



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년05월18일

(11) 등록번호 10-1519840

(24) 등록일자 2015년05월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 7/06 (2006.01) *A61K 38/08* (2006.01)
A61K 38/37 (2006.01) *C07K 14/755* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7011743

(22) 출원일자(국제) 2008년12월03일

심사청구일자 2013년09월09일

(85) 번역문제출일자 2010년05월28일

(65) 공개번호 10-2010-0087346

(43) 공개일자 2010년08월04일

(86) 국제출원번호 PCT/GB2008/003996

(87) 국제공개번호 WO 2009/071886

국제공개일자 2009년06월11일

(30) 우선권주장

0723712.6 2007년12월04일 영국(GB)

(56) 선행기술조사문헌

WO2002060917 A3

KR1020070016119 A

KR1020000070389 A

(73) 특허권자

아피토프 인터내셔널 엔브이

벨기에 디에펜비크 3590, 제브 에이 비스, 양고랄란

(72) 발명자

레이트 데이비드

영국 브리스톨 비에스1 5유비 파크 로우 유니버시티 케이트 이스트 아피토프 테크놀러지 (브리스톨) 리미티드

(74) 대리인

김동완

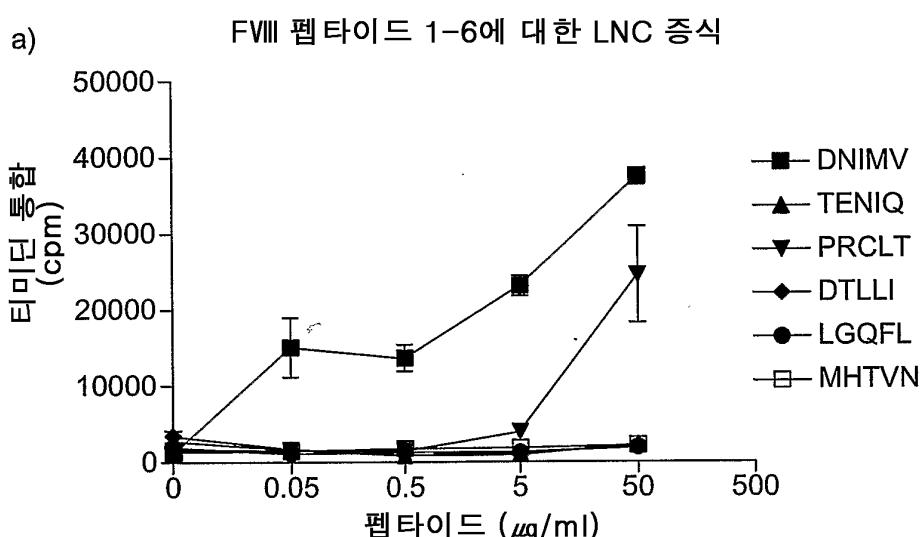
전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 노은주

(54) 발명의 명칭 FVIII 펩타이드 및 혈우병 환자 내성화시 그의 용도

(57) 요약

본 발명은 추가 항원 처리 없이 MHC 클래스 II 분자에 결합 가능한 펩타이드인 인간 FVIII에서 유래 가능한 핵심 잔기 서열을 포함한 펩타이드를 제공한다. 또한 본 발명은 혈우병 A 및/또는 후천성 혈우병 내 저해제 항체 형성의 방지 또는 억제를 위한 이러한 펩타이드의 용도에 관한 것이다.

대 표 도

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

생체 내에서 인자 VIII 저해제 항체의 생성을 억제하거나 방지하는 펩타이드에 있어서, 상기 펩타이드는

PRCLTRYSSFVNME (서열번호: 9)

VEDNIMVTFRNQASR (서열번호: 45)

DNIMVTFRNQASRPY (서열번호: 10)

IMVTFRNQASRPYSF (서열번호: 48)

MVTFRNQASRPYSFY (서열번호: 49)

VTFRNQASRPYSFYS (서열번호: 87)

TKSDPRCLTRYSSSF (서열번호: 82)

KSDPRCLTRYSSSFV (서열번호: 38)

SDPRCLTRYSSSFVN (서열번호: 39)

DPRCLTRYSSSFVNM (서열번호: 40)

RCLTRYSSSFVNMER (서열번호: 41)

CLTRYSSSFVNMERD (서열번호: 42)

PPIIARYIRLHPTHY (서열번호: 12)

PIIARYIRLHPTHYS (서열번호: 28)

ARYIRLHPTHYSIRS (서열번호: 92)

에서 선택된 하나의 서열로 구성됨을 특징으로 하는 웹타이드.

청구항 15

제 14항에 있어서, 상기 웹타이드는 생체 내에서 인자 VIII 저해제 항체의 생성을 억제하거나 방지하는 약물의 제조를 위해 사용됨을 특징으로 하는 웹타이드.

청구항 16

제 14항에 있어서, 상기 웹타이드는 피험체 내의 혈우병을 치료하기 위해 사용함을 특징으로 하는 웹타이드.

청구항 17

제 14항에 있어서, 상기 피험체는 혈우병 A를 지니고 인자 VIII 대체요법을 수행하거나 수행 예정임을 특징으로 하는 웹타이드.

청구항 18

제 16항에 있어서, 상기 피험체는 후천성 혈우병을 지니거나 발병 위험이 있음을 특징으로 하는 웹타이드.

청구항 19

제 16항에 있어서, 상기 피험체는 HLA-DR2임을 특징으로 하는 웹타이드.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 웹타이드에 관한 것이다. 더욱 상세하게는 인자 VIII(FVIII)에서 유래 가능한 웹타이드에 관한 것이다.

상기 웨타이드는 예를 들어 혈우병 A 및 후천성 혈우병 치료시 인자 VIII 저해제 항체 형성을 감소시키거나 방지하는데 사용될 수 있다.

배경기술

[0002] 혈우병

혈우병은 혈우병 A, 혈우병 B(크리스마스병) 및 폰 빌레브란드 병(Von Willebrand's disease)을 포함하는 유전성 혈액 장애 그룹에 속한다.

[0004] 혈우병에서 필수적인 응고 인자가 부분적 또는 완전하게 소실되기 때문에 혈액의 혈액 응고능이 현격히 감소되어 증가된 출혈 시간을 야기한다. 혈우병 A는 응고 인자 VIII의 결손인 반면 혈우병 B는 응고 인자 IX의 결손이다. 양 질병 모두에서 결함 유전자는 X 염색체 상에서 발견되고, 따라서 이러한 이상은 X-연관이다. 혈우병 A는 혈우병 B보다 5배 이상 흔하다.

[0005] 혈우병은 평생 유전되는 유전자 이상이고, 이는 여성을 보인자로, 남성을 이러한 이상을 유전시키도록 작용한다. 종전 가족력이 없는 경우는 새로운 진단의 약 1/3이다. 이는 전세계적이고 모든 인종군에서 발생한다. 약 6.000명의 인구가 영국에서 혈우병을 앓고 있다.

[0006] 혈우병은 손상 후 연장된 시기 동안 출혈된다. 절단 및 찰과상과 같은 외부 손상은 일반적으로 심각한 문제를 야기하지 않는다: 어느 정도의 압력을 가하고 영향 받은 부위를 감싸는 것(예를 들어 석고로)에 의해 출혈을 중단시키는 것이 가능하다.

[0007] 주요한 문제점은 관절, 근육 및 연조직 내의 내출혈이고, 이는 동시에 발생 가능하다. 뇌출혈과 같은 내출혈은 관리하기 매우 어렵고 치명적일 수 있다. 관절 내 반복된 출혈은 급성 통증을 유발하고 관절염 및/또는 장애를 유발하는 장기간 관절 손상을 유발할 수 있다.

[0008] 혈우병 치료는 일반적으로 소실된 응고 인자의 대체에 의한 것이다. 약하거나 중간 정도의 혈우병의 경우 주사는 출혈 발생시 제공된다(필요시 치료법). 그러나 중증 혈우병의 경우 혈액 응고를 돋고 장기간 관절 손상의 가능성을 최소화하기 위해 정기적인 예방 주사가 제공된다.

[0009] 혈우병 A에 대한 응고 인자 대체 요법의 가능한 중증 합병증은 인자 VIII의 응고촉진 기능을 무효화시키는 항체의 발달이다. 인자 VIII 저해제는 중증 혈우병 A 환자의 약 25%에서 발생한다. 선천성 혈우병 A 환자는 FVIII의 유전적 결함을 지닐 수 있기 때문에 저해제 합성은 출혈 예피소드를 예방하거나 치료하기 위해 투여된 외부 단백질에 대한 동종면역 반응이다.

[0010] CD4+ T 세포는 FVIII에 대한 면역 반응에 중추 역할을 한다. 항원-제시 세포(APC)에 의한 처리 후 FVIII은 웨타이드 단편으로의 단백질 분해성 분해를 수행한다(Reding et al (2006) Haemophilia 12(supp 6) 30-36). 이후 이를 웨타이드는 MHC 클래스 II 분자와 결합하여 APC의 표면 상에 제시된다. 이후 이를 복합체는 FVIII에 특이적인 CD4+ 세포의 T 세포 수용체에 의해 인식된다. 적당한 동시자극 신호의 존재시 이러한 인식은 결국 CD4+ 세포가 B 세포에 의해 항체 합성을 지시하도록 한다.

[0011] 저해제 형성의 발생은 먼저 인자 VIII 처리 수에 따라 증가되나 50~100 노출일 후 안정 상태를 유지하는 것으로 판단된다. 저해제 형성은 중간 정도 또는 약한 질병보다 중증 혈우병에서 더욱 더 흔하고, 인자 VIII 경쇄 내 가

장 명백한 큰 결실 및 넌센스 돌연변이인 일부 분자 결함은 저해제 형성 성향을 지니게 하는 것으로 판단된다. 대체 인자의 농도, 형태(정제 또는 재조합) 및 치료 내력과 같은 파라미터도 항체 생성의 가능성에 영향을 미친다.

[0012] 혈우병 환자의 저해제로의 치료는 진행 중인 도전이다. 탈감작 기술을 이용한 면역 내성 유도(ITI)는 인자 VIII에 대한 동종항체를 지닌 일부 환자에서 성공적이다. 이러한 치료법은 인자 대체 요법으로의 진행 중인 노출을 요구하고, 따라서 장기 전략이다.

[0013] ITI는 성공적일 수 있으나 유의적인 환자 비율(약 30%)이 ITI에 반응하지 못한다. 높은 저해제 역가를 지닌 환자는 치료에 덜 반응한다. 또 다른 유의적인 기여 요인은 ITI를 착수하는 시작 연령으로, 환자가 20세 이상인 경우 성공률이 크게 감소된다(Hay et al (2005) Seminars in Thrombosis and Hemostasis 32:15-21).

[0014] 면역억제 치료법은 종종 ITI에 반응하지 못하는 환자에 이용된다. 치료는 면역 체계를 비-특이적으로 타겟하는 사이클로포스파마이드, 프레드니손, 아자티오프린 및 사이클로스포린과 같은 면역억제제의 투여를 포함한다. 이를 치료는 일반적인 면역억제와 관련된 부작용을 지닐 수 있다.

[0015] B 세포 CD20 항원에 대한 인간화 단일클론 항체인 RituximabTM을 이용한 선택적 B 세포 결핍 상에 재개된 관심이 존재한다. 그러나 주입 반응, 혈청병 및 기회 감염이 이러한 약물로 치료된 일부 소아에서 발생하였다 (DiMichele (2007) J Thromb Haemost 5:143-50).

후천성 혈우병

[0016] 후천성 혈우병은 100만 명 중 1 내지 4명에 작용하는 드문 자가면역 이상이다. 이러한 이상에서 혈우병을 지니고 태어나지 않은 피험체는 인자 VIII와 같은 응고 인자 중 하나에 대한 항체를 발달시킨다. 임신, 류마티스 관절염과 같은 자가면역 질환 및 암이 후천성 혈우병 발달 위험률을 증가시키는 것으로 판단된다. 그의 생성을 유발하는 근원적인 면역 메커니즘 내 차이가 있으나 FVIII 저해제의 임상 소견은 응고 인자 대체 요법에 반응하여 생성되었고 후천성 혈우병에서 생성된 것들은 유사하다.

[0017] 후천성 혈우병 환자는 부분적으로 획득 저해제와 중증 출혈 합병증과의 관련으로 인해 25%에 근접하는 사망률을 지닌다. 획득 자가항체 저해제 요법은 주로 급성 출혈 합병증을 조절하거나 예방하는 필요성을 기반으로 하고, 이는 주로 수명 및 사지에 위협적이고 이차적으로 정상 응고를 복구시키기 위해 자가항체를 박멸한다.

[0018] 낮은 역가 자가항체 저해제(< 5 Bethesda 단위)와 관련된 일부 출혈은 고용량으로 투여된 FVIII 농축물로 효과적으로 치료된다. 돼지 FVIII 농축물은 실험실에서 주입-후 FVIII 응고 활성 수치를 실질적으로 측정하는 기회를 제공하는 유일한 대체 요법이기 때문에 후천성 혈우병-관련 출혈에 대한 중요한 제일선의 치료법으로 이전에 간주되었다. 이러한 제품은 돼지 파보바이러스에 의한 돼지 혈장 저장고의 오염으로 인해 2004년 시장에서 제거되었다. 현재 "바이패싱(bypassing)" 약제는 가장 일반적으로 사용되나 잠재적인 혈전형성 위험률이 존재하고 각각의 제품의 경우 약 80% 만의 효능이 존재한다. 혈장분리반출술 및 체외 면역흡착을 통한 혈장 교환은 적당한 지혈을 제공하기 위해 바이패싱 약제 또는 FVIII 대체에 충분한 저해제 역가를 일시적으로 감소시키는데 필요하다.

[0019] 자가항체 저해제의 박멸은 (1) 3~6주 내 30%~50% 효능을 지닌 코르티코스테로이드의 투여; (2) 예를 들어 사이클로포스파마이드, 사이클로스포린, 2-사이클로데옥시아데노신과 같은 세포독성 및 골수억제성 화학요법제의 이용; (3) 정맥내 면역글루불린으로의 면역제어; 및 (4) rituximab으로의 선택적 B-림프구 결핍과 같은 면역억

제 측정에 따라 달라진다. Rituximab™ 반응제는 스테로이드의 동시 이용을 필요로 하고 재발은 재치료에 반응한다.

[0021] 따라서 모든 현재 이용 가능한 혈우병 A 치료 및 후천성 혈우병의 자가항체 생성과 관련된 동종항체 생성을 감소시키는 방법은 결점을 지닌다. 따라서 혈우병 A 및 후천성 혈우병 내 항-FVIII 항체의 문제점을 해결하는 개선된 방법에 대한 요구가 존재한다.

[0022] 본 발명자들은 FVIII-유래 웨타이드로 환자를 예비-내성화함으로서 FVIII 저해제 항체 형성을 방지하는 것이 가능함을 발견하였다.

발명의 내용

본 발명의 관점의 개요

[0024] 따라서 본 발명은 FVIII에 대한 내성을 유도하거나 복구시키는 것이 가능한 FVIII에서 유래 가능한 웨타이드에 관한 것이다.

[0025] 본 발명자들은 HLA-DR2 결합 웨타이드를 발생시키는 것으로 예측되는 FVIII의 많은 면역우세 영역을 확인하였다 (표 1). 이들 웨타이드 중 인자 VIII의 영역 545~559 및 1788~1803이 인간 인자 VIII에 대한 HLA-DR2 제한 T-세포 반응시 면역우세 T-세포 에피토프 영역을 나타내는 것으로 간주된다. 이들 웨타이드로의 마우스 처리는 인자 VIII에 대한 면역 반응의 실질적인 억제를 유발하는 것으로 나타났다.

