2로 구성된 구조 안정화 모이어티의 도입을 통한 인플루엔자 HA의 융합 전 형태의 안정화는 강한 중화 면역 반응에 있어서 매우 중요하고 현재 시판되는 불활성화된 백신에 비해 대략 80배까지 중화 면역 반응을 증가시킬 수 있다.

[0637]

클램프 안정화된 HA가 융합 후 HA 솔 또는 시판되는 QIV H3클램프와 상호작용하지 않는 항체의 신규 집단을 유도하였는지를 확인하기 위해, 백신접종된 마우스 혈청을 H3솔 또는 QIV와 예비항온처리하여, 이 형태들에 결합 할 수 있는 임의의 항체를 제거하였다(도 4, 백색 막대). H3솔 또는 QIV와의 항온처리는 바이러스 중화의 감소를 야기하지 않았으나, H3클램프와의 예비항온처리는 바이러스 중화 활성의 완전한 제거를 야기하였다. 유도된

면역 반응이 HA의 헤드 또는 줄기 서브도메인에 특이적인지를 시험하기 위해, 전체 H3클램프 및 H3 줄기 단독 도메인(상기 단락 2.3.2에 요약됨)에 대한 ELISA 반응성을 비교하였다. ELISA 전에, 마우스 혈청을 EBOV GP 클램프(상기 단락 2.3.12에 요약됨)와 예비항온처리하여, 클램프 도메인 그 자체에 특이적인 항체를 재흡수하였다. 그 다음, 혈청을 H3클램프 또는 H3줄기로 코팅된 ELISA 플레이트에 첨가하였고, 체액성 항체 반응성을 ELISA를 통해 측정하였다. 절반 최대 흡광도를 생성하는 희석률을 비교하여, 줄기 도메인에 특이적인 면역의 퍼센트를 추정하였다. 총 면역으로부터 줄기 도메인 특이적 면역을 차감함으로써 헤드 도메인에 대한 면역을 추정하였다(도 5 참조). H3 클램프 면역화는 줄기 도메인에 대한 대략 25%의 체액성 면역 반응 및 헤드 도메인에 대한 75%의 체액성 면역 반응을 야기하였다. 대조적으로, QIV 면역화는 줄기 도메인에 대한 단지 4%의 체액성 면역 반응 및 헤드에 대한 96%의 체액성 면역 반응을 야기하였고, H3줄 면역화는 줄기 도메인에 대한 단지 1%의 체액성 면역 반응 및 헤드에 대한 99%의 체액성 면역 반응을 야기하였다.

[0638] H5클램프 구축물(상기 단락 2.3.3에 요약됨)을 사용하여 조류 인플루엔자 H5N1로부터의 H5에 대한 면역 반응의 반응성을 비교하였다. H5클램프 또는 H1클램프를 백신접종받은 마우스로부터의 혈청도 분석에 포함시켰다. ELISA 전에, 마우스 혈청을 EBOV GP 클램프(상기 단락 2.3.12에 요약됨)와 함께 예비항온처리하여, 클램프 도메인 그 자체에 특이적인 항체를 재흡수시켰다. 그 다음, 혈청을 H5클램프로 코팅된 ELISA 플레이트에 첨가하였고, ELISA를 통해 체액성 항체 반응성을 측정하였다. 종점 역가가 계산되었고 도 6에 제시되어 있다. H3클램프 및 H1클램프 둘 다가 QIV의 교차반응성보다 유의미하게 더 큰, H5와의 실질적인 교차반응성을 보였다(각각 27배 증가 및 81배 증가).

[0639] 다음으로, 본 발명자들은 H5 교차반응성의 원인이 되는 서브도메인을 확인하고자 하였다. H5 ELISA와의 ELISA 반응성을 측정하기 전에, 마우스 혈청을 EBOV GP 클램프(상기 단락 2.3.12에 요약됨) 및/또는 H3줄기 H3 줄기 단독 도메인(상기 단락 2.3.2에 요약됨)과 함께 예비항온처리하여, 클램프 도메인 그 자체 및/또는 H3 줄기 도메인에 특이적인 항체를 미리 흡수시켰거나, 줄기 특이적 항체보다 경쟁에서 우월하도록 인간 단일클론 항체 FI6v3(Corti et al., PNAS 2011)을 첨가하였다. 그 다음, 혈청을 H5클램프로 코팅된 ELISA 플레이트에 첨가하였고, ELISA를 통해 종점 역가를 계산하였다(도 7). QIV에 의해 면역화된 마우스는 줄기 흡수/Fi6V3 경쟁에 의해 단지 최소한으로 영향을 받은 H5와의 낮은 반응성을 보였다. H5 클램프로 면역화시킨 마우스로부터의 혈청은 줄기 흡수/Fi6V3 경쟁에 의해 영향을 받지 않은 높은 반응성을 보였는데, 이 결과는 강한 헤드 특이적 면역 반응을 시사한다. 그러나, H1 클램프 또는 H3 클램프로 면역화시킨 마우스로부터의 혈청은 H5와의 강한 반응성을 보였고, 이것은 줄기 흡수/Fi6V3 경쟁에 의해 유의미하게 감소되었는데, 이 결과는 줄기 특이적 반응이 H5 교차반응성의 원인이라는 것을 시사한다.

[0640] 실시예 3

MERS 스파이크

[0642] 융합 전 입체구조로 제약된 바이러스 융합 단백질의 엑토도메인을 포함하는 키메라 폴리펩타이드를 생성하는 본 발명의 능력의 또 다른 예시로서, 중동 호흡기 증후군(MERS) 바이러스 스파이크 단백질에 대한 대표적 증거가 제공된다.

재료 및 방법

[0644] 키메라 폴리펩타이드 디자인:

[0645] MERS 스파이크 단백질의 엑토도메인을, HIV-1 GP160으로부터 유래한 한 쌍의 상보적 헵타드 반복부 영역들을 포함하는 다운스트림 이종 구조 안정화 모이어티에 작동가능하게 연결하였다. 생성된 키메라 단백질의 아미노산 서열은 이하에 제시되어 있다.

[0646] MERS 스파이크의 엑토도메인(1-1296) – HIV GP160 기반 SSM:

MIHSVFLLMFLPTESYVDVGPDGVSKACIEVDIQQTFFDKTWPRPIDVSKADGIIYPQGRRTYSNITITY
 QGLFPYQGDHGDMYVYSAGHATGTTPKLFLVANYSQDVKQFANGFVRIGAAANSTGTVIISPSTSAT
 IRKIYPAFMLGSSVGNFSGKMGRRFNHTLVLLPDGCCTLLRAFYCILEPRSGNHCPAGNSYTSFATYHT
 PATDCSDGNYNRNASLNSFKEYFNLNRNCTFMYTINYTEDEILEWFGITQTAQGVHLFSSRYVDLYGGNM
 FQFATLPVYDTIKYYSIIPHRSIRSIQSDRKAWAAFYVYKLQPLTFLLDFSDGYIRRайдCGFNDLSQLHC
 SYESFDVESGVYVSSFEAKPGSVVEQAEGVECDFSPILLSGTTPQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFS
 VNDFTCSQISPAIAASNCYSSLILDYFSYPLSMKSDLGVSSAGPISQFNYKQSFSNPTCLLATVPHNLTT
 ITKPLKSYINKCSRLLSDDRTEVPQLVNANQYSPCVSIVPSTVWEDGDYRKQLSPLEGGGWLVASGS
 TVAMTEQLQMGFGITVQYGTDTNSVCPLKFANDTKIASQLGNCVEYSLYGVSGRGVFQNCTAVGVRQ
 QRFVYDAYQNLVGYSSDDGNYYCLRACVSPVSVIYDKEKTHATLFGSVACEHISSTMSQYSRSTRS
 MLKRRDSTYGPLQTPVGCVLGLVNSSLFVEDCKLPLGQSLCALPDTPLTPRSVRSPGEMRLASIAFN
 HPIQVDQFNSSYFKLISIPTNFSFGVTQEYIQTTLQKVTVDCKQYICNGFQKCEQLLREYGQFCSKINQAL
 HGANLRQDDSVRNLFASVKSSQSSPIPGFGGDFNLTLLEPVSIITGSRSARSAIEDLLFDKVTIADPGY
 MQGYDDCMQQGPASARDLICAQYVAGYKVLPPMDVNMEAAYTSSLLGIAGVGWTAGLSSFAIPFA
 QSIFYRLNGVGITQQVLESENQKLIANKFNQALGAMQTGFITNEAFRKVQDAVNNNAQALSKLASELS
 NTFGAISASIGDIIQRDVLEQDAQIDRLINGRLTTLNAFVAQQLVRSESAALSAQLAKDKVNECVKAQ
 SKRSGFCGQGTHIVSFVNAPNGLYFMHVGYPSNHEVVSAYGLCDAANPTNCIAPVNGYFIKTNTR
 IVDEWSYTGSSFSPEPITSLNTKYVAPQVTVQNIITNLLPPLGNSTGIDFQDELDEFFKNVSTSIPNFG
 SLTQINTTLLDLTYEMLSLQQVVKALNESYIDLKELGNYTYYNKWPGGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLL
 QLTWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHSILIESQNNQKEKNEQELLE[서열번호
 152].

[0647]

단백질 발현 및 정제:

[0649]

키메라 융합 단백질 MERS S 클램프를 코딩하는 코돈 최적화된 DNA 서열을 CMV 프로모터 다음에 pIRES-2 진핵 발현 벡터 내로 도입하였다. 생성된 플라스미드를 CHO 세포 내로 형질감염시켰고, 형질감염된 세포를 실시예 1에 따라 생장시키고 회수하였다. 실시예 1에 기재된 바와 같이 mAb 1281(Frey, et al., Nat Struct Mol Biol. 2010. 17(12):1486-91)을 사용하여 친화성 크로마토그래피로 재조합 단백질을 정제하였다.

[0650]

결과

[0651]

단백질 입체구조:

[0652]

SDS-PAGE 및 크기 배제 크로마토그래피를 이용하여 단백질 입체구조를 평가하였다. 도 8에 제시된 결과는 MERS S 클램프 키메라 융합 단백질이 융합 전 입체구조로 안정화된다는 것을 시사한다.

[0653]

실시예 4

[0654]

EBOV GP

[0655]

융합 전 입체구조로 제약된 바이러스 융합 단백질의 엑토도메인을 포함하는 키메라 폴리펩타이드를 생성하는 본 발명의 능력의 또 다른 예시로서, EBOV 당단백질(GP)에 대한 대표적 증거가 제공된다. 추가 증거는 연장된 기간 동안 고온에서 이 키메라 폴리펩타이드의 안정성의 예시로서 제공된다. 나아가, 상기 언급된 방법을 통해 융합 전 입체구조로 제약된 키메라 단백질이 마우스에게 투여될 때 중화 면역 반응을 유도할 수 있다는 것을 보여주는, EBOV GP에 대한 대표적 증거가 제공된다.

