(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0149519
(43) 공개일자 2022년11월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/29 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01) *A61P 31/20* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/29 (2013.01)
A61P 31/14 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2022-7029043
(22) 출원일자(국제) 2021년01월26일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년08월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/015126
(87) 국제공개번호 WO 2021/154752
국제공개일자 2021년08월05일
(30) 우선권주장
62/966,970 2020년01월28일 미국(US)

(71) 출원인
스벤스카 박신파브리센 프로둑숀 아베
스웨덴 에스에-19267 솔렌투나 시스타베엔 32
(72) 발명자
셀베리, 맛티
스웨덴 에스에-19267 솔렌투나 시스타베엔 32 스벤스카 박신파브리센 프로둑숀 아베 내
프렐린, 라르스
스웨덴 에스에-19267 솔렌투나 시스타베엔 32 스벤스카 박신파브리센 프로둑숀 아베 내
(74) 대리인
양영준, 이윤기

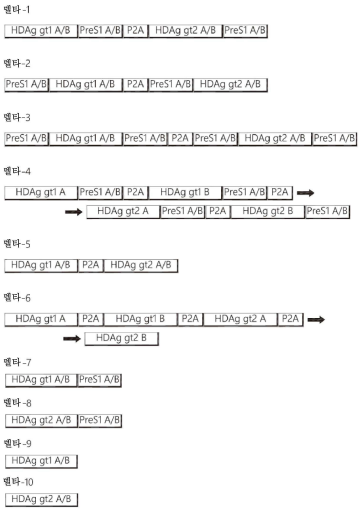
전체 청구항 수 : 총 49 항

(54) 발명의 명칭 **B형 및 D형 간염의 치료 및 예방을 위한 조성물 및 방법**

(57) 요 약

본원에서는 B형 간염 및/또는 D형 간염 감염에 대한 면역 반응을 유도하는 데 사용될 수 있는 조작된 B형 간염 및 D형 간염 핵산, 유전자, 펩티드, 또는 단백질의 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물을 개시한다. 또한, 대상체에서 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물을 사용하여 핵산 프라임 및 폴리펩티드 부스트 접근법과 함께 조성물 또는 조합물을 투여함으로써 HBV 및/또는 HDV에 대한 면역 반응을 생성하는 방법을 개시한다.

대 표 도 - 도1a



(52) CPC특허분류
A61P 31/20 (2018.01)
A61K 2039/70 (2013.01)
C12N 2730/10134 (2013.01)
C12N 2760/10134 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

(a) D형 간염 항원 (HDAg)을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열 및 PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는 핵산; 및

(b) 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열 및 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 2

제1항에 있어서, HDAg를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호(SEQ ID NO:) 1, 서열식별번호 2, 서열식별번호 3 또는 서열식별번호 4, 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호 9 또는 서열식별번호 10 또는 그 둘 모두를 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 각 HDAg 핵산 서열이 PreS1 핵산 서열과 함께 그룹화되도록 구성되고, 여기서, PreS1 핵산 서열은 HDAg 핵산 서열의 바로 하류에 있는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 5

제4항에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 추가로 포함하고, 여기서, 그룹화된 HDAg 및 PreS1 핵산 서열이 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열에 의해 분리되어 있는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 6

제5항에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 돼지 테스코바이러스-1 2A (P2A), 구제역 바이러스 2A (F2A), 말 비염 A 바이러스 (ERAV) 2A (E2A) 및 토세아 아시그나(*Thosea asigna*) 바이러스 2A (T2A) 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하고, 여기서, 각각의 코딩된 자기촉매적 펩티드 절단 부위는 임의적으로 그의 N-말단에 GSG (글리신-세린-글리신) 모티프를 포함할 수 있는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호 13을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 인간에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 서열식별번호 15-24 또는 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 서열식별번호 18, 또는 서열식별번호 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드가 서열식별번호 5, 서열식별번호 6, 서열식별번호 7 또는 서열식별번호 8 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열이 서열식별번호 11 또는 서열식별번호 12 또는 그 둘 모두를 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열이 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열의 하류에 있는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 서열식별번호 25-34 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 서열식별번호 29, 31, 32, 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 재조합적으로 발현되는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 17

제16항에 있어서, 폴리펩티드가 포유동물, 박테리아, 효모, 곤충에서, 또는 무세포 시스템에서 재조합적으로 발현되는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 애주번트를 추가로 포함하는 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 19

제18항에 있어서, 애주번트가 알룸, QS-21 또는 MF59, 또는 그의 임의의 조합인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 DNA를 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 재조합 벡터에 제공되는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 22

대상체에게 핵산을 포함하는 적어도 하나의 프라임 용량을 투여하는 단계; 및

대상체에게 폴리펩티드를 포함하는 적어도 하나의 부스트 용량을 투여하는 단계를 포함하는,

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 기재된 면역원성 조성물 또는 생성물 조합을 사용하여 대상체에서 면역 반응을 생성하는 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 적어도 하나의 부스트 용량이 애주번트를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 애주번트가 알룸, QS-21, 또는 MF59, 또는 그의 임의의 조합인 방법.

청구항 25

제22항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 부스트 용량이 적어도 하나의 프라임 용량 투여 후 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48일 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48주, 또는 상기 언급된 시점 중 임의의 두 시점으로 정의된 시간 범위 이내에, 예컨대, 1-48일 또는 1-48주 이내에 투여되는 것인 방법.

청구항 26

제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 투여가 장내로, 경구적으로, 비내로, 비경구적으로, 피하로, 근육내로, 진피내로, 또는 정맥내로 또는 그의 임의의 조합으로 제공되는 것인 방법.

청구항 27

제22항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 투여가 항바이러스 요법과 함께 수행되는 것인 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 항바이러스 요법이 엔테카비어, 테노포비어, 라미부딘, 아데포비어, 텔비부딘, 엠트리시타빈, 인터페론-α, PEG화된 인터페론-α, 또는 인터페론 알파-2b, 또는 그의 임의의 조합의 투여를 포함하는 것인 방법.

청구항 29

(a) D형 간염 항원 (HDAg)을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열, 및 PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는 핵산; 및

(b) 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열 및 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 30

제29항에 있어서, HDAg를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호 1, 서열식별번호 2, 서열식별번호 3 또는 서열식별번호 4, 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 31

제29항 또는 제30항에 있어서, PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호 9 또는 서열식별번호 10 또는 그 둘 모두를 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 32

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 각 HDAg 핵산 서열이 PreS1 핵산 서열과 함께 그룹화되도록 구성되고, 여기서, PreS1 핵산 서열은 HDAg 핵산 서열의 바로 하류에 있는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의

치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 33

제32항에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 추가로 포함하고, 여기서, 그룹화된 HDAg 및 PreS1 핵산 서열이 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열에 의해 분리되어 있는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 34

제33항에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 돼지 테스코바이러스-1 2A (P2A), 구제역 바이러스 2A (F2A), 말 비염 A 바이러스 (ERAV) 2A (E2A) 및 토세아 아시그나 바이러스 2A (T2A) 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하고, 여기서, 각각의 코딩된 자기촉매적 펩티드 절단 부위는 임의적으로 그의 N-말단에 GSG (글리신-세린-글리신) 모티프를 포함할 수 있는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 35

제33항 또는 제34항에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호 13을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 36

제29항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 인간에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 37

제29항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 서열식별번호 15-24 또는 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 38

제29항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 서열식별번호 18, 또는 서열식별번호 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 39

제29항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드가 서열식별번호 5, 서열식별번호 6, 서열식별번호 7 또는 서열식별번호 8 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 40

제29항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열이 서열식별번호 11 또는 서열식별번호 12 또는 그 둘 모두를 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 41

제29항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열이 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열의 하류에 있는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 42

제29항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 서열식별번호 25-34 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 43

제29항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 서열식별번호 29, 31, 32, 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 44

제29항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 재조합적으로 발현되는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 45

제44항에 있어서, 폴리펩티드가 포유동물, 박테리아, 효모, 곤충에서, 또는 무세포 시스템에서 재조합적으로 발현되는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 46

제29항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 애주번트를 추가로 포함하는, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 47

제46항에 있어서, 애주번트가 알룸, QS-21 또는 MF59, 또는 그의 임의의 조합인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 48

제29항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 DNA를 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

청구항 49

제29항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 재조합 벡터에 제공되는 것인, B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2020년 1월 28일 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/966970의 우선권의 이익을 주장하고, 상기 특허는 그 전문이 본원에서 명시적으로 참조로 포함된다.

[0003] 서열 목록에 대한 언급

[0004] 본 출원은 전자 포맷의 서열 목록과 함께 출원 중이다. 서열 목록은 2021년 1월 26일 작성 및 최종 수정되고, 크기가 141,377 바이트인 파일명 SVF005SeqListing.TXT로서 제공된다. 전사 서열 목록 중의 정보는 그 전문이 본원에서 명시적으로 참조로 포함된다.

[0005] 기술분야

[0006] 본 개시내용의 측면은 일반적으로 B형 간염 (HBV) 및/또는 D형 간염 (HDV) 감염에 대한 면역 반응을 유도하는 데 사용될 수 있는 조작된 HBV 및 HDV 핵산, 유전자, 펩티드, 또는 단백질의 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물에 관한 것이다. 상기 면역 반응은 HBV 및/또는 HDV에 대한 중화 항체를 생성하는 활성화된 면역 세포 및 활

성화된 면역 세포, 예컨대, T 세포 및 B 세포를 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다. 본 개시내용은 또한 일반적으로 동종성 또는 이종성 핵산 및/또는 폴리펩티드 프라임 및 핵산 및/또는 폴리펩티드 부스트 접근법과 함께 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물을 투여함으로써 대상체에서 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물을 사용하여 HBV 및/또는 HDV에 대한 면역 반응을 생성하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 간염은 간 부종 및 염증을 유발하는 질환이다. 상기 장애는 일반적으로 바이러스에 의해 유발되며, 현재 5가지 유형 (A, B, C, D 및 E형 간염)이 공지되어 있다. B형 간염 감염은 급성 또는 만성일 수 있으며, 중증 만성 감염은 만성 염증, 섬유증, 간경변, 및 간세포 암종 암종을 유발한다. B형 간염 바이러스는 숙주 핵으로 진입하고, 숙주 RNA 폴리머라제에 의해 4개의 바이러스 mRNA 분자로 전사되는, 부분적 이중 가닥 고리형 DNA 게놈을 갖는다. 이는 바이러스 단백질, 예컨대, 캡시드 단백질 및 표면 항원을 번역할 뿐만 아니라, 역전사 효소를 사용하여 더 많은 DNA 게놈을 생성하는 데에도 사용된다. D형 간염은 복제를 위해 B형 간염 동시 감염 또는 중복 감염에 의존하는 바이루소이드(virusoid)이다. D형 간염의 고리형 단일 가닥 RNA는 숙주 RNA 폴리머라제를 사용하여 증폭될 뿐만 아니라, 단일 D형 간염 항원 (HDAg) 유전자도 함유한다. B형 간염 및 D 동시 감염 또는 중복 감염 동안, 무손상 D형 간염 바이러스는 HDAg 단백질로 코팅된 RNA 게놈을 둘러싼 B형 간염 표면 항원을 함유하는 외피로 패키징된다. D형 간염은 그 자신의 수용체 결합 단백질을 코딩하지 않기 때문에, B형 간염 표면 항원을 포함하는 것이 D형 간염 감염성에 필수적이다. D형 간염과의 동시 감염 또는 중복 감염은 더 중증의 합병증을 유발하고, 간부전, 간경변 및 암의 위험이 증가한다. B형 간염 감염 및 D형 간염 감염, 둘 모두에 대한 예방적 면역성을 확립하는 데 효과적인 면역원성 조성물 및 백신이 현재 요구되고 있다.

발명의 내용

[0008] 본 개시내용은 일반적으로 HBV 또는 HDV 감염에 대한 면역 반응, 항체 생산, 면역 방어, 또는 면역을 유도하기 위한 HBV 및/또는 HDV 항원을 포함하는 재조합 핵산, DNA, RNA, 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드의 용도에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, HBV 및/또는 HDV 항원을 포함하는 재조합 핵산, DNA, RNA, 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드는 DNA 프라임/단백질 부스트 조성물 접근법에서 사용된다. 일부 실시양태에서, 본 DNA 프라임/단백질 부스트 조성물 접근법을 통해 HBV 또는 HDV 감염에 대한 면역 반응, 항체 생산, 면역 방어, 또는 면역은 DNA 단독, 단백질 단독, 또는 유기체 기반 면역원성 조성물과 비교하여 더 크게 증가된다.

[0009] 만성 B형 간염 및 D 바이러스 (HBV/HDV) 감염은 암을 유발할 수 있다. 뉴클레오시드 유사체 (NA)를 사용하는 현행 HBV 요법은 평생 지속되며, 암 위험을 감소시키지만, 완전히 제거하지는 못한다. 만성 B형 간염의 특징은 HBV 특이적 T 세포 반응 기능 장애이다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 HBV 진입을 차단하는 PreS1 특이적 T 세포 및 PreS1 항체를 프라이밍하기 위하여 HBV 특이적 T 세포에 대한 필요성을 우회하기 위해 HDV 항원 (HDAg)에 나이브 건강한 T 세포에 의해 유도된다. 일부 실시양태에서, 시험관내 및 생체내에서 PreS1 항체 및 HBV 및 HDV 특이적 T 세포 유도에 대해 PreS1 및/또는 HDAg 서열의 조합을 평가하였다. 일부 실시양태에서, 세포 배양물에서 PreS1 특이적 뮤린 및 토끼 항체에 의한 HBV의 중화를 평가하고, 인간 간세포가 재증식된 마우스에서의 HBV의 중화에 대해 토끼 항-PreS1을 시험하였다. 일부 실시양태에서, PreS1 항체의 입양 전달이 인간화 마우스에서 후속 챌린지 후 HBV 감염을 예방 또는 조정하였다.

[0010] 일부 실시양태에서, 핵산 또는 폴리펩티드 조성물은 HBV, HDV, PreS1, 또는 HDAg의 서열, 유전자, 또는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, PreS1은 PreS1 A 또는 PreS1 B이다. 일부 실시양태에서, HDAg는 HDAg 유전자형 1 균주 A (1 A), HDAg 유전자형 1 균주 B (1 B), HDAg 유전자형 2 균주 A (2 A), 또는 HDAg 유전자형 2 균주 B (2 B)이다. 일부 실시양태에서, 조성물은 또한 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위는 P2A 자기촉매적 펩티드 절단 부위이다. 일부 실시양태에서, PreS1 및 HDAg 구성 요소는 조성물에서 함께 그룹화된다. 일부 실시양태에서, PreS1은 HDAg 서열의 하류, 또는 그의 바로 하류에 있다. 일부 실시양태에서, PreS1 및 HDAg 그룹은 자기촉매적 펩티드 절단 부위에 의해 분리되어 있다. 일부 실시양태에서, PreS1 및 HDAg 그룹은 P2A 자기촉매적 펩티드 절단 부위에 의해 분리되어 있다.

[0011] 일부 실시양태에서, 핵산 조성물은 플라스미드, 바이러스, 박테리오파지, 코스미드, 포스미드, 파지미드, 박테리아 인공 염색체 (BAC), 효모 인공 염색체 (YAC), 또는 인간 인공 염색체 (HAC)이다. 일부 실시양태에서, 핵산 조성물은 고리형 또는 선형이다. 일부 실시양태에서, 핵산 조성물은 포유동물 세포, 인간 세포, 박테리아 세포, E. 콜라이(*E. coli*), 효모, S. 세레비시애(*S. cerevisiae*), 또는 다른 적절한 생물학적 시스템을 포함하나, 이에 제한되지 않는, 생물학적 시스템에서 생산된다. 일부 실시양태에서, HBV 및/또는 HDV 핵산 또는 유전

자는 생물학적 시스템에서 핵산 또는 유전자를 전사 및 번역하는 데 요구되는 요소를 포함하는 카세트에서 발견된다.

[0012] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드 조성물은 적절히 폴딩 또는 변성된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드 조성물은 포유동물, 박테리아, 효모, 곤충, 또는 무세포 재조합 발현 시스템을 포함하나, 이에 제한되지 않는, 생물학적 시스템에서 생산된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드 조성물은 포유동물, 인간, 1차, 무한증식, 암, 줄기, 섬유모세포, 인간 배아 신장 (HEK) 293, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO), 박테리아, 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 효모, 사카로마이세스 세레비시애(*Saccharomyces cerevisiae*), 피치아 파스토리스(*Pichia pastoris*), 곤충, 스포돕테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) *Sf*9, 또는 S. 프루기페르다(*S. frugiperda*) *Sf*21 세포에서, 또는 무세포 시스템에서 생산된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드 조성물은 추출, 동결-해동, 균질화, 투과화, 원심분리, 밀도 구배 원심분리, 초원심분리, 침전, SDS-PAGE, 네이티브 PAGE, 크기 배제 크로마토그래피, 액체 크로마토그래피, 기체 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 음이온 교환 크로마토그래피, 양이온 교환 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 면역친화성 크로마토그래피, 금속 결합 크로마토그래피, 니켈 칼럼 크로마토그래피, 에피토프 태그 정제, 또는 동결건조를 포함하나, 이에 제한되지 않는, 관련 기술분야에 공지된 기술을 사용하여 정제된다.

[0013] 일부 실시양태에서, 핵산 또는 폴리펩티드 조성물은 인간, 마우스, 래트, 토끼, 고양이, 개, 말, 소, 돼지, 양, 원숭이, 영장류, 또는 닭을 포함하나, 이에 제한되지 않는, 동물에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 핵산 또는 폴리펩티드 조성물은 각 투약 사이에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10주, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 또는 상기 언급된 시간 중 임의의 두 시간으로 정의된 범위 이내에 언제든지 투여된다. 일부 실시양태에서, 핵산 조성물은 폴리펩티드 조성물 투여 전에 투여된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드 조성물은 핵산 조성물 전에 투여된다.