[0026] 첫 번째 관점에서 본 발명은 하기 핵심 잔기 서열 중 하나를 포함하는 웨타이드를 제공한다:

[0027] LYISQFIIM (서열번호: 2)

[0028] FIIIMYSLDG (서열번호: 3)

[0029] IARYIRLHP (서열번호: 4)

[0030] LIIFKNQAS (서열번호: 5)

[0031] LTRYYSSFV (서열번호: 6)

[0032] MVTFRNQAS (서열번호: 7)

[0033] LRIHPQSWV (서열번호: 8)

[0034] 상기 웨타이드는 추가 항원 처리 없이 MHC 클래스 II 분자에 결합하고 인자 VIII 특이적 T 세포에 의해 인식 가능함을 특징으로 한다.

[0035] 웨타이드는 예를 들어 서열 PRCLTRYYSSFVNME 또는 DNIMVTFRNQASRPY를 지닌다.

[0036] 두 번째 관점에서 본 발명은 본 발명의 첫 번째 관점의 웨타이드를 포함한 약제학적 조성물과 같은 조성물을 제공한다.

[0037] 상기 조성물은 다수의 이러한 웨타이드를 포함한다. 더욱 상세하게는 상기 조성물은 하기 웨타이드를 포함한다:

PRCLTRYSSFVNME 및 DNIMVTFRNQASRPY.

[0038] 상기 조성물은 다수의 웨타이드가 개별적으로 별도, 후속, 연속 또는 동시 투여로 제공되는 키트 형태이다.

[0039] 본 발명의 웨타이드 또는 조성물은 인자 VIII 저해제 항체 발달을 억제하거나 감소시키거나 방지시키는데 이용된다.

[0040] 또한 본 발명은 인자 VIII 저해제 항체의 발달을 억제시키거나 감소시키거나 방지하기 위한 약물 제조시 이러한 웨타이드 또는 조성물의 용도를 제공한다.

[0041] 또한 본 발명은 피험체에 이러한 웨타이드 또는 조성물을 투여하는 단계를 포함한 피험체 내 인자 VIII 저해제 항체의 발달을 억제시키거나 감소시키거나 방지하는 방법을 제공한다.

[0042] 상기 피험체는 FVIII 결핍이다. 더욱 상세하게는 상기 피험체는 혈우병 A를 지니고, 인자 VIII 대체 요법을 진행 중이거나 수행할 예정이다.

[0043] 또한 상기 피험체는 후천성 혈우병을 지나거나 이에 걸릴 위험이 있다.

[0044] 인자 VIII 저해제는 HLA-DR2를 발현하는 개체에서 더욱 빈번하게 발견된다. 따라서 본 발명의 방법으로 치료받는 상기 피험체는 HLA-DR2 양성이다.

도면의 간단한 설명

도 1: rhFVIII/CFA로 프라임된 FVIII+DR2+ 마우스 유래의 림프절 세포(LNC)에 대한 회상 반응

- a) FVIII 웨타이드 1-6에 대한 LNC 증식
- b) FVIII 웨타이드 7-12에 대한 LNC 증식
- c) FVIII 웨타이드 1, 3 및 11에 대한 LNC 증식

도 2: FVIII-유래 웨타이드에 특이적인 FVIII+DR2+ T 세포 하이브리도마 클론의 대표적 예시

도 3: rhFVIII/CFA로 프라임된 FVIII-DR2+ 마우스 유래의 LNC에 대한 회상 반응

도 4: FVIII-유래 웨타이드에 특이적인 FVIII-DR2+ T 세포 하이브리도마 클론의 대표적 예시

도 5: a) DNIMV 및 b) PRCLT에 특이적인 FVIII-/- 클론

도 6: rhFVIII/CFA로 프라임 전 웨타이드로 3x i.p 처리된 FVIII+DR2+ 마우스에 있어서 FVIII에 대한 LNC의 회상 반응

도 7: FVIII-유래 중복 웨타이드에 특이적인 FVIII-DR2+ T 세포 하이브리도마 클론을 이용한 아피토프로 작용 가능한 웨타이드 에피토프 범위의 측정

도 8: FVIII-유래 웨타이드 PRCLT, DNIMV 또는 이 둘의 혼합물로 처리된 FVIII-DR2+ 마우스에 있어서 FVIII에 대해 반응하는 림프절 세포 IFN-감마 생성

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046]

펩타이드

[0047]

본 발명은 펩타이드에 관한 것이다.

[0048]

용어 "펩타이드"는 일반적으로 α -아미노와 인접 아미노산의 카르복실기 사이의 펩타이드 결합에 의해 서로 연결되는 일반적으로 L-아미노산인 잔기 시리즈를 의미하는 일반적인 의미로 사용된다. 상기 용어는 변형된 펩타이드 및 합성 펩타이드 유사체를 포함한다.

[0049]

본 발명의 펩타이드는 화학 방법(Peptide Chemistry, A practical Textbook, Mikos Bodansky, Springer-Verlag, Berlin.)을 이용하여 제조된다. 예를 들어 펩타이드는 고형상 기술(Roberge JY et al (1995) Science 269: 202-204)에 의해 합성되고, 수지에서 절단되고 고성능 액체 크로마토그래피(예를 들어 Creighton (1983) Proteins Structures And Molecular Principles, WH Freeman and Co, New York NY)에 의해 정제될 수 있다. 자동화 합성은 예를 들어 제조사에 의해 제공되는 지침에 따라 ABI 43 1 A Peptide Synthesizer(Perkin Elmer)를 이용하여 달성된다.

[0050]

또한 펩타이드는 재조합 수단 또는 인자 VII로부터의 절단에 의해 제조된다. 펩타이드 조성물은 아미노산 분석 또는 서열분석(예를 들어 Edman 분해 절차)에 의해 확인된다.

[0051]

실질적인 목적의 경우 펩타이드가 나타내는 다른 다양한 특성이 존재한다. 예를 들어 펩타이드는 생체 내에서 이의 이용을 가능하게 하는 농도에서 용해 가능하다. 펩타이드는 0.5 mg/ml, 1 mg/ml 또는 5 mg/ml의 농도까지 용해 가능하다.

[0052]

또한 펩타이드 생체 내에서 이론적으로 이용 가능하도록 충분히 안정함이 중요하다. 생체 내 펩타이드의 반감기는 10분, 30분, 4시간 또는 24시간 이상이다.

[0053]

또한 펩타이드는 생체 내 우수한 생체이용율을 입증한다. 펩타이드는 간섭 없이 세포 표면에서 MHC 분자에 이를 결합시킬 수 있는 생체 내 입체형태를 유지한다.

[0054]

핵심 잔기

[0055]

적응성 면역 반응시 T 림프구는 단백질 항원의 내부 에피토프를 인식할 수 있다. 항원 제시 세포(APC)는 단백질 항원을 포획하여 짧은 펩타이드 단편으로 분해시킨다. 펩타이드는 세포 내부에서 주조직 적합 복합체(MHC) 클래스 I 또는 II 분자에 결합되고 세포 표면으로 운반된다. MHC 분자와 함께 세포 표면에 제시되면 펩타이드는 펩타이드가 T 세포 에피토프인 경우 T 세포(T 세포 수용체(TCR)을 통해)에 의해 인식된다.

[0056]

따라서 에피토프는 MHC 클래스 I 또는 II 분자의 펩타이드-결합 홈(groove)에 결합하고 T 세포에 의해 인식 가능한 항원에서 유래 가능한 펩타이드이다.

[0057]

최소 에피토프는 MHC 클래스 I 또는 II 분자의 펩타이드-결합 홈에 결합 가능하고 T 세포에 의해 인식 가능한 에피토프에서 유래 가능한 최소 단편이다. 일정한 면역 영역의 경우 일반적으로 최소 에피토프를 포함하나 그의 측면 영역과는 상이한 에피토프로 작용하는 중복 펩타이드의 "네스티드 세트(nested set)"를 생성하는 것이 가능하다.

능하다.

[0058] 동일한 토큰에 의해 절단된 웹타이드에 대한 반응을 측정함으로서 특정 MHC 분자:T 세포 결합에 대한 최소 에피토프를 확인하는 것이 가능하다. 예를 들어 반응이 중복 라이브러리 내 1~15개 잔기를 포함한 웹타이드에 대해 수득되는 경우 양 말단에서 절단된 세트(즉 1~14, 1~13, 1~12 등 및 2~15, 3~15, 4~15 등)는 최소 에피토프를 확인하는데 이용될 수 있다.

[0059] 본 발명은 FVIII의 "핵심 잔기" 서열을 포함한 웹타이드를 제공한다. 이를 핵심 잔기 서열은 각 영역에 대한 최소 에피토프를 나타내거나 포함하는 HLA-DR2 결합 알고리즘을 이용하여 예측된다.

아피토프

[0061] 본 발명자들은 MHC 클래스 I 또는 II 분자에 결합되고 추가 항원 처리 없이 T 세포에 제시될 수 있는 웹타이드의 능력과 생체 내 내성을 유도할 수 있는 웹타이드의 능력 사이에 연계가 존재함을 종전 측정한 바 있다(WO 02/16410). 웹타이드가 너무 길어서 추가 처리(예를 들어 트리밍(trimming)) 없이 MHC 분자의 웹타이드 결합 홈에 결합할 수 없거나 부적당한 입체형태로 결합되는 경우 생체 내 내성생성성이 되지 않을 것이다. 한편 웹타이드가 MHC 웹타이드 결합 홈에 직접 결합하기에 적당한 크기 및 입체형태인 경우 이러한 웹타이드는 내성 유도에 유용할 것으로 예측될 수 있다.

[0062] 따라서 시험관 내에서 MHC 클래스 I 또는 II 분자에 결합되고 추가 항원 처리 없이 T 세포에 제시될 수 있는지 여부를 조사함으로서 웹타이드의 내성생성 능력을 조사하는 것이 가능하다.

[0063] 본 발명의 웹타이드는 MHC 클래스 II 분자에 결합되고 추가 항원 처리 없이 인자 VIII 특이적 T 세포로부터 반응을 자극시킬 수 있다는 점에서 아피토프(Antigen Processing-Independent epitopes)이다. 이러한 아피토프는 WO 02/16410에 기재된 규칙-기반 방법에 따라 FVIII에 대한 내성을 유발할 것으로 예측될 수 있다.

[0064] 본 발명의 웹타이드는 추가 처리 없이 MHC 클래스 I 또는 II 분자에 결합 가능한 어떠한 길이도 된다. 일반적으로 본 발명의 웹타이드는 MHC 클래스 II에 결합 가능하다.

[0065] MHC 클래스 I 분자에 결합하는 웹타이드는 일반적으로 7 내지 13개, 더욱 일반적으로는 8 내지 10개 아미노산 길이이다. 웹타이드의 결합은 웹타이드의 주요 사내 분자와 모든 MHC 클래스 I 분자의 웹타이드-결합 홈 내 불변 사이트 사이의 접촉에 의해 양 말단에서 안정화된다. 웹타이드의 아미노 ?? 카로복시 말단에 결합하는 홈의 양 말단에 불변 사이트가 존재한다. 변동은 주로 필요한 유연성을 가능하게 하는 프롤린 및 글리신 잔기에서의 웹타이드 골격 내 비틀림에 의해 조절되는 웹타이드 길이이다.

[0066] MHC 클래스 II 분자에 결합하는 웹타이드는 일반적으로 8 내지 20개 아미노산 길이, 더욱 일반적으로는 10 내지 17개 아미노산 길이이고, 더 길 수 있다(예를 들어 40개 아미노산까지). 이를 웹타이드는 양 말단에서 개방된 MHC II 웹타이드-결합 홈(MHC 클래스 I 웹타이드-결합 홈과 달리)을 따라 확장된 입체형태 내에 놓인다. 웹타이드는 주로 웹타이드-결합 홈을 정렬시키는 보존 잔기와의 주-사슬 원자 접촉에 의해 적소에 유지된다.

웹타이드 서열

[0068] 본 발명의 첫 번째 관점은 하기 핵심 잔기 서열 중 하나를 포함한 웹타이드에 관한 것이다:

[0069] LYISQFIIM (서열번호: 2)

[0070] FIIMYSLDG (서열번호: 3)

[0071] IARYIRLHP (서열번호: 4)

[0072] LIIFKNQAS (서열번호: 5)

[0073] LTRYYSSFV (서열번호: 6)

[0074] MVTFRNQAS (서열번호: 7)

[0075] LRIHPQSWV (서열번호: 8).

[0076] 예를 들어 상기 웹타이드는 하기 핵심 잔기 서열 중 하나를 포함한다:

[0077] IARYIRLHP (서열번호: 4)

[0078] LTRYYSSFV (서열번호: 6)

[0079] MVTFRNQAS (서열번호: 7)

[0080] LRIHPQSWV (서열번호: 8).

[0081] 더욱 상세하게는 상기 웹타이드는 하기 핵심 잔기 서열 중 하나를 포함한다:

[0082] LTRYYSSFV (서열번호: 6)

[0083] MVTFRNQAS (서열번호: 7).

[0084] 수득된 웹타이드가 추가 항원 처리 없이 MHC 클래스 II 분자에 결합 가능함을 조건으로 상기 웹타이드는 N 및/ 또는 C 말단에서 추가 측면 서열과 함께 핵심 잔기 서열 중 하나를 포함한다.

[0085] 측면 N 및/ 또는 C 말단 서열은 인간 FVIII 내 핵심 잔기 서열의 측면에 위치한 서열에서 유래 가능하다.

[0086] 예를 들어 상기 웹타이드는 하기 군에서 선택된다:

[0087] SLYISQFIIMYSLDG (서열번호: 11)

[0088] PPIIARYIRLHPHY (서열번호: 12)

[0089] DTLLIIFICNQASRPY (서열번호: 13)

[0090] PRCLTRYYSSFVNME (서열번호: 9)

[0091] DNIMVTFRNQASRPY (서열번호: 10)

[0092] RYLRIHPQSWVHQIA (서열번호: 14).

[0093] 일부 FVIII-유래 웹타이드는 이미 아피토프로 알려져 있다(예를 들어 PRCLTRYYSSFVNME 및 DNIMVTFRNQASRPY). 이들 웹타이드 이외에 핵심 잔기 서열을 공유하나 하나 이상의 측면 잔기가 상이한 또 다른 것도 존재한다.

[0094] 이를 시험하기 위해 중복 웹타이드 패널이 생성된다. 일반적으로 세트 내 웹타이드군은 최소 애피토프를 포함하기 때문에 면역 반응을 생성하는 것이 가능하다. 이들 웹타이드 중 MHC 클래스 II에 결합하고 항원 처리 없는

제시 시스템 내에서 적당한 T 세포를 자극시킬 수 있는 펩타이드의 능력을 조사함으로서 펩타이드도 아피토프로 작용하는지 여부를 조사할 수 있다.

