



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0083095
(43) 공개일자 2025년06월09일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>C12N 15/86</i> (2006.01) <i>A61K 39/145</i> (2006.01)
 <i>A61P 31/16</i> (2006.01) <i>C07K 14/005</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>C12N 15/86</i> (2013.01)
 <i>A61K 39/145</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2024-0149353
 (22) 출원일자 2024년10월29일
 심사청구일자 2024년10월29일</p> <p>(30) 우선권주장
 1020230167538 2023년11월28일 대한민국(KR)</p> | <p>(71) 출원인
 고려대학교 산학협력단
 서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)</p> <p>(72) 발명자
 박만성
 서울특별시 강남구 영동대로 22, 812동 802호 (일원동, 디에이치 자이 개포)</p> <p>김진의
 경상남도 창원시 성산구 창원대로1209번길 22, 213동 2303호 (성주동, 프리빌리지 2차)</p> <p>석중현
 서울특별시 성북구 보문로30나길 8-12, 201호 (동선동2가)</p> <p>(74) 대리인
 특허법인태백</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 12 항

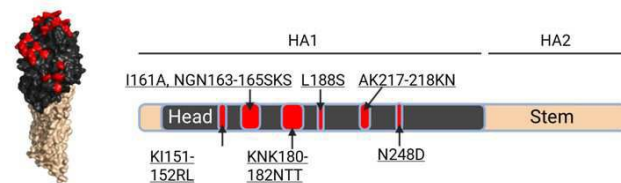
(54) 발명의 명칭 **교차 면역원성을 갖는 모자이크 B형 인플루엔자 바이러스 및 이를 포함하는 백신**

(57) 요약

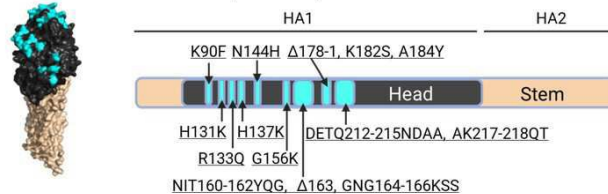
본 발명은 교차 면역원성을 갖는 모자이크 B형 인플루엔자 바이러스 및 이를 포함하는 백신에 관한 것으로서, 본 발명의 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 제조합 인플루엔자 백신후보주는 Victoria 계통 B형 인플루엔자 바이러스에서 유래된 헤마글루티닌(HA)에서 head domain의 특정 아미노산 잔기를 치환하여, 다양한 B형 인플루엔자 바이러스(Victoria 및 Yamagata 계통)에 교차 면역원성을 가지는 백신의 용도로서 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1

mY/Vic 모자이크 헤마글루티닌 (서열번호 1)



mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌 (서열번호 2)



(52) CPC특허분류

A61P 31/16 (2018.01)

C07K 14/005 (2013.01)

C12N 2760/16222 (2013.01)

C12N 2760/16234 (2013.01)

C12N 2760/16243 (2013.01)

C12N 2760/16261 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345374127
과제번호	2021R1A6C101C570
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국기초과학지원연구원
연구사업명	이공학학술연구기반구축
연구과제명	핵심연구지원센터조성지원과제(백신혁신센터)
과제수행기관명	고려대학교 산학협력단
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1415186972
과제번호	20014911
부처명	산업통상자원부
과제관리(전문)기관명	한국산업기술기획평가원
연구사업명	바이오산업기술개발
연구과제명	플루 백신의 점막 접종 면역을 향상시킨 점막 투여 시스템의 개발과 생산
과제수행기관명	고려대학교 산학협력단
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열 또는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 코딩하는 B형 인플루엔자 바이러스의 변이 모자이크 B형 헤마글루티닌(hemagglutinin; HA) 유전자를 포함하는 재조합 벡터.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열은, 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열에서 151번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 아르기닌(Arginine)으로 치환되고, 152번째 아미노산인 이소류신(Isoleucine)이 류신(Leucine)으로 치환되며, 161번째 아미노산인 이소류신(Isoleucine)이 알라닌(Alanine)으로 치환되고, 163번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 세린(Serine)으로 치환되며, 164번째 아미노산인 글리신(Glycine)이 라이신(Lysine)으로 치환되고, 165번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 세린(Serine)으로 치환되며, 180번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 아스파라긴(Asparagine)으로 치환되고, 181번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 트레오닌(Threonine)으로 치환되며, 182번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 트레오닌(Threonine)으로 치환되고, 188번째 아미노산인 류신(Leucine)이 세린(Serine)으로 치환되며, 217번째 아미노산인 알라닌(Alanine)이 라이신(Lysine)으로 치환되고, 218번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 아스파라긴(Asparagine)으로 치환되며, 248번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 아스파르트산(Aspartic acid)으로 치환된 것을 특징으로 하는 재조합 벡터.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열은, 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열에서 90번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 페닐알라닌(Phenylalanine)으로 치환되고, 131번째 아미노산인 히스티딘(Histidine)이 라이신(Lysine)으로 치환되며, 133번째 아미노산인 아르기닌(Arginine)이 글루타민(Glutamine)으로 치환되고, 137번째 아미노산인 히스티딘(Histidine)이 라이신(Lysine)으로 치환되며, 144번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 히스티딘(Histidine)으로 치환되고, 156번째 아미노산인 글리신(Glycine)이 라이신(Lysine)으로 치환되며, 160번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 타이로신(Tyrosine)으로 치환되고, 161번째 아미노산인 이소류신(Isoleucine)이 글루타민(Glutamine)으로 치환되며, 162번째 아미노산인 트레오닌(Threonine)이 글리신(Glycine)으로 치환되고, 163번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 결핍되고, 164번째 아미노산인 글리신(Glycine)이 라이신(Lysine)으로 치환되고, 165번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 세린(Serine)으로 치환되며, 166번째 아미노산인 글리신(Glycine)은 세린(Serine)으로 치환되고, 178번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 결핍되며, 179번째 아미노산인 아스파르트산(Aspartic acid)이 결핍되고, 182번째 아미노산인 라이신(Lysine)은 세린(Serine)으로 치환되며, 184번째 아미노산인 알라닌(Alanine)은 타이로신(Tyrosine)으로 치환되고, 212번째 아미노산인 아스파르트산(Aspartic acid)이 아스파라긴(Asparagine)으로 치환되고, 213번째 아미노산인 글루탐산(Glutamic acid)이 아스파르트산(Aspartic acid)으로 치환되며, 214번째 아미노산인 트레오닌(Threonine)이 알라닌(Alanine)으로 치환되고, 215번째 아미노산인 글루타민(Glutamine)이 알라닌(Alanine)으로 치환되며, 217번째 아미노산인 알라닌(Alanine)이 글루타민(Glutamine)으로 치환되고, 218번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 트레오닌(Threonine)으로 치환된 것을 특징으로 하는 재조합 벡터.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 B형 인플루엔자 바이러스는 B/Brisbane/60/2008인 것을 특징으로 하는 재조합 벡터.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 재조합 벡터는 뉴라미니다아제 단백질(neuraminidase; NA), 중합효소 염기성 단백질 2(Polymerase basic protein 2; PB2), 중합효소 염기성 단백질 1(Polymerase basic protein 1; PB1), 중합효소 산성 단백질(Polymerase acidic protein; PA), 뉴클레오캡시드 단백질(Nucleocapsid protein; NP), 매트릭스 단백질(Matrix protein; M) 및 비구조성 단백질(Nonstructural protein; NS)을 코딩하는 유전자를 추가적으로