[0014] 일부 실시양태에서, 핵산 또는 폴리펩티드 조성물은 1, 10, 100, 1000 ng, 또는 1, 10, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 μg, 또는 1, 10, 100, 또는 1000 mg 또는 상기 언급된 양 중 임의의 두 양으로 정의된 범위 이내의 어느 양이든 그러한 양으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 핵산 또는 폴리펩티드 조성물은 부형제와 함께 투여된다. 일부 실시양태에서, 핵산 또는 폴리펩티드 조성물은 애주번트와 함께 투여된다. 일부 실시양태에서, 핵산 조성물은 생체내 전기천공으로 투여된다.

[0015] 일부 실시양태에서, 핵산 또는 폴리펩티드 조성물의 면역원성은 ELISpot을 비롯한, 관련 기술분야에 공지된 기술을 사용하여 인터페론 감마 (IFNγ) 생산 면역 세포를 측정하거나, HBV, HDV, HBV 단백질, HBV 핵산, HDV 단백질, HDV 핵산, PreS1, 또는 HDAg에 대해 특이적인 IgG 항체 역가를 측정하거나, 또는 시험관내 또는 생체내 검정법에서 면역화된 동물로부터의 혈청 또는 정제된 항체의 중화 활성을 측정함으로써 평가된다.

[0016] 일부 실시양태에서, 핵산 또는 폴리펩티드 조성물의 투여는 HBV 또는 HDV 감염으로부터의 일시적, 지속적, 또는 영구적 방어를 제공한다. 일부 실시양태에서, HBV 또는 HDV 감염으로부터의 일시적, 지속적, 또는 영구적 방어는 다른 면역원성 조성물보다 우수하다. 일부 실시양태에서, 핵산 또는 폴리펩티드 조성물의 투여는 항바이러스 요법과 함께 수행된다. 일부 실시양태에서, HBV 또는 HDV 감염으로부터의 일시적, 지속적, 또는 영구적 방어를 제공하는 핵산 또는 폴리펩티드 조성물의 투여는 인간에서 효과적이다. 일부 실시양태에서, 핵산 또는 폴리펩티드 조성물은 HBV 또는 HDV에 대한 백신으로서 사용된다.

[0017] 하기 넘버링된 대안과 관련된 본 발명의 바람직한 측면:

[0018] 1. (a) D형 간염 항원 (HDAg)을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열 및 PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는 핵산; 및

[0019] (b) 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열 및 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0020] 2. 대안 1에 있어서, HDAg를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호(SEQ ID NO:) 1, 서열식별번호 2, 서열식별번호 3 또는 서열식별번호 4, 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0021] 3. 대안 1 또는 2에 있어서, PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호 9 또는 서열식별번호 10 또는 그 둘 모두를 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0022] 4. 대안 1 내지 3 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 각 HDAg 핵산 서열이 PreS1 핵산 서열과 함께 그룹화되도록 구성되고, 여기서, PreS1 핵산 서열은 HDAg 핵산 서열의 바로 하류에 있는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0023] 5. 대안 4에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 추가로 포함하고, 여기서, 그룹화된 HDAg 및 PreS1 핵산 서열이 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열에 의해 분리되어 있는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0024] 6. 대안 5에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 돼지 테스코바이러스-1 2A (P2A), 구제역 바이러스 2A (F2A), 말 비염 A 바이러스 (ERAV) 2A (E2A) 및 토세아 아시그나(*Thosea asigna*) 바이러스 2A (T2A) 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하고, 여기서, 각각의 코딩된 자기촉매적 펩티드 절단 부위는 임의적으로 그의 N-말단에 GSG (글리신-세린-글리신) 모티프를 포함할 수 있는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0025] 7. 대안 5 또는 6에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호 13을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0026] 8. 대안 1-7 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 인간에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0027] 9. 대안 1-8 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 서열식별번호 15-24 또는 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0028] 10. 대안 1-9 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 서열식별번호 18, 또는 서열식별번호 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0029] 11. 대안 1-10 중 어느 한 대안에 있어서, 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드가 서열식별번호 5, 서열식별번호 6, 서열식별번호 7 또는 서열식별번호 8 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0030] 12. 대안 1-11 중 어느 한 대안에 있어서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열이 서열식별번호 11 또는 서열식별번호 12 또는 그 둘 모두를 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0031] 13. 대안 1-12 중 어느 한 대안에 있어서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열이 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열의 하류에 있는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0032] 14. 대안 1-13 중 어느 한 대안에 있어서, 폴리펩티드가 서열식별번호 25-34 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0033] 15. 대안 1-14 중 어느 한 대안에 있어서, 폴리펩티드가 서열식별번호 29, 31, 32, 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0034] 16. 대안 1-15 중 어느 한 대안에 있어서, 폴리펩티드가 재조합적으로 발현되는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0035] 17. 대안 16에 있어서, 폴리펩티드가 포유동물, 박테리아, 효모, 곤충에서, 또는 무세포 시스템에서 재조합적으로 발현되는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0036] 18. 대안 1-17 중 어느 한 대안에 있어서, 애주번트를 추가로 포함하는 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0037] 19. 대안 18에 있어서, 애주번트가 알룸, QS-21 또는 MF59, 또는 그의 임의의 조합인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0038] 20. 대안 1-19 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 DNA를 포함하는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0039] 21. 대안 1-20 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 재조합 벡터에 제공되는 것인 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0040] 22. 대상체에게 핵산을 포함하는 적어도 하나의 프라임 용량을 투여하는 단계; 및

[0041] 대상체에게 폴리펩티드를 포함하는 적어도 하나의 부스트 용량을 투여하는 단계를 포함하는,

[0042] 대안 1-21 중 어느 한 대안에 기재된 면역원성 조성물 또는 생성물 조합을 사용하여 대상체에서 면역 반응을 생성하는 방법.

[0043] 23. 대안 22에 있어서, 적어도 하나의 부스트 용량이 애주번트를 추가로 포함하는 것인 방법.

[0044] 24. 대안 23에 있어서, 애주번트가 알룸, QS-21, 또는 MF59, 또는 그의 임의의 조합인 방법.

[0045] 25. 대안 22-24 중 어느 한 대안에 있어서, 적어도 하나의 부스트 용량이 적어도 하나의 프라임 용량 투여 후 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48일 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48주, 또는 상기 언급된 시점 중 임의의 두 시점으로 정의된 시간 범위 이내에, 예컨대, 1-48일 또는 1-48주 이내에 투여되는 것인 방법.

[0046] 26. 대안 22-25 중 어느 한 대안에 있어서, 투여가 장내로, 경구적으로, 비내로, 비경구적으로, 피하로, 근육내로, 진피내로, 또는 정맥내로 또는 그의 임의의 조합으로 제공되는 것인 방법.

[0047] 27. 대안 22-26 중 어느 한 대안에 있어서, 투여가 항바이러스 요법과 함께 수행되는 것인 방법.

[0048] 28. 대안 27에 있어서, 항바이러스 요법이 엔테카비어, 테노포비어, 라미부딘, 아데포비어, 텔비부딘, 엠트리시타빈, 인터페론-α, PEG화된 인터페론-α, 또는 인터페론 알파-2b, 또는 그의 임의의 조합의 투여를 포함하는 것인 방법.

[0049] 29. (a) D형 간염 항원 (HDAg)을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열 및 PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는 핵산; 및

[0050] (b) 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열 및 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는,

[0051] B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0052] 30. 대안 29에 있어서, HDAg를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호 1, 서열식별번호 2, 서열식별번호 3 또는 서열식별번호 4, 또는 그의 임의의 조합을 포함하는, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0053] 31. 대안 29 또는 30에 있어서, PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호 9 또는 서열식별번호 10 또는 그 둘 모두를 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0054] 32. 대안 29-31 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 각 HDAg 핵산 서열이 PreS1 핵산 서열과 함께 그룹화되도록 구성되고, 여기서, PreS1 핵산 서열은 HDAg 핵산 서열의 바로 하류에 있는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0055] 33. 대안 32에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 추가로 포함하고, 여기서, 그룹화된 HDAg 및 PreS1 핵산 서열이 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열에 의해 분리되어 있는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0056] 34. 대안 33에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 돼지 테스코바이러스-1 2A (P2A), 구제역 바이러스 2A (F2A), 말 비염 A 바이러스 (ERAV) 2A (E2A) 및 토세아 아시그나 바이러스 2A (T2A) 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하고, 여기서, 각각의 코딩된 자기촉매적 펩티드 절단 부위는 임의적으로 그의 N-말단에 GSG (글리신-세린-글리신) 모티프를 포함할 수 있는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0057] 35. 대안 33 또는 34에 있어서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열이 서열식별번호 13을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0058] 36. 대안 29-35 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 인간에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0059] 37. 대안 29-36 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 서열식별번호 15-24 또는 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0060] 38. 대안 29-37 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 서열식별번호 18 또는 35-36을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0061] 39. 대안 29-38 중 어느 한 대안에 있어서, 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 가 서열식별번호 5, 서열식별번호 6, 서열식별번호 7 또는 서열식별번호 8 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0062] 40. 대안 29-39 중 어느 한 대안에 있어서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열이 서열식별번호 11 또는 서열식별번호 12 또는 그 둘 모두를 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0063] 41. 대안 29-40 중 어느 한 대안에 있어서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열이 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열의 하류에 있는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0064] 42. 대안 29-41 중 어느 한 대안에 있어서, 폴리펩티드가 서열식별번호 25-34 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0065] 43. 대안 29-42 중 어느 한 대안에 있어서, 폴리펩티드가 서열식별번호 29, 31, 32, 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0066] 44. 대안 29-43 중 어느 한 대안에 있어서, 폴리펩티드가 재조합적으로 발현되는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0067] 45. 대안 44에 있어서, 폴리펩티드가 포유동물, 박테리아, 효모, 곤충에서, 또는 무세포 시스템에서 재조합적으로 발현되는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0068] 46. 대안 29-45 중 어느 한 대안에 있어서, 애주번트를 추가로 포함하는, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0069] 47. 대안 46에 있어서, 애주번트가 알룸, QS-21 또는 MF59, 또는 그의 임의의 조합인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0070] 48. 대안 29-47 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 DNA를 포함하는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

[0071] 49. 대안 29-48 중 어느 한 대안에 있어서, 핵산이 재조합 벡터에 제공되는 것인, B형 간염 또는 D형 간염 치료에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물.

도면의 간단한 설명

[0072] 상기 기술된 특징 이외에도, 추가적인 특징 및 변형은 하기의 도면 및 예시적인 실시양태의 설명으로부터 쉽게 명백해질 것이다. 이들 도면은 전형적인 실시양태를 도시한 것이며, 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다는 것을 이해하여야 한다.

도 1a-b는 본원에서 사용된 HBV 및/또는 HDV 항원을 포함하는 핵산 또는 폴리펩티드 구축물을 도시한 것이다. 10개의 구축물, 델타-1 (Δ-1, D1), 델타-2 (Δ-2, D2), 델타-3 (Δ-3, D3), 델타-4 (Δ-4, D4), 델타-5 (Δ-5, D5), 델타-6 (Δ-6, D6), 델타-7 (Δ-7, D7), 델타-8 (Δ-8, D8), 델타-9 (Δ-9, D9), 및 델타-10 (Δ-10, D10)을 제공한다 (도 1a). 10개의 폴리펩티드 구축물이 적절하게 발현되었다는 것을 웨스턴 블롯을 통해 확인할 수 있다 (도 1b). GFP를 웨스턴 블롯에 대한 대조군으로서 사용하였다.

도 2는 DNA 프라임/단백질 부스트 조성물 접근법에 사용된 구축물을 도시한 것이다. DNA 조성물은 Δ-4의 핵산 서열을 포함하고, 단백질 조성물은 Δ-7 또는 Δ-8, 또는 Δ-7 및 Δ-8의 융합체의 폴리펩티드 서열을

포함한다.

도 3a-3e는 ELISpot 검정법에서 HBV/HDV DNA 조성물로 면역화된 마우스로부터 유래된 혈청으로부터의 정제된 백혈구 집단이 다양한 HBV 또는 HDV 항원에의 노출에 대한 반응으로 나타나는, T 림프구 활성화에 상응하는 인터페론 감마 (IFNɣ) 스폿 형성/10^6개의 세포 정량화를 도시한 것이다. 항원은 PreS1 A (**서열식별번호 11**), PreS1 A (**서열식별번호 12**), HDAg 유전자형 1 A (**서열식별번호 5**, "HDAg gtp 1A-풀 1" 및 "HDAg gtp 1A-풀 2"), HDAg 유전자형 1 B (**서열식별번호 6**, "HDAg gtp 1B-풀 3" 및 "HDAg gtp 1B-풀 4"), HDAg 유전자형 2 A (**서열식별번호 7**, "HDAg gtp 2C-풀 5" 및 "HDAg gtp 2C-풀 6") 및 HDAg 유전자형 2 B (**서열식별번호 8**, "HDAg gtp 2D-풀 7" 및 "HDAg gtp 2D-풀 8")를 포함하는 정제된 폴리펩티드를 포함한다. 마우스를 제1 면역화 후 6주째 희생시키고, 각 군으로부터 풀링된 비장세포를 유전자형 1 (풀 1-4) 및 유전자형 2 (풀 5-8)에 상응하는 HDV 펩티드 풀 1-8 로 48시간 동안 자극시켰다. 유전자형 1의 풀 1 및 2는 서열/단리물 A를 지칭하는 반면, 풀 3 및 4는 서열/단리물 B에 상응한다. 유사하게, 유전자형 2의 풀 5 및 6은 서열/단리물 C를 지칭하고, 유전자형 2의 풀 7 및 8은 서열/단리물 D를 지칭한다. 각 풀은 10 aa 오버랩을 갖는 (풀 1 및 5의 경우) 20 또는 221개의 15-mer 펩티드를 함유하였다. 콘카나발린 A ("ConA")는 양성 대조군으로서 사용하였고, 두 오브알부민 펩티드 ("OVA Th" 및 "OVA CTL") 및 성장 배지 ("배지")는 음성 대조군으로서 사용하였다. 각 펩티드로 자극을 받은 군은 삼중으로 수행되었고, 막대는 IFNɣ 스폿 형성 세포 (SFC)/10^6개의 세포의 평균수 (표준 오차 포함)를 나타낸다. 컷오프를 100 SFC/10^6개의 비장세포로 세팅하였다. 항원 농도가 제공되어 있다.

도 4a-4c는 HBV/HDV DNA 조성물로 면역화된 마우스로부터 유래된 혈청 중 항-PreS1 IgG 항체 역가의 정량화를 도시한 것이다. 마우스 (군당 마우스 5마리)에서 PreS1A 및 PreS1B 컨센서스 서열에 대한 IgG 항체 생성에 대하여 구축물 Δ-1 내지 Δ-10를 시험하였다. 도 4a-4b는 PreS1 아미노산 2-48에 대한 반응성을 커버한다. 도 4c는 HBV (서브-) 유전자형 A1, A2, B, B2, C, D1, E1 및 F에 대한 교차-반응성을 커버한다.

도 5a-5c는 ELISpot 검정법에서 Δ-4 DNA 조성물로 면역화된 C57BL/6 또는 HLA-A2 트랜스제닉 HHD 마우스, 또는 나이브 C57BL/6 마우스로부터 유래된 혈청으로부터의 정제된 백혈구 집단이 다양한 HBV 또는 HDV 항원 또는 펩티드에의 노출에 대한 반응으로 나타나는 인터페론 감마 (IFNɣ) 스폿 형성/10^6개의 세포 정량화를 도시한 것이다. 항원은 PreS1 A (**서열식별번호 11**), PreS1 A (**서열식별번호 12**)를 포함하는 정제된 폴리펩티드, HDAg 유전자형 1 A 및 1 B를 포함하는 풀 (**서열식별번호 5 및 6**, "gtp 1-풀 1," "gtp 1-풀 2," "gtp 1-풀 3," "gtp 1-풀 4"), HDAg 유전자형 2 A 및 2 B를 포함하는 풀 (**서열식별번호 7 및 8**, "gtp 2-풀 B1," "gtp 2-풀 B2," "gtp 2-풀 B3," "gtp 2-풀 B4"), 펩티드 KLEDDNPWL, KLEEENPWL, 및 FPWDILFPA를 포함하는 HDAg 펩티드 단편 풀 ("pep-3-풀"), 및 개별 HDAg 펩티드 KLEDDNPWL, KLEEENPWL, 및 FPWDILFPA를 포함한다. 콘카나발린 A ("Con A")는 양성 대조군으로서 사용하였고, 두 오브알부민 펩티드 ("OVA Th" 및 "OVA CTL") 및 성장 배지 ("배지")는 음성 대조군으로서 사용하였다. 항원 농도가 제공되어 있다.

도 6a-6c는 Δ-3 또는 Δ-4 DNA 조성물로 면역화된 뉴질랜드 화이트 토끼에서의 항-PreS1 IgG 역가 정량화를 도시한 것이다. 토끼로부터 혈청을 수집하고, 이를 ELISA에 의해 PreS1A 및 PreS1B 컨센서스 펩티드에 대해 시험하였다 (도 6b). 백신접종된 토끼 항-혈청을 HBV (서브-) 유전자형 A1, A2, B, B2, C, D1, E1, 및 F에 대한 교차-반응성에 대해서도 또한 시험하였다 (도 6c). 그래프 막대는 최종의 마지막 혈청 희석률로서 결정된 각 군에 대한 평균 최종 항-PreS1 역가로서, 405 nm에서의 OD는 동일한 희석률에서의 비면역화된 혈청의 OD보다 3배 더 높다는 것을 보여주는 것이다. 혈청을 1:60에서 시작하여 6배 희석률로 연속하여 적정하였다.

도 6d는 상이한 HBV (서브-) 유전자형의 PreS1에 대한 D-4 백신접종된 토끼 항-혈청의 반응률을 보여주는 것이다. 6주령된 D-4 백신접종된 토끼 항-혈청을 ELISA에 의해 HBV (서브-) 유전자형 D1, F, A1, C, A2, B, B2 및 E1에 대한 (OD 405 nm에서의) 반응성에 대해 시험하였다. 각 HBV 타입의 aa 2-21, 12-31, 22-41, 및 32-48에 상응하는, 10 aa 오버랩을 갖는 개별 20 mer PreS1 펩티드를 사용하였을 때, 중화 에피토프는 주로 유전자형 D1의 aa 22-41 및 32-48에 국재화되어 있었고, 다음으로 (서브-) 타입 C, E1 및 A1 순으로 그의 동일한 aa 영역에 국재화되어 있었다.