[0095] 하기 표에 나타난 펩타이드는 아피토프로 작용할 수 있는 능력에 대해 시험된다:

SLYISQFIIMYSLDG
LYISQFIIMMYSLDGK
RQKFSSLYISQFIIM
QKFSSLYISQFIIMY
KFSSLYISQFIIMYS
FSSLYISQFIIMYSL
SSLYISQFIIMYSLD
YISQFIIMYSLDGKK
ISQFIIMYSLDGKKW
SQFIIMYSLDGKKWQ
QFIIMYSLDGKKWQT
FIIMYSLDGKKWQTY

[0096]

IARYIRLHPTHYSIR
IIARYIRLHPTHYSI
PIIARYIRLHPTHYS
PPIIARYIRLHPTHY
NPPIIARYIRLHPTH
FNPPPIIARYIRLHPT
IFNPPPIIARYIRLHP

[0097]

LIIIFKNQASRPYN
IY

[0098]

LLIIIFKNQASRPYNI
TLLIIIFKNQASRPYN
DTLLIIIFKNQASRPY
GDTLLLIIIFKNQASRP
VGDTLLLIIIFKNQASR
EVGDTLLLIIIFKNQAS

[0099]

KSDPRCLTRYYSSFV
SDPRCLTRYYSSFVN
DPRCLTRYYSSFVNAM
PRCLTRYYSSFVNME
RCLTRYYSSFVNMER
CLTRYYSSFVNMERD
LTRYYSSFVNMERDL

[0100]

EVEDNIMVTFRNQAS
VEDNIMVTFRNQASR
EDNIMVTFRNQASRP
DNIMVTFRNQASRPY
NIMVTFRNQASRPYS
IMVTFRNQASRPYSF
MVTFRNQASRPYSFY

[0101]

LRIHPQSWVHQIALR
YLRIHPQSWVHQIAL
RYLRIHPQSWVHQIA
TRYLRIHPQSWVHQI
LTRYLRIHPQSWVHQ
LLTRYLRIHPQSWVH
PLLTRYLRIHPQSWV

[0102]

[0103] 또한 상기 표에 제공된 15-머 웹타이드보다 다소 길거나 짧은 웹타이드는 아피토프로 작용하고 인자 VIII에 대해 피험자를 내성화하는 것이 가능하다. 예를 들어 웹타이드는 10 내지 25개 아미노산, 특히 12 내지 18개 아미노산 길이이다.

APIPS

[0105] 하기를 포함한 다양한 항원 처리 독립적 제시 시스템(APIPS)이 알려져 있다:

[0106] a) 고정된 APC(CD28에 대한 항체 존재 또는 부재시);

[0107] b) 클래스 I 또는 II MHC 분자를 포함한 지질막(CD28에 대한 항체 존재 또는 부재시); 및

[0108] c) 플레이트-결합 형태의 정제된 천연 또는 재조합 MHC(CD28에 대한 항체 존재 또는 부재시).

[0109] 이들 시스템 모두는 MHC 분자와 함께 항원을 제시할 수 있으나 항원을 처리하는 것은 불가능하다. 이들 모든 시스템에서 처리 기능은 부재하거나 무능력하다. 이는 웹타이드가 MHC 클래스 I 또는 II 분자에 결합하고 추가 항원 처리 없이 T 세포에 제시될 수 있는지 여부를 조사하는 것을 가능하게 한다.

- [0110] T 세포 반응을 조사하기 위한 고정된 APC의 이용은 절단된 펩타이드에 대한 반응을 측정함으로서 예를 들어 폴리펩타이드 내 최소 에피토프를 조사하는 연구와 같은 분야에 잘 알려져 있다(Fairchild et al (1996) Int. Immunol. 8:1035-1043). APC는 예를 들어 포름알데하이드(일반적으로 파라포름알데하이드) 또는 글루타르알데하이드를 이용하여 고정된다.
- [0111] 지질막(평면 막 또는 리포솜임)은 인공 지질을 이용하여 제조되거나 APC 유래의 형질막/미세소체 분획이다.
- [0112] 이용시 APIPS는 조직 배양 플레이트의 웰에 도포된다. 이후 펩타이드 항원이 첨가되고 APIPS의 MHC 부분으로의 펩타이드 결합이 선택된 T 세포주 또는 클론의 첨가에 의해 검출된다. T 세포주 또는 클론의 활성화는 예를 들어 ^3H -티미딘 통합 또는 사이토카인 분비를 통해 당분야에 알려진 어떠한 방법에 의해서도 측정된다.
- [0113] 인자 VIII
- [0114] 본 발명의 펩타이드는 인자 VIII에서 유래 가능하다.
- [0115] 인자 VIII는 혈액 응고의 내인성 경로에 관여한다; 인자 VIII는 Ca²⁺ 및 인지질 존재시 인자 X를 불활성화 형태 Xa로 전환시키는 인자 IXa에 대한 보조인자이다.
- [0116] 인자 VIII 유전자는 2개의 양자 택일로 스플라이스된 전사체를 생성한다. 전사체 변이체 1은 혈장 내에서 순환되고 비공유결합 복합체 내에서 폰 빌레브란드 인자와 결합되는 거대 당단백질인 이소폼 a를 암호화한다. 이러한 단백질은 다수의 분열 이벤트를 수행한다. 전사체 변이체 2는 주로 인자 VIIIc의 인지질 결합 도메인으로 구성되는 추정되는 소단백질인 이소폼 b를 암호화한다.
- [0117] 인간 인자 VIII 유전자의 완전한 186,000개 염기쌍 서열은 1980년 중반에 규명되었다(Gitschier et al (1984) Nature 312 326-330). 동시에 완전한 2351개 아미노산 서열을 암호화하는 DNA 클론이 배양된 포유류 세포 내에서 생물학적으로 활성인 인자 VIII를 생성하는데 이용되었다(Wood et al (1984) Nature 312:330-337). 인간 인자 VIII에 대한 완전한 2,351개 아미노산 서열은 서열번호: 1에 제공된다.
- [0118] 본 발명의 펩타이드는 인자 VIII에서 유래 가능하다. 예를 들어 펩타이드는 인자 VIII 서열 유래의 아미노산의 인접 서열로 구성된다. 펩타이드는 인자 VIII 서열의 분절로부터 수득가능하거나 수득된다.
- [0119] 펩타이드는 펩타이드가 추가 항원 처리 없이 MHC 분자의 펩타이드-결합 홈에 결합하고 관련된 T 세포에 의해 인식될 수 있는 능력이 유지되는 한 야생형 서열로부터의 추가, 치환 또는 결실과 같은 하나 이상의 돌연변이를 지닌다. 펩타이드는 예를 들어 야생형 서열과 비교시 그 길이에 대해 5, 3, 2 또는 하나의 돌연변이(들)를 지닌다.
- [0120] 의도적 아미노산 치환은 펩타이드의 결합 활성이 유지되는 한 잔기의 극성, 전하, 용해성, 소수성, 친수성 및/또는 양친매성의 유사성을 기반으로 이루어진다.
- [0121] 보존적 치환은 예를 들어 하기 표에 따라 이루어진다. 두 번째 열의 동일한 블록 및 바람직하게는 세 번째 열의

동일한 행의 아미노산이 서로 치환된다:

지방족	비극성	G A P I L V
	극성 - 비하전	C S T M N Q
	극성 - 하전	D E K R
방향족		H F W Y

[0122]

[0123] 또한 본 발명은 상동성 치환(치환 및 대체는 모두 본원에서 현존하는 아미노산 잔기의 또 다른 잔기와의 상호교환을 의미하는데 사용됨) 즉 염기성 대 염기성, 산성 대 산성, 극성 대 극성 등과 같은 동일-대-동일 치환이 발생함을 포함한다. 비-상동성 치환 즉 한 종류의 잔기에서 오르니틴(이하 Z로 표기), 디아미노부티르산 오르니틴(이하 B로 표기), 노르류신 오르니틴(이하 O로 표기), 피릴알라닌, 티에닐알라닌, 나프틸알라닌 및 페닐글리신과 같은 비천연 아미노산의 포함을 포함한 또다른 것으로의 치환이 발생한다.

[0124]

또한 대체는 알파^{*} 및 알파-이치환^{*} 아미노산, N-알킬 아미노산^{*}, 젖산^{*}, 트리플루오로티로신^{*}, p-Cl-페닐알라닌^{*}, p-Br-페닐알라닌^{*}, p-I-페닐알라닌^{*}과 같은 천연 아미노산의 할로겐화물 유도체, L-알릴-글리신^{*}, β-알라닌^{*}, L-α-아미노 부티르산^{*}, L-γ-아미노 부티르산^{*}, L-α-아미노 이소부티르산^{*}, L-ε-아미노 카프로산[#], 7-아미노 헵탄산^{*}, L-메티오닌 술폰^{#*}, L-노르류신^{*}, L-노르발린^{*}, p-니트로-L-페닐알라닌^{*}, L-하이드록시프롤린[#], L-티오프롤린^{*}, 4-메틸-Phe^{*}, 펜타메틸-Phe^{*}와 같은 메틸알라닌(Phe)의 메틸 유도체, L-Phe (4-아미노)[#], L-Tyr (메틸)^{*}, L-Phe (4-이소프로필)^{*}, L-Tic (1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-3-카르복실산)^{*}, L-디아미노프로페온산[#] 및 L-Phe (4-벤질)^{*}을 포함한 비천연 아미노산으로 이루어진다. * 표기는 유도체의 소수성 특성을 나타내기 위해 상기 논의 목적(상동성 또는 비상동성 치환과 관련)으로 사용된 반면 #는 유도체의 친수성 특성을 나타내기 위해 사용되고, #*는 양친매성 특성을 나타낸다.

[0125]

펩토이드 형태 내 하나 이상의 아미노산의 존재를 포함하는 추가 변이 형태는 당업자에 의해 잘 이해될 것이다. 의심의 여지를 방지하기 위해 "펩토이드 형태"는 α-탄소 치환기가 α-탄소보다는 잔기의 질소 원자 상에 존재하는 변이 아미노산 잔기를 나타내는데 이용된다. 펩토이드 형태의 펩타이드 제조 방법은 예를 들어 Simon RJ et al., PNAS (1992) 89(20), 9367-9371 and Horwell DC, Trends Biotechnol. (1995) 13(4), 132-134와 같이 당분야에 알려져 있다.

[0126]

내성

[0127]

T 세포 에피토프는 자가 또는 외부의 어떠한 항원에 대한 적응성 면역 반응에 중추 역할을 한다. 과민 질환(알레르기, 자가면역 질환 및 이식 거부를 포함) 내 T 세포 에피토프에 의한 중추 역할은 실험 모델의 이용을 통해 입증되었다. 보조제와 함께 합성 펩타이드(T 세포 에피토프의 구조를 기반으로 한)의 주입에 의한 염증 또는 알레르기 질환을 유도하는 것이 가능하다.

[0128]

이와 대조적으로 용해성 형태의 펩타이드 에피토프의 투여에 의한 특정 항원에 대한 면역 내성을 유도하는 것이 가능한 것으로 나타났다. 용해성 펩타이드 항원의 투여는 실험 자가면역 뇌척수염(EAE - a model for multiple

sclerosis (MS)) (Metzler and Wraith (1993) Int. Immunol. 5:1159– 1165; Liu and Wraith (1995) Int. Immunol. 7:1255-1263; Anderton and Wraith (1998) Eur. J. Immunol. 28:1251-1261); 및 관절염, 당뇨병 및 포도막망막염(상기 Anderton and Wraith (1998)에서 관찰됨)의 실험 모델 내 질환을 억제하는 효과적인 방법으로 입증되었다. 또한 이는 EAE(상기 Anderton and Wraith (1998)) 내 진행성 질환의 치료 방법으로서 입증되었다.

[0129] 내성은 항원에 반응하지 않는 것이다. 자가 항원에 대한 내성은 면역 체계의 필수적인 특징이고, 이것이 소실되면 자가면역 질환이 유발될 수 있다. 적응성 면역 체계는 다양한 막대한 감염성 작용제에 반응할 수 있는 능력을 유지하면서 그 자신의 조직 내에 포함된 자가 항원의 자가면역 공격을 방지해야 한다. 이는 대부분 흥선(중추 내성) 내 아폽토시스성 세포사멸에 대한 미성숙 T 림프구의 민감성에 의해 제어된다. 그러나 모든 자가 항원이 흥선 내에서 탐지되지 않고, 따라서 자가-반응성 흥선세포의 사멸이 불완전하게 유지된다. 따라서 말초 조직(말초 내성) 내 숙성 자가-반응성 T 림프구에 의해 내성이 수득되는 메커니즘이 존재한다. 중추 및 말초 내성의 메커니즘 고찰은 Anderton et al (1999)(Immunological Reviews 169:123-137)에 제공되어 있다.

[0130] 혈우병 A에서 환자는 인자 VIII 유전자의 결함을 지닌다. 이는 인자 VIII가 면역 체계에 의해 "자가" 항원으로 인식되니 않음을 의미한다. 인자 VIII이 응고 인자 대체 요법 동안 투여되면 이에 따라 동종면역 반응이 외부 단백질에 대해 생성되어 FVIII 저해제 항체의 생성을 유발한다.

[0131] 본 발명의 웨타이드는 인자 VIII에 대한 내성을 유도하는 것이 가능하여 FVIII이 치료상 투여되는 경우 면역 반응을 유도하지 않고 FVIII 저해제가 발달되지 않는다.

[0132] 후천성 혈우병은 인자 VIII에 대한 내성이 붕괴된 자가면역 질환이다. 이러한 경우 이러한 자가 단백질에 대한 내성을 복구시키고 병원성 면역 반응을 축소시키기 위해 본 발명의 웨타이드가 투여된다.

[0133] 내성은 CD4+ T 세포의 일부부 이상에서 아네르기의 유도에 의해 유발되고 이를 특징으로 한다. T 세포를 활성화시키기 위해 웨타이드는 T 세포에 2개의 신호를 전달하는 것이 가능한 "전문적인" APC와 결합되어야 한다. 첫 번째 신호(신호 1)는 MHC-웨타이드 복합체에 의해 APC의 세포 표면 상에 전달되고 TCR을 통해 T 세포에 의해 수신된다. 두 번째 신호(신호 2)는 CD80 및 CD86과 같은 동시자극 분자에 의해 APC의 표면 상에 전달되고 CD28에 의해 T 세포의 표면 상에서 수신된다. T 세포가 신호 2의 부재 하에 신호 1을 수신하는 경우 불활성화되는 것으로 판단되고, 실제로 아네르기가 된다. 아네르기성 T 세포는 후속 항원 유발에 불응성이고, 다른 면역 반응을 억제하는 것이 가능하다. 아네르기성 T 세포는 T 세포 내성을 매개하는데 관련된 것으로 판단된다.

[0134] 이론에 속박되지 않고 본 발명자들은 웨타이드가 숙성 항원 제시 세포에 의해 조종되어야 하기 때문에 MHC 분자와 함께 제시될 수 있기 전에 처리를 필요로 하는 웨타이드는 내성을 유도하지 않음을 예측하였다. 숙성 항원 제시 세포(대식세포, B 세포 및 수지상 세포와 같은)는 항원을 처리할 뿐만 아니라 신호 1 및 2 모두를 T 세포로 전달하여 T 세포 활성화를 유발하는 것이 가능하다. 한편 아피토프는 미숙성 APC 상에서 클래스 II MHC에 결합할 수 있을 것이다. 따라서 이들은 동시자극 없이 T 세포에 제시되어 T 세포 아네르기 및 내성을 유발할 수 있을 것이다.

[0135] 물론 아피토프도 숙성 APC의 세포 표면에서 MHC 분자에 결합 가능하다. 그러나 면역 체계는 숙성 보다는 더 많은 미숙성 APC를 포함한다(10% 이하의 수지상 세포가 활성화됨이 제안되었음, Summers et al. (2001) Am. J. Pathol. 159: 285-295). 따라서 아피토프에 대한 디폴트 위치는 활성화보다는 아네르기/내성이 될 것이다.