[0656]

재료 및 방법

[0657]

키메라 폴리펩타이드 디자인:

[0658]

뮤신 유사 도메인을 결여하는 EBOV GP를, HIV-1 GP160으로부터 유래한 한 쌍의 상보적 헵타드 반복부 영역들을 포함하는 다운스트림 이종 구조 안정화 모이어티에 작동가능하게 연결하였다. 생성된 키메라 단백질의 아미노산 서열은 이하에 제시된다.

[0659]

EBOV GP 엑토도메인, 마이너스 뮤신 유사 도메인(1-311, 462-650) – HIV GP160 기반 SSM:

MGVTGILQLPRDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNL
 EGNGVATDVPSATKRWGFRSGVPPKVNVYEAGEWAENCYLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYV
 HKVSGTGPCAGDFAFHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKDDFFSSHPLREPVNATED
 PSSGYYSTTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTYVQLESRFTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLWKVNP
 EIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIRSEELSFTVGGNNTHHQDTGEESASSGKGLGITNTIAGVAGLITGG
 RRTRREAIVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNQDGLICGLRQLANET
 TQALQLFLRATTTELRTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCCIEPHDWTKNITDKIDQIHDFVDKTL
 DQGDNDNWWWTGWRQGGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWME

WDREINNYTSЛИHSLIEESQNQQEKNEQUELLE[서열번호 139].

[0660]

단백질 발현 및 정제:

[0662]

EBOV GP 엘타 뮤신 클램프를 코딩하는 코돈 최적화된 DNA 서열을 CMV 프로모터의 다운스트림에서 pIRES-2 전핵 발현 벡터 내로 도입하였다. 생성된 플라스미드를 CHO 세포 내로 형질감염시켰고, 형질감염된 세포를 실시예 1에 따라 생장시키고 회수하였다. mAb Kz52(Murin et al., PNAS. 2014 11(48):17182-7)를 사용하여 친화성 크로마토그래피로 재조합 단백질을 정제하였다.

[0663]

결과

[0664]

단백질 입체구조:

[0665]

단백질 입체구조를 환원 조건의 존재 및 부재 하에서 입체구조 특이적 단일클론 항체를 사용하여 SDS-PAGE로 평가하였다. 도 9 내지 11에 제시된 결과는 EBOV GP 엘타 뮤신 클램프 키메라 융합 단백질이 융합 전 입체구조로 안정화되고 이 입체구조가 연장된 기간 동안 상대적으로 높은 온도에서 조차도 안정하다는 것을 시사한다(도 11 참조).

[0666]

동물 면역화:

[0667]

면역원으로서 6-나선 다발 형성 모이어티를 도입함으로써 그의 융합 전 형태로 안정화된 바이러스 융합 단백질의 유용성을 시험하기 위해, BALB/c 마우스를 키메라 클램프 안정화된 EBOV GP 엘타 뮤신 구축물로 면역화시켰다. 군당 5마리의 BALB/c 마우스들을 3 µg의 사포닌 보강제 Qui1-A와 함께 또는 이 보강제 없이 1 µg의 정제된 단백질(또는 PBS)로 면역화시켰다. 면역화는 피내 전달을 통해 달성되었고, 마우스를 3주 간격으로 3회 면역화시켰다. 세 번째 면역화로부터 3주 후, 마우스를 희생시켰고 혈청을 채취하였다. 각각의 면역화 후 EBOV GP 특이적 반응을 평가하였다(도 12). 플라크 감소 중화 시험(PRNT)에서 호주 동물 보건 실험실(AAHL)에서 PC4 조건 하에서 살아있는 ZEBOV에 대해 각각의 마우스로부터의 혈청의 중화 효과를 평가하였다(도 13). 키메라 클램프 안정화된 EBOV GP 엘타 뮤신 구축물을 백신접종받은 마우스로부터의 혈청은 52.8(95% CI 24.5-114.0)인 것으로 계산된, 플라크 형성 유닛을 50% 감소시키는 기하 평균 역가로 강한 중화 활성을 보였다.

[0668]

실시예 5

[0669]

클램프 면역침묵

[0670]

본 실시예는 키메라 폴리펩타이드를 생성하는 본 발명의 능력을 예시하는데, 이때 클램프 서열의 용매 노출된 영역은 N-연결 글리코실화를 도입하도록 변형된다. EBOV GP에 대한 대표적 증거가 제공되고, 이 변형은 후천성 면역 시스템에 의한 인식으로부터 클램프 도메인의 차폐를 용이하게 하는 것으로 확인된다.

[0671]

재료 및 방법

[0672]

키메라 폴리펩타이드 디자인:

[0673]

뮤신 유사 도메인을 결여하는 EBOV GP를, HIV-1 GP160으로부터 유래한 한 쌍의 상보적 HRA 영역 및 HRB 영역을 각각 포함하는 4개의 상이한 다운스트림 이종 SSM들에 작동가능하게 연결하였는데, 이때 개별 HRB 영역은 N-연결 글리코실화의 도입을 용이하게 하는 상이한 돌연변이를 보유하였다. 이 키메라 단백질의 아미노산 서열은 이하에 제시되어 있다.

[0674] EBOV GP 엑토도메인, 마이너스 뮤신 유사 도메인(1-311, 462-650) - HIV GP160 기반 SSM + G1:

MGVGTGILQLPDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNL
 EGNGVATDVSATKRWGFRSGVPPKVVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYV
 HKVSGTGPCAGDFAFHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKdffSSHPLREPVNATED
 PSSGYYSTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTYVQLESRFTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNP
 EIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIRSEELSFTVGGNNTHHQDTGEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGG
 RRTRREAIVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNQDGLICGLRQLANET
 TQALQLFLRATTTELRTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCciePHDWTKNITDKIDQIHFVDKTLP
 DQGDNDNWWWTGWRQGGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGTTWMNW

TREINNYTSЛИHSLIEESQNQQEKNEQELLE[서열번호 153]

[0675] EBOV GP 엑토도메인, 마이너스 뮤신 유사 도메인(1-311, 462-650) - HIV GP160 기반 SSM + G2:

MGVGTGILQLPDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNL
 EGNGVATDVSATKRWGFRSGVPPKVVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYV
 HKVSGTGPCAGDFAFHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKdffSSHPLREPVNATED
 PSSGYYSTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTYVQLESRFTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNP
 EIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIRSEELSFTVGGNNTHHQDTGEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGG
 RRTRREAIVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNQDGLICGLRQLANET
 TQALQLFLRATTTELRTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCciePHDWTKNITDKIDQIHFVDKTLP
 DQGDNDNWWWTGWRQGGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGTTWMEW

DREINNYTSЛИHNLTEESQNQQEKNEQELLE[서열번호 154]

[0676] EBOV GP 엑토도메인, 마이너스 뮤신 유사 도메인(1-311, 462-650) - HIV GP160 기반 SSM + G3:

MGVGTGILQLPDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNL
 EGNGVATDVSATKRWGFRSGVPPKVVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYV
 HKVSGTGPCAGDFAFHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKdffSSHPLREPVNATED
 PSSGYYSTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTYVQLESRFTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNP
 EIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIRSEELSFTVGGNNTHHQDTGEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGG
 RRTRREAIVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNQDGLICGLRQLANET
 TQALQLFLRATTTELRTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCciePHDWTKNITDKIDQIHFVDKTLP
 DQGDNDNWWWTGWRQGGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGTTWMEW

DREINNYTSЛИHSLIEESQNQTEKNEQELLE[서열번호 155]

[0677] EBOV GP 엑토도메인, 마이너스 뮤신 유사 도메인(1-311, 462-650) - HIV GP160 기반 SSM + G4:

MGVGTGILQLPDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSVDKLVCRDKLSSTNQLRSVGLNL
 EGNGVATDVSATKRWGFRSGVPPKVVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYV
 HKVSGTGPCAGDFAFHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKdffSSHPLREPVNATED
 PSSGYYSTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTYVQLESRFTPQFLLQNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNP
 EIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIRSEELSFTVGGNNTHHQDTGEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGG
 RRTRREAIVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGIYIEGLMHNQDGLICGLRQLANET
 TQALQLFLRATTTELRTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCciePHDWTKNITDKIDQIHFVDKTLP
 DQGDNDNWWWTGWRQGGSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGTTWMEW

DREINNYTSЛИHSLIEESQNQNEKNENETLE[서열번호 156]

[0678] 단백질 발현 및 정제:

[0683] 상기 구축물을 코딩하는 코돈 최적화된 DNA 서열을 CMV 프로모터의 다운스트림에서 pIRES-2 진핵 발현 벡터 내로 각각 도입하였다. 생성된 플라스미드를 CHO 세포 내로 형질감염시켰고, 형질감염된 세포를 실시예 1에 따라 생장시키고 회수하였다. mAb Kz52(Murin et al., PNAS. 2014 11(48):17182-7)를 사용하여 친화성 크로마토그래피로 재조합 단백질을 정제하였다.

[0684] 결과

[0685] 후천성 면역 시스템에 의한 클램프의 인식을 감소시킬 잠재력(면역침묵)을 시험하기 위해, 4개의 별개의 돌연변

이들을, N-연결 글리코실화의 도입을 용이하게 할 수 있는 HIV GP160 기반 SSM에 기반을 둔 클램프 서열의 HRB 내로 도입하였다.

[0686] 변형된 GP160 기반 SSM을 포함하는 키메라 EBOV GP(뮤신 유사 도메인을 결여함)를 정제하였고, Kz52와의 반응성을 평가하여 정제된 단백질의 정확한 입체구조를 확인하였다. 변형된 클램프 서열을 포함하는 키메라 EBOV 단백질에 대해 키메라 클램프 안정화된 인플루엔자 HA로 면역화시킨 마우스로부터의 혈청의 반응성을 시험하였다(도 14). 반응성은 각각의 개별 부위에서 글리코실화에 의해 유의하게 감소되었는데, 이 결과는 이 방법을 이용하여 클램프 도메인에 대한 반응성을 감소시킬 수 있다는 가설을 뒷받침한다.

[0687] 실시예 6

8종의 바이러스들로부터의 클램프 안정화된 항원의 정제

[0689] 본 실시예는 광범위한 외피 보유 바이러스들로부터의 바이러스 융합 단백질의 엑토도메인을 포함하는 키메라 폴리펩타이드를 생성하는 본 발명의 일반적인 능력, 및 이 폴리펩타이드가 클램프 도메인에 특이적인 단일클론 항체에 의해 정제된다는 것을 입증한다.