포함하는 것을 특징으로 하는 재조합 벡터.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 NA를 코딩하는 유전자는 서열번호 4로 표시되고, 상기 PB2를 코딩하는 유전자는 서열번호 5로 표시되며, 상기 PB1을 코딩하는 유전자는 서열번호 6으로 표시되고, 상기 PA를 코딩하는 유전자는 서열번호 7로 표시되며, 상기 NP를 코딩하는 유전자는 서열번호 8로 표시되고, 상기 M을 코딩하는 유전자는 서열번호 9로 표시되며, 상기 NS를 코딩하는 유전자는 서열번호 10으로 표시되는 것을 특징으로 하는 재조합 벡터.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 재조합 벡터로부터 제조된 재조합 인플루엔자 바이러스.

청구항 8

제7항의 재조합 인플루엔자 바이러스를 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 백신.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 백신은 약독화된 생독 백신 또는 사독 백신인 것을 특징으로 하는 인플루엔자 바이러스 백신.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 백신은 B형 인플루엔자 바이러스에 교차 면역원성을 갖는 것을 특징으로 하는 인플루엔자 바이러스 백신.

청구항 11

제7항의 재조합 인플루엔자 바이러스를 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 12

제8항의 인플루엔자 바이러스 백신을 인간을 제외한 동물에 투여하여, 인플루엔자 바이러스 감염 질환을 예방 또는 치료하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 교차 면역원성을 갖는 모자이크 B형 인플루엔자 바이러스 및 이를 포함하는 백신에 대한 것이다.

배경 기술

[0002] 오르소믹소바이러스과(Family Orthomyxoviridae)에 속하는 A형 및 B형 인플루엔자 바이러스 감염 질환(독감)은 인수공통 전염병으로 인간뿐만 아니라 돼지, 말, 조류 등에서 발병하며, 공중보건학적·경제적으로 중요하게 인식되는 호흡기 질환이다.

[0003] 인플루엔자 바이러스 유전자는 8개의 음성(negative-polarity) 단일가닥 RNA 절편(PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M, NS)으로 구성되고, 이들 8개의 RNA 절편으로부터 중합효소복합체의 구성체인 PB2, PB1 및 PA 단백질(polymerase subunit B2, B1, A; 각각 PB1, PB2, PA)과 헤마글루티닌 단백질(hemagglutinin; HA), 뉴클레오캡시드 단백질(nucleocapsid protein; NP), 뉴라미니다아제 단백질(neuraminidase, NA), 매트릭스 단백질 1 및 2(matrix protein 1, 2; 각각 M1, M2), 및 비구조성 단백질 1 및 2(nonstructural protein 1, 2; 각각 NS1, NS2)가 생성된다. 이들 단백질 중 HA 및 NA 단백질 모두는 바이러스 중성화 및 면역원성 획득을 위한 주요 항원 결정기로 작용 가능한 외피 당단백질(envelope glycoprotein)이다.

[0004] B형 인플루엔자 바이러스는 B/Victoria/2/1987 균주로 대표되는 Victoria 계통(lineage)과 B/Yamagata/16/1988 균주로 대표되는 Yamagata 계통으로 구분된다. B형 인플루엔자 바이러스의 숙주는 사람과 물개만이 알려져 있고, A형 인플루엔자 바이러스에 비해 유전체 변이율이 낮아 돌연변이의 발생 빈도가 더 낮은 것으로 알려져

있다.

[0005] 인플루엔자 바이러스는 8개의 절편으로 구성되어 있는 RNA 바이러스의 특성상, 항원소변이(antigenic drift) 또는 항원대변이(antigenic shift)에 의해 항원성이 다른 새로운 변이 바이러스의 출현의 발생이 상대적으로 빈번하다고 알려져 있다. 이로 인해 실제 유행하는 바이러스와 백신주 사이의 항원성이 다른 백신 불일치(vaccine mismatch)가 발생하여 백신의 유효성이 감소한다.

[0006] 인플루엔자 백신은 역유전학 기술(reverse genetics system)을 사용하여 제조할 수 있으며, 한 방향으로 바이러스 유전자의 mRNA가 생성되고, 다른 방향에서는 viral RNA가 생성되는 8개의 플라스미드를 세포에 도입(transfection)하여 재조합 바이러스를 제조(rescue)할 수 있다. 이러한 바이러스를 불활성화 하거나 약독화하여 사독 백신 또는 약독화된 생독 백신으로 제조할 수 있다.

[0007] 이와 같이 모자이크 B형 인플루엔자 바이러스의 대유행에 대비하기 위한 백신주의 개발이 요구되며, 특히 모자이크 B형 인플루엔자 바이러스의 유전적 다양성에 따른 항원성 차이를 극복할 수 있도록 교차 면역원성을 갖는 백신주의 개발이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 미국등록특허 US 10729758 B2 (2020.08.04 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 B형 인플루엔자 바이러스의 변이 모자이크 B형 헤마글루티닌(hemagglutinin; HA) 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 제공하는데 있다.

[0010] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 재조합 벡터로부터 제조된 재조합 인플루엔자 바이러스, 상기 재조합 인플루엔자 바이러스를 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 백신 또는 인플루엔자 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는데 있다.