[0136] FVIII에 대한 내성 유도는 당분야의 기술자에 의해:

- [0137] (i) FVIII 저해 항체:
- [0138] (ii) FVIII에 특이적인 CD4+ T 세포
- [0139] (iii) FVIII 저해 항체를 분비하는 것이 가능한 B 세포
- [0140] 의 수치 감소를 관찰함으로서 생체 내에서 모니터될 수 있다.
- [0141] 내성이 웨타이드 투여에 의해 유도되는 경우 항원-특이적 CD4+ T 세포의 증식 능력이 감소되는 것으로 나타났다. 또한 이를 세포에 의한 IL-2, IFN- γ 및 IL-4 생성은 하향-조절되나 IL-10의 생성은 증가된다. 웨타이드-유도 내성 상태의 마우스 내 IL-10의 중화는 질환에 대한 감수성을 완전하게 복구시키는 것으로 나타났다. 조절 세포군은 IL-10을 생성하고 면역 조절을 매개하는 내성 상태에서 지속됨이 제안되었다(Burkhart et al (1999) Int. Immunol. 11:1625-1634).
- [0142] 따라서 내성 유도는
- [0143] (a) CD4+ T 세포 내 아네르기의 유도(시험관 내 FVIII와의 후속 유발에 의해 검출될 수 있음);
- [0144] (b) (i) 증식 감소;
- [0145] (ii) IL-2, IFN- γ 및 IL-4 생성의 하향-조절; 및
- [0146] (iii) IL-10 생성의 증가를 포함한
- [0147] CD4+ T 세포군의 변화
- [0148] 를 포함한 다양한 기술에 의해 모니터될 수 있다.
- [0149] 본원에서 사용된 용어 "내성 유발"은 내성을 유도하는 것이 가능함을 의미한다.
- [0150] 조성물
- [0151] 또한 본 발명은 본 발명에 따른 웨타이드를 포함한 약제학적 조성물과 같은 조성물에 관한 것이다.
- [0152] 상기 웨타이드는 예를 들어 2, 3, 4, 5 또는 6개의 본 발명의 웨타이드와 같은 다수의 웨타이드를 포함한다.
- [0153] 상기 조성물의 웨타이드는 각각 다른 최소 에피토프를 포함한다. 예를 들어 웨타이드는 표 1에 제공된 웨타이드 유래의 최소 에피토프를 포함한다.
- [0154] 상기 조성물은 웨타이드 PRCLTRYYSSFVNME 및 DNIMVTFRNQASRPY를 포함한다.
- [0155] 본 발명의 조성물은 예방 또는 치료 용도이다.
- [0156] 예방 용도로 투여되는 경우 상기 조성물은 FVIII에 대한 면역 반응의 생성을 감소시키거나 방지한다. 면역 반응 수치는 상기 조성물로 치료되지 않은 환자에서 수득되는 것 이하이다. "감소시킨다"라는 용어는 상기 조성물로 치료되지 않은 환자에서 관찰되는 반응(또는 동일한 시간-프레임에 대한 비치료 환자에서 관찰되는 반응)의 50%, 70%, 80% 또는 90% 감소와 같은 면역 반응의 부분적 감소가 관찰됨을 나나叹了다. "방지한다"라는 용어는 F

VIII에 대한 감지 가능한 면역 반응이 관찰되지 않음을 나타낸다.

[0157] 치료 용도로 투여되는 경우 상기 조성물은 FVIII에 대한 이미 진행중인 면역 반응을 억제한다. "억제한다"라는 용어는 웹타이드 치료 전 수치와 비교시 진행중인 면역 반응의 수치 또는 치료가 제공되지 않은 동일 시점에서 관찰되는 수치의 감소를 나타낸다.

[0158] 본 발명의 조성물로의 치료는 하기의 어느 하나 또는 전부의 수치 감소를 유발한다:

(i) FVIII 저해 항체:

(ii) FVIII에 특이적인 CD4+ T 세포

(iii) FVIII 저해 항체를 분비하는 것이 가능한 B 세포.

[0162] 이들 인자 모두의 검출은 ELISA, FACS 등과 같은 당분야에 알려진 기술에 의해 수행될 수 있다.

[0163] 또한 본 발명의 조성물로의 치료는 FVIII에 특이적인 CD4+ T 세포에서 아네르기를 유발한다. 아네르기는 예를 들어 시험관 내 FVIII로의 후속 유발에 의해 검출될 수 있다.

[0164] FVIII에 대한 모든 면역 반응이 병원성은 아님을 명심하는 것이 중요하다. 비-저해 항-FVIII 항체가 저해제 없는 혈우병 환자(Moreau et al (2000) Blood 95:3435-41) 및 건강한 혈액 공여자의 약 15%(Algiman et al (1992) 89:3795-9)에서 발견된다.

[0165] FVIII 저해제는 정상 혈장 내 FVIII를 불활성화시키는 환자 혈장의 능력이 시험되는 응고 Bethesda 분석의 Nijmegen 변형에 의해 검출된다. Bethesda 유니트는 혈장 FVIII 활성의 50%를 중화시키는 항체 함량으로 정의되고, 0.6 BU 이상의 역가는 항체의 존재를 나타낸다.

[0166] 저해제는 일반적으로 수치가 <5 BU인 경우 낮은 역가로 ≥ 5 BU인 경우 높은 역가로 분류된다.

[0167] 순환 FVIII 저해 항체의 수치는 치료받지 않은 환자에서 관찰되는 항체 수치의 90%, 75%, 50%, 20%, 10%, 5%로 감소된다.

[0168] 순환 FVIII 저해 항체의 수치는 5, 4, 3, 2, 1 또는 0.5 BU로 감소된다.

[0169] 본 발명의 웹타이드 및 조성물은 환자의 응고를 돋는데 이용 가능한 치료상 투여된 FVIII의 함량 또는 비율을 증가시킨다. 이는 그의 치료 기능 발휘로부터 FVIII 부분을 효과적으로 제거하는 FVIII 저해제의 감소에 기인한다. 본 발명의 웹타이드 또는 조성물은 예를 들어 10%, 25%, 50%, 75% 또는 100%까지 이용 가능한 FVIII의 함량을 증가시킨다.

[0170] 따라서 본 발명의 웹타이드 및 조성물은 환자의 응고를 돋기 위해 투여될 필요가 있는 FVIII의 함량을 감소시킨다.

[0171] 제형

[0172] 상기 조성물은 액체 용액 또는 혼탁액과 같은 주사제로 제조되고; 주입 전 액체 내 용액 또는 혼탁액에 적당한 고형 형태도 제조된다. 또한 제제는 유화되거나 웨타이드는 리포솜 내에 피막화된다. 활성 성분은 약제학적으로 허용 가능하고 활성 성분과 양립 가능한 부형제와 혼합된다. 적당한 부형제는 예를 들어 물, 식염수(예를 들어 인산염-완충 식염수), 엑스트로스, 글리세롤, 에탄올 및 그의 결합이다.

[0173] 더욱이 바람직한 경우 조성물은 습윤제 또는 유화제 및/또는 pH 완충제와 같은 최소 함량의 보조 물질을 포함한다. 완충염은 인산염, 구연산염, 아세트산염을 포함한다. 염산 및/또는 수산화나트륨은 pH 적정제로 사용된다. 안정화를 위해 슈크로스 또는 트레할로스와 같은 이당류가 사용된다.

[0174] 상기 조성물이 다수의 웨타이드를 포함하는 경우 웨타이드의 상대 비율은 거의 동일하다. 또한 각각의 웨타이드의 상대 비율은 예를 들어 자가반응 T-세포의 특정 서브-세트 상에 내성 유발 반응을 집중시키기 위해 또는 하나의 웨타이드가 특정 HLA 형태의 다른 것 보다 더 우수하게 작용하는 경우 변경된다.

[0175] 제형화 후 상기 조성물은 멸균 용기 내에 통합된 후 밀봉되고 저온 예를 들어 4°C에서 보관되거나 동결-건조된다.

[0176] 통상적으로 상기 조성물은 동결건조된 분말로 제조된다. 동결건조는 안정화된 형태로 장기가-보관을 가능하게 한다. 동결건조 절차는 당분야에 잘 알려져 있고, 예를 들어 <http://www.devicelink.com/ivdt/archive/97/01/006.html> 참조. 만니톨, 엑스트란 또는 글리세린과 같은 충전제는 일반적으로 동결-건조 전에 사용된다.

[0177] 상기 조성물은 경구, 정맥내(수용성인 경우), 근육내, 피하, 설하, 비강내, 피내, 좌약 경로 또는 이식(예를 들어 서방성 분자를 이용)과 같은 통상적인 방식으로 투여된다.

[0178] 상기 조성물은 비강내, 피하 또는 피내 경로를 통해 유리하게 투여된다.

[0179] 본 발명의 웨타이드 및 조성물은 인간 피험체를 치료하는데 이용된다. 상기 피험체는 혈우병 A 특히 중증 혈우병 A를 지닌다. 상기 피험체는 FVIII에 유전적으로 결함을 지닌다. 상기 피험체는 후천성 혈우병을 지닌다. 상기 피험체는 저해 항-FVIII 항체를 지닌다.

[0180] 상기 피험체는 FVIII으로의 응고 대체 요법을 수행하거나 수행 예정이다.

[0181] 상기 피험체는 FVIII 유전자로의 유전자 요법을 수행하거나 수행 예정이다.

[0182] 상기 피험체는 저해 항-FVIII 동종항체 또는 자가항체를 발달시키기 위해 소인과 결합되는 HLA-일배체이다. 상기 피험체는 HLA-DR2를 발현시킨다. 개체의 HLA 일배체를 측정하는 방법은 당분야에 알려져 있다.

[0183] 일반적으로 의사는 개별적인 피험체에 가장 적당한 실질적인 용량을 결정할 것이고 이는 특정 환자의 연령, 체

증 및 반응에 따라 변동될 것이다.

[0184] 바람직한 실시태양에서 다수의 용량이 상승 농도로 환자에 제공되는 "용량 단계적 확대" 프로토콜이 수행된다. 이러한 방법은 예를 들어 봉독 알레르기에 대한 면역치료 적용시 포스포리파제 A2 웨타이드에 사용되었다 (Muller et al (1998) J. Allergy Clin Immunol. 101:747-754 and Akdis et al (1998) J. Clin. Invest. 102:98-106).

키트

[0186] 편리하게는 상기 조성물이 다수의 웨타이드를 포함하는 경우 혼합 조성물 또는 각테일의 형태로 함께 투여된다. 그러나 동시, 개별적, 연속적 또는 혼합 투여를 위한 키트 형태로 개별적으로 웨타이드를 제공하는 것이 바람직한 경우도 존재한다.

[0187] 또한 키트는 혼합 및/또는 투여 수단(예를 들어 비강내 투여를 위한 분사기; 또는 피하/피내 투약을 위한 주사기 및 바늘). 또한 키트는 사용 설명서를 포함한다.

[0188] 본 발명의 약제학적 조성물 또는 키트는 질병을 치료하고/또는 예방하는데 사용된다.

[0189] 더욱 상세하게는 상기 조성물/키트는 혈우병 A 또는 후천성 혈우병을 치료하고/또는 예방하는데 사용된다.

혈우병 A

[0191] 혈우병 A(전형적인 혈우병)는 인자 VIII의 결함에 의해 유발된다.

[0192] 혈우병 A는 남성 10,000명 중 1명의 추정 발병률을 지니는 반면 혈우병 B는 남성 40,000명 중 1명으로 발생하는 것으로 추정된다. 여성 5,000명 중 약 1명이 혈우병 A의 보인자이고, 20,000명 중 1명이 혈우병 B의 보인자이다.

[0193] 혈우병은 일반적으로 3가지 종류로 분류된다: 혈액 내 응고 인자 수치를 기반으로 한 중증, 중등도 및 경증. 중증 혈우병의 경우 정상 응고 인자의 1 퍼센트 이하가 존재한다. 중증도의 정도는 세대에서 세대로 일관된 경향이 있다.

[0194] 항간의 믿음과는 반대로 작은 절개 및 상처는 일반적으로 혈우병 환자에 위협을 제공하지 않는다. 오히려 가장 큰 위험은 관절 및 근육에서 발생하는 자연 출혈에서 기인한다. 이는 일반적으로 5 내지 15세의 연령의 빠른 성장 연령 동안 발생하는 경향이 있다.

[0195] 관절 내 반복된 자연 출혈은 관절염을 유발하고, 인접한 근육은 연약해진다. 혈액 축적에 의해 유발된 신경 상의 압력은 통증, 저림 및 영향 받은 부위를 일시적으로 움직일 수 없음을 초래한다.

[0196] 혈우병 A는 일반적으로 응고 효과를 측정하고 응고 인자 수치가 비정상인지 여부를 조사하는 혈액 검사로 진단

된다.

[0197] 공여자 혈액에서 분리되고 1970년대에 정제된 응고 인자의 개발은 혈우병에 대한 장기간 견해를 유의적으로 개선시켰다. 경증 내지 중등도 혈우병은 *ad hoc* 기준 상에서 FVIII로의 치료를 이용할 수 있는 반면 중증 혈우병은 규칙적이고 기한 없는 치료를 필요로 한다.

[0198] 종전 환자들은 수천의 혈장 기증으로 혼주된 인자 VIII 농축물이 제공되었다. 이는 바이러스성 병원균 특히 인간 면역결핍 바이러스 및 간염 바이러스로의 오염의 상당한 문제점을 유발한다. 단일클론 항체 정제 기술, 열 불활성화 및 바이러스 사멸 세정제 처리는 혈장-유래 농축물을 비교적 안전하게 한다.

[0199] 현재 재조합 DNA 기술은 Recombinate™ 및 Kogenate™과 같은 합성 제품 시리즈를 제공하였다. Kogenate는 인간 인자 VIII를 발현하는 미숙 햄스터 신장 세포를 이용하여 제조된다. 수득된 인자는 매우 정제되고 혈장으로부터 바이러스의 전달의 어떠한 가능성도 배제시킨다.

[0200] 본 발명의 웹타이드 또는 조성물은 인자 VIII 대체 요법 이전 및/또는 동안 투여된다.

[0201] 혈우병 A는 i) 단일 확인 유전자 내 돌연변이에 의해 유발되고, ii) 생체 내 응고 인자 수치의 경미한 증가가 중증 혈우병에서 경증 질병으로 전환시킬 수 있고, iii) 현재 대체 요법은 차선책으로 간주되기 때문에 유전자 요법에 대한 이상적인 질병 타겟이다. 또한 응고 활성의 바람직한 수치의 "과대증"이 존재하는 경우 광범한 안정성이 존재한다.

[0202] 불행하게도 현재 응고 인자의 장기간 발현을 가능하게 하기 위해 충분히 비-면역원성인 유전자 전달 시스템을 발견하는데 어려움이 있기 때문에 혈우병에 대한 치료법으로서 유전자 요법의 전망은 실현되지 않고 있다.

[0203] 본 발명의 웹타이드는 인자 VIII로의 유전자 요법 이전에 피험체를 내성화하고 또는 유전자 요법 후 환자에서 FVIII 저해제 형성을 조종하는데 적당할 것이다.

후천성 혈우병

[0205] 후천성 혈우병은 종전 정상 응고를 지닌 개체 내에서 FVIII에 대한 자가항체 저해제 존재를 특징으로 한다. 연간 100만명의 개체군 당 1~3의 추정 발병률을 지닌 드문 이상이다. 후천성 자가항체 저해제와 관련된 사망률은 동종항체를 지닌 개체의 실질적으로 낮은 사망 위험률과 대비하여 25%에 근접한다.

[0206] 동종항체 저해제 환자와 비교시 후천성 혈우병은 (1) 더욱 심한 출혈 패턴; (2) 고령 개체군에서의 높은 발병률; (3) 약 50%의 사례로 자가면역 질환, 텁프세포증식성 또는 악성 고형 종양, 임신 중이고, 페니실린 및 세로토닌아마이드와 같은 특정 항생제를 사용하는 것으로 확인된 바와 관련한 발생률; 및 (4) 일반적으로 환자 혈장 내 2%~18% 범위의 잔여 인자 VIII 수치를 유발하는 자가항체에 의한 타겟된 응고 인자 활성의 불완전한 중화를 지닌 타입 II 약동학 패턴을 따르는 시험관 내 저해제 활성을 특징으로 한다.