재료 및 방법

[0691] 키메라 폴리펩타이드 디자인:

[0692] INFA HA, RSV F, 니파 F 및 HSV2 gB의 엑토도메인을, HIV-1 GP160으로부터 유래한 한 쌍의 상보적 헵타드 반복부 영역들을 포함하는 이종 구조 안정화 모이어티에 다운스트림으로 작동가능하게 연결한다. 생성된 키메라 단백질들 및 이를 각각의 대조군의 아미노산 서열은 이하에 제시되어 있다. 인플루엔자의 경우, 폴든 SSM을 포함하는 대조군뿐만 아니라, SSM을 결여하는 가용성 엑토도메인도 생성하였다. RSV-F의 경우, 엑토도메인의 비-필수 영역(aa106-144)을 디자인으로부터 제거하였다. 4개의 부위에서 돌연변이(S155C, S290C, S190F 및 V207L)를 포함하고 폴든 SSM을 포함하는, 문헌(McLellan et al., Science, 2013. 342(6158): 592-598)에 기재된 바와 같이 생성된 양성 대조군뿐만 아니라, SSM을 결여하는 가용성 엑토도메인도 생성하였다. 니파 및 HSV의 경우, 안정화되지 않은 대조군은 생성되지 않았다.

[0693] 인플루엔자 HA의 엑토도메인(스위스 2013, H3N2)(1-533):

```
MGWSCIILFLVATATGVHSEQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTITNDRIEVTNATELVQNNSIG
EICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERSKAYSNCYPYDVPDYASLRSLSVASSGTL
EFNNESFNWAGVTQNGTSSCCRGSNSSSFSRLNLTHLNSKPALNVTPMNNEQFDKLYIWGVHHP
VTDKDQIFLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGYRPRIRDIPSRSIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGY
FKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSERGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRLIGKTNEKFH
QIEKEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFEEKTKQLRENAEDM
GNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDGGSAIGGYIPEAPRDGQ
```

[0694]

[0695] 인플루엔자 HA의 엑토도메인(스위스 2013, H3N2) - 폴든 SSM:

```
MGWSCIILFLVATATGVHSEQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTITNDRIEVTNATELVQNNSIG
EICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERSKAYSNCYPYDVPDYASLRSLSVASSGTL
EFNNESFNWAGVTQNGTSSCCRGSNSSSFSRLNLTHLNSKPALNVTPMNNEQFDKLYIWGVHHP
VTDKDQIFLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGYRPRIRDIPSRSIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGY
FKIRSGKSSIMRSDAPIGKCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSERGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRLIGKTNEKFH
QIEKEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLFEEKTKQLRENAEDM
GNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDGGSAIGGYIPEAPRDGQ
AYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSGSAWSHPQFEK[서열번호 158].
```

[0696]

[0697]

인플루엔자 HA의 액토도메인(스위스 2013 H3N2)(1-533) – HIV GP160 기반 SSM:

MGWSCIILFLVATATGVHSEQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTITNDRIEVNATELVQNSSIG
 EICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVERSKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTL
 EFNNESFNWAGVTQNGTSSCRRGSNSFFSRLNLTHLN SKYPA LNV TMPNNEQFDKLYIWGVHHP
 VTDKDQIFLYAQSSGRITVSTKRSQQAVIPNIGYRPRIRDIPSRSIYWTIVKPGDILLINSTGNLIAPRGY
 FKIRSGKSSIMRSDAPIGCKSECITPNGSIPNDKPFQNVNRITYGACPRYVKQSTLKLATGMRNVPER
 QTRGIFGAIAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNSERGRGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRLIGKTNEKFH
 QIEKEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNLFEKTKQLRENAEDM
 GNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDGS GIVQQQNLLRAIEA
 QQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHS LIEESQNQPAKDEQELLE[서열
 번호 159].

[0698]

인플루엔자 HA의 액토도메인(캘리포니아 2009, H1N1pdm)(1-526):

MKVKLVLCTFATANADTL CIGYHANNSTDVTDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGKLCKLRGVAPLHL
 GKCNIA G WILGNPE CESL STASSWSYIVETPSSDNGTCYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEIFPKTSS
 WPNHDSNKGVTAACP HAGAKSFYKNL IWLVKKGNSYPKLSKS YINDKGKEV LVLWGIHHPSTSADQQ
 SLYQNADTYVFVGSSRYSKKFKPEIAIRPKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFAME
 RNAGSGIIISDTPVHDCNTTQC TPKGAI NTSLPFQNIHPI TIGKCPKYVKSTKLR LATGLRNIPSIQS RGL
 FGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKE
 FNHLEKRIENLNKKVDDGFLDIW TYNAELLVLLENERTLDYHDSNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGC
 EFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEIDGVKLESTRGGSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDG
 EWVLLSTFLGGLVPRGSGSAWSHPQFEK[서열번호 160].

[0700]

인플루엔자 HA의 액토도메인(캘리포니아 2009, H1N1pdm)(1-526) – 폴돈 SSM:

MKVKLVLCTFATANADTL CIGYHANNSTDVTDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGKLCKLRGVAPLHL
 GKCNIA G WILGNPE CESL STASSWSYIVETPSSDNGTCYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEIFPKTSS
 WPNHDSNKGVTAACP HAGAKSFYKNL IWLVKKGNSYPKLSKS YINDKGKEV LVLWGIHHPSTSADQQ
 SLYQNADTYVFVGSSRYSKKFKPEIAIRPKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFAME
 RNAGSGIIISDTPVHDCNTTQC TPKGAI NTSLPFQNIHPI TIGKCPKYVKSTKLR LATGLRNIPSIQS RGL
 FGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKE
 FNHLEKRIENLNKKVDDGFLDIW TYNAELLVLLENERTLDYHDSNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGC
 EFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEIDGVKLESTRGGSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDG
 EWVLLSTFLGGLVPRGSGSAWSHPQFEK[서열번호 161].

[0702]

인플루엔자 HA의 액토도메인(캘리포니아 2009, H1N1pdm)(1-526) – HIV GP160 기반 SSM:

MMKVKLVLCTFATANADTL CIGYHANNSTDVTDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGKLCKLRGVAPLH
 LGKCNIA G WILGNPE CESL STASSWSYIVETPSSDNGTCYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEIFPKTS
 SWPNHDSNKGVTAACP HAGAKSFYKNL IWLVKKGNSYPKLSKS YINDKGKEV LVLWGIHHPSTSADQ
 QSLYQNADTYVFVGSSRYSKKFKPEIAIRPKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFAM
 ERNAGSGIIISDTPVHDCNTTQC TPKGAI NTSLPFQNIHPI TIGKCPKYVKSTKLR LATGLRNIPSIQS RGL
 LFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQFTAVGK
 EFNHLEKRIENLNKKVDDGFLDIW TYNAELLVLLENERTLDYHDSNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGC
 FEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEIDGVKLESTRGGSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDG
 TVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHS LIEESQNQPAKDEQELLE[서열번호 162].

[0704]

[0705]

RSV F의 엑토도메인(1-516) - His 태그:

MELLILKANAITTILTAVTFCASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
 TDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFLGF
 LLGVGSIAISGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQ
 SCSISNIETVIEFQQKNNRLLIEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
 RQQSYSIMSIKEEVLAYVVLQPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQAETCKVQSNSRVCDFCDTMNSLTPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT
 KCTASNKRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTSVGNTLYYVNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVGGGGHHHHHH[서열번호 163].

[0706]

[0707]

RSV F의 엑토도메인(1-513) - DScav 돌연변이 - 폴든 SSM:

MELLILKANAITTILTAVTFCASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
 TDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFLGF
 LLGVGSIAISGVAVCKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTFKVLDLKNYIDKQLLPILNQ
 SCSISNIETVIEFQQKNNRLLIEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIV
 RQQSYSIMCIKEEVLAYVVLQPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVS
 FFPQAETCKVQSNSRVCDFCDTMNSLTPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT
 KCTASNKRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTSVGNTLYYVNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGLVPRGSGSAWSH

[0708]

PQFEK[서열번호 164]

[0709]

RSV F의 엑토도메인(1-105, 145-511) - HIV GP160 기반 SSM:

MELLILKANAITTILTAVTFCASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKNKCNG
 TDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTQATNNNGSIAISGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKA
 VVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLIEITREFSVNAGVTPVS
 TYMLTNSELLSINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMCIKEEVLAYVVLQPLYGVIDTPCWKLHT
 SPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVSFPPQAETCKVQSNSRVCDFCDTMNSLTPSEVNLCNVDI
 FNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTCTASNKRGIKTFNSNGCDYVSNKGVDTVGNT
 LYVNVNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEGSGIVQQQNNLLRA
 IEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNEQELLE[
 서열번호 165].

[0710]

니파 F의 엑토도메인(1-483) - HIV GP160 기반 SSM:

MVVILDKRCYCNCNLLILMISECSVGILHYEKLSKIGLVKGTRKYKIKSNPLTKDIVKMPNVSNMSQC
 TGSVMENYKTRLNGILTPIKGALEIYKNNNTHLDVGDVRLAGVIMAGVAIGIATAAQITAGVALYEAMKNA
 DNINKLKSSIESTNEAVVKLQETAEKTVYVLTALQDYINTNLVPTIDKISCKQTESDLALSKYLSDLLFV
 FGPNLQDPVSNSMTIQAIQAFGGNYETLLRTLGYATEDFDDLLESDSITGQIIYVDLSSYYIIVRVYFPIL
 TEIQQAYIQELLPVSNNDNSEWISIVPNFILVRNLTISNIEIGFCLITKRSVICCNQDYATPMTNNMRECLT
 GSTEKCPRELVSSHVPRFALSNGVLFANCISVTCQCQTGRAISQSGEQTLLMIDNTTCPTAVGNVII
 SLGKYLGSVNYNSEGIAIGPPVFTDKVDISSQISSMNQSLQQSKDYIKEAQRLLTGSGIVQQQNNLLR
 AIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNEQELLE
 [서열번호 166].

[0712]

[0713]

HSV1 gB의 엑토도메인(28-741) - IgK 신호 팝타이드 - HIV GP160 기반 SSM:

MGWSCIILFLVATATGVHSERASGDVAATVAANGGPASQPPPVPSPATTKARKRKTKKPPKRPEATPPP
 DANATVAAGHATLRAHLREIKVENADAQFYVCPPPTGATVVQFEQPRRCPTRPEGQNYTEGIAVVFKEN
 IAPYKFATMYYKDVTVSQVWFGHRYSQFMGIFEDRAPVPFEEVIDKINAKGVCRSTAKYVRNNMETTA
 FHRDDHETDMELKPAKVATRTSRGWHTTDLKYNPSRVEAFHRYGTTVNCIVEEVTDARSVYPYDEFVLA
 TGDFVYMSPFYGYREGSHTEHTSYAADRFKQVDGFYARDLTTKARATSPTRNLLTPKFTVAWDWVP
 KRPAVCTMTKWQEVDLRAEYGGSFRSSDAISTTFTNLTYQSLSRVLGDCIGRDAREAIDRMFA
 RKYNATHIKVGQPQYYLATGGFLIAYQPLLSNTLAEVYREYMREQDRKPRNATPAPLREAPSANASVER
 IKTTSSIEFARLQFTYNHIQRHVNDMLGRIA VAWCELNQHELTWNNEARLNPNAIASATVGRRVSARM
 LGDVMAVSTCVPVAPDNIVQNSMRVSSRPGTCSRPLVSFRYEDQGPLIEGQLGENNELRLTRDALEP
 CTVGHRRYFIFGGGYVYFEYAYSHQLRADVTVSTFIDLNTMLEDHEFVPLEVYTRHEIKDSGLLDYT
 EVQRNRNQLHDLRFADIDTVIRADANAAMFAGLCAFFEGMGDLGRGGGGSGIVQQQNLLRAIEAQHQH
 LLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQKEQNEQELLE[서열번호
 167].