도 7a-7c는 ELISpot 검정법에서 Δ-4 DNA 단독, Δ-7 단백질 단독, 또는 Δ-4 DNA/Δ-8 단백질 프라임/부스트 조성물로 면역화된 C57BL/6 마우스로부터 유래된 혈청으로부터의 정제된 백혈구 집단의 인터페론 감마 (IFNɣ) 스폿 형성/10^6개의 세포 정량화를 도시한 것이다. 항원은 PreS1 A (**서열식별번호 11**), PreS1 A (**서열식별번호 12**)를 포함하는 정제된 폴리펩티드, HDAg 유전자형 1 A 및 1 B를 포함하는 풀 (**서열식별번호 5 및 6**, "gtp 1-풀

1," "gtp 1-풀 2," "gtp 1-풀 3," "gtp 1-풀 4"), 및 HDAg 유전자형 2 A 및 2 B를 포함하는 풀 (**서열식별번호 7 및 8**, "gtp 2-풀 5," "gtp 2-풀 6," "gtp 2-풀 7," "gtp 2-풀 8")을 포함한다. 콘카나발린 A ("ConA")는 양성 대조군으로서 사용하였고, 두 오브알부민 펩티드 ("OVA Th" 및 "OVA CTL"), DMSO, 및 성장 배지 ("배지")는 음성 대조군으로서 사용하였다. 항원 농도가 제공되어 있다.

도 8a-8c는 HBV/HDV DNA 단독, 단백질 단독, 또는 DNA 프라임/단백질 부스트 조성물로 면역화된 C57BL/6 마우스에서의 항-PreS1 IgG 역가 정량화를 도시한 것이다.

도 9는 HBV/HDV DNA 단독, 단백질 단독, 또는 DNA 프라임/단백질 부스트 조성물로 면역화된 토끼에서의 항-PreS1 IgG 역가 정량화를 도시한 것이다.

도 10a-10b는 각 시점에서의 HBV 역가에 기초하여 결정된 바와 같은, 제1 접종 후 1, 2, 3, 4, 6 및 8주째의 HBV 감염으로부터의 방어 효과를 도시한 것이다. 각 라인은 개별 마우스 1마리를 나타낸다 (도 10a). 음성 대조군 마우스 2마리 (회색 라인)는 비면역화된 IgG를 받았고, 마우스 3마리 (적색 라인)는 D4 PreS1 IgG를 받았다. PreS1-IgG 처리군 중의 마우스 1마리는 4주째 사망하였고, 따라서, 상기 마우스에 대해서는 오직 1, 2, 및 3주째의 측정값만이 이용가능하다. 알라닌 트랜스퍼라제, 아스파라긴 트랜스퍼라제, 알칼리성 포스파타제, 또는 빌리루빈의 혈청 수준과 관련하여 군 사이에 유의적인 차이는 없었다 (도 10b).

도 11a-d는 상이한 애주번트를 포함하는 D-7 및 D-8 펩티드 혼합물 (마우스에서의 투여를 위해 각각 10 ㎍씩)의 평가를 도시한 것이다. QS-21, MF59, 및 알룸 애주번트를 시험하였다. 전기천공에 의해 근육내로 투여된 D-4 DNA 조성물을 대조군으로서 사용하였다. 도 11a는 투약 스케줄 및 시험된 애주번트하의 예시적인 최종 역가를 보여주는 것이다. 도 11b는 ELISA에 의해 평가된 각 조건의 개별 마우스에서의 반응률(%)을 보여주는 것이다. x축 ("1, 3, 10, 30, 0")은 개별 마우스의 ID 번호에 상응한다. 도 11c는 ELISpot에 의해 평가된 바와 같은, HBV PreS1 및 HDV 항원 컨센서스 펩티드에 의한 비장세포의 IFNɣ 활성화를 보여주는 것이다. 도 11d는 PreS1A 및 PreS1B 펩티드에 대한 종점 PreS1 역가를 보여주는 것이다.

도 12a-d는 D-4 DNA 단독 및 나이브 대조군 대비 D-7 및 D-8 펩티드 혼합물 단독, D-7+D-8 융합 펩티드 단독, 및 D-4 DNA 프라임 및 D-7 및 D-8 펩티드 혼합물 부스트 비교를 도시한 것이다. 도 12a는 ELISpot에 의해 평가된 바와 같은, HBV PreS1 및 HDV 항원 컨센서스 펩티드에 의한 비장세포의 IFNɣ 활성화를 보여주는 것이다. 도 12b는 제1 라운드의 투여 후 2주째 평가된 PreS1A에 대한 항체 수준을 보여주는 것이다. 도 12c는 제2 라운드의 투여 후 2주째 평가된 PreS1A에 대한 항체 수준을 보여주는 것이다. 도 12d는 제2 라운드의 투여 후 2주째 평가된 PreS1B에 대한 항체 수준을 보여주는 것이다. 도 12b-d에 대한 범례는 개별 마우스의 ID 번호에 상응한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0073] 예방 백신 및 항바이러스 요법에도 불구하고, 현재 전 세계적으로 2억 5천만 명 초과의 사람들이 만성 B형 간염 바이러스 (HBV) 감염을 앓고 있다. 매년 백만 명의 만성 보균자는 HBV에 의해 유발되는 간 관련 합병증, 예컨대, 간경변 및 결국에는 간세포 암종 (HCC)에 기인하여 사망한다. HBV로부터 표면 항원 (HBsAg)을 "스틸하는 (steal)" HBV에 대한 RNA 위성 바이러스인 D형 간염 바이러스 (HDV)는 전 세계적으로 1,500만-2,500만 명의 HBV 보균자를 동시 감염시키고, 질환 진행을 악화시킨다. 현재까지, 만성 HBV 또는 HDV 감염에 대해 효과적인 기능적 치료법은 없다. HBV에 대한 현행 표준 치료 요법은 HBV 폴리머라제의 역전사효소 (RT) 기능을 억제하는 뉴클레오시드 유사체 (NA)로 이루어진다. 이는 캡시드 내부에서 부분적으로 dsDNA의 합성을 차단함으로써 바이러스 성숙을 막는다. 따라서, NA는 단독으로 요법 동안 바이러스 복제를 억제한다. 이는 RT 차단이 단백질 생산 (HBsAg 포함) 및 방출에 영향을 미치지 않으며, HBV 지속성의 주요 원인인 공유적 폐쇄 고리형 DNA의 합성에도 영향을 미치지 않는다는 사실에 기인하는 것이다. 평생 지속되는 NA는 HCC의 위험을 감소시키지만, 제거하지는 못한다. 적어도 1년 간의 PEG화된 인터페론 (IFN)-알파 스케줄이 현재 만성 HDV에 권장되는 치료법이지만; 지속적인 반응률은 드물다. PEG화된 IFN-알파 및 NA와의 조합 치료는 HDV 및 HBV에 대해 제한된 효능을 보이는 것으로 나타났다.

[0074] HBV는 숙주 면역 반응을 회피하기 위해 여러 전략법을 사용한다. HBV 단백질의 만성적 존재는 T 세포 기능 장애를 유도한다. HBV 감염된 세포는 주로 작은 HBsAg (SHBsAg)를 함유하는 서브-바이러스 HBsAg 입자를 과다생산하여 SHBsAg에 대한 중화 항체 집단을 차단한다. 이를 통해, 중간 HBsAg (MHBsAg; S 및 PreS2 함유) 및 큰 HBsAg (LHBsAg; S, PreS2 및 PreS1 함유) 단백질과 함께 더욱 조밀한 표면을 갖는 바이러스 입자의 생존은 보장된다. 중요하게, PreS1 도메인은 간세포 상의 HBV에 대한 Na^+-타우로콜레이트 공동 수송 폴리펩티드 (NTCP) 수

용체에의 결합을 담당한다. 따라서, 감염성 HBV 입자를 표적화하고, 새로운 간세포의 감염을 예방하는 확실한 방법은 바이러스의 PreS1 도메인에 대한 항체를 상승시키는 것이 될 것이다.

[0075] 본원에 개시된 바와 같이, HBV 및 HDV 감염, 둘 모두를 표적화하는 면역요법을 구축하여 HBV 및 HDV에 특이적인 PreS1 항체 및 T 세포 생산을 유도하기 위해, PreS1 및 큰 HDV 항원을 함유하는 키메라 유전자를 상이한 조합으로 생성하였다 (도 1a). PreS1을 HDAg에 연결하는 이점은 HDAg가 HBV에 의해 단일 감염된 환자에서 이종성 T 세포 에피토프 캐리어로서 작용할 것이라는 점이다. 따라서, 이러한 HDAg 특이적 T 세포는 바이러스 진입을 차단하고, HBV 특이적 T 세포의 필요성을 우회하는 PreS1 항체의 지속적인 내인성 생산을 지원한다. 실제로, HBV 보균자 중 >90%가 HBV에 단일 감염되며, 상기 환자에서 이종성 HDAg는 HBV 특이적 반응의 프라이밍을 지원하는 건강한 나이브 T 세포를 프라이밍할 것이다. 또한, HDAg 특이적 T 세포 및 PreS1 항체는 이들 환자에서 HDV 중복 감염을 예방할 가능성이 있다. 중화 항체 및 T 세포, 둘 모두를 유도하기 위해, 유전자 면역화가 사용되었는데, 이 전략법이 HBV에 대한 면역 반응을 활성화시키는 것으로 나타났기 때문이다. 전반적으로, 이러한 바이러스 진입 차단 전략법은 HBD 및/또는 HDV 감염에 대한 지속 가능한 요법외 반응을 달성하기 위해 현재 개발 중인 성숙화 억제제 및 캡시드 어셈블리 억제제를 보완한다.

[0076] 본원에서 제공하는 실시양태는 B형 간염 (HBV) 또는 D형 간염 (HDV) 감염에 대한 면역 반응을 유도하는 데 사용될 수 있는 조작된 HBV 및 HDV 핵산, 유전자, 펩티드, 또는 단백질의 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물에 관한 것이었다. HBV 및 HDV 핵산, 유전자, 펩티드, 또는 단백질을 포함하는 키메라 유전자 및 키메라 단백질의 용도는 예를 들어, WO 2017/132332 (이는 그 전문이 본원에서 명시적으로 참조로 포함된다)에서 특징화되었다.

[0077] 하기 상세한 설명에서, 그 일부를 형성하는 첨부 도면을 참조한다. 도면에서 유사한 기호는 문맥상 달리 명시되지 않는 한, 전형적으로 유사한 구성 요소를 식별한다. 상세한 설명, 도면 및 청구범위에 기술된 예시적인 실시양태는 제한을 의미하지 않는다. 본원에 제시된 주제의 정신 또는 범주를 벗어남 없이, 다른 실시양태가 이용될 수 있고, 다르게 변경될 수 있다. 본원에 일반적으로 기술되고, 도면에서 예시된 바와 같이, 본 개시내용의 측면은 매우 다양한 상이한 구성으로 배열, 치환, 조합, 분리 및 디자인될 수 있으며, 이들 모두 본원에서 명시적으로 고려된다는 것을 쉽게 이해할 것이다.

[0078] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 관련 기술분야의 통상의 기술자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에서 언급된 모든 특허, 출원, 공개된 출원 및 다른 공개문헌은 달리 언급되지 않는 한, 그 전문이 본원에서 명시적으로 참조로 포함된다. 본원의 용어에 대한 정의가 복수로 존재하는 경우, 달리 언급되지 않는 한, 본 섹션의 정의가 우선한다.

[0079] 본원에서 "하나"라는 단수형태는 단수형태의 하나, 또는 하나 초과의 (예를 들어, 적어도 하나의) 문법상 대상을 지칭하는 것으로 사용된다. 예로서, "요소"는 하나의 요소 또는 하나 초과의 요소를 의미한다.

[0080] "약" 또는 "대략"이라는 용어는 기준 양, 수준, 값, 수치, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이에 대해 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1%만큼 다른 양, 수준, 값, 수치, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이를 지칭한다.

[0081] 본 명세서 전역에 걸쳐, 문맥상 달리 요구되지 않는 한, " 포함하다(comprise)," "포함하다(comprises)" 및 "포함하는"이라는 단어는 언급된 단계 또는 요소 또는 단계 또는 요소의 군을 포함하고, 임의의 다른 단계 또는 요소 또는 단계 또는 요소의 군은 배제시키는 것으로 이해될 것이다.

[0082] "~으로 이루어진"은 "~으로 이루어진"이라는 어구 뒤에 오는 모든 것을 포함하고, 이에 제한되는 것을 의미한다. 따라서, "~으로 이루어진"이라는 어구는 열거된 요소가 요구되거나, 또는 필수적이고, 다른 요소는 존재하지 않을 수 있다는 것을 나타낸다. "본질적으로 ~으로 이루어진"은 상기 어구 뒤에 열거된 임의의 요소를 포함하고, 본 개시내용에서 열거된 요소에 대해 명시된 활성 또는 작용을 방해하거나, 또는 그에 기여하지 않는 다른 요소로 제한되는 것을 의미한다. 따라서, "본질적으로 ~으로 이루어진"이라는 어구는 열거된 요소가 요구되거나, 또는 필수적이지만, 다른 요소는 임의적이고, 열거된 요소의 활성 또는 작용에 실질적으로 영향을 미치는지 여부에 따라 존재할 수 있거나, 또는 존재하지 않을 수 있다는 것을 나타낸다.

[0083] 본 개시내용의 실시는 구체적으로 달리 명시되지 않는 한, 관련 기술분야의 기술 범위 내에서 분자 생물학 및 재조합 DNA 기술의 통상적인 방법을 사용할 것이며, 이들 중 다수는 예시 목적으로 하기에 기재되어 있다. 이러한 기술은 문헌에 상세히 설명되어 있다. 예컨대, 문헌 [Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd Edition, 2000); DNA Cloning: A Practical Approach, vol. 1 & II (D. Glover, ed.)]; [Oligonucleotide Synthesis (N. Gait, ed., 1984)]; [Oligonucleotide Synthesis: Methods and

Applications (P. Herdewijn, ed., 2004)]; [Nucleic Acid Hybridization (B. Hames & S. Higgins, eds., 1985)]; [Nucleic Acid Hybridization: Modern Applications (Buzdin and Lukyanov, eds., 2009)]; [Transcription and Translation (B. Hames & S. Higgins, eds., 1984)]; [Animal Cell Culture (R. Freshney, ed., 1986)]; [Freshney, R.I. (2005) Culture of Animal Cells, a Manual of Basic Technique, 5th Ed. Hoboken NJ, John Wiley & Sons]; [B. Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning (3rd Edition 2010)]; [Farrell, R., RNA Methodologies: A Laboratory Guide for Isolation and Characterization (3rd Edition 2005)]를 참조한다.

[0084] 본원에서 사용된 바, 임의의 주어진 물질, 화합물 또는 물질의 "순도"라는 용어는 예상 존재비 대비 상기 물질, 화합물 또는 물질의 실제 존재비를 지칭한다. 예를 들어, 물질, 화합물 또는 물질은 적어도 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100% (그 사이의 소수 포함) 순수할 수 있다. 순도는 부산물, 이성질체, 거울상 이성질체, 분해 생성물, 용매, 담체, 비히클, 오염물질 또는 그의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는 원치않는 불순물에 의해 영향을 받을 수 있다. 순도는 크로마토그래피, 액체 크로마토그래피, 기체 크로마토그래피, 분광법, UV-가시광선 분광분석법, 적외선 분광분석법, 질량 분광분석법, 핵 자기 공명, 중량 측정법, 또는 적정, 또는 그의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는 기술에 의해 측정될 수 있다.

[0085] 본원에서 사용된 바, "기능" 및 "기능적"이라는 용어는 생물학적, 효소적 또는 치료적 기능을 지칭한다.

[0086] 본원에서 사용된 바, "유효량" 또는 "유효 용량"이라는 어구는 원하는 결과를 달성하기에 충분한 양을 나타내며, 따라서, 성분 및 그의 원하는 결과에 따라 달라질 것이다. 그럼에도 불구하고, 일단 원하는 효과가 알려지고 나면, 유효량을 결정하는 것은 관련 기술분야의 통상의 기술자의 기술 범위 내에 있다.

[0087] 일반적으로, 도면에 제공된 "오차 막대"는 평균값의 표준 오차를 나타낸다.

[0088] 상호교환적으로 사용되는 바, "제제" 및 "조성물"은 대상체에 투여하기 위한 물질의 조성물을 지칭하는 동의어이다.

[0089] 본원에서 사용된 바, "단리된"이라는 어구는 보통 그의 천연 상태에서 그를 수반하는 구성 요소가 실질적으로 또는 본질적으로 없는 물질을 지칭한다. 예를 들어, 본원에서 사용된 바, "단리된 세포"는 그의 자연적으로 발생된 상태의 환경 또는 유기체로부터 정제된 세포, 대상체로부터 또는 배양물로부터 제거된 세포를 포함하며, 예를 들어, 이는 생체내 또는 시험관내 물질과 유의적으로 회합되어 있지 않다.