[0207] 본 발명의 웹타이드 또는 조성물은 예를 들어:

- [0208] i) 예를 들어 폐니실린 또는 살폰아마이드로의 절박 치료
- [0209] ii) 종양 또는 다른 악성의 진행
- [0210] iii) 절박 또는 초기 임신으로 인한
- [0211] 후천성 혈우병 환자 또는 후천성 혈우병 발병 위험이 있는 것으로 판단되는 환자에게 투여된다.
- [0212] 본 발명은 본 발명 수행시 당업자를 돋고자 하고 본 발명의 범위를 한정하고자 하지 않는 실시예에 의해 더욱 기재될 것이다.
- [0213] 실시예
- [0214] 실시예 1: HLA-DR2 인자 VIII 웨타이드의 선택
- [0215] FDVIII 15mer 웨타이드 시리즈는 3개의 HLA-DR 결합 알고리즘을 이용하여 비교되었다:
- [0216] SYFPEITHI(<http://www.syfpeithi.de/home.htm>)
- [0217] ProPred(<http://www.imtech.res.in/raghava/propred/>) 및
- [0218] IEDB(<http://www.immuneepitope.org/home.do>).
- [0219] 하나 이상의 프로그램에 의해 HLA-DR2-결합이 예측되는 웨타이드가 선택되었고 측면 서열은 예측된 핵심 잔기에 대해 고안되었다(표 1).

표 1

웨타이드 번호	FVIII 첫 번째 AA	단일 아미노산 코드 내 서열	본원에서 하기와 같이 표기되기도 함
1	2140	GTLMVFFGNVDSSGI	GTLMV
2	0208	TQTLHKFILLFAVFD	TQTLH
3	2114	SLYISQFIIMYSLDG	SLYIS
4	2161	PPIIARYIRLHPTHY	PPIIA
5	2318	PPLLTRYLRIHPQSW	PPLLT
6	250	MHTVNGYVNRSLPGL	MHTVN
7	322	LGQFLLFCHISSHQH	LGQFL
8	478	DTLIIIFKNQASRPY	DTLLI
9	545	PRCLTRYYSSFVNME	PRCLT
10	607	TENIQRFLPNPAGVQ	TENIQ
11	1788	DNIMVTFRNQASRPY	DNIMV
12	2322	RYLRIHPQSWVHQIA	RYLRI

[0220]

실시예 2: 웨타이드에 대한 인자 VIII 면역화 마우스 유래의 HLA-DR2 제한 세포의 반응 조사

[0222]

HLA-DR2 형질전환 마우스는 보조체 내 인간 인자 VIII로 면역화되었다. 배출 림프절 세포가 채취되고 상이한 농도의 표 1의 12개 웨타이드로 시험관 내에서 재자극되었다. 결과는 도 1에 나타나 있다.

[0223]

인자 VIII 면역화 마우스 유래의 HLA-DR2 제한 효소는 웨타이드 DNTMV(1st 아미노산 1788)에 강하게 반응한다. 또

한 웹타이드 PRCLT(545) 및 PPIIA(2161)에도 반응한다.

실시예 3: 웹타이드에 대한 HLA-DR2 마우스 유래의 T 세포의 반응 조사

[0225] HLA-DR2 마우스는 보조제 내 인자 VIII로 먼저 면역화되었다. 면역 마우스 유래의 비장 세포는 인자 VIII로 시험관내에서 재자극되었고 수득된 림프모구는 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 BW5147 흥선종과 융합되었다.

[0226] T-세포 하이브리도마가 HAT 배지 내에서 선택되었고 하이브리도마는 클론되고 인자 VIII에 대한 반응이 시험되었다. 이후 하이브리도마는 12개의 예측 웹타이드에 대한 반응에 대해 선별되었다. PPIIA에 대한 반응이 더 약하고 덜 특이적이었으나 선별된 27개 하이브리도마 중 11개는 DNIMV에, 3개는 PRCLT에, 3개는 PPIIA에 반응하였다. DNIMV 및 PRCLT에 특이적인 2개의 하이브리도마의 반응은 도 2에 나타나 있다.

실시예 4 - 웹타이드에 대한 FVIII-DR2+ 마우스 유래 림프절 세포의 반응 조사

[0228] HLA-DR2 형질전환 마우스는 인자 VIII 결합 마우스와 교배되어 인간 HLA 클래스 II MHC 분자를 발현하는 혈우병 모델을 생성하였다.

[0229] 이들 FVIII-DR2+ 동물은 보조제 내 인자 VIII로 면역화되었다. 배출 림프절이 분리되고 웹타이드 패널에 대한 그들의 반응에 대해 시험되었다. 도 3에 나타난 바와 같이 이들 세포는 PRCLT 및 DNIMV에 잘 반응하였다. GTLMV에 대한 미약한 반응 및 RYLRI에 대한 유의적인 반응이 존재하였다.

실시예 5 - 웹타이드에 대한 HLA-DR2 마우스 유래 T 세포 반응 조사

[0231] HLA-DR2를 발현하는 인자 VIII 결합 마우스는 보조제 내 인자 VIII로 면역화되었다. 면역화 마우스 유래의 비장 세포는 인자 VIII로 시험관 내에서 재자극되었고 수득된 림프모구는 상기 기재된 바와 같이 BW5147과 융합되었다. T-세포 하이브리도마는 12개 예측 웹타이드에 대한 반응에 대해 선별되었다. 또다시 대부분의 하이브리도마가 웹타이드 DNIMV 및 PRCLT에 반응하였다. 인자 VIII에 특이적인 19개 하이브리도마 중 10개는 DNIMV에, 6개는 PRCLT에, 1개는 PPIIA에, 1개는 SLYIS에, 1개는 DTLLI에 반응하였다. 이들 하이브리도마에 의한 반응 예는 도 4에 나타나 있다.

[0232] 이들 실험을 기반으로 2개의 웹타이드 DNIMV(첫 번째 아미노산 번호 1788) 및 PRCLT(첫 번째 아미노산 545)가 인간 인자 VIII에 대한 HLA-DR2 제한 T-세포 반응시 면역우세 T-세포 에피토프로 구성됨이 명백하다.

실시예 6 - DNIMV 및 PRCLT는 아피토프로 작용함

[0234] 아피토프가 되기 위해 웹타이드는 추가 항원 처리(즉 트리밍) 없이 MHC 클래스 I 또는 II 분자에 결합 가능하고 T 세포에 제시되어야 한다. 현재의 경우 고정된 APC에 의해 제시되는 웹타이드의 능력이 조사되었다.

[0235] Mgar 세포는 신선하거나 1% 파라포름알데하이드로 고정되었다. 클론은 100 μ l의 하이브리도마 세포를 20 μ g/ml rhFVIII 또는 웹타이드 에피토프의 존재 및 부재 하에 밤새 5×10^4 Mgar 세포와 배양함으로서 항원 특이성에 대

해 시험되었다. 이후 상청액이 채취되고 ELISA에 의해 IL-2 생성에 대해 평가되었다. rhFVIII가 생존 Mgar 세포에 의해 제시되어야 한다는 사실은 무손상 단백질이 제시되기 위해 항원 처리를 필요로 함을 입증한다. 한편 웹타이드 DNIMV 및 PRCLT는 생존 및 고정 Mgar 세포 모두에 의해 제시되고, 이는 이들 웹타이드가 아피토프로 작용함을 나타낸다(도 5).

[0236] 실시예 7 - 아피토프로 작용 가능한 웹타이드 에피토프 범위의 측정

[0237] DNIMV 및 PRCLT 주변 서열 내에서 아피토프로 작용 가능한 웹타이드 에피토프 범위는 중복 웹타이드의 패널을 준비하고(페이지 53-55에 나타남) 실시예 5와 동일한 방법을 이용하여 T-세포 하이브리도마를 이용하여 이를 선별함으로서 확인되었다(도 7).

[0238] 실시예 8 - DNIMV 및 PRCLT는 전체 인자 VIII 단백질에 대한 내성을 유도함

[0239] HLA-DR2 형질전환 마우스는 보조제 내 인자 VIII로 면역화 전에 2개의 용해성 웹타이드 또는 대조군의 PBS로 처리되었다. 마우스의 면역 상태를 평가하기 위해 배출 림프절이 분리되고 세포는 인자 VIII 단백질로 시험관 내에서 재자극되었다. 도 6에 나타난 바와 같이 DNIMV 또는 PRCLT로 마우스 처리는 인자 VIII에 대한 면역 반응의 실질적인 억제를 유발하였다.

[0240] 실시예 9 - DNIMV 및 PRCLT가 인자 VIII 네아웃 마우스에서 내성을 유도 가능한지 여부의 조사

[0241] 실시예 8로부터 이들 2개 웹타이드가 내인성 인자 VIII를 발현하는 마우스 내에서 인자 VIII에 대한 면역 반응을 방지할 수 있음이 나타났다. 실험은 이들 웹타이드가 인자 VIII 결합 마우스에서 인자 VIII에 대한 면역 반응을 방지하는지 여부도 측정하기 위해 FVIII-DR2+ 동물로 반복되었다.

[0242] 실시예 10 - DNIMV 및 PRCLT가 함께 인자 VIII 네아웃 마우스에서 내성을 유도 가능한지 여부의 조사

[0243] 실시예 9에서 개별적으로 인자 VIII 결합 마우스에서 인자 VIII에 대한 면역 반응을 감소시키는 것으로 나타난 2개의 웹타이드가 결합되었다. 도 8에 나타난 바와 같이 DNIMV 및 PRCLT 모두로의 마우스 처리는 IFN-감마 생성의 감소에 의한 나타난 바와 같이 인자 VIII에 대한 면역 반응의 실질적인 억제를 유발하였다. IFN-감마는 마우스에서 항체를 중화하는데 필요한 주요한 종류의 스위치 림포카인이다. 입증된 효과는 웹타이드 단독을 사용하여 관찰된 것보다 컸다.

[0244] 방법

(i) rhFVIII로 프라임된 DR2+ 마우스에 대한 회상 반응

[0246] HLA-DR2+ 마우스 MHC 클래스 II 무효(null) 마우스는 꼬리 밑면에서 피하로 400 µg 열-사멸된 *M. tuberculosis H37Ra* 보충된 Complete Freunds Adjuvant 내에서 유화된 40 µg rhFVIII로 면역화되었다. 10일 후 마우스는 희생되고 배출 림프절이 채취되었다. 단일 세포 혼탁액이 제조되고 림프구는 추가 16시간 동안 0.5 µCi/웰 삼중수소 표지 티미딘으로 필스 전 표시된 농도의 웹타이드 또는 대조군 항원과 72시간 동안 96-웰 평면 바닥 플레이트 내에서 웰 당 $4\sim5\times10^5$ 세포수로 인큐베이트되었다. 이후 플레이트는 세포가 유리 필터 매트 상에서 채취되

기 전 동결되었고 방사능 통합은 액체 섬광 β -계측기를 이용하여 측정되었다.

[0247] (ii) DR2+ 마우스에서 생성된 T 세포 하이브리도마의 FVIII 웨타이드 특이성

[0248] HLA-DR2+ 마우스 MHC 클래스 II 무효(null) 마우스는 상기와 같이 면역화되었다. 10일째에 배출 림프절이 채취되고 림프구는 $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ rhFVIII의 존재 하에 24 웰 플레이트 내의 1 ml/웰, 2.5×10^6 세포수/ml로 3일간 배양되었다. 이러한 자극 후 림프구는 회수되고 세척되고 Nelson et al (1980) PNAS 77(5):2866에 기재된 바와 같이 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 TCR $\alpha^- \beta^-$ BW 융합 파트너 세포와 1개 림프구에 대해 4개 BW 세포의 비율로 융합되었다. 융합된 세포는 조심스럽게 세척된 후 HAT 배지 첨가 전 2일간 평균 바닥 96 웰 플레이트 내에서 평판배양되어 T 세포 하이브리도마에 대해 선택되었다. 세포는 성장에 대해 모니터되었고 융합 약 10일 후 수행되었고, 개별적인 클론이 선택되고 HAT 배지 내에서 24 웰 플레이트로 이동되었다. 클론은 HT 배지 후 완전 배지로 옮겨지기 전에 2주 이상 동안 HAT 배지에서 유지되었다. 클론은 $100 \mu\text{l}$ 의 하이브리도마를 $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ rhFVIII의 존재 및 부재 하에 5×10^4 Mgar 세포와 밤새 배양함으로서 항원 특이성에 대해 시험되었다. 이후 상청액이 채취되고 FVIII-특이성에 대해 양성으로 간주된 rhFVIII에 대한 반응시 IL-2를 생성하는 클론으로 ELISA에 의해 IL-2 생성에 대해 평가되었다. 예측된 FVIII 웨타이드의 래퍼토리를 조사하기 위해 $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 각각의 12개 웨타이드로의 밤새 인큐베이션 후 FVIII-특이적 클론이 다시 IL-2 생성에 대해 시험되었다.

[0249] (iii) rhFVIII로 프라임된 FVIII-/ 마우스에 대한 회상 반응

[0250] 마우스가 FVIII-결합, HLA-DR2+ 및 마우스 MHC 클래스 II 무효인 점을 제외하고는 (i)과 동일한 방법이 수행되었다.

[0251] (iv) FVIII-/ 마우스에서 생성된 T 세포 하이브리도마의 FVIII 웨타이드 특이성

[0252] 마우스가 FVIII-결합 및 HLA-DR2+인 점을 제외하고는 (ii)과 동일한 방법이 수행되었다.

[0253] (v) 면역우세 FVIII 웨타이드로의 전-처리에 의한 DR2+ 마우스 내 FVIII-특이적 반응의 내성화

[0254] HLA-DR2+ 마우스 MHC 클래스 II 무효 마우스는 PBS 내에 용해된 $100 \mu\text{g}$ 의 DNIMV, PRCLT 또는 PPIIA 또는 동일 부피의 PBS 단독으로 3회 처리되었다. 웨타이드는 각각의 투여 사이의 3~4일로 복강내로 투여되었다. 최종 투여 후 마우스는 (i)의 경우와 같이 Complete Freunds Adjuvant 내에 유화된 rhFVIII로 프라임되었다. 10일 후 배출 림프절이 회수되고 이후 림프구는 (i)의 경우와 같이 삼중수소 표지 티미딘 첨가 전 72시간 동안 대조군 항원뿐만 아니라 rhFVIII 또는 각각의 내성화 웨타이드와 함께 시험관 내에서 배양되었다.

[0255] (vi) 결합 면역우세 FVIII 웨타이드로의 전-처리에 의한 DR2+ 마우스 내 FVIII-특이적 반응의 내성화

[0256] HLA-DR2+ 마우스 MHC 클래스 II 무효 마우스는 PBS 내에 용해된 DNIMV, PRCLT 또는 DNIMV와 PRCLT 모두의 결합 또는 동일 부피의 PBS 단독으로 3회 처리되었다. 웨타이드는 8일에 걸쳐 복강내로 투여되었다. 최종 투여 후 마우스는 (i)의 경우와 같이 Complete Freunds Adjuvant 내에 유화된 rhFVIII로 프라임되었다. 10일 후 배출 림프절이 회수되고 이후 림프구는 rhFVIII로 시험관 내에서 재-자극되었다. 이후 상청액이 수집되고 IFN-감마가 측정되었다.

[0257] 상기 명세서 내에 언급된 모든 문헌은 본원에 참고문헌으로 포함된다. 본 발명의 기재된 방법 및 시스템의 다양한 변형 및 변동은 본 발명의 범위 및 정신에 위배됨 없이 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명이 특정한 바람직한 실시태양과 관련하여 기재되었으나 청구된 본 발명은 이러한 특정 실시태양에 부당하게 한정되지 않아야 함이 이해되어야 한다. 실제로 유세포 분석을 이용한 세포 연구 또는 관련 분야의 업자에게 명백한 본 발명을 수행하기 위해 기재된 방법의 다양한 변형은 하기 청구항의 범위 내에 존재한다.