[0714]

홍역 F의 엑토도메인(1-488) - HIV GP160 기반 SSM:

MGLKVNVS AIFMAVLLTLQPTGQIHWNLSKIGVVGIGSASYKVMTRSSHQSLVIKLMPNITLLNNCT
 RVEIAEYRRLLRTVLEPIRDALNAMTQNIRPVQS VASSRRHKRFAGVVLAGAALGVATAAQITAGIALHQ
 SMLNSQAIDNLRASLETTNQAI EAIRQAGQEMILAVQGVQDYINNELIPS MNQLSCDLIGQKGLKLLRY
 YTEILSLFGPSLRDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDL LGILESRG IKARITHVDTESYFIVLS
 IA YPTLSEIKGVIVHRLEGVSYNIGSQEWYTTVPKYVATQG YLISNFDESSCTFMP EGTVCSQNALYPMS
 PLLQECLRGSTKSCARTLVSGSGNRFILSQGNLIANCASILCKCYTTGTIINQDPDKILTYIAADHCPVV
 EVNGVTIQVGSRRYPD AVYLRIDL GPPISLERLDVGTNLGNAIAKLEDAKELLESSDQILRS MKGGRS
 GIVQQQNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYTSLIHSLIEESQN
 QQKEQNEQELLE[서열번호 168].

[0716]

라사 바이러스 GPC의 엑토도메인(1-423) - HIV GP160 기반 SSM:

MGQIVTFFQEVPHVIEVMNIVLIALSVAVLKGLYNFATCGLVGLTFLLLCGRSCTTS LYKGVYELQTL
 ELN METLNMTMPLSCTKN SHYIMVGNETGLELTNTSIINHKFCNLSDAHKKNLYDH ALMSIISTFH
 LSIPN FNQYEAMSCDFNGGKISVQYNL SHYAGDAANHCGTVANGV LQTFMRMRAWGGSYIALDSGRG
 NWDCIMTSYQYLIQNTT WEDHCQFSRPSPIGYLG LLSQRTRDIYISR RLLGTFTW TLSSEGKDTPGG
 YCLTRWM LIEAEKCFGNTAVAKCNEKHDEECDMLRLFDNFNKQAIQRLKA EAQMSIQLINKAVN ALIN
 DQLIMKNHLDIMGIPYCNSKYWYLNHTTGRTSLPKCWLVSNGSYLNETHFSDDIEQQADNMITEM
 LQKEYMERQGSGIVQQQNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARILAGGSGGHTTWEWDREINNYT
 SLIHS LIEESQNQQKEQNEQELLE[서열번호 169].

[0718]

단백질 발현 및 정제:

[0720]

키메라 융합 단백질, 인플루엔자 H1 폴돈, 인플루엔자 H1 클램프, 인플루엔자 H3 폴돈, 인플루엔자 H3 클램프, RSV F 클램프, RSV F ds cav 폴돈, MERS S 클램프 및 에볼라 GP 클램프 멜타 뮤신, 니파 바이러스 F 클램프, 홍역 바이러스 F 클램프, 라사 바이러스 GPC 클램프, 헤르페스 심플렉스 2 바이러스 gB 클램프(뿐만 아니라 HIV-1 HRA 및 HRB 서열을 결여하는 RSV F 및 인플루엔자 H3의 상응하는 엑토도메인)를 코딩하는 코돈 최적화된 DNA 서열을 CMV 프로모터 다음에 pIRES-2 또는 pNBF 진핵 발현 벡터 내로 도입하였다. 생성된 플라스미드를 화학적으로 규정된 CHO(CD-CHO) 배지(Gibco) 또는 ExpiCHO 발현 배지(Gibco)에서 생장된 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 내로 형질감염시켰다. $m\ell$ 당 1×10^6 개 세포의 밀도로 $300 m\ell$ CHO 세포에서 $600 \mu\text{g}$ 의 플라스미드와 2.4 mg 의 선형 폴리에틸렌이민을 조합하거나, $16 \mu\text{g}$ 의 플라스미드를 $640 \mu\ell$ 의 OPTI-pro 혈청 무함유 배지(SFM) 및 $51.2 \mu\ell$ 의 엑스피펙타민(expifectamine)(Gibco)과 조합함으로써 CHO 세포를 형질감염시켰다. 4시간의 항온처리 후, 선형 폴리에틸렌이민에 의해 형질감염된 CHO 세포를 펠렛화하였고, 형질감염 시약을 함유하는 배지를 제거하였고, 세포를, 8 mM 글루타맥스(Glutamax)(Gibco), $100 \text{ 유닛}/m\ell$ 의 페니실린(Gibco), $100 \mu\text{g}/m\ell$ 의 스트렙토마이신(Gibco), 7.5% CHO CD 효율적 공급원료 A(Gibco) 및 7.5% CHO CD 효율적 공급원료 B(Gibco)를 함유하는 $300 m\ell$ 의 CD-CHO에 재현탁하였다. 엑스피펙타민에 의해 형질감염된 세포의 경우, 24시간의 항온처리 후, $96 \mu\ell$ 의 ExpiCHO 인핸서 및 $3.84 m\ell$ 의 ExpiCHO 공급원료를 첨가하였다. 그 다음, 세포의 두 세트들을 약 120 rpm 에서 진

탕하면서 37°C 및 7.5% CO₂에서 7일 동안 항온처리하였다. 7일 후, 세포를 6,000 x g에서 10분 동안 원심분리하여 제거하였고, 상청액을 여과하였다.

[0721] HiTrap NHS-활성화된 HP 컬럼(GE)에 공유커플링된 특이적 단일클론 항체를 사용하여 친화성 크로마토그래피로 재조합 단백질을 정제하였다. 키메라 클램프 안정화된 인플루엔자 HA, RSV F, MERS S, 에볼라 GP, 라사 GPC, 니파 F, 홍역 F 및 HSV2 gB를, HIV-1 HRA 및 HRB에 의해 형성된 6-나선 다발에 결합하는 mAb 1281(Frey, et al., Nat Struct Mol Biol. 2010. 17(12):1486-91)로 정제하였다. 키메라 클램프 안정화되고 폴돈 안정화된 인플루엔자 H1, 및 H1의 상응하는 엑토도메인을 mAb 5J8(Hong, et al., J Virol, 2013. 87(22): p. 12471-80)로 정제하였다. 키메라 클램프 안정화되고 폴돈 안정화된 인플루엔자 H3, 및 H3의 상응하는 엑토도메인을 mAb C05(Ekiert, et al., Nature, 2012. 489(7417): 526-32)로 정제하였다. ds cav 돌연변이를 포함하는, 키메라 클램프 안정화되고 폴돈 안정화된 RSV F뿐만 아니라 RSV F의 상응하는 엑토도메인도 mAb 101F(McLellan, et al. J Virol. 2010. 84(23):12236-44)로 정제하였다. 원하는 단백질의 정제를 SDS-PAGE로 확인하였다.

[0722] 결과

[0723] 단백질 발현 및 정제의 일반적인 방법으로서 분자 클램프:

[0724] 8종의 바이러스들로부터의 키메라 클램프 안정화된 바이러스 융합 단백질의 발현 및 정제를 SDS-PAGE로 확인하였다(도 15). 엑토도메인의 다운스트림에서 HIV-1 GP160 HR1 및 HR2 서열에 기반을 둔 SSM의 도입은 HIV-1 HRA 및 HRB에 의해 형성된 6-나선 다발에 결합하는 mAb 1281(Frey, et al., Nat Struct Mol Biol. 2010. 17(12):1486-91)을 사용한 다양한 키메라 단백질들의 회수를 가능하게 한다.

[0725] 인플루엔자 바이러스 H1N1pdm를 사용한 챠린지 후 마우스 보호 연구:

[0726] 6-나선 다발 형성 모이어티를 인플루엔자 HA 엑토도메인 내에 포함시키는 것이 넓은 교차반응성 면역 반응을 이끌어낼 수 있다는 것을 보여주는 결과를 확장하기 위해, 본 발명자들은 C57b 마우스 내에서 인플루엔자 챠린지 실험을 수행하였다. 또한, 이 연구는 다양한 인플루엔자 하위유형들로부터의 광범위한 교차보호의 유도에 대하여 분자 클램프 6-나선 다발 형성 모이어티를 폴돈 SSM과 직접적으로 비교하기 위한 것이다. C57b 마우스를 PBS, H1솔, H3솔, H1폴돈, H3폴돈, H1클램프 또는 H3클램프로 백신접종하였다. 각각 5 µg의 HA 및 3 µg의 Quilla를 함유하는 백신의 용량을 일치시켰고, 마우스는 2주 간격으로 제공된 3회 용량의 백신을 제공받았다. 그 다음, 초기 용량으로부터 6주 후 마우스를 인플루엔자 Ca1/09(H1N1pdm)로 챠린지하였다(n = 군당 5마리 마우스). 이 연구는 동일한 균주에 대한 보호 및 매우 상이한 하위유형에 대한 보호 둘 다를 평가하도록 디자인되었다. 비내 경로를 통해 '저용량'의 1×10^2 플라크 형성 유닛(PFU) 및 '고용량'의 5.5×10^3 PFU로 인플루엔자 A 바이러스 H1N1pdm을 사용하여 마우스를 챠린지하였다. 14일 기간에 걸쳐 매일 체중 손실을 측정하였고, 마우스들은 그들의 원래의 체중의 20% 초과의 체중을 손실한 경우 도태되었다.

[0727] 이 연구는 H1솔 및 H1폴돈과 마찬가지로 H1클램프가 인플루엔자의 일치된 균주에 대한 완전한 보호를 제공할 수 있다는 것을 확인시켜주었다(도 16a 및 16b). 특히 흥미로운 것은, H3클램프를 사용한 면역화가 인플루엔자 H1N1pdm으로부터의 부분적 보호도 보여주었다는 것이다. H3클램프의 경우, 5마리의 마우스들 중 3마리의 마우스들이 저용량 인플루엔자 H1N1pdm로 챠린지되었을 때 생존하였고, 5마리의 마우스들 중 2마리의 마우스들이 고용량 인플루엔자 H1N1pdm으로 챠린지되었을 때 생존하였다(도 16c 및 16d). 비교하건대, H3솔 또는 H3폴돈으로 면역화시킨 마우스들 중 어느 마우스도 저용량 또는 고용량 인플루엔자 H1N1pdm으로 챠린지되었을 때 생존하지 않았고, PBS로 면역화시킨 5마리의 모의 마우스들 중 1마리의 모의 마우스만이 저용량 인플루엔자 H1N1pdm으로 챠린지되었을 때 생존하였다. 모의 백신접종, 또는 H3솔 또는 H3폴돈을 사용한 백신접종 후 생존한 마우스(1/30)에 비해 H3클램프 백신접종 후 H1N1pdm 챠린지로부터 생존한 마우스들(5/10) 사이의 비교는 광범위한 인플루엔자 보호의 통계학적 유의성이 H3클램프에 의해 매개된다는 것을 입증한다($p=0.0003$; 카이 제곱 계산기). H3 및 H1 하위유형이 인플루엔자 계통수(phylogenetic tree) 내에서 별개의 군에 속하기 때문에, 이 결과는 넓은 수준의 보호를 시사하고, 광범위한 모든 인플루엔자 균주들 및 하위유형들이 동등하게 분기되어 있거나 덜 분기되어 있다는 것을 합리적으로 예측할 수 있다.