[0090] 본원에서 사용된 바, 용어 "대상체"는 본 명세서에 비추어 이해되는 바와 같은 그의 일반적인 의미를 가지며, 치료, 억제 또는 호전, 관찰 또는 실험의 대상인 동물을 지칭한다. "동물"은 본 명세서에 비추어 이해되는 바와 같은 그의 일반적인 의미를 가지며, 냉혈 및 온혈 척추동물 및/또는 무척추동물, 예컨대, 어류, 조개류 또는 파충류, 및 특히, 포유동물을 포함한다. "포유동물"은 본 명세서에 비추어 이해되는 바와 같은 그의 일반적인 의미를 가지며, 마우스, 래트, 토끼, 기니아 피그, 개, 고양이, 양, 염소, 소, 말, 영장류, 예컨대, 인간, 원숭이, 침팬지 또는 유인원을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0091] 본원에 개시된 일부 실시양태는 그를 필요로 하는 대상체 또는 환자를 선택하는 것에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 감염 치료를 필요로 하는 환자가 선택된다. 일부 실시양태에서, 이전에 바이러스 감염 치료를 받은 적인 있는 환자가 선택된다. 일부 실시양태에서, 바이러스 감염 위험에 대해 이전에 치료를 받은 적인 있는 환자가 선택된다. 일부 실시양태에서, 바이러스 감염 재발이 발생된 환자가 선택된다. 일부 실시양태에서, 바이러스 감염 요법에 대해 내성이 생긴 환자가 선택된다. 일부 실시양태에서, 상기 언급된 선택 기준의 임의의 조합을 가질 수 있는 환자가 선택된다.

[0092] 본원에서 사용되는 바, "치료하는," "치료," "치료적" 또는 "요법"이라는 용어는 본 명세서에 비추어 이해되는 바와 같은 그의 일반적인 의미를 가지며, 반드시 질환 또는 병태의 완전한 치유 또는 폐지를 의미하는 것은 아니다. 본원에서 사용되는 바 (및 관련 기술분야에서 널리 이해되고 있는 바와 같이), "치료하는" 또는 "치료"라는 용어는 또한 임상 결과를 포함하여 대상체의 병태에서 유익하거나, 또는 원하는 결과를 얻기 위한 접근법을 의미한다. 유익하거나, 또는 원하는 임상 결과는 하나 이상의 증상 또는 병태의 완화 또는 호전, 질환의 정도 감소, 질환 상태의 안정화 (즉, 악화되지 않음), 질환 전파 또는 확산 방지, 질환 진행의 확산, 지연 또는 저속화, 질환 상태의 호전 또는 경감, 질환 재발의 감소, 및 (부분적이든 전체적이든, 검출가능하든 검출불가능하든) 관해를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 본원에서 사용되는 바, "치료하는" 또는 "치료"는 또한 예방적 치료를 포함한다. 치료 방법은 대상체에게 치료 유효량의 활성제를 투여하는 단계를 포함한다. 투여 단계는 단일 투여로 이루어질 수 있거나, 또는 연속 투여를 포함할 수 있다. 조성물은 환자를 치료하기에

충분한 양으로 및 그러한 기간 동안 대상체에게 투여된다. 치료 기간의 길이는 다양한 인자, 예컨대, 병태의 중증도, 환자의 연령 및 유전적 프로파일, 활성제 농도, 치료에 사용되는 조성물의 활성, 또는 그의 조합에 의존한다. 또한, 치료 또는 예방에 사용되는 작용제의 유효 투여량은 특정 치료 또는 예방 요법의 과정에 걸쳐 증가 또는 감소될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 투여량의 변경은 관련 기술분야에 공지된 표준 진단 검정법에 의해 야기될 수 있고, 명백해질 수 있다. 일부 경우에, 만성 투여가 필요할 수 있다.

[0093] 본원에서 사용되는 바, "억제하다"라는 용어는 본 명세서에 비추어 이해되는 바와 같은 그의 일반적인 의미를 가지며, 바이러스 감염의 감소 또는 예방을 지칭할 수 있다. 감소는 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 100%, 또는 상기 언급된 값 중 임의의 두 값으로 정의된 범위 이내의 양만큼 이루어질 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "지연시키다"라는 용어는 본 명세서에 비추어 이해되는 바와 같은 그의 일반적인 의미를 가지며, 예컨대, 바이러스 감염과 같은 이벤트를 그렇지 않았다면 예상되는 시간보다 후속 시점으로 저속화, 연기, 또는 유예시키는 것을 지칭한다. 지연은 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 또는 상기 언급된 값 중 임의의 두 값으로 정의된 범위 이내의 양만큼의 지연일 수 있다. 억제하다 및 지연시키다라는 용어는 반드시 100% 억제 또는 지연을 나타내는 것은 아닐 수 있다. 부분 억제 또는 지연이 실현될 수 있다.

[0094] 본원에서 사용되는 바, 용어 "면역원성 조성물"은 숙주에 투여되었을 때, 면역 반응을 유도하도록 의도된, 항원, 에피토프, 핵산, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 다당류, 지질, 합텐, 톡소이드, 불활성화된 유기체, 또는 약독화된 유기체, 또는 그의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는, 물질 또는 물질들의 혼합물을 지칭한다. 면역 반응은 선천성 면역 반응 및 후천성 면역 반응, 둘 모두를 포함하며, 후자는 예컨대, 기억 T 세포 및 기억 B 세포와 같은 세포를 통해 지속적인 면역학적 기억을 확립한다. 면역원성 조성물에 대한 초기 면역 반응 동안 생성된 항체는 동일한 항원, 에피토프, 핵산, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 다당류, 지질, 합텐, 톡소이드, 불활성화된 유기체 또는 약독화된 유기체, 또는 항원, 에피토프, 핵산, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 다당류, 지질, 합텐, 또는 톡소이드, 또는 그의 임의의 조합을 나타내는 살아있는 유기체 또는 병원체의 후속 챌린지에서 생성될 수 있다. 이러한 방식으로, 면역원성 조성물은 특정 병원체에 대한 백신 역할을 할 수 있다. 면역원성 조성물은 또한 면역 반응을 자극시키고, 방어호 면역의 효능을 증가시키기 위해 하나 이상의 애주번트도 포함할 수 있다.

[0095] 본원에서 사용되는 바, 용어 "생성물 조합물"은 통합 기능을 위해 함께 사용할 수 있는 2개 이상의 개별 화합물, 물질(substance), 물질(material), 또는 조성물 세트를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 생성물 조합물은 숙주에 투여되었을 때, 임의적으로, 오직 단 하나의 조성물 타입만이 투여된 경우에 유도되는 것보다 더 큰 정도로 면역 반응을 유도하기 위해 함께 사용되는 적어도 하나의 핵산 조성물 및 적어도 하나의 폴리펩티드 조성물을 포함한다.

[0096] 본원에서 사용되는 바, 용어 "핵산" 또는 "핵산 분자"는 폴리뉴클레오티드, 예컨대, 데옥시리보핵산 (DNA) 또는 리보핵산 (RNA), 올리고뉴클레오티드, 중합효소 연쇄 반응 (PCR)에 의해 생성된 단편, 및 라이게이션, 절단, 엔도뉴클레아제 작용 및 엑소뉴클레아제 작용 중 임의의 것에 의해 생성된 단편을 지칭한다. 핵산 분자는 자연적으로 발생된 뉴클레오티드인 단량체 (예컨대, DNA 및 RNA), 또는 자연적으로 발생된 뉴클레오티드의 유사체 (예컨대, 자연적으로 발생된 뉴클레오티드의 거울상 이성질체 형태), 또는 그 둘 모두의 조합으로 구성될 수 있다. 변형된 뉴클레오티드는 당 모이어티 및/또는 피리미딘 또는 퓨린 염기 모이어티에서 변경을 가질 수 있다. 당 변형은 예를 들어, 하나 이상의 히드록실 기의 할로겐, 알킬 기, 아민 및 아지도 기로의 대체를 포함하거나, 또는 당은 에테르 또는 에스테르로서 관능화될 수 있다. 더욱이, 전체 당 모이어티는 입체 및 전자적으로 유사한 구조, 예컨대, 아자-당 및 카르보시클릭 당 유사체로 대체될 수 있다. 염기 모이어티에서의 변형의 예는 알킬화된 퓨린 및 피리미딘, 아실화된 퓨린 또는 피리미딘, 또는 널리 공지된 다른 헤테로시클릭 치환체를 포함한다. 핵산 단량체는 포스포디에스테르 결합 또는 이러한 결합의 유사체에 의해 연결될 수 있다. 포스포디에스테르 결합의 유사체는 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로셀레노에이트, 포스포로디셀레노에이트, 포스포로아닐로티오에이트, 포스포라닐리데이트 또는 포스포라미데이트를 포함한다. 용어 "핵산 분자"는 또한 폴리아미드 백본에 부착된 자연적으로 발생된 또는 변형된 핵산 염기를 포함하는 소위 "펩티드 핵산"을 포함한다. 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. "올리고뉴클레오티드"는 핵산과 상호교환적으로 사용될 수 있으며, 이중 가닥 또는 단일 가닥 DNA 또는 RNA를 지칭할 수 있다. 핵산 또는 핵산들은 다양한 생물학적 시스템에서의 핵산 또는 핵산들의 증폭 및/또는 발현을 위해 사용될 수 있는 핵산 벡터 또는 핵산 구축물 (예컨대, 플라스미드, 바이러스, 박테리오파지, 코스미드, 포스미드, 파지미드, 박테리아 인공 염색체 (BAC), 효모 인공 염색체 (YAC), 또는 인간 인공 염색체 (HAC))에 함유될 수 있다. 전형적으로, 벡터 또는 구

축물은 또한 프로모터, 인핸서, 종결인자, 유도인자, 리보솜 결합 부위, 번역 개시 부위, 시작 코돈, 정지 코돈, 폴리아데닐화 신호, 복제 기점, 클로닝 부위, 다중 클로닝 부위, 제한 효소 부위, 에피토프, 리포터 유전자, 선별 마커, 항생제 선별 마커, 표적화 서열, 펩티드 정제 태그, 또는 부속 유전자, 또는 그의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는 요소를 함유할 것이다.

[0097] 핵산 또는 핵산 분자는 상이한 펩티드, 폴리펩티드, 또는 단백질을 코딩하는 하나 이상의 서열을 포함할 수 있다. 이들 하나 이상의 서열은 동일한 핵산 또는 핵산 분자에서 인접하게, 또는 그 사이에 추가 핵산, 예컨대, 링커, 반복부 또는 제한 효소 부위, 또는 길이가 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 150, 200, 또는 300개의 염기 길이, 또는 상기 언급된 길이 중 임의의 두 길이로 정의된 범위 내의 임의의 길이인 임의의 다른 서열과 함께 연결될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, 핵산 상의 "하류"라는 용어는 핵산이 이중 가닥이라면, 코딩 서열을 함유하는 가닥 (센스 가닥) 상에서 이전 서열의 3'-말단 뒤에 있는 서열을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바, 핵산 상의 "상류"라는 용어는 핵산이 이중 가닥이라면, 코딩 서열을 함유하는 가닥 (센스 가닥) 상에서 후속 서열의 5'-말단 앞에 있는 서열을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바, 핵산 상에서 "그룹화된"이라는 용어는 2개 이상의 서열이 인접하게 직접적으로 또는 그 사이에 추가 핵산, 예컨대, 링커, 반복부 또는 제한 효소 부위, 또는 길이가 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 150, 200, 또는 300개의 염기 길이, 또는 상기 언급된 길이 중 임의의 두 길이로 정의된 범위 내의 임의의 길이인 임의의 다른 서열과 함께, 그러나, 일반적으로는 그 사이에 기능성 또는 촉매성 폴리펩티드, 단백질, 또는 단백질 도메인을 코딩하는 서열은 없이 존재하는 것을 지칭한다.

[0098] 본원에서 사용되는 바, 핵산과 관련하여 "코돈 최적화된"이라는 용어는 표적 세포 세포질에서의 종 특이적 코돈 사용 편향 및 각 아미노아실-tRNA의 상대적인 이용가능성에 기초하여 폴리펩티드 서열을 변경하지 않고 특정 종의 숙주에서 번역을 증진시키거나, 또는 최대화하기 위해 핵산의 코돈을 치환하는 것을 지칭한다. 코돈 최적화 및 이러한 최적화를 수행하는 기술은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 코돈 최적화를 위한 알고리즘을 포함하는 프로그램은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 프로그램은 예를 들어, 옵티멈진(OptimumGene), 진GPS(GeneGPS)® 알고리즘 등을 포함할 수 있다. 추가로, 합성 코돈 최적화된 서열은 예를 들어, 인터그레이티드 DNA 테크놀러지즈(Integrated DNA Technologies) 및 다른 상업적으로 이용가능한 DNA 시퀀싱 서비스로부터 상업적으로 수득할 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 유전자 발현 수준은 예컨대, 프로모터 서열 및 조절 요소와 같은 많은 인자에 의존한다는 것을 이해할 것이다. 대부분의 박테리아에 대해 언급된 바와 같이, 코돈의 작은 서브세트는 tRNA 종에 의해 인식되어 번역 선택으로 이어지며, 이는 단백질 발현에 중요한 제한이 될 수 있다. 이러한 측면에서, 많은 합성 유전자가 그들의 단백질 발현 수준을 증가시키도록 디자인될 수 있다.

[0099] 본원에 기술된 핵산은 핵염기를 포함한다. 1차, 정규, 천연 또는 비변형된 염기는 아데닌, 시토신, 구아닌, 티민 및 우라실이다. 다른 핵염기로는 퓨린, 피리미딘, 변형된 핵염기, 5-메틸시토신, 슈도우리딘, 디히드로우리딘, 이노신, 7-메틸구아노신, 히포크산틴, 크산틴, 5,6-디히드로우라실, 5-히드록시메틸시토신, 5-브로모우라실, 이소구아닌, 이소시토신, 아미노알릴 염기, 염료 표지 염기, 형광성 염기, 또는 비오틴 표지된 염기를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0100] 본원에서 사용되는 바, 용어 "펩티드," "폴리펩티드," 및 "단백질"은 펩티드 결합에 의해 연결된 아미노산으로 구성된 거대분자를 지칭한다. 펩티드, 폴리펩티드, 및 단백질의 수많은 기능이 관련 기술분야에 공지되어 있으며, 효소, 구조, 수송, 방어, 호르몬 또는 신호전달을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 펩티드, 폴리펩티드 및 단백질은 화학적 합성 또한 이용가능하지만, 항상 그러한 것은 아니지만, 대개는 핵산 주형을 사용하여 리보솜 복합체에 의해 생물학적으로 생산된다. 핵산 주형을 조작함으로써, 펩티드, 폴리펩티드, 및 단백질 돌연변이, 예컨대, 하나 초과의 펩티드, 폴리펩티드, 또는 단백질의 치환, 결실, 말단절단, 부가, 중복, 또는 융합을 수행할 수 있다. 이러한 하나 초과의 펩티드, 폴리펩티드, 또는 단백질의 융합은 동일한 분자에서 인접하게, 또는 그 사이에 추가 아미노산, 예컨대, 링커, 반복부, 에피토프, 또는 태그, 또는 길이가 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 150, 200, 또는 300개의 염기 길이, 또는 상기 언급된 길이 중 임의의 두 길이로 정의된 범위 내의 임의의 길이인 임의의 다른 서열과 함께 연결될 수 있다.

[0101] 일부 실시양태에서, 본원에서 제공되고, 본 실시예에서 사용되는 핵산 또는 펩티드 서열은 인간, 마우스, 토끼, E. 콜라이, 효모, 및 포유동물 세포를 포함하나, 이에 제한되지 않는 다양한 생물학적 시스템에서 기능적이다.

다른 실시양태에서, 본원에서 제공되고, 본 실시예에서 사용되는 핵산 또는 펩티드 서열과 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 유사성, 또는 상기 언급된 유사성(%) 중 임의의 두 유사성(%)으로 정의된 범위 이내의 임의의 유사성(%)을 공유하는 핵산 또는 펩티드 서열 또한 생물학적 시스템에서 서열의 기능에 영향을 미치지 않으면서 사용될 수도 있다. 본원에서 사용되는 바, 용어 "유사성"은 서열 내에 예컨대, 치환, 결실, 반복 삽입과 같은 특정 변이를 포함하는 주형 핵산 또는 펩티드 서열과 각각 뉴클레오티드 또는 아미노산 순서가 전반적으로 동일한 핵산 또는 펩티드 서열을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 정도로 낮은 유사성을 공유하는 두 핵산 서열은 번역 동안 동일한 아미노산을 코딩하는 상이한 코돈을 포함함으로써 동일한 폴리펩티드를 코딩할 수 있다.

[0102] 본원에서 사용되는 바, "재조합적으로 발현"이라는 용어는 최적화되거나, 또는 적합화된 생물학적 시스템에서의 단백질 생산을 지칭한다. 이러한 시스템은 천연 숙주에서의 단백질 발현에 비해 높은 발현 (과다발현), 정제 용이, 형질전환 용이, 유도성, 저렴한 비용, 또는 단백질의 안정성을 포함하나, 이에 제한되지 않는 이점을 제공한다. 일부 실시양태에서, 단백질은 포유동물, 박테리아, 효모, 곤충, 또는 무세포 재조합 발현 시스템에서 발현된다. 각 시스템은 그의 고유한 이점 또는 단점이 있다. 예를 들어, 박테리아 발현 시스템은 과다발현을 위해 고도로 최적화되지만, 생산된 단백질의 미스폴딩 또는 응집을 유발할 수 있으며, 효모 시스템은 번역 후 변형이 필요할 때 유용하고, 곤충 및 포유동물 시스템은 고등 유기체에 존재하는 적절한 RNA 스플라이싱에 유용하다. 일부 실시양태에서, Δ-7, Δ-8, 및 다른 재조합 폴리펩티드는 포유동물, 인간, 1차, 무한증식, 암, 줄기, 섬유모세포, 인간 배아 신장 (HEK) 293, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO), 박테리아, 에스케리키아 콜라이, 효모, 사카로마이세스 세레비시애, 피치아 파스토리스, 곤충, 스포돕테라 프루기페르다 Sf9, 또는 S. 프루기페르다 Sf21 세포에서, 또는 무세포 시스템에서 생산되고, 그로부터 정제된다. 일부 실시양태에서, 발현 유전자, 벡터, 또는 구축물은 플라스미드, 박테리오파지, 바이러스, 아데노 연관 바이러스 (AAV), 바큘로바이러스, 코스미드, 포스미드, 파지미드, BAC, YAC, 또는 HAC의 형태로 재조합 발현 시스템으로 전달된다. 재조합 발현 시스템에 관한 추가 논의를 위해, 문헌 [Gomes et al. "An Overview of 이종성 Expression Host Systems for the Production of Recombinant Proteins" ((2016) Adv. Anim. Vet. Sci. 4(7):346-356)] (상기 문헌은 그 전문이 본원에서 명시적으로 참조로 포함된다]을 참조한다.