[0011] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 상기 인플루엔자 바이러스 백신을 인간을 제외한 동물에 투여하여, 인플루엔자 바이러스 감염 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열 또는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 코딩하는 B형 인플루엔자 바이러스의 변이 모자이크 B형 헤마글루티닌(hemagglutinin; HA) 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 상기 재조합 벡터로부터 제조된 재조합 인플루엔자 바이러스를 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 상기 재조합 인플루엔자 바이러스를 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 백신을 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 재조합 인플루엔자 바이러스를 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 상기 인플루엔자 바이러스 백신을 인간을 제외한 동물에 투여하여, 인플루엔자 바이러스 감염 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명은 교차 면역원성을 갖는 모자이크 B형 인플루엔자 바이러스 및 이를 포함하는 백신에 관한 것으로서, 본 발명의 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주는 Victoria 계통 B형 인플루엔자 바이러스에서 유래된 헤마글루티닌(HA)에서 head domain의 특정 아미노산 잔기를

치환하여, 다양한 B형 인플루엔자 바이러스(Victoria 및 Yamagata 계통)에 교차 면역원성을 가지는 백신의 용도로서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018]

도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)에서 B형 Victoria 계통 HA 서열 중 일부를 B형 Yamagata 계통 HA 서열로 치환(mY/Vic 모자이크 헤마글루티닌 백신후보주) 및 A형 H5 아형의 HA 서열로 치환(mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌 백신후보주)한 위치와 서열을 나타낸 것이다.

도 2는 Victoria 계통 B형 인플루엔자 wild type 백신주 및 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 백신후보주들(mY/Vic 및 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌 백신후보주)의 바이러스 플라크 형태(viral plaque morphology) 분석 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 Victoria 계통 B형 인플루엔자 wild type 백신주 및 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 백신후보주들의 유정란에서의 성장특성 분석결과를 나타낸 것이다.

도 4은 BALB/c 마우스 모델에서 Victoria 계통 B형 인플루엔자 wild type 백신주의 prime 접종 후, 본 발명의 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 백신후보주로의 이종(heterologous) boosting 및 Victoria 계통 B형 인플루엔자 wild type 백신주의 동종(homologous) boosting 하였을 때, Yamagata 계통의 인플루엔자 바이러스(B/Phuket/3073/2013)의 공격접종을 통해 교차 방어능을 폐 조직 내 살아있는 바이러스 역가로 분석한 결과를 나타낸 것이다.

도 5은 마우스 모델에서 Victoria 계통 B형 인플루엔자 wild type 백신주의 prime 접종 후, 본 발명의 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 백신후보주로의 이종(heterologous) boosting 및 Victoria 계통 B형 인플루엔자 wild type 백신주의 동종(homologous) boosting 하였을 때의 보존된 HA stem 부분을 표적으로하는 항체의 생성량을 비교 분석한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019]

본 발명은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열 또는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 코딩하는 B형 인플루엔자 바이러스의 변이 모자이크 B형 헤마글루티닌(hemagglutinin; HA) 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 제공한다.

[0020]

바람직하게는, 상기 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열은, 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열에서 151번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 아르기닌(Arginine)으로 치환되고, 152번째 아미노산인 이소류신(Isoleucine)이 류신(Leucine)으로 치환되며, 161번째 아미노산인 이소류신(Isoleucine)이 알라닌(Alanine)으로 치환되고, 163번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 세린(Serine)으로 치환되며, 164번째 아미노산인 글리신(Glycine)이 라이신(Lysine)으로 치환되고, 165번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 세린(Serine)으로 치환되며, 180번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 아스파라긴(Asparagine)으로 치환되고, 181번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 트레오닌(Threonine)으로 치환되며, 182번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 트레오닌(Threonine)으로 치환되고, 188번째 아미노산인 류신(Leucine)이 세린(Serine)으로 치환되며, 217번째 아미노산인 알라닌(Alanine)이 라이신(Lysine)으로 치환되고, 218번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 아스파라긴(Asparagine)으로 치환되며, 248번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 아스파르트산(Aspartic acid)으로 치환된 것일 수 있다.

[0021]

바람직하게는, 상기 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열은, 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열에서 90번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 페닐알라닌(Phenylalanine)으로 치환되고, 131번째 아미노산인 히스티딘(Histidine)이 라이신(Lysine)으로 치환되며, 133번째 아미노산인 아르기닌(Arginine)이 글루타민(Glutamine)으로 치환되고, 137번째 아미노산인 히스티딘(Histidine)이 라이신(Lysine)으로 치환되며, 144번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 히스티딘(Histidine)으로 치환되고, 156번째 아미노산인 글리신(Glycine)이 라이신(Lysine)으로 치환되며, 160번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 타이로신(Tyrosine)으로 치환되고, 161번째 아미노산인 이소류신(Isoleucine)이 글루타민(Glutamine)으로 치환되며, 162번째 아미노산인 트레오닌(Threonine)이 글리신(Glycine)으로 치환되고, 163번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 결핍되고, 164번째 아미노산인 글리신(Glycine)이 라이신(Lysine)으로 치환되고, 165번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 세린(Serine)으로 치환되며, 166번째 아미노산인 글리신(Glycine)은 세린(Serine)으로 치환되고, 178번째 아미노산인 아스파라긴(Asparagine)이 결핍되며, 179번째 아미노산인 아스파르트산(Aspartic acid)이 결핍되고, 182번째

제 아미노산인 라이신(Lysine)은 세린(Serine)으로 치환되며, 184번째 아미노산인 알라닌(Alanine)은 타이로신(Tyrosine)으로 치환되고, 212번째 아미노산인 아스파르트산(Aspartic acid)이 아스파라긴(Asparagine)으로 치환되고, 213번째 아미노산인 글루탐산(Glutamic acid)이 아스파르트산(Aspartic acid)으로 치환되며, 214번째 아미노산인 트레오닌(Threonine)이 알라닌(Alanine)으로 치환되고, 215번째 아미노산인 글루타민(Glutamine)이 알라닌(Alanine)으로 치환되며, 217번째 아미노산인 알라닌(Alanine)이 글루타민(Glutamine)으로 치환되고, 218번째 아미노산인 라이신(Lysine)이 트레오닌(Threonine)으로 치환된 것일 수 있다.