[0258] 서열번호: 1

```

1 mqielscff lcllrcfsa trryylgave lswdymqsd gelpvdarfp prvpksfpfn
61 tsvykkif veftdhlfni akprppwmgl lgptiqaevy dtvvitlknm ashpvslhav
121 gvsywkaege aeyddqtsqr ekeddkvfpq gshtyvwqv! kengpmasdp lctysylsh
181 vdlvkdlnsg ligallvcre gslakektqt lhkfllfav fdegkswhse tksnlmqdrd
241 aasarawpkm htvngyvnrs lpgligchrk svywhvigmg ttpevhfsl eghflvrnh
301 rqaileispi tfitaqtllm dlqqflch issqhhdgme ayvkvdscpe epqlrmknne
361 eaedydddtl dsemvvfrd ddnspsfqi rsvakkhpkt wwhyiaaeee dwdyaplvla
421 pddrsyksqy lnngpqgr kykkvrfmay tdefkturea iqhesgilgp llygevgdtl
481 liifknqasr pynihpghit dvrplysrll pkvgkhkdf pilgeifky kwvtvedgp
541 tksdprcltr yyssfvnmer dlasgligpl licykesvdq rgnqimsdkr nvilfsvfde
601 nrswylteni qrflpnpagv qledpefqas nimhsingyv fdlqlsvcl hevaywyils
661 igaqtflsv ffsqytfkhk myvedtltf pfsgetvfm menpglwlg chnsdfrnrg
721 mtalkvssc dkntgdyyed syedisayll sknnnaieprs fsqnsrhpsr rpkqfnatti
781 pendiektdp wfahrtppmk iqnvsssdll mlrlqsptph glsldlqea kyetfsddps
841 pgaidsnnsi semthfrpql hhsgdmvftp esqlqlrlne kigttaatel kkldfkvsst
901 snnlistips dnlalaagtdnt ssgpppsmpv hydsqldttl fgkssspite sggplissee
961 nndskllesg lmnsqesswg knvsstesgr lfkgkrahgp alltdnalf kvisllktn
1021 ktsnnsatnr kthidgpsll ienspsvwqn ilesdtefkk vtplihdrml mdknatalrl
1081 nhmsnkttss knmemvqqkk egippdaqn pdmsffkmif lpesarwiqr thgknslnsg
1141 qgspkqlvs lgpeksvegq nfsekknvv vgkgeftkdv glkernvfpss rnfltnldn
1201 lhen nthnqe kkiqeeiekk etliqenvvl pqihtvtgtk nmknlfils trqnvegsyd
1261 gayapvlqdf rslndstnrt kkhtahfskk geenenleglq ntqkqiveky actrispnt
1321 sqqnfvtqrs kralkfrip leetelekri ivddtstqws knmkhltpst ltqidyneke
1381 kgaitqspis dcldrshsp qanrsplia kvssfpsirp ilytrvlfqd nsshlpaa
1441 rkkdsgvqes shflgakkn nlslalittle mtgdqrevgs lgtsatnsvt ykkventlp
1501 kpdkptsgk vellpkvhiy qkdlptets ngspghldv egslqgqteg aikwnearnp
1561 gkvpflrvat essaktpskl ldplawdnhy gtqipkeewk sqekspekta fkkdtils
1621 nacesnhaia ainegqnkpe ievtwakqgr terlcqsnpp vlkrhqreit rtllqsdqee
1681 idyddtisve mkkedfdiyd edenqspres qkkrhyfia averlwdygm sssphvlnr
1741 aqsgspqfk kvvfqeftdg stqplyrge lnehlgllgp yiraavedni mvtfqrnqasr
1801 pystfsslis yeedqrqae prknfvkpne tktyfwkvqh hmaptkdefd ckawayfsdv
1861 dlekdvhsgl igplvchtn tlnpahgrqv tvqefalft ifdetkswyf tenmernca
1921 pcniqmedpt fkenyrfhai ngyimdtlp lvmaqdqrir wylsmgsne nihsihfsg
1981 vftvrtkeey kmalylypg vfetvemlps kagiwrvecl igejhagms thlysnkc
2041 qtplgmasgh irdfqitags qygqwapkla rlhyssina wstkepfswi kvdillapmii
2101 hgiktqgarq kfsslyisqk iimysldgkk wqtyrgnsts tlmvffgnvd ssgikhnifn
2161 ppiaryirl hpthysirst lrmewmgcdl nscsmpigme skaitsdaqit assyftnmfa
2221 twspskarlh lqgrsnawrp qvnnpkewlq vdfqkutmktv gvtqgvksl ltsmyvkef
2281 issqqdghqw tffqngkvk vfqgnqdsft pvvnsldppi ltrylihpk swvhqialrm
2341 evlgceaqdl y

```

[0259] 실시태양 7에서 제조된 중복 펩타이드 패널

[0260]

[0261]

DTLLIIFKNQASRPY에 대한 중복 세트

1.	473-488	YGEVGDTLLIIFKNQ
2.	474-489	GEVGDTLLIIFKNQA
3.	475-490	EVGDTLLIIFKNQAS
4.	476-491	VGDTLIIFKNQASR
5.	477-492	GDTLLIIFKNQASRP
6.	478-493	DTLLIIFKNQASRPY
7.	479-494	TLLIIFKNQASRPYN
8.	480-495	LLIIFKNQASRPYNI
9.	481-496	LIIFKNQASRPYNIY
10.	482-497	IIFKNQASRPYNIYP
11.	483-498	IFKNQASRPYNIYPH

[0262]

[0263]

PRCLTRYYSSFVNME에 대한 중복 세트

1.	540-554	PTKSDPRCLTRYYSS
2.	541-555	TKSDPRCLTRYYSSF
3.	542-556	KSDPRCLTRYYSSFV
4.	543-557	SDPRCLTRYYSSFVN
5.	544-558	DPRCLTRYYSSFVNFM
6.	545-559	PRCLTRYYSSFVNME
7.	546-560	RCLTRYYSSFVNMER
8.	547-561	CLTRYYSSFVNMERD
9.	548-562	LTRYYSSFVNMERDL
10.	549-563	TRYYSSFVNMERDLA
11.	550-564	RYYSSFVNMERDLAS

[0264]

[0265]

DNIMVTFRNQASRPY에 대한 중복 세트

1. 1783-1797	RAEVEDNIMVTFRNQ
2. 1784-1798	AEVEDNIMVTFRNQA
3. 1785-1799	EVEDNIMVTFRNQAS
4. 1786-1800	VEDNIMVTFRNQASR
5. 1787-1801	EDNIMVTFRNQASRP
6. 1788-1802	DNIMVTFRNQASRPY
7. 1789-1803	NIMVTFRNQASRPYS
8. 1790-1804	IMVTFRNQASRPYSF
9. 1791-1805	MVTFRNQASRPYSFY
10. 1792-1806	VTFRNQASRPYSFYS
11. 1793-1807	TFRNQASRPYSFYSS

[0266]

[0267]

SLYISQFIIMYSLDG에 대한 중복 세트

1. 2109-2123	RQKFSSLYISQFIIM
2. 2110-2124	OKFSSLYISQFIIMY
3. 2111-2125	KFSSLYISQFIIMYS
4. 2112-2126	FSSLYISQFIIMYSL
5. 2113-2127	SSLYISQFIIMYSLD
6. 2114-2128	SLYISQFIIMYSLDG
7. 2115-2129	LYISQFIIMYSLDGK
8. 2116-2130	YISQFIIMYSLDGKK
9. 2117-2131	ISQFIIMYSLDGKKW
10. 2118-2132	SQFIIMYSLDGKKWQ
11. 2119-2133	QFIIMYSLDGKKWQT

[0268]

PPIIARYIRLHPTHY에 대한 중복 세트

1. 2156-2170	HNIFNPPIIARYIIRL
2. 2157-2171	NIFNPPIIARYIIRLH
3. 2158-2172	IFNPPIIARYIIRLHP
4. 2159-2173	FNPPIIARYIIRLHPT
5. 2160-2174	NPPIIARYIIRLHPTH
6. 2161-2175	PPIIARYIIRLHPTHY
7. 2162-2176	PIIARYIIRLHPTHYS
8. 2163-2177	IIARYIIRLHPTHYSI
9. 2164-2178	IARYIIRLHPTHYSIR
10. 2165-2179	ARYIIRLHPTHYSIRS
11. 2166-2180	RYIIRLHPTHYSIRST

[0270]

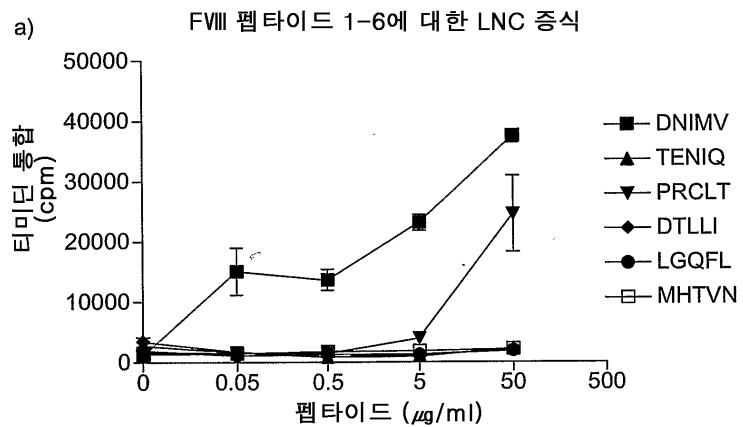
RYLRff1PQSWVHQIA에 대한 중복 세트

1. 2317-2331	PPLLTRYLRIHPQSW
2. 2318-2332	PLLTRYLRIHPQSWV
3. 2319-2333	LLTRYLRIHPQSWVH
4. 2320-2334	LTRYLRIHPQSWVHQ
5. 2321-2335	TRYLRIHPQSWVHQI
6. 2322-2336	RYLRIHPQSWVHQIA
7. 2323-2337	YLRRIHPQSWVHQIAL
8. 2324-2338	LRIHPQSWVHQIALR
9. 2325-2339	RIHPQSWVHQIALRM
10. 2326-2340	IHPQSWVHQIALRME
11. 2327-2341	HPQSWVHQIALRMEV

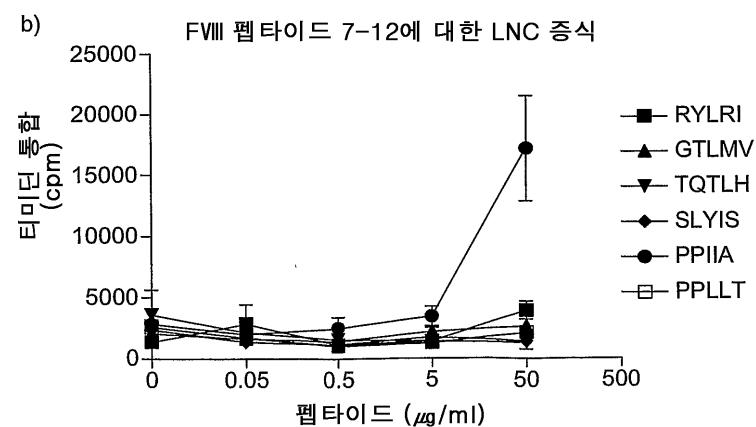
[0272]

도면

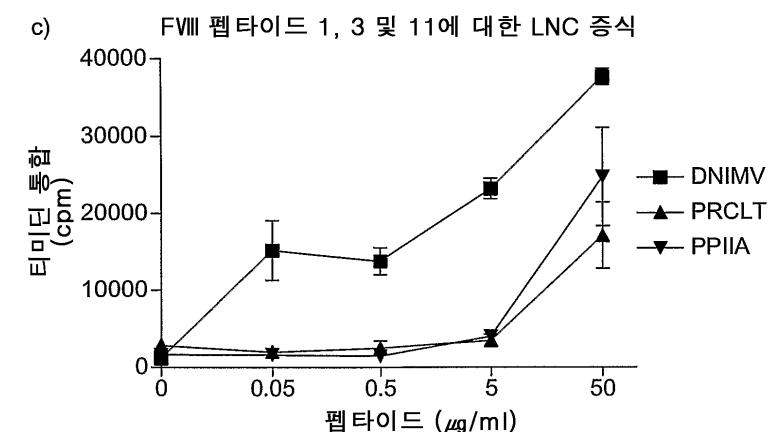
도면1a



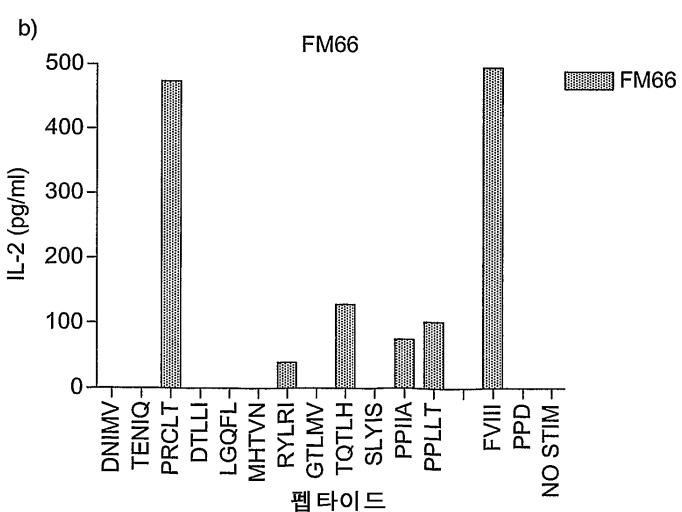
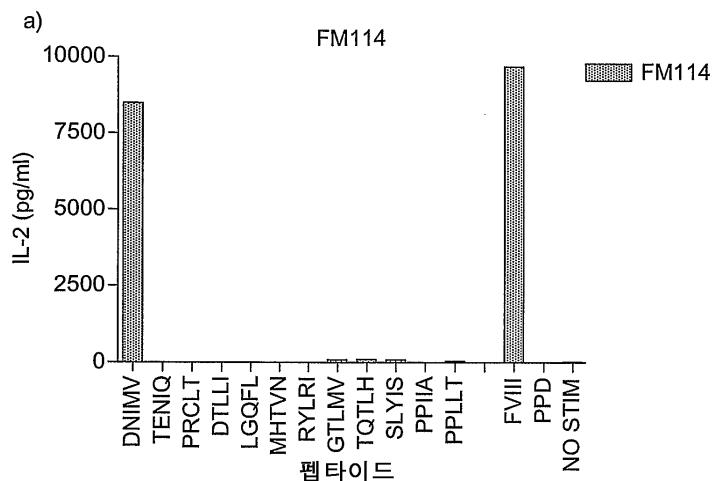
도면1b