[0103] 본원에서 사용되는 바, 용어 "HDAg"는 D형 간염 항원 유전자 또는 단백질을 지칭한다. HDAg에 대해 작은 이소폼 (24 kDa) 및 큰 이소폼 (27 kDa, 시작 메티오닌을 제외하고 213개의 아미노산)이 존재하고, 이는 HDV 게놈의 동일한 오픈 리딩 프레임에서 번역된다. 코딩 서열의 코돈 196에 있는 UAG 정지 코돈에서 아데노신의 탈아미노화를 통해 번역이 계속 진행되어 큰 이소폼이 생성될 수 있다. 달리 명시적으로 언급되지 않는 한, 본원에 기술된 실시양태는 HDAg의 큰 이소폼을 포함한다. 일부 실시양태에서, HDAg 서열은 4개의 상이한 HDAg 균주 서열: "HDAg 유전자형 1 A," "HDAg 유전자형 1 B," "HDAg 유전자형 2 A", 또는 "HDAg 유전자형 2 B" 중 적어도 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열은 HDAg 유전자형 1 A (**서열식별번호 1**), HDAg 유전자형 1 B (**서열식별번호 2**), HDAg 유전자형 2 A (**서열식별번호 3**), 또는 HDAg 유전자형 2 B (**서열식별번호 4**)의 핵산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드는 HDAg 유전자형 1 A (**서열식별번호 5**), HDAg 유전자형 1 B (**서열식별번호 6**), HDAg 유전자형 2 A (**서열식별번호 7**), 또는 HDAg 유전자형 2 B (**서열식별번호 8**)의 폴리펩티드 서열을 포함한다.

[0104] 본원에서 사용되는 바, 용어 "PreS1"은 HBV의 큰 표면 항원 (HBsAg) 상의 N-말단 도메인의 세그먼트를 지칭한다. 큰 HBsAg의 108-119개의 아미노산 길이의 N-말단 도메인의 47개의 아미노산 길이의 PreS1 세그먼트는 포유동물 모델에서 면역 반응을 유도하고, 고역가의 항-PreS1/항-HBV 항체를 생성하는 데 효과적이다. 일부 실시양태에서, PreS1 서열은 2개의 상이한 PreS1 컨센서스 서열: "PreS1 A" 및/또는 "PreS1 B" 중 적어도 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열은 PreS1 A (**서열식별번호 9**) 또는 PreS1 B (**서열식별번호 10**)의 핵산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드는 PreS1 A (서열식별번호 11) 또는 PreS1 B (서열식별번호 12)의 폴리펩티드 서열을 포함한다.

[0105] 일부 실시양태에서, HBV의 PreS1 A 및 PreS1 B 컨센서스 서열은 HBV의 공지된 유전자형에서 PreS1의 서열 유사성으로부터 수득되거나, 또는 그로부터 도출된다. 게놈 서열에서 최대 8% 또는 약 8%의 뉴클레오티드 차이를 나타내는 공지 또는 일반적인 HBV 유전자형 10개가 존재한다 (유전자형 A, B, C, D, E, F, G, H, I 및 J). 이들 중 게놈 서열에서 최대 4%-8% 또는 약 4%-8%의 뉴클레오티드 차이를 나타내는 추가의 서브-유전자형이 존재한다. HBV의 서브-유전자형은 A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B9, C1, C2, C3, C4,

C5, C6, C7, C8, C9, C10, D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, F1, F2, F2a, F3, 또는 F4를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. HBV 유전자형에 관한 추가 논의를 위해, 문헌 [Sunbul "Hepatitis B virus genotypes: Global distribution and clinical importance" ((2014) World. J. Gastroenterology. 20(18):5427-5434] (상기 문헌은 그 전문이 본원에서 명시적으로 참조로 포함된다]을 참조한다.

[0106] 본원에서 사용되는 바, 용어 "자기촉매적 펩티드 절단 부위" 또는 "2A 펩티드"는 두 구성 아미노산 사이의 펩티드 결합이 절단되어 서열에 플랭킹된 두 단백질이 분리되는 펩티드 서열을 지칭한다. 절단은 2A 펩티드 서열에서 C-말단 프롤린과 글리신 사이의 펩티드 결합 형성의 리보솜 "스키핑"의 결과인 것으로 여겨진다. 현재까지 확인된 4개의 자기촉매적 펩티드 절단 부위 서열은 생체의학 연구에서 실질적으로 유용하였다: 구제역 바이러스 2A (F2A); 말 비염 A 바이러스 (ERAV) 2A (E2A); 돼지 테스코바이러스-1 2A (P2A), 및 토세아 아시그나 바이러스 2A (T2A). 일부 실시양태에서, P2A 자기촉매적 펩티드 절단 부위 핵산 (**서열식별번호 13**) 및 폴리펩티드 (**서열식별번호 14**) 서열이 사용된다.

[0107] 본원에서 사용되는 바, 용어 "HBeAg"는 바이러스의 뉴클레오캡시드 코어와 지질 외피 사이에서 발견되는 HBV 항원 단백질을 지칭한다. 숙주에서 생산된 HBeAg는 혈청으로 분비되며, 활동성 HBV 감염에 대한 좋은 마커가 된다. 세포 배양물 모델에서 시험관내 HBeAg 분비의 정량화는 HBV 감염성에 대한 생물학적 또는 제약 화합물 또는 조성물의 효과를 평가하는 데 사용될 수 있다.

[0108] 용어 "부형제"는 본 명세서에 비추어 이해되는 바와 같은 그의 일반적인 의미를 가지며, 이는 면역원성 조성물 또는 백신에서 발견되는 다른 물질(substance), 화합물, 또는 물질(material)을 지칭한다. 바람직한 특성을 갖는 부형제는 보존제, 애주번트, 안정화제, 용매, 완충제, 희석제, 가용화제, 계면활성제(detergent), 계면활성제(surfactant), 킬레이트제, 항산화제, 알콜, 케톤, 알데히드, 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), 시트르산, 염, 염화나트륨, 중탄산나트륨, 인산나트륨, 붕산나트륨, 시트르산나트륨, 염화칼륨, 인산칼륨, 황산마그네슘, 당, 덱스트로스, 프럭토스, 만노스, 락토스, 갈락토스, 수크로스, 소르비톨, 셀룰로스, 혈청, 아미노산, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 소듐 데옥시콜레이트, 소듐 타우로데옥시콜레이트, 스테아르산마그네슘, 옥틸페놀 에톡실레이트, 벤제토늄 클로라이드, 티메로살, 젤라틴, 에스테르, 에테르, 2-페녹시에탄올, 우레아 또는 비타민, 또는 그의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 혈청, 알부민, 오브알부민, 항생제, 불활성화제, 포름알데히드, 글루타르알데히드, β-프로피오락톤, 젤라틴, 세포 파편, 핵산, 펩티드, 아미노산, 또는 성장 배지 구성 요소 또는 그의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는 일부 부형제는 면역원성 조성물 또는 백신 제조 프로세스로부터의 잔류량 또는 오염물질에 존재할 수 있다. 부형제 양은 면역원성 조성물 또는 백신 중에서 0% w/w, 0.1% w/w, 0.2% w/w, 0.3% w/w, 0.4% w/w, 0.5% w/w, 0.6% w/w, 0.7% w/w, 0.8% w/w, 0.9% w/w, 1% w/w, 2% w/w, 3% w/w, 4% w/w, 5% w/w, 6% w/w, 7% w/w, 8% w/w, 9% w/w, 10% w/w, 20% w/w, 30% w/w, 40% w/w, 50% w/w, 60% w/w, 70% w/w, 80% w/w, 90% w/w, 95% w/w, 100% w/w 또는 상기 언급된 수치 중 임의의 두 수치로 정의된 범위 내의 임의의 중량%로 발견될 수 있다.

[0109] 본원에서 사용되는 바, 용어 "애주번트"는 면역 반응을 자극시키고, 방어 면역의 효능을 증가시키고, 면역원성 항원, 에피토프, 또는 조성물과 함께 투여되는 물질(substance), 화합물, 또는 물질(material)을 지칭한다. 애주번트는 항원의 지속적인 방출, 시토카인 및 케모카인의 상향조절, 투여 부위에서의 세포 동원, 항원 제시 세포에서의 항원 흡수 및 제시 증가, 또는 항원 제시 세포 및 인플라마솜의 활성화를 가능하게 함으로써 면역 반응을 개선시키는 역할을 한다. 일반적으로 사용되는 애주번트로는 알룸, 알루미늄 염, 황산알루미늄, 수산화알루미늄, 인산알루미늄, 수산화인산칼슘, 황산알루미늄칼륨, 오일, 광유, 파라핀 오일, 수중유 에멀젼, 계면활성제, MF59®, 스쿠알렌, AS03, α-토코페롤, 폴리소르베이트 80, AS04, 모노포스포릴 지질 A, 바이로솜, 핵산, 폴리이노신:폴리시티딜산, 사포닌, QS-21, 단백질, 플라겔린, 시토카인, 케모카인, IL-1, IL-2, IL-12, IL-15, IL-21, 이미다조퀴놀린, CpG 올리고뉴클레오티드, 지질, 인지질, 디올레오일 포스파티딜콜린 (DOPC), 트레할로스 디마이콜레이트, 펩티도글리칸, 박테리아 추출물, 지질다당류, 또는 프로인트(Freund) 애주번트, 또는 그의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0110] 본원에서 사용되는 바, 용어 "프라임" 및 "부스트"는 이종성 프라임-부스트 면역화 접근법에서 사용되는 별개의 면역원성 조성물과 관련된 것이다. 면역화 또는 백신은 일반적으로 숙주에서 표적 병원체에 대한 성공적인 면역을 유도하기 위해 면역원성 조성물의 1회 초과의 투여를 필요로 한다. 모든 투여에 대해 동일한 조성물이 제공되는 상기 동종성 접근법과 비교하여, 이종성 프라임-부스트 투여는 예컨대, HBV 또는 HDV와 같은 일부 병원체에 대해 더 큰 항체 수준 및 개선된 제거 또는 내성으로 강건한 면역을 확립하는 데 더 효과적일 수 있다. 이종성 프라임-부스트 투여에서, 한 타입의 면역원성 조성물을 포함하는 적어도 하나의 프라임 용량이 먼저 제공된다. 적어도 하나의 프라임 용량 제공 후, 이어서, 또 다른 타입의 면역원성 조성물을 포함하는 적어도 하

나의 부스트 용량이 제공된다. 적어도 하나의 부스트 용량 투여는 적어도 하나의 프라임 용량 투여 후 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48일 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48주, 또는 상기 언급된 시점 중 임의의 두 시점으로 정의된 시간 범위 이내에, 예컨대, 1-48일 또는 1-48주 이내에 수행된다. 일부 실시양태에서, 프라임 용량은 하나 이상의 항원 또는 에피토프를 코딩하는 핵산 (예컨대, DNA 또는 RNA)을 포함하고, 부스트 용량은 하나 이상의 항원 또는 에피토프를 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 숙주에서, 핵산 프라임은 생체내에서 번역되어 면역 반응을 유도하고, 후속 폴리펩티드 부스트에 대해 더 큰 반응을 유발한다. 일부 실시양태에서, 핵산 프라임은 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드, 적어도 하나의 PreS1 펩티드, 및 적어도 하나의 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드 부스트는 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 및 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드를 포함한다.

[0111] 일부 실시양태에서, 실험 유기체에서 HBV 및 HDV 구성 요소를 포함하는 핵산 프라임 및 폴리펩티드 부스트의 투여는 관련 기술분야에 공지된 기술, 예컨대, ELISA에 의해 정량화된 바, 핵산 단독 또는 폴리펩티드 단독 면역화된, 또는 비면역화된 대조군 유기체와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 5000, 10000, 100000, 또는 1000000의 비, 또는 상기 언급된 비 중 임의의 두 비로 정의된 범위 이내의 임의의 비로 더 큰 항-HDAg, 항-PreS1, 항-HBV, 또는 항-HDV 항체 역가를 초래한다. 일부 실시양태에서, 실험 유기체에서 HBV 및 HDV 구성 요소를 포함하는 핵산 프라임 및 폴리펩티드 부스트의 투여는 핵산 단독 또는 폴리펩티드 단독 면역화된, 또는 비면역화된 대조군 유기체로부터의 혈청과 비교하여 혈청이 시험관내에서 HBV 또는 HDV 감염성을 더 효과적으로 중화시키고, 0.00001, 0.00005, 0.0001, 0.0005, 0.001, 0.005, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 또는 1.0의 비, 또는 상기 언급된 비 중 임의의 두 비로 정의된 범위 이내의 임의의 비로 감염 발생률을 감소시키게 한다. 일부 실시양태에서, 실험 유기체에서 HBV 및 HDV 구성 요소를 포함하는 핵산 프라임 및 폴리펩티드 부스트의 투여는 핵산 단독 또는 폴리펩티드 단독 면역화된, 또는 비면역화된 대조군 유기체와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 5000, 또는 10000의 비, 또는 상기 언급된 비 중 임의의 두 비로 정의된 범위 이내의 임의의 비로 더 많은 개수의 인터페론 감마 (IFNɣ)-양성 세포 (예컨대, T 세포)를 생성한다.

[0112] 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 애주번트와 함께 투여된다. 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 장내로, 경구적으로, 비내로, 비경구적으로, 피하로, 근육내로, 진피내로, 또는 정맥내로 또는 그의 임의의 조합으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 엔테카비어, 테노포비어, 라미부딘, 아데포비어, 텔비부딘, 엠트리시타빈, 인터페론-α, PEG화된 인터페론-α, 또는 인터페론 알파-2b, 또는 그의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는, HBV 또는 HDV에 대해 작용하는 것으로 공지된 항바이러스 요법 화합물과 함께 투여된다.

[0113] 본원에서 사용되는 바, 용어 "생체내 전기천공," "전기천공," 및 "EP"는 관련 기술분야에 공지된 기술을 사용하여 전류를 사용하여 살아있는 조직 또는 유기체의 세포로 유전자, 핵산, DNA, RNA, 단백질, 또는 벡터를 전달하는 것을 지칭한다. 전기천공은 예컨대, 바이러스 (형질도입), 리포펙션, 유전자총 (바이오리스틱스), 미세주사, 소포 융합 또는 화학적 형질전환과 같은 다른 유전자 전달 방법의 대안으로 사용될 수 있다. 전기천공은 세포 게놈의 면역원성 및 유해한 통합 또는 돌연변이유발의 위험을 제한한다. 예컨대, 플라스미드와 같은 DNA 벡터는 세포 핵에 접근할 수 있고, 이로써, 구성 유전자의 전사 및 번역을 가능하게 한다. 일부 실시양태에서, 유전자, 핵산, DNA, RNA, 단백질, 또는 벡터는 피하, 근육내 또는 진피내 주사에 의해 표적 조직 또는 유기체에 첨가된다. 이어서, 전기천공기는 주입된 샘플 내부 또는 근처에 배치된 전극을 통해 짧은 전기 펄스를 전달한다. 본원에서 사용되는 바, 용어 "im/EP"는 근육내로 ("im") 전달된 샘플의 생체내 전기천공을 지칭한다.

[0114] 본원에서 사용되는 바, 용어 "$uPA^{+/+}$-SCID"는 간염 바이러스 감염을 포함한 간 질환 연구에 사용되는 면역결핍 마우스 모델을 지칭한다. 이 마우스는 $Prkdc^{scid}$에 대해 동형접합성이며, 이는 기능성 T 및 B 림프구의 결핍을 초래한다. 우로키나제-타입 플라스미노겐 활성인자 (uPA)의 과다발현 또한 발생 동안 심각한 간 세포독성 및 간 기능 부전을 유발한다. 이어지는 인간 간 조직의 상기 마우스에게로의 이식 및 생착은 인간의 간 질환 연구에 이상적인 모델을 생성한다. $uPA^{+/+}$-SCID 마우스에 관한 추가 논의를 위해, 문헌 [Meuleman et al. "The human liver-uPA-SCID mouse: A model for the evaluation of antiviral compounds against HBV and HCV"

((2008) Antiviral Research 80(3):231-238)] (상기 문헌은 그 전문이 본원에서 명시적으로 참조로 포함된다]을 참조한다.

[0115] 본원에서 사용되는 바, 용어 "% w/w" 또는 "% wt/wt"는 본 명세서에 비추어 이해되는 바와 같은 그의 일반적인 의미를 가지며, 조성물의 전체 중량 대비 성분 또는 작용제의 중량에 100을 곱한 값으로 표시되는 비율(%)을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바, 용어 "% v/v" 또는 "% vol/vol"은 본 명세서에 비추어 이해되는 바와 같은 그의 일반적인 의미를 가지며, 조성물의 전체 액체 부피 대비 화합물, 물질, 성분, 또는 작용제의 액체 부피에 100을 곱한 값으로 표시되는 비율(%)을 지칭한다.

[0116] 본 발명은 일반적으로 다수의 실시양태를 설명하기 위해 긍정적인 표현을 사용하여 개시된다. 본 발명은 또한 예컨대, 물질(substance) 또는 물질(material), 방법 단계 및 조건, 프로토콜 또는 절차와 같은 주제가 전체 또는 부분적으로 제외되는 실시양태를 포함한다.