[0022] 한편, 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 코딩하는 B형 인플루엔자 바이러스의 변이 모자이크 B형 HA 유전자는 서열번호 11의 염기서열로 표시하였고, 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 코딩하는 B형 인플루엔자 바이러스의 변이 모자이크 B형 HA 유전자는 서열번호 12의 염기서열로 표시하였다.

[0023] 바람직하게는, 상기 B형 인플루엔자 바이러스는 B/Brisbane/60/2008일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0024] 바람직하게는, 상기 재조합 벡터는 뉴라미니다아제 단백질(neuraminidase; NA), 중합효소 염기성 단백질 2(Polymerase basic protein 2; PB2), 중합효소 염기성 단백질 1(Polymerase basic protein 1; PB1), 중합효소 산성 단백질(Polymerase acidic protein; PA), 뉴클레오캡시드 단백질(Nucleocapsid protein; NP), 매트릭스 단백질(Matrix protein; M) 및 비구조성 단백질(Nonstructural protein; NS)을 코딩하는 유전자를 추가적으로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0025] 상기 NA는 B형 인플루엔자 바이러스 유래일 수 있고, 구체적으로 상기 B형 인플루엔자 바이러스는 B/Brisbane/60/2008(Victoria 계통)일 수 있다. 구체적으로, 상기 매트릭스 단백질(M) 암호화 유전자는 M1 및 M2 단백질을 발현하고, 상기 비구조성 단백질(NS) 암호화 유전자는 NS1 및 NS2 단백질을 발현할 수 있다.

[0026] 상기 PB2, PB1, PA, NP, M 및 NS를 각각 코딩하는 유전자는 B/Brisbane/60/2008(Victoria 계통)로부터 유래된 6개의 내부 유전자일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0027] 보다 바람직하게는, 상기 NA를 코딩하는 유전자는 서열번호 4로 표시되고, 상기 PB2를 코딩하는 유전자는 서열번호 5로 표시되며, 상기 PB1을 코딩하는 유전자는 서열번호 6으로 표시되고, 상기 PA를 코딩하는 유전자는 서열번호 7로 표시되며, 상기 NP를 코딩하는 유전자는 서열번호 8로 표시되고, 상기 M을 코딩하는 유전자는 서열번호 9로 표시되며, 상기 NS를 코딩하는 유전자는 서열번호 10으로 표시될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0028] 본 명세서에서 사용되는 용어 "헤마글루티닌(Hemagglutinin; HA)"은 인플루엔자 바이러스의 표면 당단백질 중 하나로서 바이러스의 숙주 세포막 부착과 바이러스의 세포 침투 동안 바이러스-세포막의 융합을 매개하며, 인플루엔자 아형의 항원 특이성을 결정하는 인플루엔자 바이러스의 표면 항원단백질이다.

[0029] 본 명세서에서 사용된 용어 "모자이크(Mosaic) HA"는 wild type 인플루엔자 바이러스의 HA 유전자 서열 일부가 제거되거나, 야생형 인플루엔자 바이러스의 HA 유전자 서열 일부가 다른 아형 혹은 다른 계통에 속하는 인플루엔자 바이러스의 HA 유전자 서열로 치환된 상태를 의미한다.

[0030] 인플루엔자 바이러스의 HA 구형 헤드 영역 주변 유전자 서열의 치환 혹은 교체는 시알산(Sialic Acid, SA) 수용체에 대한 바이러스의 결합성에 영향을 미칠 수 있어, 결과적으로 바이러스의 감염성이나 교차 면역원성 등의 특성을 변화시킬 수 있다. 또한, 유전자 서열의 변화는 종종 특정 항원 부위(antigenic site)의 차폐(masking) 및 숙주 면역기구의 인식으로부터 바이러스 자신을 숨기는 면역 회피를 야기할 수 있다.

[0031] 이와 유사한 방법으로, B형 인플루엔자 Yamagata 계통의 HA 헤드 영역의 특정 항원 부위 서열을 A형 인플루엔자의 H5 아형, H8 아형, H11 아형, H13 아형 HA 서열로 치환하였을 때, 동종(homologous) 또는 이종(heterologous) 계통의 인플루엔자 바이러스의 감염에 대해 방어 능력을 갖는다는 연구 결과가 보고되었다.

[0032] 본 명세서에서 사용된 용어 “동종(homologous) 접종”은 1차 백신 접종(prime) 후 추가 접종(boost) 시 1차 접종에 사용된 백신과 동일한 백신을 접종하는 것을 의미하고, “이종(heterologous) 접종”은 1차 백신 접종(prime) 후 추가 접종(boost) 시 1차 접종에 사용된 백신과 항원성이 다른 백신을 접종하는 것을 의미한다.

[0033] 본 명세서에서 사용된 용어 “벡터”는 연결되어 있는 핵산 단편을 운반하는데 이용되는 핵산 분자를 의미한다. 상기 벡터는 박테리아, 플라스미드, 파지, 코스미드, 에피솜, 바이러스 및 삽입가능한 DNA 단편(즉, 상동재조합에 의해 숙주 세포 게놈 안으로 삽입 가능한 단편)이 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 플라스미드는 벡터의 일종으로서 내부에 추가적으로 DNA 단편을 연결시킬 수 있는 고리형의 이중 가닥 DNA 루프를 의미

한다. 또한, 바이러스 벡터는 추가적인 DNA를 바이러스 게놈 안에 연결시킬 수 있다.

[0034] 또한, 본 발명은 상기 재조합 벡터로부터 제조된 재조합 인플루엔자 바이러스를 제공한다.

[0035] 또한, 본 발명은 재조합 인플루엔자 바이러스를 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 백신을 제공한다.

[0036] 구체적으로, 상기 재조합 인플루엔자 바이러스 및 백신 제조를 위해, 본 발명자들은 Victoria 계통의 B/Brisbane/60/2008의 6개의 내부 유전자와 NA 유전자를 백본(backbone)으로, B형 Victoria 계통 HA 아미노산 서열의 특정 위치에서 B형 인플루엔자 Yamagata 계통 HA 서열로 치환한 모자이크 B형 HA 유전자를 이용하여 서열번호 1의 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주를 제조하였다.