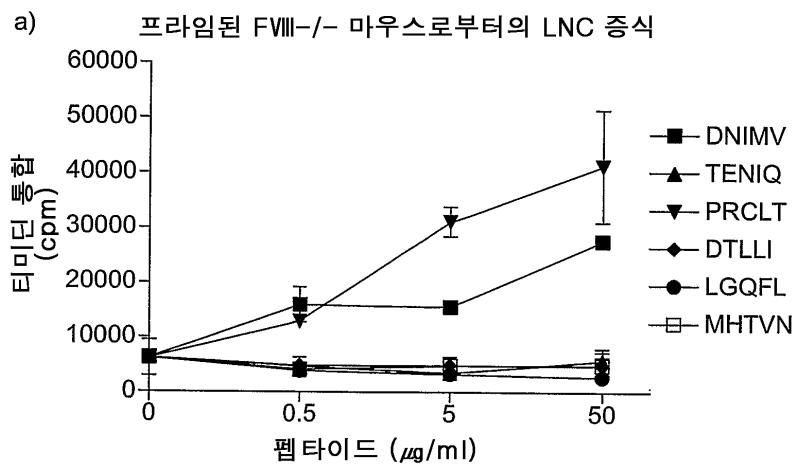
도면1c



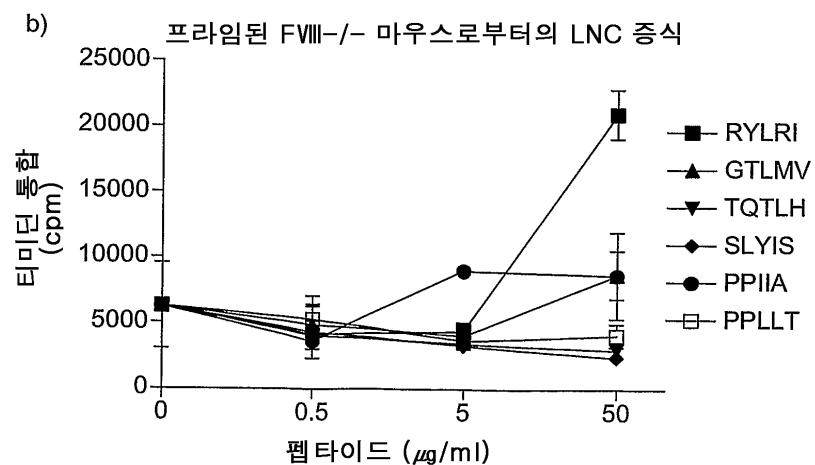
도면2



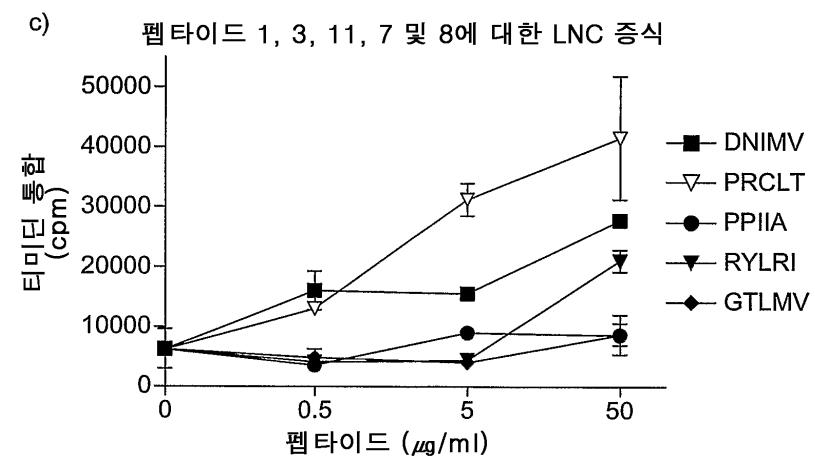
도면3a



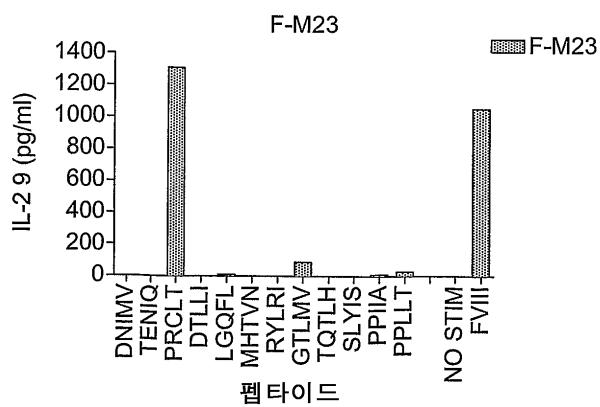
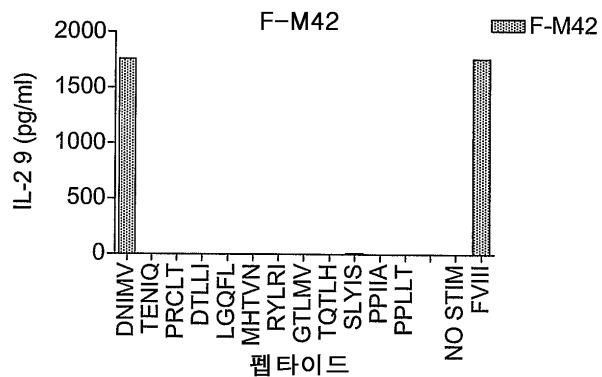
도면3b



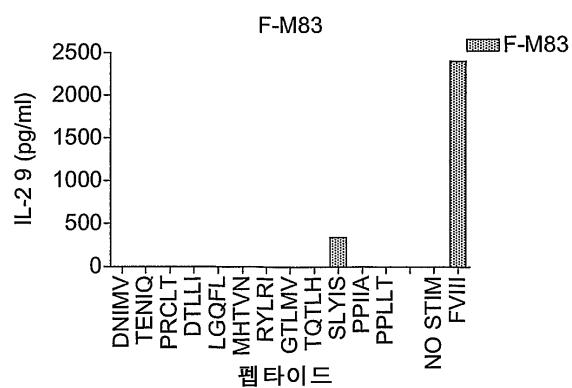
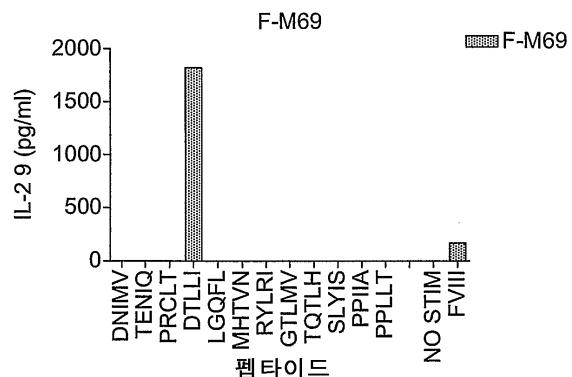
도면3c



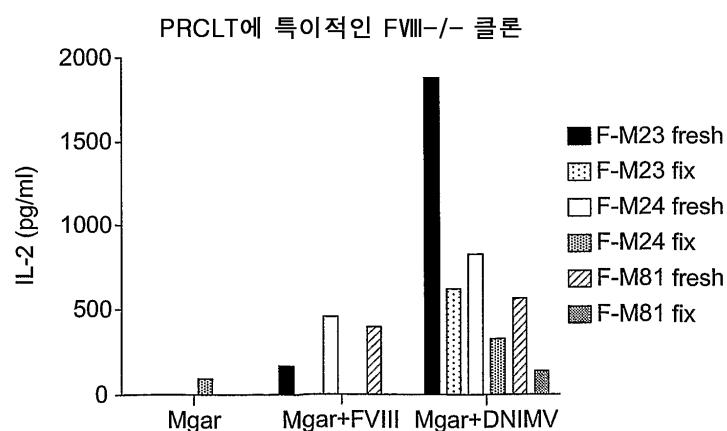
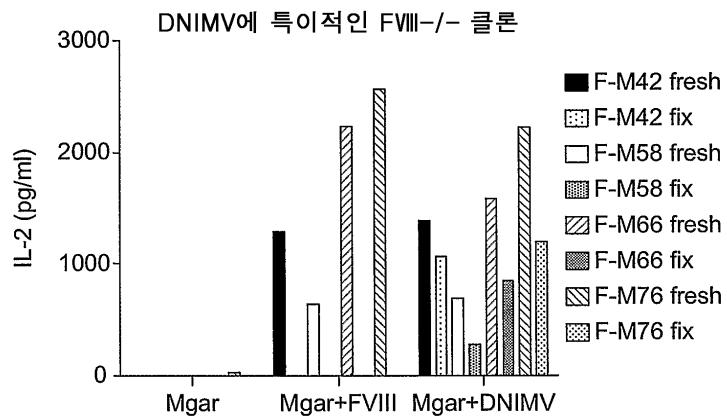
도면4a



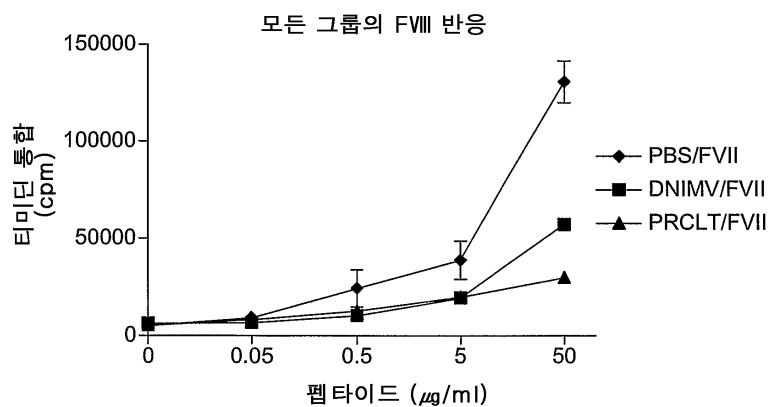
도면4b



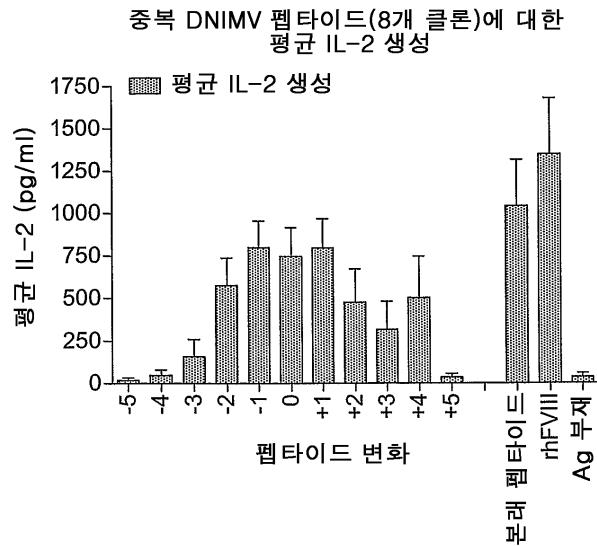
도면5



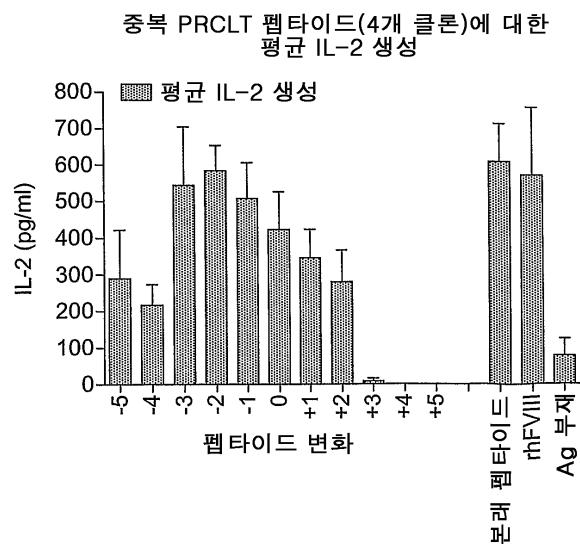
도면6



도면7a



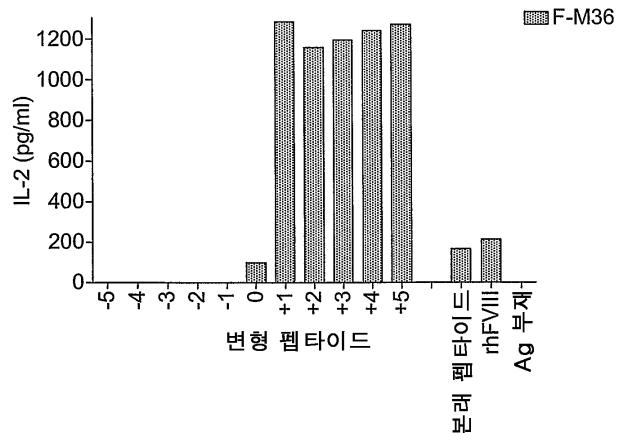
도면7b



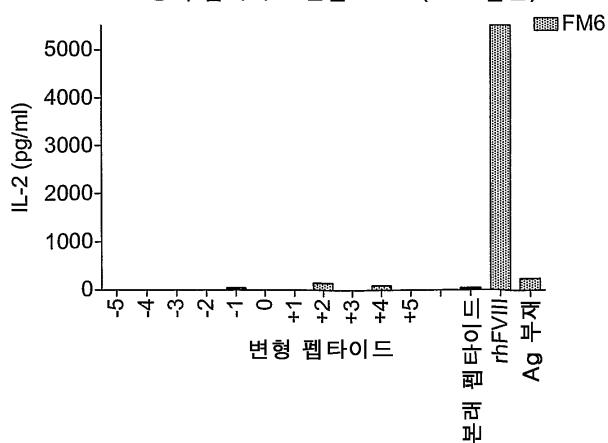
도면7ca

중복 펩타이드 PPIIA, DTLLI, SLYIS 및 RYLR이에 대한 평균 IL-2 생성

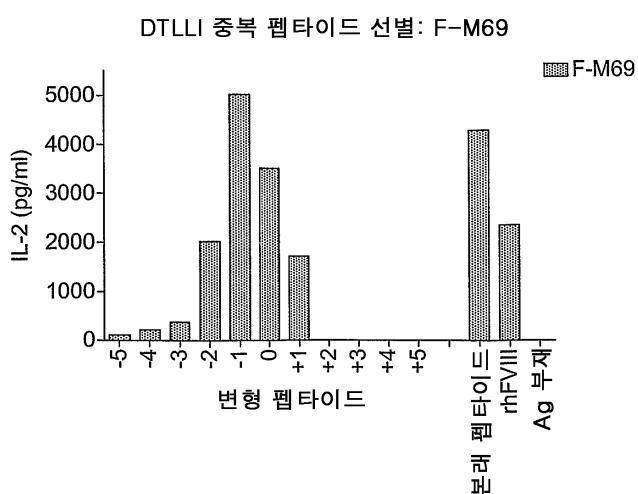
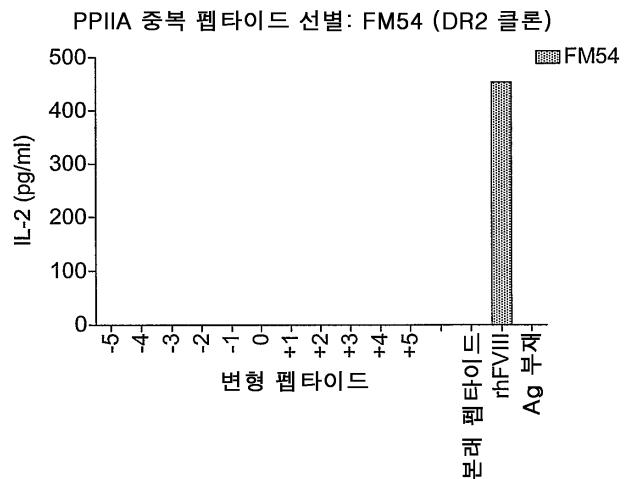
PPIIA 중복 펩타이드 선별: F-M36



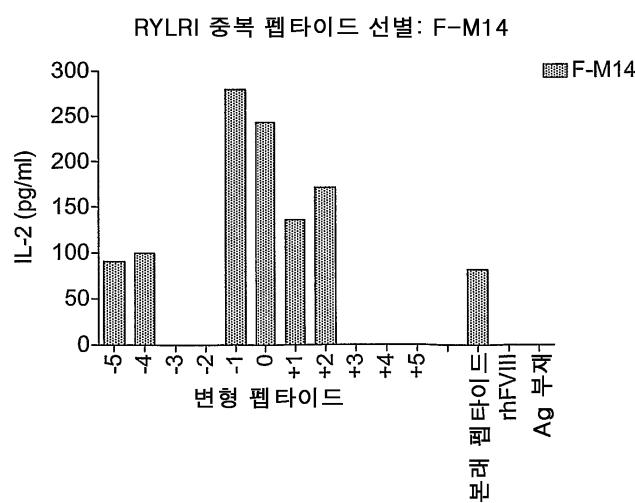
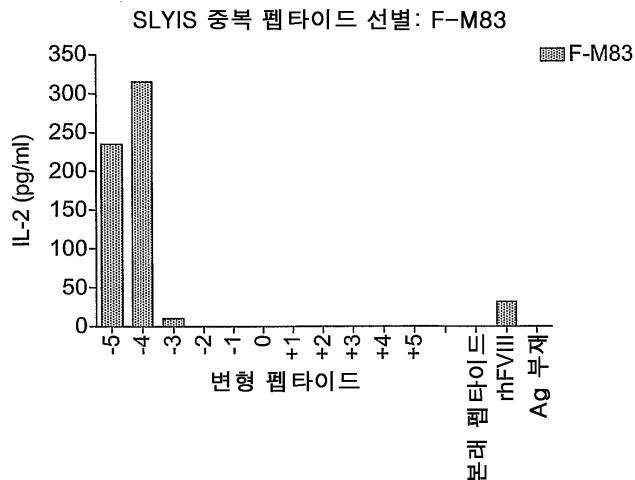
PPIIA 중복 펩타이드 선별: FM6 (DR2 클론)