[0117] 면역원성 조성물 및 생성물 조합물

[0118] 본원에서는 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물을 개시한다. 일부 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 특정 항원에 대한 면역원성 반응을 유도하는 것으로 의도된다. 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 (a) D형 간염 항원 (HDAg)을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열 및 PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는 핵산; 및 (b) 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열 및 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, HDAg를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열은 서열식별번호 1, 서열식별번호 2, 서열식별번호 3 또는 서열식별번호 4, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열은 서열식별번호 9 또는 서열식별번호 10 또는 그 둘 모두를포함한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 각 HDAg 핵산 서열이 PreS1 핵산 서열과 함께 그룹화되도록 구성되고, 여기서, PreS1 핵산 서열은 HDAg 핵산 서열의 바로 하류에 있다. 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 추가로 포함하고, 여기서, 그룹화된 HDAg 및 PreS1 핵산 서열은 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열에 의해 분리되어 있다. 일부 실시양태에서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열은 돼지 테스코바이러스-1 2A (P2A), 구제역 바이러스 2A (F2A), 말 비염 A 바이러스 (ERAV) 2A (E2A) 및 토세아 아시그나 바이러스 2A (T2A) 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하고, 여기서, 각각의 코딩된 자기촉매적 펩티드 절단 부위는 임의적으로 그의 N-말단에 GSG (글리신-세린-글리신) 모티프를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열은 서열식별번호 13을 포함한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 인간에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 것이다. 일부 실시양태에서, 핵산은 서열식별번호 15-24 또는 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 서열식별번호 18, 또는 서열식별번호 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드는 서열식별번호 5, 서열식별번호 6, 서열식별번호 7 또는 서열식별번호 8 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열은 서열식별번호 11 또는 서열식별번호 12 또는 그 둘 모두를 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열은 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열의 하류에 있다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열식별번호 25-34 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열식별번호 29, 31, 32, 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 재조합적으로 발현된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 포유동물, 박테리아, 효모, 곤충에서, 또는 무세포 시스템에서 재조합적으로 발현된다. 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 애주번트를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 애주번트는 알룸, QS-21 또는 MF59, 또는 그의 임의의 조합이다. 일부 실시양태에서, 핵산은 DNA를 포함한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 재조합 벡터에 제공된다.

[0119] 또한, 본원에서는 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물을 사용하여 대상체에서 면역 반응을 생성하는 방법을 개시한다. 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 본원에 개시된 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물 중 어느 하나이다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 대상체에게 핵산을 포함하는 적어도 하나의 프라임 용량을 투여하는 단계; 및 대상체에게 폴리펩티드를 포함하는 적어도 하나의 부스트 용량을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 부스트 용량은 애주번트를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 애주번트는 알룸, QS-21, 또는 MF59, 또는 그의 임의의 조합이다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 부스트 용량은 적어도 하나의 프라임 용량 투여 후 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12,

24, 36, 또는 48일 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48주, 또는 상기 언급된 시점 중 임의의 두 시점으로 정의된 시간 범위 이내에, 예컨대, 1-48일 또는 1-48주 이내에 투여된다. 일부 실시양태에서, 투여는 장내로, 경구적으로, 비내로, 비경구적으로, 피하로, 근육내로, 진피내로, 또는 정맥내로 또는 그의 임의의 조합으로 제공된다. 일부 실시양태에서, 투여는 항바이러스 요법과 함께 수행된다. 일부 실시양태에서, 항바이러스 요법은 엔테카비어, 테노포비어, 라미부딘, 아데포비어, 텔비부딘, 엠트리시타빈, 인터페론-α, PEG화된 인터페론-α, 또는 인터페론 알파-2b, 또는 그의 임의의 조합의 투여를 포함한다.

[0120] 또한, 본원에서는 B형 간염 또는 D형 간염의 치료 또는 억제에서 사용하기 위한 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물을 개시한다. 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 본원에 개시된 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물 중 어느 하나이다. 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 (a) D형 간염 항원 (HDAg)을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열, 및 PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는 핵산; 및 (b) 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열 및 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, HDAg를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열은 서열식별번호 1, 서열식별번호 2, 서열식별번호 3 또는 서열식별번호 4를 포함한다. 일부 실시양태에서, PreS1을 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열은 서열식별번호 9 또는 서열식별번호 10 또는 그 둘 모두를 포함한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 각 HDAg 핵산 서열이 PreS1 핵산 서열과 함께 그룹화되도록 구성되고, 여기서, PreS1 핵산 서열은 HDAg 핵산 서열의 바로 하류에 있다. 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열을 추가로 포함하고, 여기서, 그룹화된 HDAg 및 PreS1 핵산 서열은 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열에 의해 분리되어 있다. 일부 실시양태에서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열은 돼지 테스코바이러스-1 2A (P2A), 구제역 바이러스 2A (F2A), 말 비염 A 바이러스 (ERAV) 2A (E2A) 및 토세아 아시그나 바이러스 2A (T2A) 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하고, 여기서, 각각의 코딩된 자기촉매적 펩티드 절단 부위는 임의적으로 그의 N-말단에 GSG (글리신-세린-글리신) 모티프를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 코딩하는 적어도 하나의 핵산 서열은 서열식별번호 13을 포함한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 인간에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 것이다. 일부 실시양태에서, 핵산은 서열식별번호 15-24 또는 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 서열식별번호 18, 또는 서열식별번호 35-36과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드는 서열식별번호 5, 서열식별번호 6, 서열식별번호 7 또는 서열식별번호 8 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열은 서열식별번호 11 또는 서열식별번호 12 또는 그 둘 모두를 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 PreS1 폴리펩티드 서열은 적어도 하나의 HDAg 폴리펩티드 서열의 하류에 있다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열식별번호 25-34 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열식별번호 29, 31, 32, 또는 37의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 재조합적으로 발현된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 포유동물, 박테리아, 효모, 곤충에서, 또는 무세포 시스템에서 재조합적으로 발현된다. 일부 실시양태에서, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물은 애주번트를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 애주번트는 알룸, QS-21, 또는 MF59, 또는 그의 임의의 조합이다. 일부 실시양태에서, 핵산은 DNA를 포함한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 재조합 벡터에 제공된다.

[0121] 실시예

[0122] 상기에서 논의된 실시양태의 일부 측면은 하기 실시예에서 추가로 상세하게 개시되며, 이는 어느 방식으로든 본 개시내용의 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원 상기에 및 청구범위에 기술된 바와 같이 다수의 다른 실시양태 또한 본 발명의 범주 내에 포함된다는 것을 이해할 것이다.

[0123] 실시예 1: 방법

[0124] 동물

[0125] 찰스 리버 라보라토리즈(Charles River Laboratories)로부터 암컷 C57BL/6 (H-2^b) 마우스를 입수하였다. 인간 백혈구 항원 A2 (HLA-A2) 트랜스제닉 HHD 마우스를 자체적으로 브리딩하였다. 모든 마우스는 실험 시작시 8-10주령이었고, 표준 조건에서 유지시켰다. 인간화 간을 갖는 $uPA^{+/+}$-SCID 마우스를 생산 및 유지시켰다. 뉴질랜드 화이트 토끼는 상업적 판매처에서 구입하였다.

[0126] *DNA 플라스미드*

[0127] 본 연구에서, HDAg/PreS1 서열의 상이합 조합으로 이루어진, 임의적으로 P2A에 의해 절단되는, L-HDAg의 유전자형 1 및 2 및 HBsAg의 PreS1 도메인 (aa 2-48)를 코딩하는 플라스미드를 융합 구축물로서 사용하였다. 유전자형 1 및 2의 HDAg 서열을 4개의 상이한 임상 분리주; US-2 및 CB, 및 7/18/83 및 TW2476으로부터 각각 입수하였다. 제한 부위 EcoR I 및 HindIII을 사용하여 모든 유전자를 pVAX1 백본 (인비트로겐(Invitrogen: 미국 캘리포니아주 칼즈배드))으로 클로닝하였다. 플라스미드를 TOP10 E. 콜라이 세포 (라이프 테크놀러지즈(Life Technologies: 미국 캘리포니아주 칼즈배드))에서 성장시키고, 생체내 주사를 위해 제조업체의 설명서에 따라 퀴아젠 엔도프리(Qiagen Endofree) DNA 정제 키트 (퀴아젠 게엠베하(Qiagen GmbH))를 사용하여 정제하였다. EcoR I 및 HindIII (패스트 다이제스트(Fast Digest), 써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific))을 사용하여 제한 효소 분해에 의해 정확한 유전자 크기를 확인하였다.

[0128] *웨스턴 블롯*

[0129] 본질적으로 일반적으로 관련 기술분야에 공지된 바와 같이 웨스턴 블롯을 수행하였다. Hela 세포를 리포펙타민(Lipofectamine)® 3000 형질감염 시약 (써모 피셔 사이언티픽)을 사용하여 각 pVAX1 D1-D10 DNA 플라스미드 및 대조군으로서 리포터 유전자 GFP가 있는 pVAX1로 형질감염시켰다. 단백질 검출을 위해, 1:1000으로 희석된 D4 백신접종된 토끼로부터의 혈청 (1차 항체) 및 1:4000으로 희석된 염소 항-토끼 면역글로불린 HRP 0.25 g/L (다코(DAKO)) (2차 항체)를 사용하였다. 화학발광 검출을 위해, 피어스 TM ECL 플러스 웨스턴 블롯팅 기질 (Pierce TM ECL Plus Western Blotting Substrate)을 사용하고, 겔 Doc XR+ 시스템(Gel Doc XR+ System) (바이오래드(Biorad))를 이용하여 이미지를 수집하였다.

[0130] *펩티드*

[0131] 10 aa 오버랩을 갖는 총 168개의 HDAg 15-mer 펩티드를 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich: 미국 미주리주 세인트 루이스)로부터 구입하였다. 168개의 펩티드를 각각 20 또는 21개의 펩티드를 함유하는 8개의 풀로 나누었다. 4개의 풀은 유전자형 1에 상응하고 (풀 1_{1-21}, 풀 2_{22-42}, 풀 3_{43-63} 및 풀 4_{64-84}), 4개의 풀은 유전자형 2 (풀 1_{1-21}, 풀 2_{22-42}, 풀 3_{43-63} 및 풀 4_{64-84})에 상응하고, 각 서열의 서열 A, B, C 및 D는 각 임상 분리주를 지칭한다.

[0132] HBV (서브-) 유전자형 A1, A2, B, B2, C, D1, E1 및 F에 대하여 10 aa 오버랩을 갖는 47 aa 및 20-mer PreS1 펩티드로 이루어진 PreS1 HBsAg (PreS1A 및 PreS1B)의 두 컨센서스 서열을 시그마-알드리치 (미국 미주리주 세인트 루이스)로부터 구입하였다. 모든 펩티드는 QC (시그마-알드리치 PEP스크린® 디렉토리(Sigma-Aldrich PEPscreen® Directory)를 통과하였고, 순도는 >70%이다. OVA 257-264 CTL (SIINFEKL (서열식별번호 38)) 및 OVA 323-339 Th (ISQAVHAAHAEINEAGR (서열식별번호 39)) 오브알부민 펩티드를 음성 펩티드 대조군으로서 사용한 반면, 시그마-알드리치 (미국 미주리주 세인트 루이스)로부터 구입한 콘카나발린 A (ConA)는 최종 농도 0.5 ㎍/㎖로 양성 대조군으로서 사용하였다.

[0133] *마우스 및 토끼에서 HBV/HDV 플라스미드의 면역원성을 평가하기 위한 면역화 프로토콜*

[0134] 생체내 구축물의 면역원성을 평가하기 위해, 마우스 및 토끼를 본질적으로 기술된 바와 같이 면역화하고, 매월 간격으로 부스팅하고, 비장 및 혈액 수집을 위해 2주 후에 희생시켰다. 간략하면, 암컷 C57BL/6 마우스 (군당 5마리)를 정규 니들 (27G) 주사에 의해 멸균 PBS 중 50 ㎕ 부피의 50 ㎍ 플라스미드 DNA로 전방 경골근 (TA) 근육에 근육내로 (i.m.) 면역화한 후, 이어서, 클리니포레이터2(Cliniporator2) 장치 (IGEA: 이탈리아 카르피)를 사용하여 생체내 전기천공 (EP)하였다. 생체내 전기천공 동안, 1 ms 600 V/cm 펄스에 이어 400 ms 60 V/cm 펄스 패턴을 사용하여 DNA 흡수가 더욱 잘 이루어질 수 있도록 촉진시켰다. 백신 주사 전, 마우스에 진통제를 투여하고, 백신접종 동안 이소플루란 마취하에 유지시켰다. 토끼 연구를 위해, 군당 2마씩 뉴질랜드 화이트 토끼를 300 ㎍ D3 및 D4 DNA 백신으로 면역화하였다. 백신을 300 ㎕ 멸균 PBS 중에서 우측 TA 근육으로 i.m. 주사에 의해 투여한 후, 생체내 EP를 수행하였다.

[0135] *효소 결합 면역스폿 검정법 (ELISpot)에 의한 IFNɣ 생산 T 세포의 검출*

[0136] 마지막 백신접종 2주 후, 각 면역화된 마우스 군으로부터의 비장세포를 풀링하고 (마우스 5마리/군), 상업적으로 이용가능한 ELISpot 검정법 (맙테크(Mabtech: 스웨덴 나카 스트랜드))을 이용하여 관련 기술분야에 공지된 바와 같이 48 h 동안 펩티드 자극 후 IFN-ɣ 분비에 기초하여 HBV/HDV 특이적 T 세포를 유도할 수 있는 그의 능력에 대해 시험하였다.

[0137] *ELISA에 의한 항체 검출*

[0138] 관련 기술분야에 공지된 프로토콜을 사용하여 PreS1 컨센서스 및 오버래핑 20 mer- 펩티드 (10 μg/mL)에 대한 마우스 및 토끼 IgG 검출을 수행하였다. 항체 역가는 405 nm에서의 OD 값이 동일한 희석률에서의 음성 대조군 (비면역화된 또는 대조군 동물 혈청)의 OD의 적어도 2배인 종점 혈청 희석률로서 결정되었다.

[0139] *인간-간 uPA-SCID 마우스 모델에서의 HBV 중화 검정법*

[0140] HepG2-NTCP-A3은 앞서 기술된 바와 같이 인간 NTCP를 발현하는 HepG2 세포로부터 유래된 선택된 세포 클론이다. 10% 우태아 혈청, 2 mM l-글루타민, 50 U/mL 페니실린 및 50 μg/mL 스트렙토마이신으로 보충된 DMEM 배지에서 배양하였다. 접종 동안 및 접종 후에 2.5% DMSO를 배지에 첨가하여 HBV 감염 및 복제를 증진시켰다. 감염에 사용된 HBV 바이러스 스톡은 기술된 바와 같이 PEG 침전에 의해 HepAD38 세포로부터 제조하였다. 감염 후 3-6일째 사이에 세포 배양 배지를 수집하고, 상업용 항체를 사용하여 HBeAg 정량화 ELISA 분석을 하기 위해 PBS로 1:5 희석시켰다.

[0141] *통계 분석*

[0142] 데이터를 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) V.5 및 V.8 소프트웨어 및 마이크로소프트 엑셀(Microsoft Excel) V.16.13.1을 사용하여 분석하였다.

[0143] 실시예 2: HBV 및 HDV 면역원성 구축물

[0144] 예를 들어, WO 2017/132332 (이는 그 전문이 본원에서 명시적으로 참조로 포함된다)에서와 같이 재조합 HBV 및 HDV 폴리펩티드 구축물 사용이 두 간염 바이러스에 대한 항체 형성 및 면역 방어를 유도하는 데 효과적인 것으로 밝혀졌다. 4개의 상이한 HDV 유전자형 (HDAg 유전자형 1 A, HDAg 유전자형 1 B, HDAg 유전자형 2 A, 및 HDAg 유전자형 2 B)으로부터 선택된 HDAg, 두 유전자형 컨센서스 서열 (PreS1 A 및 PreS1B)으로부터 선택된 PreS1, 및 하나 이상의 P2A 자기촉매적 펩티드 절단 부위를 조합하여 상기 재조합 폴리펩티드 구축물을 어셈블리하였다. 11개의 재조합 구축물에 대한 개략도가 도 1a 및 2에 제시되어 있고, 해당되는 경우, DNA 및 폴리펩티드 서열에 대한 상응하는 서열식별번호는 표 1에 제공되어 있다. Δ-1 내지 Δ-10 재조합 구축물로부터 폴리펩티드가 적절하게 발현되었다는 것을 웨스턴 블롯을 통해 확인할 수 있다 (도 1b).

[0145] 표 1: HBV/HDV 면역원성 구축물에 대한 서열식별번호

명칭	인간 코돈 최적화된 DNA 서열	폴리펩티드 서열
Δ-1 (델타-1; D1)	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 25
Δ-2 (델타-2; D2)	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 26
Δ-3 (델타-3; D3)	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 27
Δ-4 (델타-4; D4)	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 28
Δ-5 (델타-5; D5)	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 29
Δ-6 (델타-6; D6)	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 30
Δ-7 (델타-7; D7)	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 31
Δ-8 (델타-8; D8)	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 32
Δ-9 (델타-9; D9)	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 33
Δ-10 (델타-10; D10)	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 34
Δ-7 + Δ-8 융합체 (델타-7+델타-8; D-7+D8)	SEQ ID NO: 36 (야생형 서열: SEQ ID NO: 35)	SEQ ID NO: 37

[0146]

[0147] 실시예 3: HBV/HDV DNA 조성물이 마우스에서 면역원성 반응을 유도한다

[0148] 면역원성 조성물 및 백신은 전통적으로 전체 유기체 또는 항원성 단백질이었지만, 살아있는 조직에의 DNA 생체내 투여 및 후속된 항원성 단백질의 전사 및 번역 또한 면역 반응을 유발하는 데 매우 효과적이라는 것이 최근 밝혀졌다. 이러한 DNA 면역원성 조성물은 다양한 질환에 대한 잠재적인 백신 후보로서 탐색되고 있다.