[0037] 상기 재조합 인플루엔자 백신주 바이러스 제조를 위해, 본 발명자들은 Victoria 계통의 B/Brisbane/60/2008의 6개의 내부 유전자와 NA 유전자를 백본(backbone)으로, B형 Victoria 계통 HA 아미노산 서열의 특정 위치에서 A형 인플루엔자 H5 아형 HA 서열로 치환한 모자이크 B형 HA 유전자를 이용하여 B 서열번호 2의 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주를 제조하였다.

[0038] 바람직하게는, 본 발명의 백신은 약독화된 생독 백신, 사독 백신, 서브유닛(subunit) 백신, 합성 백신 또는 유전공학 백신일 수 있다.

[0039] 본 명세서에서 사용된 용어 "생독 백신"이란 살아있는 바이러스 활성성분을 포함하는 백신을 의미한다. 또한 용어 "약독화된(attenuation)"이란 살아있는 병원체의 독성을 인공적으로 약하게 한 것으로, 병원체의 필수 대사에 관여하는 유전자를 변이시켜 체내에서 질병을 일으키지 못하고 면역 체계만을 자극해서 면역성을 유도하는 것을 의미한다. 바이러스의 약독화는 자외선(UV) 조사, 약품처리 또는 시험관 내 고차 연속 계대배양에 의해 달성될 수 있다. 약독화는 또한 명확한 유전 변화를 만듦으로써, 예를 들어 독성을 제공하는 것으로 알려진 바이러스서열의 특정 결실 또는 바이러스 게놈 내로의 서열의 삽입에 의해 달성될 수 있다.

[0040] 본 명세서에서 사용된 용어 "사독 백신"은 불활성화 백신 또는 사균 백신이라고도 하며, 죽은 바이러스를 포함한 백신이다. 이의 예로는 전 바이러스 백신(whole-virus vaccine)과 분할 백신(split vaccine)이 있으며, 이 등록특허 10-2098585들은 공지된 방법으로 용이하게 제조할 수 있다. 예컨대, 전 바이러스 백신은 바이러스 전체에 포르말린을 처리하여 제조할 수 있으며, 분할 백신은 바이러스에 에테르를 처리하여 외피만을 분쇄, 수득함으로써 제조할 수 있다.

[0041] 본 명세서에서 사용된 용어 "서브유닛 백신"은 바이러스의 구성성분 중 면역기능을 일으킬 수 있는 항원 성분만을 추출하여 제조한 백신으로, 바이러스 방어에 필요한 항원 부위에 대해서만 면역형성을 유도함으로써 부작용을 최소화할 수 있다. 예를 들면, 조류 인플루엔자 바이러스의 HA 단백질 및/또는 NA 단백질을 추출하여 사용할 수 있다.

[0042] 본 명세서에서 사용된 용어 "합성 백신"은 바이러스의 항원 또는 항원결정기만을 화학적으로 합성하거나 또는 재조합 DNA 기술로 생산한 펩타이드를 포함한 백신으로, 예를 들면, 조류 인플루엔자 바이러스의 HA 단백질 및/또는 NA 단백질을 합성하여 사용할 수 있다.

[0043] 본 명세서에서 사용된 용어 "유전공학 백신"은 바이러스의 병원성을 일으키는 특이 유전자를 변형하거나 제거한 것일 수 있다.

[0044] 바람직하게는, 본 발명의 모자이크 B형 HA 헤드 영역에서 특정 아미노산 잔기의 치환은 B형 바이러스를 이용한 백신에 교차 면역원성을 부여할 수 있으며, 이를 통해 제조된 바이러스 백신은 구체적으로 Victoria 계통 또는 Yamagata 계통으로부터 선택되는 1종 이상의 B형 인플루엔자 바이러스에 교차 면역원성을 낼 수 있다.

[0045] 또한, 본 발명의 백신은 면역원성을 강화시키기 위해 면역증강제(adjuvant)를 더 포함할 수 있다. 면역증강제로는 완전 프로인트 면역증강제(CFA, Complete Freund's Adjuvant), 불완전 프로인트 면역증강제(IFA, Incomplete Freund's Adjuvant), 스쿠알렌(Squalene), 스쿠알란(Squalane), 수산화알루미늄(Aluminium hydroxide), 인산알루미늄(Aluminium phosphate) 및 사포닌(Saponin)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상을 사용할 수 있고, 바람직하게는 수산화알루미늄과 인산알루미늄이 겔 상으로 혼합된 것(Alum)을 사용할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0046] 나아가, 본 발명의 백신은 상기 면역증강제 뿐만 아니라, 약학적으로 허용가능한 담체를 더 포함할 수 있다.

[0047] 상기 담체는 본 발명의 백신을 제형화하기 위해 사용하는 것으로 통상 희석제, 부형제, 안정화제, 방부제 등을

포함할 수 있다.