[0728] 클램프 SSM의 포함 시 증가된 열안정성:

[0729] 클램프 SSM에 의해 부여된 안정성과 폴돈 SSM에 의해 부여된 안정성을 직접적으로 비교하기 위해, 정제된 항원 인플루엔자 H1 폴돈, 인플루엔자 H1 클램프, RSV F ds cav 폴돈 및 RSV F 클램프를 72시간 동안 43°C에서 항온 처리하였고, mAb와의 반응성을 열안정성의 척도로서 사용하였다. RSV F 비교를 위해, 3개의 융합 전 특이적 mAb

들인 D25(McLellan et al., Science, 2013. 340(6136): p. 1113-7), MPE8(Corti et al., Nature, 2013. 501(7467): p. 439-43) 및 AM22(McLellan et al., Science, 2013. 340(6136): p. 1113-7)를 사용하였다. 인플루엔자 HA 비교를 위해, 2개의 줄기 특이적 mAb들인 CR6261(Ekiert et al., Science, 2009. 324(5924): p. 246-51) 및 Fi6V3(Corti et al., Science, 2011. 333(6044): p. 850-6)을 사용하였고, 1개의 헤드 특이적 mAb인 5J8(Hong, et al., J Virol, 2013. 87(22): p. 12471-80)을 사용하였다. 직접적인 비교는 승온에서의 항온 처리 후 RSV F 클램프가 RSV F ds cav 폴돈보다 융합 전 특이적 mAb와의 유의미하게 더 높은 반응성을 보유한다는 것을 보여주었다(도 17A). 유사하게, 직접적인 비교는 인플루엔자 H1클램프가 인플루엔자 H1 폴돈보다 HA 줄기 특이적 mAb와의 유의미하게 더 높은 반응성을 보유한다는 것을 보여주었다(도 17B). 헤드 특이적 mAb와의 반응성의 보유는 인플루엔자 H1 클램프와 인플루엔자 H1 폴돈 사이에 필적할만하였다. 이 결과들은 함께 폴돈 SSM에 비해 클램프 SSM의 더 우수한 안정성을 입증한다.

[0730] RSV F 클램프에 의해 유도된 중화 면역 반응:

[0731] 6-나선 다발 형성 모이어티를 면역원으로서 도입함으로써 융합 전 형태로 안정화된 바이러스 융합 단백질의 유용성을 시험하기 위해, BALB/c 마우스를 RSV F 클램프, RSV F ds cav 폴돈 또는 상응하는 RSV 엑토도메인(RSV F 솔)로 면역화시켰거나, 모의 마우스를 PBS로 면역화시켰다. 3 µg의 사포닌 보강제 Quil-A와 함께 5 µg의 정제된 단백질(또는 PBS)을 사용하여 군당 5마리의 BALB/c 마우스들을 면역화시켰다. 면역화는 피내 전달을 통해 달성되었고, 마우스는 3주 간격으로 각각 3회 면역화되었다. 세 번째 면역화로부터 3주 후, 마우스를 희생시켰고 혈청을 채취하였다. 플라크 감소 중화 시험(PRNT)에서 RSV 균주 A2에 대해 개별 마우스들로부터의 혈청의 중화 효과를 평가하였다(도 18). 키메라 클램프 안정화된 RSV F 클램프를 백신접종받은 마우스로부터의 혈청은 8,124(95% CI = 1,968-33,543)의 기하 평균 IC50 값으로 강한 중화 활성을 보인 반면, RSV F ds cav 폴돈을 백신접종받은 마우스로부터의 혈청은 2,859(95% CI = 794-10,290)의 기하 평균 IC50 값으로 중화 활성을 보였고, RSV F 솔을 백신접종받은 마우스로부터의 혈청은 562(95% CI = 242-1,410)의 기하 평균 IC50 값으로 중화 활성을 보였다. 따라서, HIV-1 HR1 및 HR2로 구성된 구조 안정화 모이어티의 도입을 통한 RSV F의 융합 전 형태의 안정화는 대안적 안정화 방법 'ds cav 폴돈'(McLellan et al., Science, 2013. 342(6158): p. 592-8)에 의해 유도된 중화 면역 반응보다 대략 3배 더 높은 강한 중화 면역 반응에 있어서 매우 중요하다.

[0732] 니파 바이러스 F의 융합 전 입체구조의 안정화:

[0733] 바이러스 융합 단백질의 융합 전 입체구조를 안정화시키는 클램프 SSM의 유용성을 더 입증하기 위해, 클램프 SSM을 니파 바이러스 F의 엑토도메인 내로 도입하고 CHO 세포에서 발현시켰다. 그 다음, 면역친화성 크로마토그래피에 의해 정제된 단백질을, 수퍼텍스 200 컬럼을 이용하여 크기 배제 크로마토그래피로 분석하였다. 니파 바이러스 F 클램프의 주요 부분은 삼량체성 단백질의 대략적으로 예측된 크기인 약 180 kDa에 해당하는 대략 11.5 ml에서 용출되었다(도 19). 파라믹소바이러스 F에 대해 잘 입증되어 있는 바와 같이(Connolly et al., PNAS, 2006. 103(47): P. 17903-8), 융합 후 입체구조의 니파 바이러스 F의 전이는 소수성 융합 펩타이드를 노출시킴으로써, 단백질 응집을 유발할 것으로 예측될 것이다. 따라서, 가용성 삼량체성 단백질의 존재는 융합 전 입체구조의 존재를 뒷받침하는 증거이다. 정제된 니파 바이러스 F 클램프를 음성 염색 투과 전자 현미경관찰(TEM)로도 분석하였다(도 19, 삽도). 제시된 TEM 영상 내에서, 니파 바이러스 F 클램프의 입자는 균일한 크기, 및 예측된 융합 전 입체구조와 일치하는 위상을 가진다는 것이 분명히 보인다. 제시된 데이터는 바이러스 융합 단백질의 융합 전 입체구조를 안정화시키는 클램프 SSM의 능력을 더 뒷받침한다.

[0734] 니파 바이러스 F 클램프에 의해 유도된 중화 면역 반응:

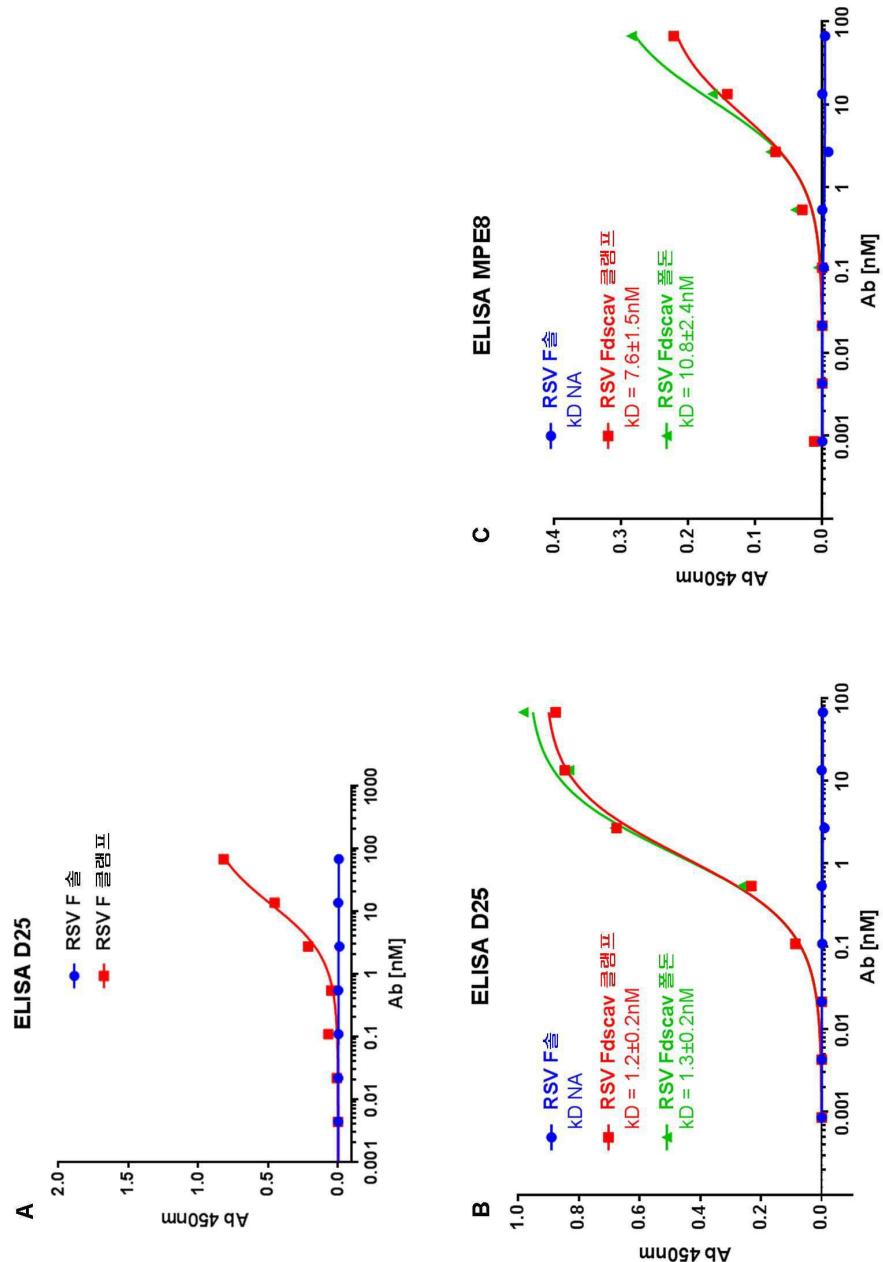
[0735] 6-나선 다발 형성 모이어티를 면역원으로서 도입함으로써 융합 전 형태로 안정화된 바이러스 융합 단백질의 유용성을 더 시험하기 위해, BALB/c 마우스를 니파 바이러스 F 클램프로 면역화시켰거나, 모의 마우스를 PBS로 면역화시켰다. 3 µg의 사포닌 보강제 Quil-A와 함께 5 µg의 정제된 단백질(또는 PBS)을 사용하여 군당 4마리의 BALB/c 마우스들을 면역화시켰다. 면역화는 피내 전달을 통해 달성되었고, 마우스는 3주 간격으로 3회 면역화되었다. 두 번째 면역화로부터 3주 후, 마우스를 희생시켰고 혈청을 채취하였다. BSL4 제약 하에서 플라크 감소 중화 시험(PRNT)에서 니파 생바이러스(말레이시아 균주)에 대해 개별 마우스로부터의 혈청의 중화 효과를 평가하였다(도 20). 키메라 클램프 안정화된 니파 바이러스 F 클램프를 백신접종받은 마우스로부터의 혈청은 모두 48(95% CI= 6-384)의 기하 평균 IC50 값으로 강한 중화 활성을 보인 반면, PBS로 면역화시킨 모의 마우스로부터의 혈청은 시험된 최고 혈청 농도에서 중화 활성을 보이지 않았다. 따라서, 이 결과는 클램프 SSM을 포함하는 키메라 바이러스 융합 단백질이 백신접종 시 중화 면역 반응을 이끌어낼 수 있다는 추가 증거를 제공한다.