[0149] DNA 구축물 조성물의 2차 투여 후 2주 후, HBV 및 HDV 항원에 대한 마우스의 면역을 평가하였다. 백혈구를 마우스 전혈 샘플로부터 정제하고, PreS1 A, PreS1 B, HDAg 유전자형 1 A, 1 B, 2 A, 및 2 B를 비롯한, 정제된 폴리펩티드 항원과 함께 인큐베이션시켰다. 세포를 또한 양성 대조군으로서 콘카나발린 A ("ConA")와 함께, 및

음성 대조군으로서 두 오브알부민 펩티드 ("OVA Th" 및 "OVA CTL")와 함께 인큐베이션시켰다. 항원 노출에 대한 반응으로 나타나는 인터페론 감마 (IFNɣ) 생산 세포의 집단 빈도를 효소 결합 면역스폿 검정법 (ELISpot)에 의해 평가하였다. 간략하면, 백혈구를 IFNɣ 항체로 코팅된 웰에서 항원과 함께 인큐베이션시켰다. 이어서, 세포를 제거하고, 비오티닐화된 IFNɣ 항체, 알칼리성 포스파타제-가교결합된 스트렙타비딘 및 알칼리성 포스파타제 기질 비색 시약을 중간에 철저히 세척하면서 웰에 연속하여 첨가하였다. 이어서, 플레이트를 건조시키고, IFNɣ-분비 세포에 상응하는 잔여 착색 스폿을 현미경법으로 계수하였다. 각 마우스의, 다양한 펩티드 항원에 대한 반응으로 나타내는 10^6개의 총 세포당 IFNɣ 스폿 형성 세포 총 개수 정량치가 도 3a (Δ-1 및 Δ-2), 3b (Δ-3 및 Δ-4), 3c (Δ-5 및 Δ-6), 3d (Δ-7 및 Δ-8), 및 3e (Δ-9 및 Δ-10)에 제시되어 있다.

[0150] 항-혈청을 20-mer PreS1-펩티드 풀을 이용하여 PreS1A 및 PreS1B 컨센서스 펩티드 (aa 2-48)에 대한 반응성, 및 HBV (서브-) 타입 A1, A2, B, B2, C, D1, E1 및 F에 대한 교차-반응성에 대하여 시험하였다. Δ-1, Δ-2, Δ-3, Δ-4, Δ-7, 및 Δ-8을 포함하는 면역원성 조성물은 두 HBV PreS1 항원 모두에 대하여 강건한 면역원성을 초래하였다 (도 4a-b). Δ-3 및 Δ-4는 마우스에서 항체 역가 $>10^4$를 유도하였고, 그 다음은 구축물 Δ-1, Δ-2, Δ-7 및 Δ-8 순이었다. 중요하게, Δ-4 및 Δ-7로 면역화된 마우스로부터의 항-혈청은 시험된 모든 HBV 타입 사이에서 효과적으로 교차 반응하였다 (도 4c). HDAg 펩티드에 대한 면역 반응은 가능하게는 유전자형 서열의 차이로 인해 더욱 가변적이었지만, 전형적으로는 오브알부민 대조군보다 더 컸다. 특히, 즉, 오직 HDAg만을 함유하는 구축물 (Δ-5, Δ-6, Δ-9, Δ-10)과 비교하였을 때, Δ-3 및 Δ-4 처리군에서는 HDV T 세포 반응의 약간의 감소가 관찰되는데, 이는 PreS1 특이적 T 세포의 동시 프라이밍과 에피토프 인식 경쟁에 기인하는 것일 수 있다. 전반적으로, 이는 능동 면역화가 PreS1 및 HDAg 항원에 대한 기능적 T 세포를 유도할 수 있음을 보여주며, 광범위한 기능적 면역 요법이 특정 T 세포의 유도를 보장하기 위해서는 HDV 유전자형 1 및 2, 둘 모두를 포함하여야 한다는 것을 시사하는 것이다.

[0151] HLA-A2 트랜스제닉 HHD 마우스로부터 정제된 HLA-A2 제한 T 세포를 이용하여 유사한 실험을 수행하였다. 대조군으로서 나이브 HLA-A2 HHD 마우스 (도 5c)와 함께, 정상 C57BL/6 (도 5a) 및 Δ-4를 포함하는 조성물이 전기천공된 HLA-A2 HHD (도 5b) 마우스의 IFNɣ ELISpot을 통해 트랜스제닉 마우스에서의 면역원성을 확인하였으며, 이는 인간을 치료하는 데 있어 DNA 조성물의 효능을 시사한다.

[0152] 실시예 4: HBV/HDV DNA 조성물은 토끼에서 면역원성 반응을 유도한다

[0153] 실시예 3에 기술된 상응하는 실험 또한 토끼 (오릭토라구스 쿠니쿠러스(*Oryctolagus cuniculus*))에서 수행하였다. Δ-3 또는 Δ-4를 포함하는 900 μg DNA 조성물을 함유하는 염수 용액을 뉴질랜드 화이트 토끼에 근육내로 주사하고, 전기천공을 수행하였다. 0 및 4주째 용량을 투여하였다. 면역화 후, Δ-3 또는 Δ-4를 포함하는 두 DNA 조성물 모두에 대해 토끼 혈청 중 항-PreS1 항체 역가를 관찰하였고, Δ-4가 더 효과적이었다 ($>10^3$) (도 6a-b). 20-mer PreS1 펩티드 풀을 이용하여 HBV (서브-) 타입 A1, A2, B, B2, C, D1, E1 및 F에 대한 토끼 항-혈청의 교차-반응성 또한 시험하였다 (도 6c). HBV 타입 A1, A2, B, B2, C, D1, E1 및 F의 20-mer PreS1 펩티드를 개별적으로 이용하여 토끼 D4 항-혈청의 미세 특이성을 결정하였다 (도 6d). 이를 통해 에피토프를 더 높은 반응성으로 나타나고, 이어서, 유전자형 C, E1 및 A1에 대해서는 더 낮은 반응성으로 나타난, 유전자형 D1의 영역 22-48 aa에 위치하는 PreS1로 맵핑하였다. 이는 NTCP 결합 부위와, 및 중화 항체에 의해 인식되는 이전에 확인된 에피토프와 부분적으로 오버래핑된다.

[0154] 표 2는 10개의 DNA 면역원성 조성물의 면역 효과를 요약한 것이다. Δ-4를 포함하는 DNA 조성물을 통해서는 마우스 및 토끼, 둘 모두에서 가장 큰 항-PreS1/항-HBV 항체 역가를 얻었고, 이를 후속 실시예의 프라임/부스트 면역화에서 사용한다. Δ-4는 또한 상이한 HBV 유전자형에 대해 가장 광범위한 반응성을 나타낸다. "n.d"는 낮거나, 또는 검출불가능한 수준의 항체 활성을 의미한다. "n/a"는 실험이 수행되지 않은 것을 의미한다.

[0155] 표 2: HBV/HDV DNA 백신 스크린 (50 ㎍ DNA im/EP)

후보	HDV 유전자형 (Gt)	마우스에서의 항-PreS1 역가	마우스에서의 유전자형 교차-반응성	토끼에서의 항-PreS1 역가
Δ-1	Gt 1 및 2	1:2160	C, D, E	n/a
Δ-2	Gt 1 및 2	1:2160	A1, A2, B2, C, D, E	<1:60
Δ-3	Gt 1 및 2	1:2160-1:12960	D, E	1:360
Δ-4	Gt 1 및 2	1:12960	A-F	1:2560
Δ-5	Gt 1 및 2	n.d.	n.d.	n/a
Δ-6	Gt 1 및 2	n.d.	n.d.	n/a
Δ-7	Gt 1	1:2160	A-E	n/a
Δ-8	Gt 2	1:2160	C, D, E	n/a
Δ-9	Gt 1	n.d.	n.d.	n/a
Δ-10	Gt 2	n.d.	n.d.	n/a

[0156]

[0157] 실시예 5: HBV/HDV 구축물을 이용한 DNA 프라임/단백질 부스트 접근법이 마우스에서 면역원성 반응을 개선시킨다

[0158] 생체내에서 적응 면역을 구축하고, HBV 및/또는 HDV에 대한 항체 생산을 유도하기 위한 DNA 프라임/단백질 부스트 면역화 접근법을 위해 Δ-4 (서열식별번호 18)를 포함하는 DNA 조성물 및 Δ-7 (서열식별번호 31) 또는 Δ-8 (서열식별번호 32)을 포함하는 폴리펩티드 조성물을 사용하였다 (도 2).

[0159] C57BL/6 마우스를 (1) Δ-4를 포함하는 DNA 조성물 (50 ㎍ DNA의 3회의 순차적 투약), (2) Δ-7을 포함하는 폴리펩티드 조성물 (알룸 애주번트와 함께 20 ㎍ 단백질의 3회의 순차적 투약), 또는 (3) Δ-4를 포함하는 DNA 조성물, 이어서, Δ-8을 포함하는 폴리펩티드 조성물 (50 ㎍ DNA 2회 투약, 이어서, 알룸과 함께 20 ㎍ 단백질 2회 투약)로 면역화하였다. 화합물 투여 후, 정제된 백혈구를 (실시예 1 및 2에 기술된 바와 같이) ELISpot에 의해 HBV 및 HDV 항원에 대한 반응으로 나타나는 IFNɣ 생산에 대하여 시험하였다. (1)로 처리된 마우스는 실시예 3 및 도 3b에서 관찰된, 간염 항원에 상응하는 반응을 나타내었지만 (도 7a), (3)의 DNA 프라임/단백질 부스트 조성물로 처리된 마우스는 전반적으로 비교적 더 강력한 면역 세포 반응을 나타냈다 (도 7c). Δ-8은 HDAg 유전자형 2 폴리펩티드에 대한 서열을 포함하는 바, 검정된 면역 반응은 특히 이들 항원에 대해 개선된다 (도 7c, gtp 2-풀 5, 6, 7 및 8). 반대로, Δ-7 폴리펩티드를 사용하는 (2)의 단백질 단독 접근법은 HBV 및 HDV 항원, 둘 모두에 대해 동등하게 효과적인 면역 반응을 유도하는 데 둘 모두 실패하였다 (도 7b). 이는 상기 DNA 프라임/단백질 부스트 접근법이 HBV 및 HDV를 비롯한 특정 병원체에 대하여 전통적인 단백질 또는 유기체 기반 조성물보다 더 큰 강건한 면역원성 반응을 유도하는 데 효과적일 수 있다는 것을 입증하는 것이다.

[0160] 다른 DNA 프라임/단백질 부스트 조합 또한 마우스에서 평가하였다. (1) Δ-4를 포함하는 DNA 단독 조성물 ("D4"), (2) Δ-7 ("D7-D7"), Δ-8 ("D8-D8"), Δ-9 ("D9-D9"), 또는 Δ-10 ("D10-D10")을 포함하는 단백질 단독 조성물, 또는 (3) Δ-4 DNA를 Δ-7 ("D4-D7"), Δ-8 ("D4-D8"), Δ-9 ("D4-D9"), 또는 Δ-10 ("D4-D10") 단백질과 함께 포함하는 DNA-단백질 조성물로 면역화한 후, 마우스에서 항-PreS1 IgG 역가를 측정하였다. 조성물을 0, 4, 및 8주째에 3회에 걸쳐 투여하였고, 매회 투약시 50 ㎍ DNA im/EP 또는 알룸과 함께 20 ㎍ 단백질을 투여하였다. DNA-단백질 조성물 (3)의 경우, 제1 투약을 위해 50 ㎍ DNA im/EP를 0주째 투여하였고, 제2 및 제3 투약을 위해 알룸과 함께 20 ㎍ 단백질을 4 및 8주째에 투여하였다. 제1 투여 후 2주 (도 8a), 6주 (도 8b), 및 10주 (도 8c) 후에 (즉, 각 투여 후 2주) 혈청 중 항-PreS1 IgG 역가를 평가하였다. DNA 프라임/단백질 부스트 조성물 D4-D7을 통해 투약 투여 스케줄 완료시 우수한 항-PreS1 역가를 얻었다.

[0161] 실시예 6: HBV/HDV 구축물을 이용한 DNA 프라임/단백질 부스트 접근법이 토끼에서 면역원성 반응을 개선시킨다

[0162] 뉴질랜드 화이트 토끼를 (1) Δ-4를 포함하는 DNA 단독 조성물, (2) Δ-4를 포함하는 단백질 단독 조성물, 또는 (3) Δ-4 DNA 및 Δ-4 단백질을 포함하는 DNA 프라임/단백질 부스트 조성물로 면역화하였다. 조성물을 0, 4, 8, 및 12주째에 4회에 걸쳐 투여하였고, 매회 투약시 900 ㎍ DNA im/EP 또는 알룸과 함께 300 ㎍ 단백질을 투여하였다. DNA-단백질 조성물 (3)의 경우, 제1 투약을 위해 900 ㎍ DNA im/EP를 0주째 투여하였고, 제2, 제3, 및 제4 투약을 위해 알룸과 함께 300 ㎍ 단백질을 4, 8, 및 12주째에 투여하였다. 0, 2, 10, 및 14주째 (즉,

각 투여 후 2주) 혈청 중 항-PreS1 IgG 역가를 평가하였다 (도 9). DNA 단독 (1) 및 단백질 단독 (2) 조성물과 비교하여 DNA 프라임/단백질 부스트 조성물 (3)을 통해 전반적으로 더욱 큰 역가를 얻었을 뿐만 아니라, 단백질 단독 조성물 대비로 2주만큼 더 빠르게 강건한 항체 생산을 유도하였다.

[0163] 실시예 7: 면역화된 동물로부터의 혈청 또는 정제된 IgG의 입양 전달이 HBV 및 HDV 챌린지로부터 인간화 마우스를 방어한다

[0164] 기술된 바와 같이 인간-간 키메라 $uPA^{+/+}$-SCID 마우스 모델을 사용하여 생체내에서 HBV 감염을 중화시킬 수 있는 D4 유도된 항체의 능력을 결정하였다. D4 면역화 및 비면역화된 토끼로부터 전체 IgG를 정제하고, HBV 챌린지 3일 전 인간 간세포가 재증식된 $uPA^{+/+}$-SCID 마우스에 주사하였다. D4 유도된 PreS1 IgG 항체는 챌린지된 모든 마우스에서 피크 바이러스혈증을 보호하거나 유의적으로 지연시켰다 (도 10a). 챌린지된 마우스 3마리 중 1마리는 보호된 반면 (1 내지 3주째), 나머지 2마리는 월별 스크리닝까지 HBV $<10^4$ IU/ml의 혈청 수준을 발생시켰고, 최대 8주 추적 관찰까지 대조군에 비해 더 낮은 수준을 유지하였다. 나이브 토끼로부터의 IgG로 처리된 대조군 마우스 모두 10^8 IU/ml를 초과하는 혈청 HBV DNA 수준에 도달하였다. 알라닌 트랜스퍼라제, 아스파라긴 트랜스퍼라제, 알칼리성 포스파타제, 또는 빌리루빈의 혈청 수준과 관련하여 군 간에 유의한 차이는 없었다 (도 10b). 결론적으로, 단일 용량으로 제공된 D4 특이적 PreS1 IgG 항체를 사용한 수동 면역화는 인간 간세포가 재증식된 마우스에서 생체내에서 HBV 감염을 예방하거나, 또는 유의적으로 지연시킬 수 있었다 (표 3). 중요하게도, 접종물은 높은 수준의 서브-바이러스 입자 SHBsAg를 함유하며, 이들 항체는 실제로 SHBsAg에 의해 차단되는 것을 피할 수 있음을 보여준다. 접종시 및 첫 주 동안 존재하는 PreS1 항체는 감염 또는 제1 라운드의 감염을 명확하게 차단하고, 감염된 간세포의 개수를 제한한다. 이는 바이러스 확산을 제한하고, 피크 바이러스혈증의 발생을 지연시킨다.

[0165] 표 3: DNA/단백질 백신접종된 동물로부터의 입양 전달이 HBV/HDV로부터 방어한다

감염	전달 공급원	처리	마우스 마리수	감염 부재	낮은 수준의 감염	높은 수준의 감염
HBV	정제된 토끼 IgG	대조군	3	0	0	3
HBV	정제된 토끼 IgG	D4 DNA	3	1	2	0
HBV/HDV	전체 마우스 혈청	대조군	3	0	0	3
HBV/HDV	전체 마우스 혈청	D7 단백질 /알룸	2	2	0	0
HBV/HDV	전체 마우스 혈청	D4 DNA +D7/알룸	3	3	0	0

[0166]

[0167] 실시예 8: 상이한 애주번트를 이용한 HBV/HDV 펩티드 구축물의 챌린지

[0168] 상이한 애주번트를 사용하여 D-7 및 D-8 펩티드의 혼합물을 평가하였다. C57BL/6J 마우스에 0주째 및 3주째 2라운드에 걸쳐 투여되는 20 ㎍의 D-7 및 D-8 펩티드의 혼합물 (D-7 및 D-8 펩티드 각각 10 ㎍씩)을 투여하였다 (도 11a). 말초 혈액 샘플을 2주째 (두 라운드 사이)에 채취하여 ELISA에 의해 HBV 및 HDV 반응성에 대한 최종 역가를 측정하고 (도 11a 및 11b), 5주째 ELISpot에 의한 HBV 및 HDV 반응성 (도 11c-d)을 위해 비장세포를 단리시켰다. 펩티드 조성물을 QS-21, MF59, 및 알룸 애주번트와 피하로 투여하였다. 나이브 마우스 및 근육내 전기천공에 의해 D-4 DNA 플라스미드를 투여받은 마우스를 대조군으로서 사용하였다. 대조군으로서 OVA 펩티드 및 콘카나발린 A와 함께 HDAg 펩티드, PreS1A 및 PreS1B 펩티드 풀을 사용하여 상기 기술된 바와 같이 IFNɣ ELISpot을 수행하였다 ((도 11c-d). 다른 애주번트와 비교하여 QS-21 애주번트와 함께 투여된 조성물은 상승된 HDAg 반응성을 보였다. 군당 마우스 5마리를 시험하였다.