- [0048] 상기 희석제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브유, 땅콩유와 같은 식물성유 등의 비수성 용매나 염수(바람직하게는 0.8%의 염수), 완충 매질을 포함한 물(바람직하게는 0.05M의 인산염 완충액) 등의 수성 용매 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0049] 상기 부형제로는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 나트륨 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 나트륨 클로라이드, 무수 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0050] 상기 안정화제로는 소르비톨, 만니톨, 전분, 수크로스, 텍스트란, 글루타메이트, 글루코스 등의 탄수화물이나 분유, 혈청 알부민, 카제인 등의 동물성, 식물성 또는 미생물성 단백질 등의 단백질을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0051] 상기 방부제로는 티메로살, 메르티올레이트, 젠타마이신, 네오마이신, 니스타틴, 암포테리신 B, 테트라사이클린, 페니실린, 스트렙토마이신, 폴리믹신 B 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 한편, 본 발명의 백신 이에 포함된 재조합 인플루엔자 바이러스 외 이중 인플루엔자 바이러스에 교차 면역반응을 형성할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 백신이 Victoria 계통의 B/Brisbane/60/2008 바이러스 기반의 재조합 인플루엔자 바이러스를 포함하면, 본 발명의 백신의 접종은 다른 B형의 인플루엔자 바이러스에 대한 항체를 형성할 수 있다.
- [0052] 또한, 상기 백신은 불활성화된 균체들 또는 항원들과 혼합하여 조류 인플루엔자를 포함한 다른 질병들을 함께 예방할 수 있는 혼합 또는 복합 백신으로 사용될 수 있다. 상기 혼합 백신은 서로 다른 바이러스 백신을 함께 사용한 백신을 의미하며, 복합 백신은 바이러스 백신과 세균 백신을 함께 사용한 백신을 의미한다.
- [0053] 상기 백신은 경구, 직장, 국소, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 경피, 비강내, 흡입, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.
- [0054] 비경구 투여는 정맥내, 근육내, 복강내, 흉골내, 경피 및 동맥내 주사 및 주입을 포함하는 투여 방식을 의미한다. 상기 백신의 비경구 투여는 바람직한 순도 하에 약제학적으로 허용 가능한 담체, 즉 사용되는 농도와 투여량에서 수용체에 비독성이고 다른 제제 성분과 혼합될 수 있는 것을 혼합하여 단위 투여량의 제형으로 조제하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0055] 상기 백신의 제형은 어떠한 제형으로도 적용가능하며, 제조한 제형은 경구용, 주사용, 도포용으로 사용할 수 있다. 상기 백신의 제형은 정제, 캡슐제, 연질캡슐제, 수액제, 과립제, 환제 또는 주사용 형태(용액, 현탁액 또는 유탁액)일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0056] 또한, 본 발명은 상기 재조합 인플루엔자 바이러스를 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0057] 상기 인플루엔자 감염 질환은 인플루엔자 감염에 의해 유발되는 질환으로 부비강염, 발작성 천식, 중이염, 낭성 섬유증, 기관지염, 폐렴 및 설사로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0058] 본 명세서에서 사용된 용어 "예방"은 조성물의 투여에 의해 인플루엔자 바이러스 감염을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 본 명세서에서 사용된 용어 "치료"는 조성물의 투여에 의해 인플루엔자 바이러스 감염에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.
- [0059] 상기 약학 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 용어 "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 감염된 바이러스 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0060] 상기 약학 조성물은 개별 치료제로 투여되거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와 순차로 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

- [0061] 또한, 본 발명은 상기 인플루엔자 바이러스 백신을 인간을 제외한 동물에 투여하여, 인플루엔자 바이러스 감염 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0062] 본 발명의 인플루엔자 바이러스 백신이 면역 반응을 일으킬 수 있는 숙주 동물은 인간, 개, 고양이, 돼지, 말, 닭, 오리, 칠면조, 페렛 등을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 인간이다.
- [0063] 이하에서는, 본 발명을 한정하지 않는 실시예에 따라 본 발명을 상세히 설명한다. 본 발명의 하기 실시예는 본 발명을 구체화하기 위한 것일 뿐 본 발명의 권리범위를 제한하거나 한정하는 것이 아님은 물론이다. 따라서, 본 발명의 상세한 설명 및 실시예로부터 본 발명이 속하는 기술분야의 전문가가 용이하게 유추할 수 있는 것은 본 발명의 권리범위에 속하는 것으로 해석된다.
- [0064] <실시예 1> B형 재조합 인플루엔자 백신주 바이러스의 제조
- [0065] 1. B형 인플루엔자 바이러스 유전자 역유전학법용 플라스미드 제조
- [0066] Victoria 계통의 B/Brisbane/60/2008 바이러스의 8개 유전자(PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M, NS)를 역유전학법용 플라스미드인 pDZ 벡터에 삽입하고, 이를 주형으로 하는 PCR 반응을 통해 B형 HA 유전자(서열번호 3)를 확보하였다. 확보한 HA 유전자는 pUC 계열 벡터로 클로닝 한 뒤, M13 primer를 이용하여 삽입 여부를 확인하였다.
- [0067] 2. B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin) 유전자의 제작
- [0068] 상기에 기술된 방법으로 제작된 B형 HA 플라스미드를 주형으로 하여, site-directed mutagenesis 방법을 통해 모자이크 B형 HA 유전자를 제작하였다. PCR은 치환의 대상이 되는 아미노산 자리를 중심으로 primer를 디자인하여 수행하여 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin) 유전자(서열번호 1의 mY/Vic 모자이크 헤마글루티닌 및 서열번호 2의 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌)를 확보하였다. Victoria 계통의 B/Brisbane/60/2008 바이러스 및 모자이크 B형 HA 유전자의 아미노산 치환 위치는 도 1에 나타내었다.
- [0069] 3. B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주의 제작
- [0070] 상기에서 확보한 Victoria 계통의 B/Brisbane/60/2008 바이러스의 HA 유전자(서열번호 3) 및 모자이크 B형 HA 유전자(서열번호 1 및 2) 및 Victoria 계통의 B/Brisbane/60/2008 바이러스로부터 확보한 6개의 내부 유전자인 PB2(서열번호 5), PB1(서열번호 6), PA(서열번호 7), NP(서열번호 8), M(서열번호 9), NS(서열번호 10) 및 NA(서열번호 4)를 삽입하여 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주를 제작하기 위한 HA 유전자 플라스미드가 포함된 플라스미드 세트(HA, NA 유전자 및 6개의 내부 유전자 플라스미드)를 준비하였다. 상기 플라스미드 세트를 293T-MDCK 혼합세포에 도입(transfection)하고 TPCK-처리된 트립신 1ug/ml를 추가하였다. 48 내지 72시간 후, 세포 상층액을 회수하고 재조합 바이러스를 증식시키기 위하여 MDCK 세포에 감염시켰다. 감염 48시간 후, 본 발명의 재조합 인플루엔자 바이러스를 수득하였다.
- [0071] <실시예 2> 백신후보주의 viral plaque morphology 분석
- [0072] 재조합 인플루엔자 백신주 바이러스의 *in vitro* 특성을 분석하기 위해, 상기에서 제조된 재조합 인플루엔자 백신주 바이러스를 MDCK 세포에 감염시킨 후, semi-solid agarose가 첨가된 세포배양액으로 세포를 배양하였다. 감염 72시간 후, 크리스탈 바이올렛 염색시약으로 살아있는 세포를 염색하여 관찰하고, 그 결과를 도 2에 나타내었다.
- [0073] 도 2를 참고하면, wild type B형 HA 백신후보주와 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 모두 plaque를 형성하여 감염성을 가지는 것으로 확인할 수 있다.
- [0074] <실시예 3> 유정란에서의 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주의 성장특성 분석
- [0075] 상기에서 제작된 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 2종은 기존 인플루엔자 백신주 생산 시스템으로의 백신주 생산 가능성을 확인하기 위해 유정란에서의 성장특성을 분석하여 결과를 도 3에 나타내었다. 성장특성 분석은 wild type B형 HA 백신후보주와 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 2종을 유정란에 감염시킨 후, 8, 16, 24, 48 및 72 시간에 유정란의 요수를 수득하여 HA assay 및 plaque assay를 통해 HA 역가 및 Plaque forming units(PFU)으로 바이러스의 역가를 나타내었다.
- [0076] 도 3를 참고하면, B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주

2종은 감염 후 72시간 요수의 plaque assay에서 wild type B형 HA 백신후보주 대비 감소된 PFU 역가를 나타내었으나, HA assay에서는 유사한 HA 역가를 나타내었다. 따라서 B형 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 2종은 유정란에서 생산이 가능할 것으로 판단되었다.