[0736] 클래스 III 바이러스 융합 단백질 내로의 클램프 SSM의 도입:

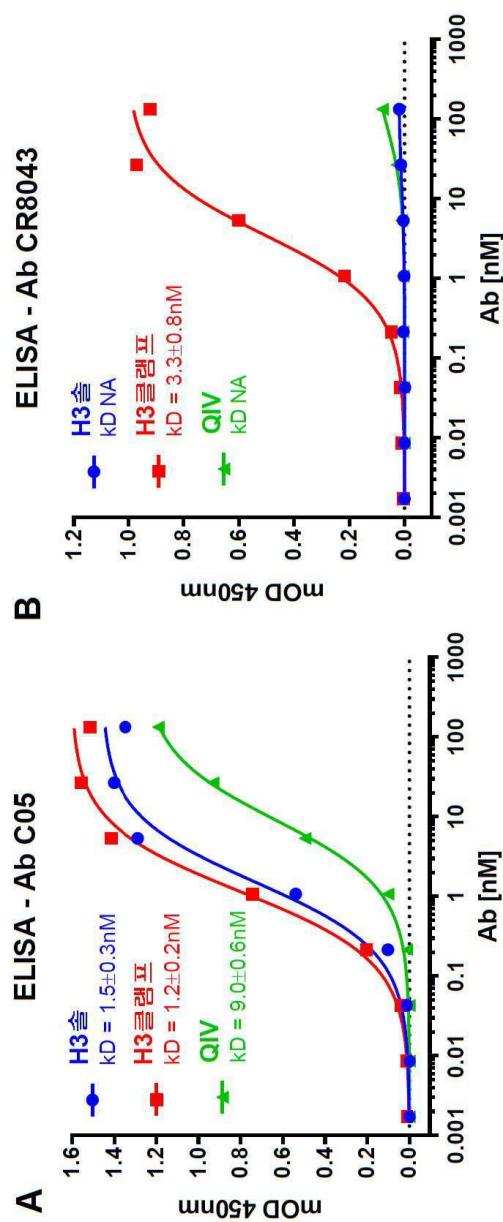
- [0737] 바이러스 융합 단백질의 안정화를 위한 클램프 SSM의 유용성을 더 입증하기 위해, 클램프 SSM을 HSV2 gB의 엑토도메인 내로 도입하고 CHO 세포에서 발현시켰다. 그 다음, 면역친화성 크로마토그래피에 의해 정제된 단백질을 수퍼로스 6 컬럼에서 크기 배제 크로마토그래피로 분석하였다. HSV2 gB 클램프의 주요 부분은 삼량체성 단백질의 대략적으로 예측된 크기인 약 300 kDa에 해당하는 대략 15 ml에서 용출되었다(도 21). 정제된 HSV2 gB 클램프를 음성 염색 투과 전자 현미경관찰(TEM)로도 분석하였다(도 21, 삽도). 제시된 TEM 영상 내에서, HSV2 gB 클램프의 입자는 균일한 크기, 및 x-선 결정학에 의해 이전에 해상된 구조(Heldwein et al., Science, 2006. 313(5784): 217-20)와 일치하는 위상을 가진다는 것이 명확히 보인다. 이 입체구조는 HSV2 gB 융합 후 입체구조인 것으로 추정된다. 특히, HSV2 gB 클램프는 HSV2에 대한 대부분의 중화 항체들에 결합할 수도 있고 서브유닛 백신 후보로서 유용할 수 있다(Cairns et al., JVi, 2014. 88(5): P. 2677-89). 제시된 데이터는 바이러스 클래스 I 융합 단백질 이외에 바이러스 클래스 III 융합 단백질을 안정화시키고 정제하는 클램프 SSM의 능력을 뒷받침한다.
- [0738] 본원에서 제시된 결과는 융합 전 입체구조로 제약된 바이러스 융합 단백질의 엑토도메인을 포함하는 키메라 폴리펩타이드가
- [0739] • 더 넓은 교차보호성 면역 반응을 유도할 수 있고;
- [0740] • 승온에서 안정하고;
- [0741] • 더 우수한 중화 면역 반응을 유도할 수 있고;
- [0742] • 클래스 I 또는 클래스 II 엑토도메인을 사용함으로써 형성될 수 있다는 것을 입증한다.
- [0743] 본원에서 인용된 모든 특허, 특허출원 및 공개문헌의 개시는 전체로서 본원에 참고로 도입된다.
- [0744] 본원에서 임의의 참고문헌의 인용은 이러한 참고문헌이 본원의 "종래기술"로서 이용될 수 있다는 것을 인정하는 의미로서 해석되어서는 안 된다.
- [0745] 본 명세서 전체에서, 목적은 본 발명을 특징의 어느 한 실시양태 또는 특정 집합체로 한정하지 않으면서 본 발명의 바람직한 실시양태를 기술하는 것이다. 따라서, 당분야에서 숙련된 자는 본 개시를 고려하여 본 발명의 범위를 벗어나지 않으면서 예시된 특정 실시양태의 다양한 변형 및 변화를 만들 수 있다는 것을 인식할 것이다. 모든 이러한 변형 및 변화는 첨부된 청구범위 내에 포함된다.

도면

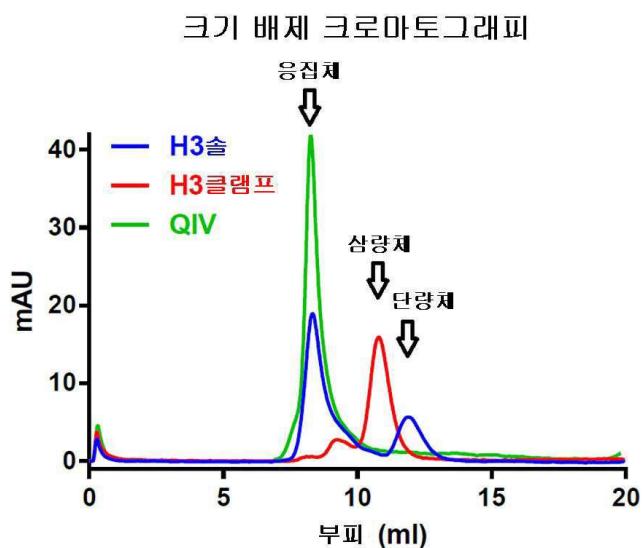
도면1



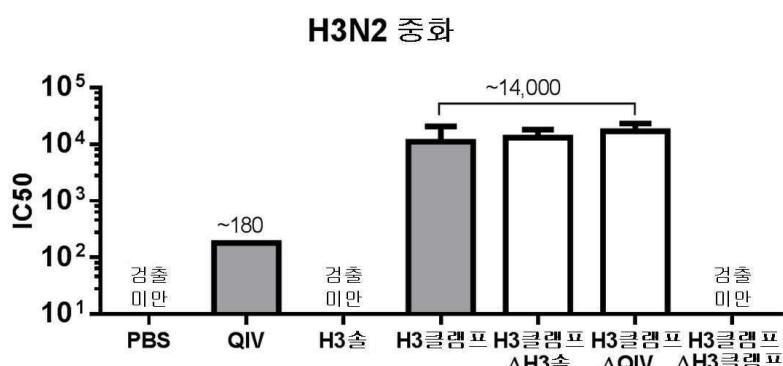
도면2

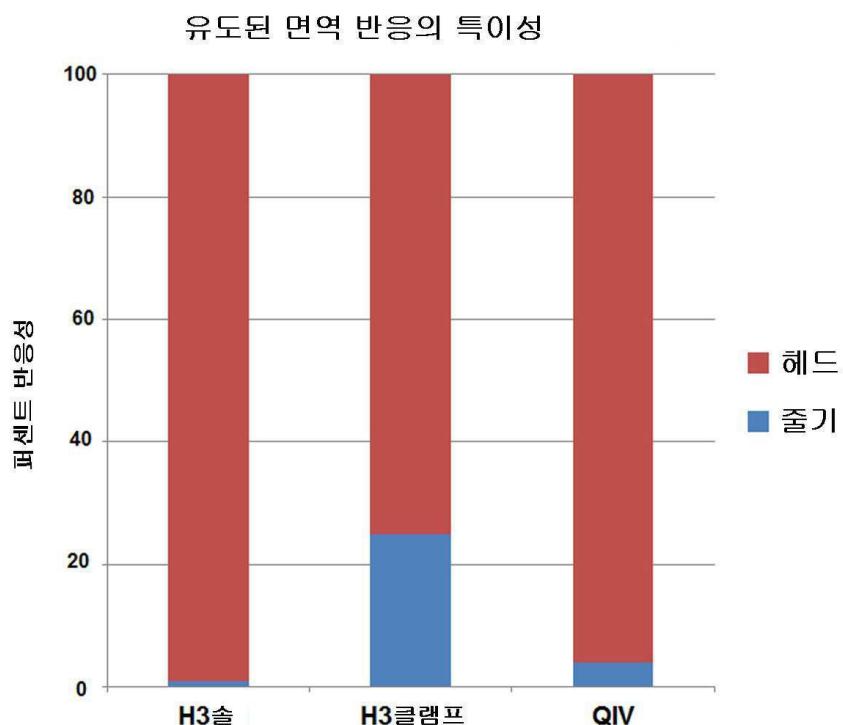
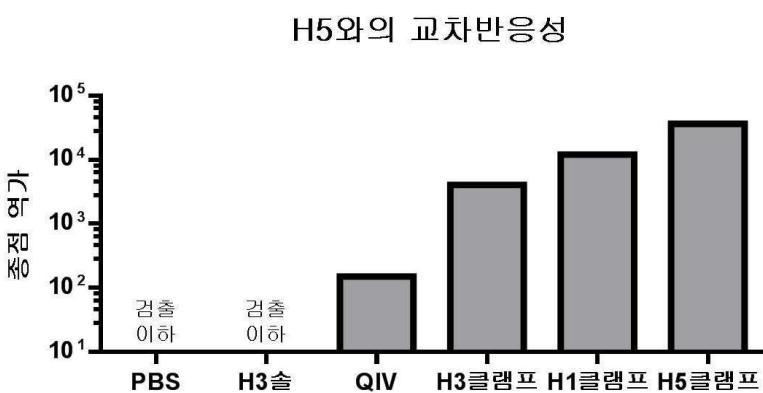