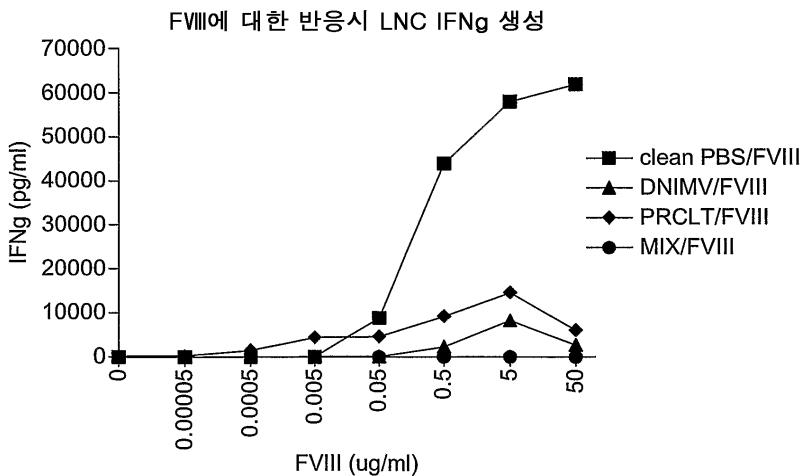
도면7cb



도면7cc



도면8



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Apitope Technology (Bristol) Limited

<120> PEPTIDES

<130> P031150KR

<140> PCT/GB2008/003996

<141> 2008-12-03

<150> GB 0723712.6

<151> 2007-12-04

<160> 96

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2351

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe

1 5 10 15

Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser

20 25 30

Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg

35 40 45

Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val

50 55 60

Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile

65 70 75 80

Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln

85 90 95

Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser

100 105 110

His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser

115 120 125

Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp
 130 135 140
 Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu
 145 150 155 160
 Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser
 165 170 175
 Tyr Leu Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile
 180 185 190
 Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr
 195 200 205
 Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly
 210 215 220
 Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp
 225 230 235 240
 Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr
 245 250 255
 Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val
 260 265 270
 Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile
 275 280 285
 Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser
 290 295 300
 Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met
 305 310 315 320
 Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His
 325 330 335
 Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro
 340 345 350
 Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp
 355 360 365
 Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asn Ser

370	375	380
Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr		
385	390	395
Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro		400
405	410	415
Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn		
420	425	430
Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met		
435	440	445
Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu		
450	455	460
Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu		
465	470	475
Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro		480
485	490	495
His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys		
500	505	510
Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe		
515	520	525
Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp		
530	535	540
Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg		
545	550	555
Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu		560
565	570	575
Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val		
580	585	590
Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu		
595	600	605
Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp		
610	615	620

Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val
 625 630 635 640
 Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp
 645 650 655
 Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe
 660 665 670
 Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr
 675 680 685
 Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro
 690 695 700
 Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly
 705 710 715 720
 Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp
 725 730 735
 Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys
 740 745 750
 Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Pro
 755 760 765
 Ser Thr Arg Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp
 770 775 780
 Ile Glu Lys Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys
 785 790 795 800
 Ile Gln Asn Val Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser
 805 810 815
 Pro Thr Pro His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr
 820 825 830
 Glu Thr Phe Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn
 835 840 845
 Ser Leu Ser Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly
 850 855 860
 Asp Met Val Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu

865	870	875	880
Lys Leu Gly Thr Thr Ala Ala Thr Glu Leu Lys Lys Leu Asp Phe Lys			
885	890	895	
Val Ser Ser Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn			
900	905	910	
Leu Ala Ala Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met			
915	920	925	
Pro Val His Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys			
930	935	940	
Ser Ser Pro Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu			
945	950	955	960
Asn Asn Asp Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu			
965	970	975	
Ser Ser Trp Gly Lys Asn Val Ser Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe			
980	985	990	
Lys Gly Lys Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala			
995	1000	1005	
Leu Phe Lys Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser			
1010	1015	1020	
Asn Asn Ser Ala Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser			
1025	1030	1035	
Leu Leu Ile Glu Asn Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu			
1040	1045	1050	
Ser Asp Thr Glu Phe Lys Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg			
1055	1060	1065	
Met Leu Met Asp Lys Asn Ala Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met			
1070	1075	1080	
Ser Asn Lys Thr Thr Ser Ser Lys Asn Met Glu Met Val Gln Gln			
1085	1090	1095	
Lys Lys Glu Gly Pro Ile Pro Pro Asp Ala Gln Asn Pro Asp Met			
1100	1105	1110	

Ser Phe Phe Lys Met Leu Phe Leu Pro Glu Ser Ala Arg Trp Ile
 1115 1120 1125
 Gln Arg Thr His Gly Lys Asn Ser Leu Asn Ser Gly Gln Gly Pro
 1130 1135 1140
 Ser Pro Lys Gln Leu Val Ser Leu Gly Pro Glu Lys Ser Val Glu
 1145 1150 1155
 Gly Gln Asn Phe Leu Ser Glu Lys Asn Lys Val Val Val Gly Lys

 1160 1165 1170
 Gly Glu Phe Thr Lys Asp Val Gly Leu Lys Glu Met Val Phe Pro
 1175 1180 1185
 Ser Ser Arg Asn Leu Phe Leu Thr Asn Leu Asp Asn Leu His Glu
 1190 1195 1200
 Asn Asn Thr His Asn Gln Glu Lys Lys Ile Gln Glu Glu Ile Glu
 1205 1210 1215
 Lys Lys Glu Thr Leu Ile Gln Glu Asn Val Val Leu Pro Gln Ile

 1220 1225 1230
 His Thr Val Thr Gly Thr Lys Asn Phe Met Lys Asn Leu Phe Leu
 1235 1240 1245
 Leu Ser Thr Arg Gln Asn Val Glu Gly Ser Tyr Asp Gly Ala Tyr
 1250 1255 1260
 Ala Pro Val Leu Gln Asp Phe Arg Ser Leu Asn Asp Ser Thr Asn
 1265 1270 1275
 Arg Thr Lys Lys His Thr Ala His Phe Ser Lys Lys Gly Glu Glu

 1280 1285 1290
 Glu Asn Leu Glu Gly Leu Gly Asn Gln Thr Lys Gln Ile Val Glu
 1295 1300 1305
 Lys Tyr Ala Cys Thr Thr Arg Ile Ser Pro Asn Thr Ser Gln Gln
 1310 1315 1320
 Asn Phe Val Thr Gln Arg Ser Lys Arg Ala Leu Lys Gln Phe Arg
 1325 1330 1335
 Leu Pro Leu Glu Glu Thr Glu Leu Glu Lys Arg Ile Ile Val Asp

1340	1345	1350
Asp Thr Ser Thr Gln Trp Ser Lys Asn Met Lys His Leu Thr Pro		
1355	1360	1365
Ser Thr Leu Thr Gln Ile Asp Tyr Asn Glu Lys Glu Lys Gly Ala		
1370	1375	1380
Ile Thr Gln Ser Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg Ser His Ser		
1385	1390	1395
Ile Pro Gln Ala Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys Val Ser		
1400	1405	1410
Ser Phe Pro Ser Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu Phe		
1415	1420	1425
Gln Asp Asn Ser Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys		
1430	1435	1440
Asp Ser Gly Val Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys		
1445	1450	1455
Lys Asn Asn Leu Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly		
1460	1465	1470
Asp Gln Arg Glu Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser		
1475	1480	1485
Val Thr Tyr Lys Lys Val Glu Asn Thr Val Leu Pro Lys Pro Asp		
1490	1495	1500
Leu Pro Lys Thr Ser Gly Lys Val Glu Leu Leu Pro Lys Val His		
1505	1510	1515
Ile Tyr Gln Lys Asp Leu Phe Pro Thr Glu Thr Ser Asn Gly Ser		
1520	1525	1530
Pro Gly His Leu Asp Leu Val Glu Gly Ser Leu Leu Gln Gly Thr		
1535	1540	1545
Glu Gly Ala Ile Lys Trp Asn Glu Ala Asn Arg Pro Gly Lys Val		
1550	1555	1560
Pro Phe Leu Arg Val Ala Thr Glu Ser Ser Ala Lys Thr Pro Ser		
1565	1570	1575

Lys Leu Leu Asp Pro Leu Ala Trp Asp Asn His Tyr Gly Thr Gln

1580	1585	1590
Ile Pro Lys Glu Glu Trp Lys Ser Gln Glu Lys Ser Pro Glu Lys		
1595	1600	1605
Thr Ala Phe Lys Lys Asp Thr Ile Leu Ser Leu Asn Ala Cys		
1610	1615	1620
Glu Ser Asn His Ala Ile Ala Ala Ile Asn Glu Gly Gln Asn Lys		
1625	1630	1635
Pro Glu Ile Glu Val Thr Trp Ala Lys Gln Gly Arg Thr Glu Arg		

1640	1645	1650
Leu Cys Ser Gln Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Arg Glu		
1655	1660	1665
Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr		
1670	1675	1680
Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile		
1685	1690	1695
Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys		

1700	1705	1710
Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr		
1715	1720	1725
Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser		
1730	1735	1740
Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr		
1745	1750	1755
Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu		

1760	1765	1770
His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp		
1775	1780	1785
Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser		
1790	1795	1800
Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly		

1805	1810	1815
Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr		
1820	1825	1830
Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu		
1835	1840	1845
Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu		
1850	1855	1860
Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His		
1865	1870	1875
Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln		
1880	1885	1890
Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp		
1895	1900	1905
Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn		
1910	1915	1920
Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His		
1925	1930	1935
Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met		
1940	1945	1950
Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser		
1955	1960	1965
Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr		
1970	1975	1980
Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr		
1985	1990	1995
Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly		
2000	2005	2010
Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly		
2015	2020	2025
Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro		
2030	2035	2040

Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala
 2045 2050 2055
 Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His

 2060 2065 2070
 Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser
 2075 2080 2085
 Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile
 2090 2095 2100
 Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser
 2105 2110 2115
 Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr

 2120 2125 2130
 Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn
 2135 2140 2145
 Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile
 2150 2155 2160
 Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg
 2165 2170 2175
 Ser Thr Leu Arg Met Glu Trp Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys

 2180 2185 2190
 Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln
 2195 2200 2205
 Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser
 2210 2215 2220
 Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp
 2225 2230 2235
 Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe

 2240 2245 2250
 Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys
 2255 2260 2265
 Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser

2270	2275	2280
Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys		
2285	2290	2295
Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val		

2300	2305	2310
Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His		
2315	2320	2325
Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu		
2330	2335	2340
Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr		
2345	2350	
<210> 2		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic peptide		
<400> 2		
Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met		

1	5	
<210> 3		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic peptide		
<400> 3		
Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly		

1	5	
<210> 4		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic peptide		
<400> 4		

Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro

1 5

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 5

Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 6

Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 7

Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic peptide

<400> 8

Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val

1 5
<210> 9
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic peptide
<400> 9

Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu

1 5 10 15
<210> 10
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic peptide
<400> 10

Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr

1 5 10 15
<210> 11
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic peptide
<400> 11

Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly

1 5 10 15
<210> 12
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic peptide
<400> 12

Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr

1 5 10 15

<210> 13

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 13

Asp Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr

1 5 10 15

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 14

Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala

1 5 10 15

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 15

Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys

1 5 10 15

<210> 16

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 16

Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met

1 5 10 15

<210> 17

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400>

> 17

Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr

1 5 10 15

<210> 18

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 18

Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser

1 5 10 15

<210> 19

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 19

Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu

1 5 10 15

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 20

Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp

1 5 10 15

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 21

Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys

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

<210> 22

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 22

Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp

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

<210> 23

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 23

Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln

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

<210> 24

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 24

Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr

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

<210> 25

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 25

Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr

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

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 26

Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg

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

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 27

Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile

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

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 28

Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser

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

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 29

Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His

1 5 10 15

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 30

Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr

1 5 10 15

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 31

Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro

1 5 10 15

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 32

Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 33

Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile

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

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 34

Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn

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

<210> 35

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 35

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

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

<210> 36

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 36

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

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

<210> 37

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 37

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

1 5 10 15

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 38

Lys Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val

1 5 10 15

<210> 39

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 39

Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn

1 5 10 15

<210> 40

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 40

Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met

1 5 10 15

<210> 41

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 41

Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg

1 5 10 15

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 42

Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp

1 5 10 15

<210> 43

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 43

Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu

1 5 10 15

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 44

Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser

1 5 10 15

<210> 45

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 45

Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg

1 5 10 15

<210> 46

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 46

Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro

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

<210> 47

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 47

Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser

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

<210> 48

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 48

Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe

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

<210> 49

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 49

Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr

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

<210> 50

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 50

Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg

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

<210> 51

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 51

Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu

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

<210> 52

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 52

Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile

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

<210> 53

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 53

Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln

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

<210> 54

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 54

Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His

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

<210> 55

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 55

Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val

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

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 56

Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile

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

<210> 57

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 57

Thr Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp

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

<210> 58

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 58

Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp

1 5 10 15

<210> 59

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 59

Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu

1 5 10 15

<210> 60

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 60

Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His

1 5 10 15

<210> 61

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 61

Thr Glu Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln

1 5 10 15

<210> 62

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 62

Gly Thr Leu Met Val

1 5

<210> 63

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 63

Thr Gln Thr Leu His

1 5

<210> 64

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 64

Ser Leu Tyr Ile Ser

1 5

<210> 65

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 65

Pro Pro Ile Ile Ala

1 5

<210> 66

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 66

Pro Pro Leu Leu Thr

1 5

<210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic peptide

<400> 67

Met His Thr Val Asn

1 5

<210> 68

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 68

Leu Gly Gln Phe Leu

1 5

<210> 69

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 69

Asp Thr Leu Leu Ile

1 5

<210> 70

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 70

Pro Arg Cys Leu Thr

1 5

<210> 71

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 71

Thr Glu Asn Ile Gln

1 5

<210> 72

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 72

Asp Asn Ile Met Val

1 5

<210> 73

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 73

Arg Tyr Leu Arg Ile

1 5

<210> 74

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 74

Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln

1 5 10 15

<210> 75

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400>

> 75

Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala

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

<210> 76

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 76

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

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

<210> 77

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 77

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

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

<210> 78

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 78

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

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

<210> 79

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 79

Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro
1 5 10 15

<210> 80

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 80

Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His
1 5 10 15

<210> 81

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 81

Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser

1 5 10 15

<210> 82

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 82

Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe

1 5 10 15

<210> 83

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 83

Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala

1 5 10 15

<210> 84

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 84

Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala Ser

1 5 10 15

<210> 85

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 85

Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln

1 5 10 15

<210> 86

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 86

Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala

1 5 10 15

<210> 87

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 87

Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser

1 5 10 15

<210> 88

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 88

Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser

1 5 10 15

<210> 89

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 89

Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys

1 5 10 15

<210> 90

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 90

His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu

1 5 10 15

<210> 91

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 91

Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His

1 5 10 15

<210> 92

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 92

Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser

1 5 10 15

<210> 93

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 93

Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr

1 5 10 15

<210> 94

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 94

Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met

1 5 10 15

<210> 95

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 95

Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu

1 5 10 15

<210> 96

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 96

His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val

1

5

10

15