[0077] <실시예 4> B형 mY/Vic 및 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌 백신후보주 항원의 boosting 후 Yamagata 계열 바이러스의 공격접종에 대한 방어능 분석

[0078] 상기에서 제작된 B형 mY/Vic 및 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 2종의 교차방어 효능 분석을 수행하였다. BALB/c 마우스 모델에서 Victoria 계통 B형 인플루엔자 wild type 백신주의 prime 접종 후, Victoria 계통 B형 인플루엔자 wild type 백신주의 동종(homologous) boosting 또는 각각의 B형 모자이크 헤마글루티닌(mY/Vic 및 mH5/Vic) 백신후보주의 이종(heterologous) boosting을 수행 한 뒤, Yamagata 계통의 B/Phuket/3073/2013 바이러스를 공격접종하였다. 접종 항원과 계열이 다른 바이러스를 공격접종함으로써 교차방어능을 분석하고자 공격접종 4일 차 마우스의 폐조직을 수득하여 폐 조직내 살아있는 바이러스 역가를 plaque assay로 분석하여 결과를 도 4에 나타내었다.

[0079] 도 4를 참고하면, Yamagata 계통의 B/Phuket/3073/2013 바이러스를 공격접종 후 폐 조직 내 바이러스 역가를 분석한 결과에서 음성대조군인 PBS 접종 그룹 대비 양성 대조군인 B/Phuket/3073/2013 백신주를 접종한 그룹은 높은 방어능을 획득하여 감염성을 가진 바이러스가 검출한계 미만으로 확인되었으며, wild type B형 HA 백신후보주를 접종한 그룹은 거의 방어능을 획득하지 못하여 음성 대조군 그룹과 유사한 바이러스 역가를 나타내었다. 반면, B형 mY/Vic 및 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 2종을 boosting 한 그룹은 낮은 개체 수로 유의차는 확인되지 않았지만 wild type B형 HA 백신후보주를 접종한 그룹 대비 감소된 폐조직 내 바이러스 역가를 나타내어, mY/Vic 및 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 항원을 boosting 할 경우 계통이 다른 바이러스에 대한 공격접종에 방어능을 획득한 양상으로 판단되었다.

[0080] <실시예 5> B형 mY/Vic 및 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌 백신후보주 항원의 boosting에 따른 보존된 epitope에 대한 항체 생성 분석

[0081] 계통이 다른 바이러스에 대한 방어능의 획득에 대한 기전을 확인하고자 mY/Vic 및 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 항원을 접종한 마우스 혈청을 이용하여 상대적으로 서열의 변이가 적어 보존된 epitope으로 작용 할 수 있는 HA stem domain을 표적으로하는 항체 생성량을 분석하였다.

[0082] 도 5을 참고하면, HA stem 표적 항체 역가를 확인하기 위한 ELISA 분석을 수행하였을 때, PBS 접종 그룹 대비 양성 대조군인 B/Phuket/3073/2013 백신주를 접종한 그룹 및 wild type B형 HA 백신후보주를 접종한 그룹은 다소 HA stem 표적항체가 생성된 것으로 판단되나 유의차가 나타나지 않는 결과를 나타내었다. 반면 mY/Vic 및 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 항원을 boosting한 그룹은 wild type B형 HA 백신후보주를 접종한 그룹 대비 유의미한 HA stem 표적항체 생성의 증가를 나타내었다. 따라서 mY/Vic 및 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 항원을 boosting 할 경우, 교차 면역 활성을 나타내는 보존된 epitope으로 작용 할 수 있는 HA stem 부분을 표적으로 하는 항체 생성을 유의미하게 증가시키는 것으로 나타났다.

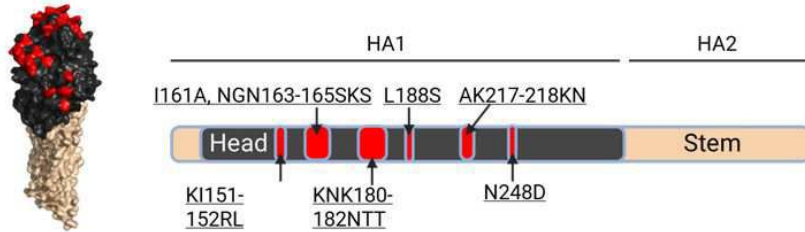
[0083] 그러므로 결과를 종합하여 볼 때, 본 발명의 mY/Vic 및 mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌(mosaic Hemagglutinin)을 포함하는 재조합 인플루엔자 백신후보주 항원의 boosting은 기존의 wild type B형 HA 백신후보주의 boosting보다 더 많은 보존된 epitope인 HA stem을 표적 항체생성을 유도하여 동등하거나 더 우수한 교차면역원성을 유도하여 효과적으로 계통이 다른 B형 바이러스의 공격접종에 대한 방어능을 획득한 것으로 판단된다.

[0084] 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기의 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다. 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 특허청구범위의 범위에 속한다.