도면3



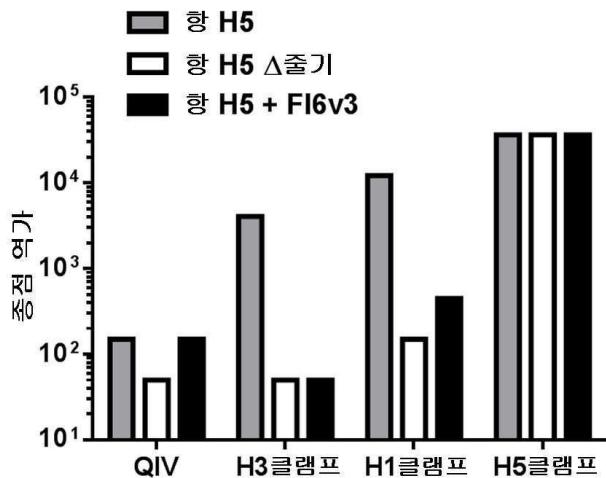
도면4



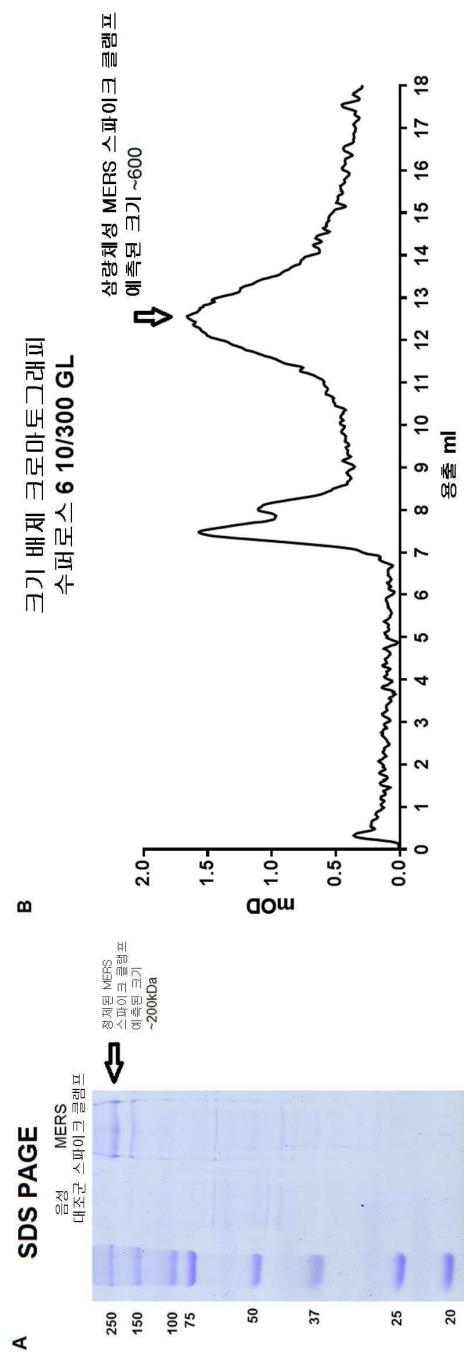
도면5**도면6**

도면7

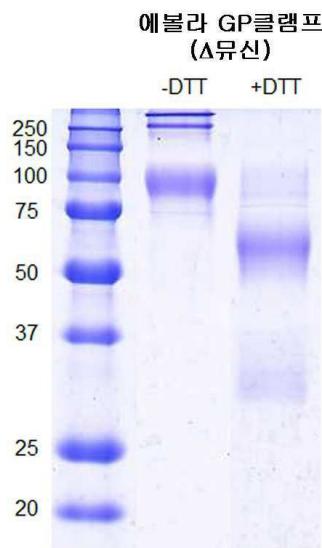
H5와의 교차반응성



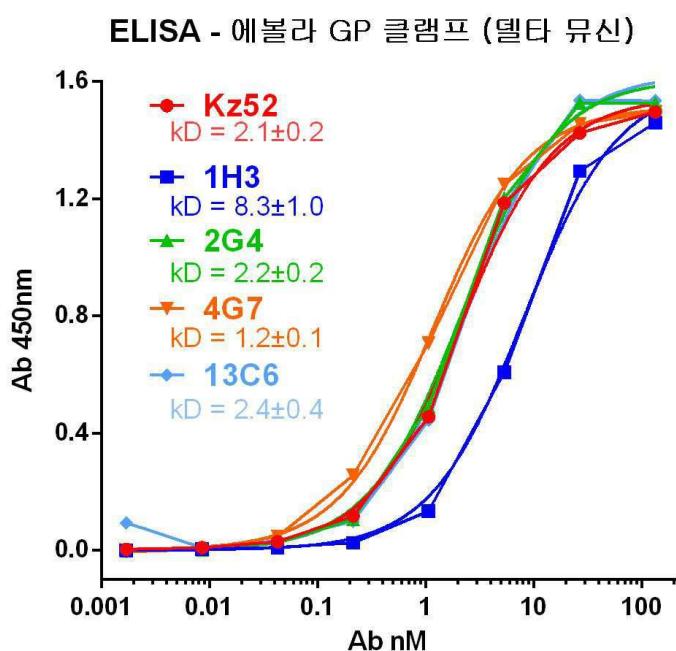
도면8



도면9

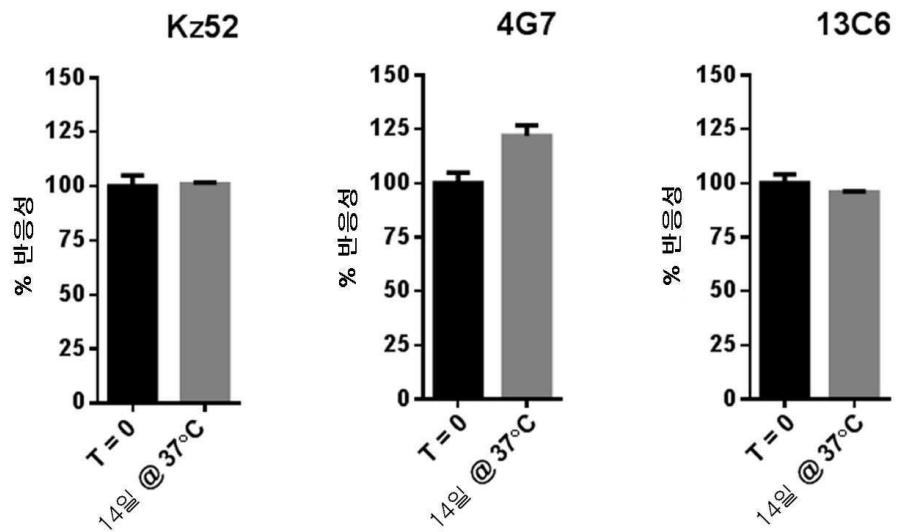


도면10

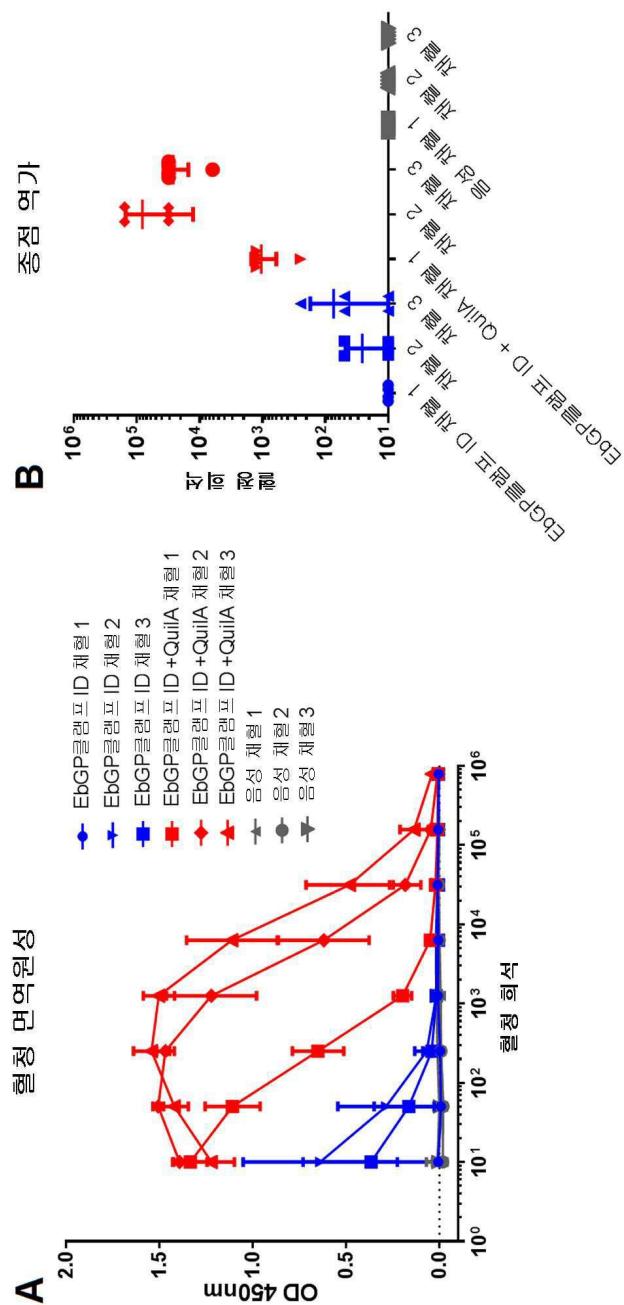


도면11

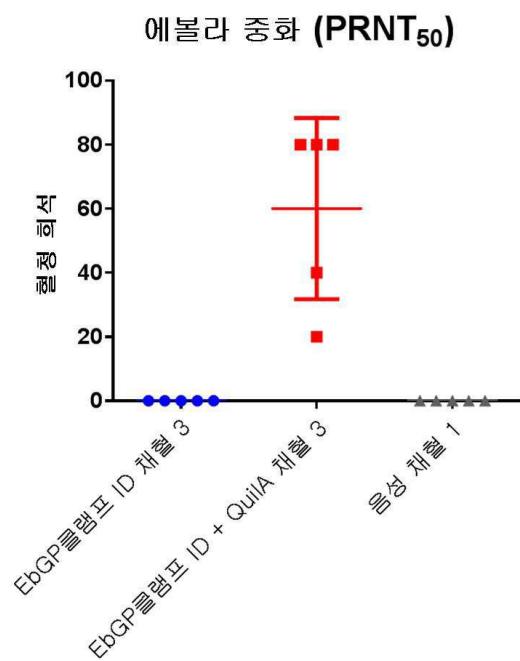
열안정성



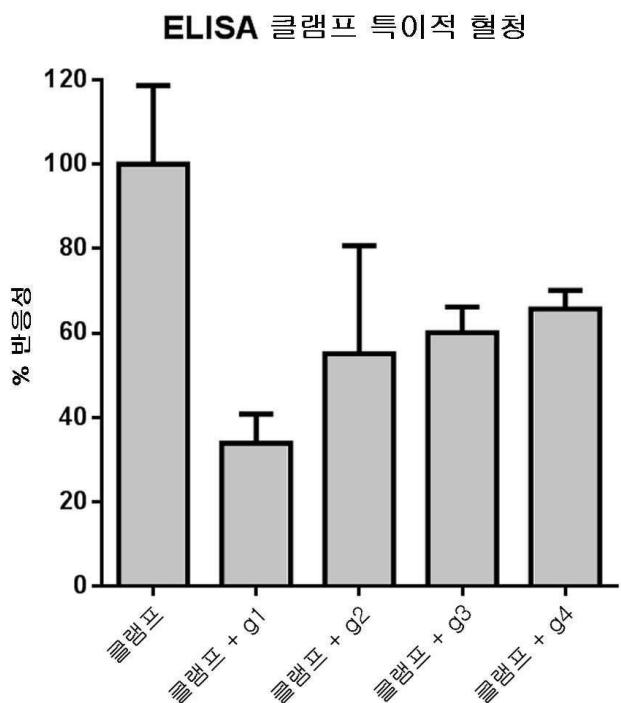
도면12



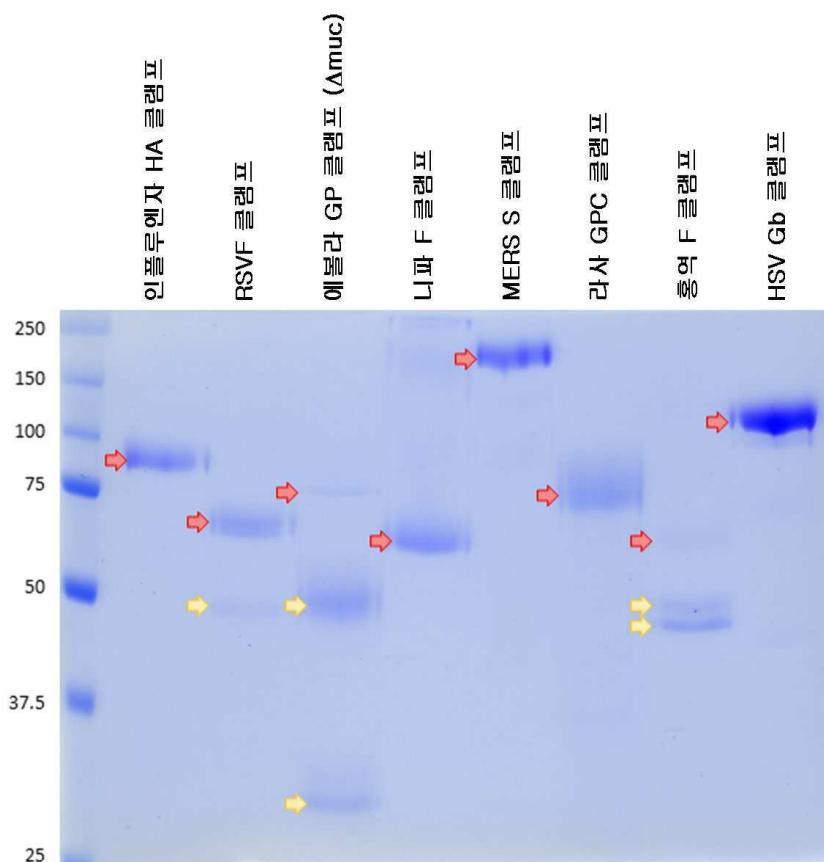
도면13



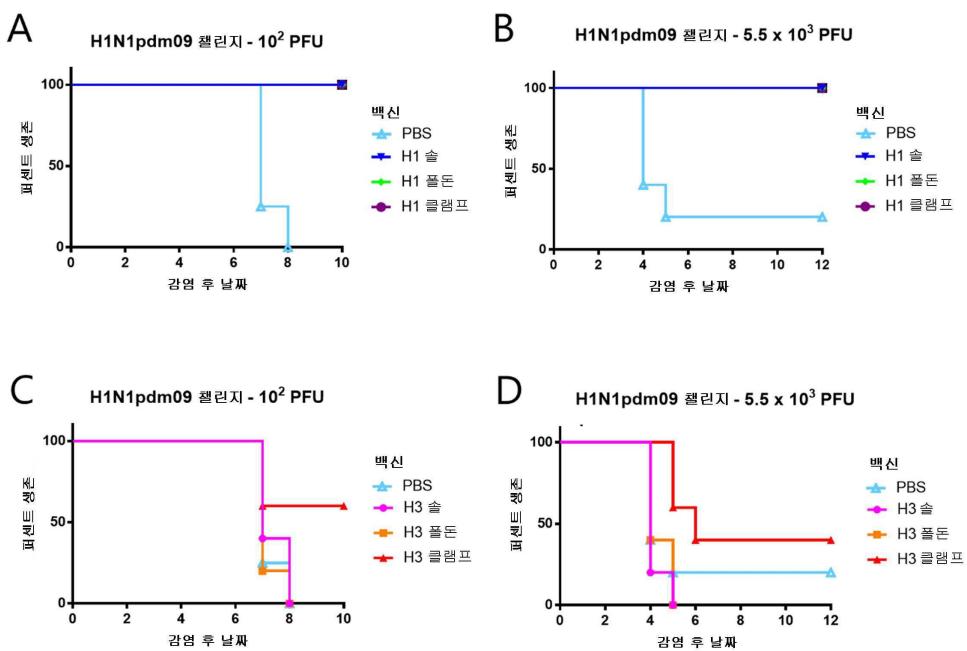
도면14



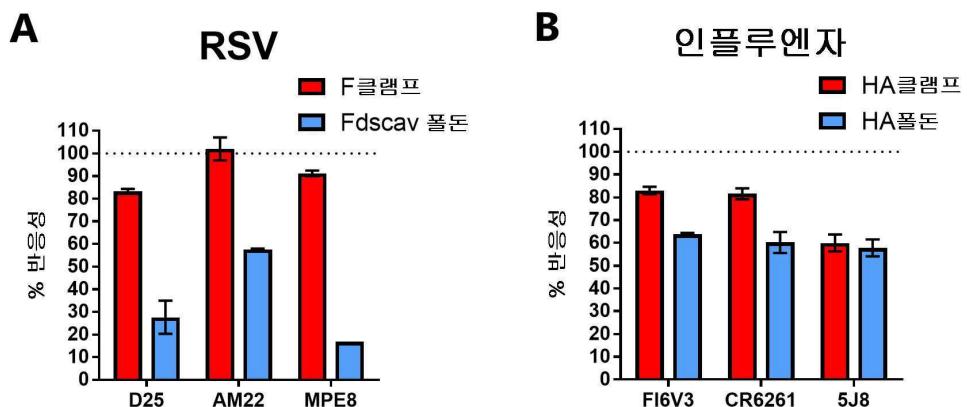
도면15



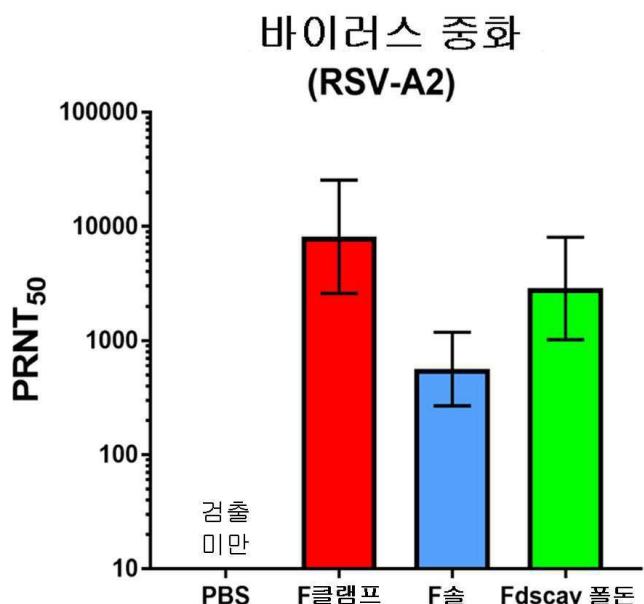
도면16



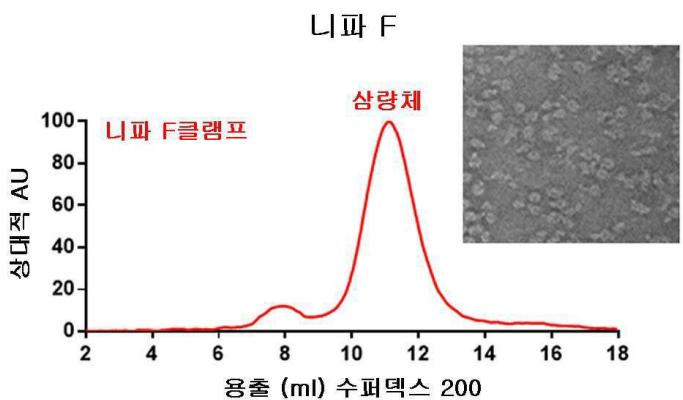
도면17



도면18

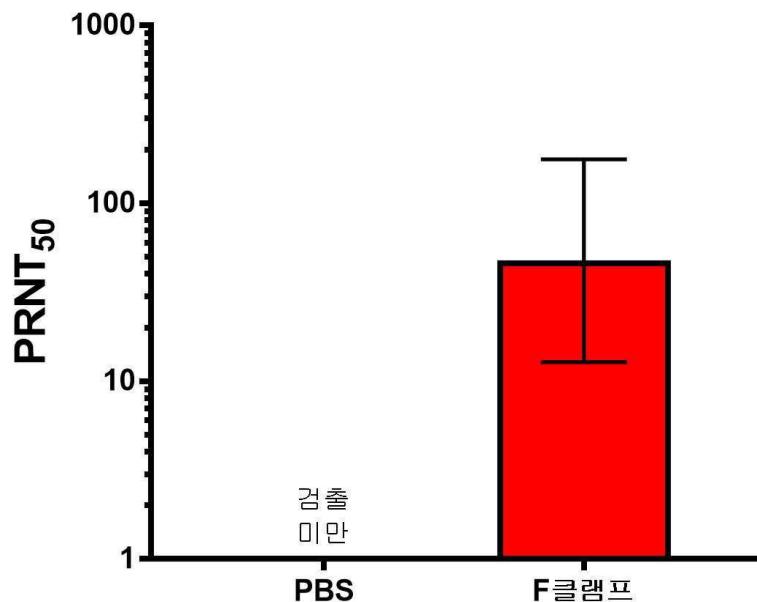


도면19



도면20

바이러스 중화 (니파 – 말레이시아)



도면21