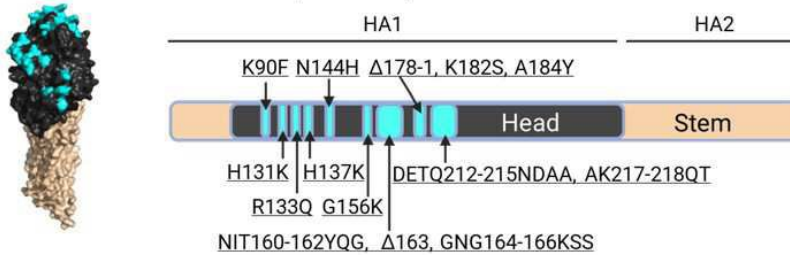
도면

도면1

mY/Vic 모자이크 헤마글루티닌 (서열번호 1)



mH5/Vic 모자이크 헤마글루티닌 (서열번호 2)

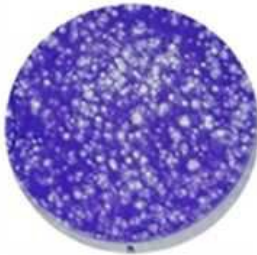


도면2

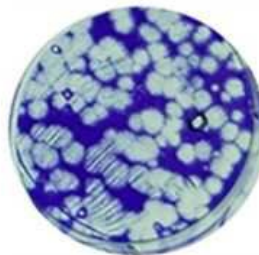
**B형 mY/Vic 모자이크
헤마글루티닌
(서열번호 1)**



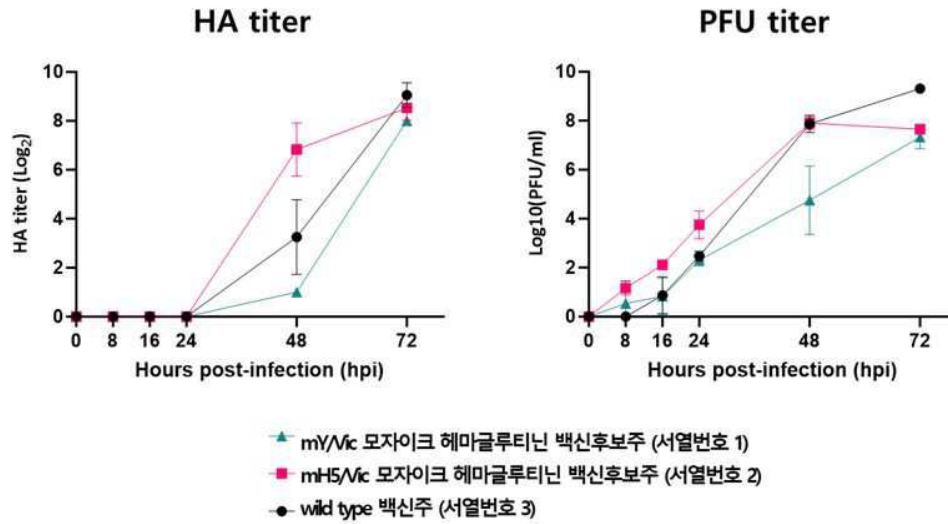
**B형 mH5/Vic 모자이크
헤마글루티닌
(서열번호 2)**



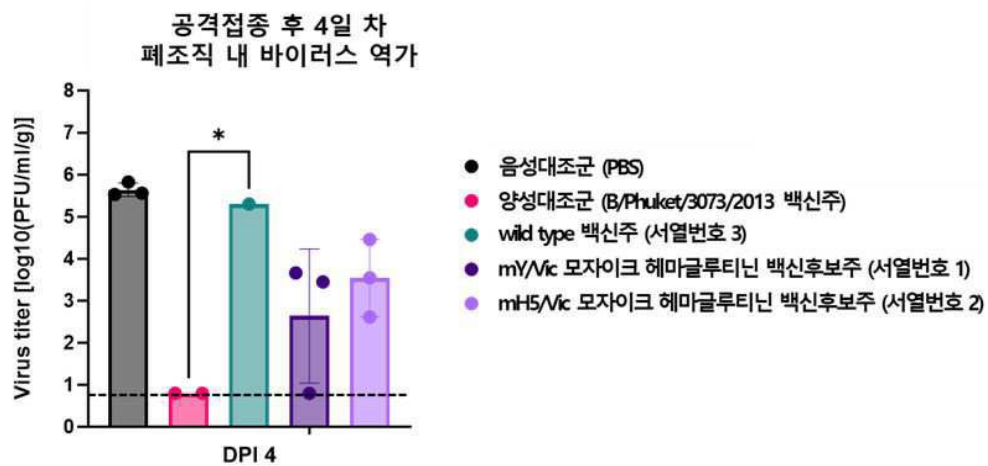
**B형 Wild type
헤마글루티닌
(서열번호 3)**



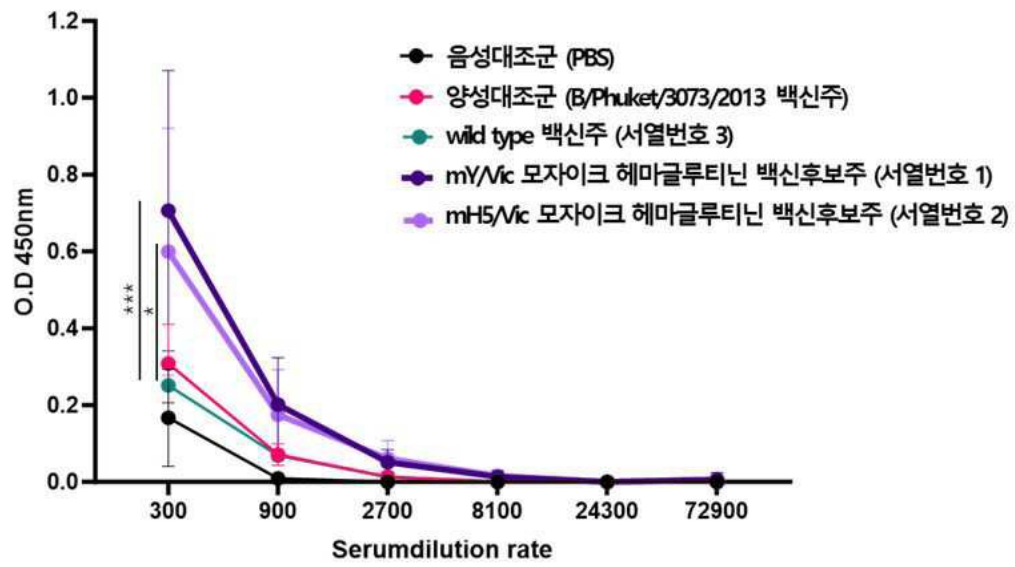
도면3



도면4



도면5



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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