[0169] 실시예 9: 예시적인 HBV/HDV DNA 및/또는 펩티드 구축물 비교

[0170] 대조군으로서 D-4 DNA 단독 및 나이브 조건과 1) D-7 및 D-8 펩티드의 혼합물 단독, 2) D-7+D-8 융합 펩티드 단

독, 3) D-4 DNA 프라임 및 D-7 및 D-8 펩티드의 혼합물 부스트에 대한 면역원성 비교를 시험하였다. 마우스에 20 ㎍의 D-7+D-8 융합 단백질 또는 10 ㎍씩 각각 D-7 및 D-8 펩티드를 혼합 조건하에 QS-21 애주번트와 함께 피하로 100 ㎕ 부피로 꼬리 기저부에 투여하였다. 0 및 4주째에 2라운드에 걸쳐 투여를 수행하였다. D-4 DNA 대조군을 50 ㎕ PBS 중 50 ㎍으로 근육내로 투여하고, 전기천공을 수행하였다. (2라운드의 투여 후) 6주째, PreS1 및 HDV 항원 유전자형 1 및 2에 대한 T 세포 반응을 IFNɣ ELISpot에 의해 결정하였다 (도 12a). 추가로, (1라운드의 투여 후) 2주째 및 (2라운드의 투여 후) 6주째, PreS1A (도 12b-c) 및 PreS1B (도 12d) 컨센서스 펩티드에 대한 항체 수준을 평가하였다. DNA 프라임, 펩티드 부스트 조건에서 최대 HBV 및 HDV 반응성이 관찰된다.

[0171] 실시예 10: 인간 임상 시험에서의 HBV 및/또는 HDV에 대한 DNA 또는 단백질 프라임과 DNA 또는 단백질 부스트 면역화

[0172] 하기 실시예는 바이러스, 예컨대, HBV 및 HDV에 의해 유발되는 바이러스 감염을 치료 또는 예방하는 데 사용되는, 임의적으로, 핵산 구성 요소 및 폴리펩티드 구성 요소로 구성된, 면역원성 조성물 또는 생성물 조합물을 이용하는 실시양태를 기술한다.

[0173] 실시예 5에 기술된 바와 같이 DNA 프라임/단백질 부스트 조성물을 인간 환자에게 장내로, 경구적으로, 비내로, 비경구적으로, 피하로, 근육내로, 진피내로, 또는 정맥내로 투여한다. 상기 인간 환자는 현재 HBV 및/또는 HDV로 감염된 상태이거나, HBV 및/또는 HDV로 이전에 감염된 적이 있거나, HBV 및/또는 HDV로 감염될 위험이 있거나, 또는 HBV 및/또는 HDV로 감염되지 않은 것일 수 있다.

[0174] DNA 프라임 용량은 먼저 1, 10, 100, 1000 ng, 또는 1, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 ㎍, 또는 1, 10, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 mg, 또는 상기 언급된 양 중 임의의 두 양으로 정의된 범위 이내의 어느 양이든 그러한 양으로, 또는 인간에서 최적의 효능을 발휘하는 데 적절한 임의의 다른 양으로 투여된다. 제1 DNA 프라임 용량 후, 1, 2, 3, 4, 또는 5회의 추가 DNA 프라임 용량은 이전 DNA 프라임 용량 투여 후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48일 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48주 또는 상기 언급된 시간 중 임의의 두 시간으로 정의된 범위 이내에 언제든지, 예컨대, 1-48일 또는 1-48주 이내에 투여될 수 있다. 단백질 부스트 용량은 DNA 프라임 용량 후, 1, 10, 100, 1000 ng, 또는 1, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 ㎍, 또는 1, 10, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 mg, 또는 상기 언급된 양 중 임의의 두 양으로 정의된 범위 이내의 어느 양이든 그러한 양으로, 또는 인간에서 최적의 효능을 발휘하는 데 적절한 임의의 다른 양으로 투여된다. 제1 단백질 부스트 용량은 최종 DNA 프라임 용량 투여 후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48일 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48주 또는 상기 언급된 시간 중 임의의 두 시간으로 정의된 범위 이내에 언제든지 투여된다. 제1 단백질 부스트 용량 후, 1, 2, 3, 4, 또는 5회의 추가 단백질 부스트 용량은 이전 단백질 부스트 용량 투여 후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48일 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 또는 48주 또는 상기 언급된 시간 중 임의의 두 시간으로 정의된 범위 이내에 언제든지 투여될 수 있다.

[0175] 환자는 HBV 및/또는 HDV에 대한 성공적인 반응, 예를 들어, 혈청 중 항-HBV, 항-HDV, 항-PreS1, 또는 항-HDAg 항체 생성, HBV 및/또는 HDV 항원에의 노출시 T 세포 및 다른 면역 세포의 신속한 활성화, 및 추후 HBV 및/또는 HDV 감염으로부터의 방어에 대해 모니터링될 것이다.

[0176] HBV 및/또는 HDV로 현재 감염된 상태이거나, 이전에 감염된 적이 있거나, 또는 감염 위험이 있는 환자에서, DNA 프라임/단백질 부스트 조성물 투여는 항바이러스 요법과 함께 수행될 수 있다. HBV 또는 HDV에 대하여 효과가 있는 것으로 밝혀진 강력한 항바이러스 요법 치료제로는 엔테카비어, 테노포비어, 라미부딘, 아데포비어, 텔비부딘, 엠트리시타빈, 인터페론-α, PEG화된 인터페론-α, 또는 인터페론 알파-2b, 또는 그의 임의의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 환자는 부작용, 예컨대, 현기증, 메스꺼움, 설사, 우울증, 불면증, 두통, 가려움증, 발진, 발열 또는 제공된 항바이러스 치료제의 공지된 다른 부작용에 대해 모니터링될 것이다.

[0177] 앞서 기술된 실시양태들 중 적어도 일부에서, 한 실시양태에서 사용된 하나 이상의 요소는 교체가 기술상 실현 불가능하지 않는 한, 또 다른 실시양태에서 상호교환적으로 사용될 수 있다. 청구된 주제의 범주로부터 벗어남 없이, 상기 기술된 방법 및 구조에 대해 다양한 다른 생략, 추가 및 수정이 이루어질 수 있다는 것이 관련 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다. 이러한 모든 수정 및 변경은 첨부된 청구범위에 의해 정의된 바와 같이 주제의 범주 내에 속하는 것으로 의도된다.

[0178] 실질적으로 임의의 복수 및/또는 단수 용어의 사용과 관련하여, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 맥락 및/또는 적용에 맞게 적절히 복수에서 단수로 및/또는 단수에서 복수로 번역할 수 있다. 명료함을 위해 다양한 단수/복수 순열이 본원에서 명시적으로 기술될 수 있다.

[0179] 일반적으로, 본원에서 및 특히 첨부된 청구범위 (예컨대, 첨부된 청구범위의 본문)에서 사용되는 용어는 일반적으로 "개방형" 용어로서 의도된다는 것 (예를 들어, "포함하는"이라는 용어는 "~을 포함하나, 이에 제한되지 않는"으로 해석되어야 하고, "가지는"이라는 용어는 "적어도 ~을 갖는"으로 해석되어야 하고, "포함하다"라는 용어는 "~을 포함하나, 이에 제한되지 않는다"로 해석되어야 한다는 것 등)이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다. 특정 번호의 도입된 청구범위 인용이 의도된 경우, 그러한 의도는 청구범위에 명시적으로 인용될 것이며, 그러한 인용이 없을 경우, 그러한 의도가 존재하지 않는다는 것도 추가로 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다. 예를 들어, 이해를 돕기 위해 하기 첨부된 청구범위는 청구범위 인용을 도입하기 위해 "적어도 하나의" 및 "하나 이상의"라는 도입 어구의 사용을 포함할 수 있다. 그러나, 그러한 어구의 사용이 단수형태 "하나"에 의한 청구범위 인용의 도입이 그러한 도입된 청구범위 인용을 포함하는 임의의 특정 청구범위를 오직 단 하나의 상기 인용만 포함하는 실시양태로 제한한다는 것을 의미하는 것으로 해석되어서는 안되며, 심지어 동일한 청구범위가 "하나 이상의" 또는 "적어도 하나의"라는 도입 어구 및 "예컨대, "하나"라는 단수형태를 포함하는 경우에도 그러하며 (예컨대,"하나" (예컨대, "하나" 및/또는 "하나")는 "적어도 하나의" 또는 "하나 이상의"를 의미하는 것으로 해석되어야 하며); 청구범위 인용을 도입하기 위해 사용되는 정관사를 사용하는 경우에도 마찬가지이다. 추가로, 특정 번호의 도입된 청구범위 인용이 명시적으로 언급되는 경우에도, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 그러한 인용은 적어도 인용된 번호를 의미하는 것 (예를 들어, 다른 수식어 없이, "2개 인용"이라는 기본적 인용은 적어도 2개 인용, 또는 2개 이상 인용을 의미한다는 것)으로 해석되어야 한다는 것을 인식할 것이다. 추가로, "A, B, 및 C 등 중 적어도 하나"와 유사한 관례가 사용되는 경우, 일반적으로 그러한 구성은 관련 기술분야의 통상의 기술자가 관례를 이해하는 의미 (예컨대, "A, B 및 C 중 적어도 하나의 것을 갖는 시스템"은 A 단독, B 단독, C 단독, A 및 B를 함께, A 및 C를 함께, B 및 C를 함께, 및/또는 A, B, 및 C를 함께 갖는 시스템 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다는 것)로 의도된다. "A, B, 또는 C 등 중 적어도 하나"와 유사한 관례가 사용되는 경우, 일반적으로 그러한 구성은 관련 기술분야의 통상의 기술자가 관례를 이해하는 의미 (예컨대, "A, B, 또는 C 중 적어도 하나의 것을 갖는 시스템"은 A 단독, B 단독, C 단독, A 및 B를 함께, A 및 C를 함께, B 및 C를 함께, 및/또는 A, B, 및 C를 함께 갖는 시스템 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다는 것)로 의도된다. 설명, 청구범위 또는 도면에서든지 간에 둘 이상의 대체 용어를 나타내는 이접적 단어 및/또는 어구는 사실상 용어 중 하나, 용어 중 어느 것이든 하나, 또는 그 둘 모두의 용어를 포함할 가능성을 고려하는 것으로 이해되어야 한다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 추가로 이해될 것이다. 예를 들어, "A 또는 B"라는 어구는 "A" 또는 "B" 또는 "A 및 B"의 가능성을 포함하는 것으로 이해될 것이다.

[0180] 또한, 본 개시내용의 특징 또는 측면이 마쿠쉬(Markush) 그룹으로 기술되는 경우, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 개시내용이 이에 의해 마쿠쉬 그룹의 임의의 개별 구성원 또는 구성원의 서브군으로 기술되는 것을 인식할 것이다.

[0181] 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 예컨대, 서면 설명을 제공하는 것과 같은 임의의 모든 목적을 위해, 본원에 개시된 모든 범위는 그의 임의의 및 모든 가능한 하위 범위 및 하위 범위의 조합을 포함한다. 임의의 열거된 범위는 동일한 범위를 적어도 동일한 절반, 3분의 1, 4분의 1, 5분의 1, 10분의 1 등으로 나눌 수 있도록 충분히 설명하고 가능하게 하는 것으로 쉽게 인식될 수 있다. 비제한적인 예로서, 본원에서 논의된 각 범위는 하위 1/3, 중간 1/3 및 상위 1/3 등으로 쉽게 분류될 수 있다. 또한 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 예컨대, "최대," "적어도," "초과," "미만" 등과 같은 모든 표현은 언급된 수치를 포함하고, 후속하여 상기 논의된 서브 범위로 나뉠 수 있는 범위를 지칭한다. 마지막으로, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 범위는 각각의 개별 구성원을 포함한다. 따라서, 예를 들어, 1-3개의 항목을 갖는 군은 1, 2 또는 3개의 항목을 갖는 군을 의미한다. 유사하게, 1-5개의 항목을 갖는 군은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 항목을 갖는 군 등을 지칭한다.

[0182] 본원에서 다양한 측면 및 실시양태가 개시되었지만, 다른 측면 및 실시양태가 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 자명할 것이다. 본원의 다양한 측면 및 실시양태는 예시 목적으로 개시된 것이며, 제한하는 것으로 의도되지 않고, 진실된 범주 및 정신은 하기 청구범위에 의해 명시된다.

[0183] 공개 및 비공개 출원, 특허, 및 문헌 참고문헌을 포함하나, 이에 제한되지 않는, 본원에서 인용된 모든 참고 문헌은 그 전문이 본원에서 참조로 포함되며, 본원에서 본 명세서의 일부를 구성한다. 참조로 포함된 공개문헌

및 특허 또는 특허 출원이 본 명세서에 포함된 개시내용과 모순되는 정도로 본 명세서는 그러한 모순되는 자료를 대체 및/또는 우선하도록 의도된다.

[0184] 참고문헌

Razavi-Shearer D, Gamkrelidze I, Nguyen MH, Chen D-S, Van Damme P, Abbas Z, *et al.* Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2018; **3**:383–403.

Trépo C, Chan HLY, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2014; **384**:2053–2063.

WHO | Global hepatitis report, 2017. *WHO* 2018.

Mitra B, Thapa RJ, Guo H, Block TM. Host functions used by hepatitis B virus to complete its life cycle: Implications for developing host-targeting agents to treat chronic hepatitis B. *Antiviral Res* 2018; **158**:185–198.

Chen H-Y, Shen D-T, Ji D-Z, Han P-C, Zhang W-M, Ma J-F, *et al.* Prevalence and burden of hepatitis D virus infection in the global population: a systematic review and meta-analysis. *Gut* 2018; :gutjnl-2018-316601.

Liu J, Li T, Zhang L, Xu A. The Role of Hepatitis B Surface Antigen in Nucleos(t)ide Analogues Cessation among Asian Chronic Hepatitis B Patients: A Systematic Review. *Hepatology* Published Online First: 18 December 2018. doi:10.1002/hep.30474

Nassal M. HBV cccDNA: viral persistence reservoir and key obstacle for a cure of chronic hepatitis B. *Gut* 2015; **64**:1972–1984.

Papatheodoridis G V., Manolakopoulos S, Touloumi G, Vourli G, Raptopoulou-Gigi M, Vafiadis-Zoumbouli I, *et al.* Virological suppression does not prevent the development of hepatocellular carcinoma in HBeAg-negative chronic hepatitis B patients with cirrhosis receiving oral antiviral(s) starting with lamivudine monotherapy: results of the nationwide

[0185]

HEPNET. Greece cohort study. *Gut* 2011; **60**:1109–1116.

Zoulim F, Mason WS. Reasons to consider earlier treatment of chronic HBV infections. *Gut* 2012; **61**:333–336.

Heidrich B, Yurdaydın C, Kabaçam G, Ratsch BA, Zachou K, Bremer B, *et al.* Late HDV RNA relapse after peginterferon alpha-based therapy of chronic hepatitis delta. *Hepatology* 2014; **60**:87–97.

Wedemeyer H, Yurdaydin C, Dalekos GN, Erhardt A, Çakaloğlu Y, Değertekin H, *et al.* Peginterferon plus Adefovir versus Either Drug Alone for Hepatitis Delta. *N Engl J Med* 2011; **364**:322–331.

Feld JJ, Terrault NA, Lin HS, Belle SH, Chung RT, Tsai N, *et al.* Entecavir and peginterferon alfa-2a in adults with HB eAg-positive immune tolerant chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2018; :hep.30417.

Chen M, Sällberg M, Thung SN, Hughes J, Jones J, Milich DR. Nondeletional T-cell receptor transgenic mice: model for the CD4(+) T-cell repertoire in chronic hepatitis B virus infection. *J Virol* 2000; **74**:7587–99.

Chen M, Sallberg M, Hughes J, Jones J, Guidotti LG, Chisari F V., *et al.* Immune Tolerance Split between Hepatitis B Virus Precore and Core Proteins. *J Virol* 2005; **79**:3016–3027.

Chen MT, Billaud J-N, Sallberg M, Guidotti LG, Chisari F V., Jones J, *et al.* A function of the hepatitis B virus precore protein is to regulate the immune response to the core antigen. *Proc Natl Acad Sci* 2004; **101**:14913–14918.

Mason WS, Gill US, Litwin S, Zhou Y, Peri S, Pop O, *et al.* HBV DNA Integration and Clonal Hepatocyte Expansion in Chronic Hepatitis B Patients Considered Immune Tolerant. *Gastroenterology* 2016; **151**:986–998.e4.

Milich DR. The Concept of Immune Tolerance in Chronic Hepatitis B Virus Infection Is Alive and Well. *Gastroenterology* 2016; **151**:801–804.

Short JM, Chen S, Roseman AM, Butler PJG, Crowther RA. Structure of Hepatitis B Surface Antigen from Subviral Tubes Determined by Electron Cryomicroscopy. *J Mol Biol* 2009; **390**:135–141.

Rydell GE, Prakash K, Norder H, Lindh M. Hepatitis B surface antigen on subviral particles reduces the neutralizing effect of anti-HBs antibodies on hepatitis B viral particles

[0186]

in vitro. *Virology* 2017; **509**:67–70.

Dryden KA, Wieland SF, Whitten-Bauer C, Gerin JL, Chisari F V., Yeager M. Native Hepatitis B Virions and Capsids Visualized by Electron Cryomicroscopy. *Mol Cell* 2006; **22**:843–850.

Ni Y, Sonnabend J, Seitz S, Urban S. The Pre-S2 Domain of the Hepatitis B Virus Is Dispensable for Infectivity but Serves a Spacer Function for L-Protein-Connected Virus Assembly. *J Virol* 2010; **84**:3879–3888.

Ni Y, Lempp FA, Mehrle S, Nkongolo S, Kaufman C, Fälth M, *et al.* Hepatitis B and D Viruses Exploit Sodium Taurocholate Co-transporting Polypeptide for Species-Specific Entry into Hepatocytes. *Gastroenterology* 2014; **146**:1070–1083.e6.

Chen A, Ahlen G, Brenndorfer ED, Brass A, Holmstrom F, Chen M, *et al.* Heterologous T Cells Can Help Restore Function in Dysfunctional Hepatitis C Virus Nonstructural 3/4A-Specific T Cells during Therapeutic Vaccination. *J Immunol* 2011; **186**:5107–5118.

Mancini-Bourgine M, Fontaine H, Scott-Algara D, Pol S, Bréchot C, Michel M-L. Induction or expansion of T-cell responses by a hepatitis B DNA vaccine administered to chronic HBV carriers. *Hepatology* 2004; **40**:874–882.

Kosinska AD, Zhang E, Johrden L, Liu J, Seiz PL, Zhang X, *et al.* Combination of DNA Prime – Adenovirus Boost Immunization with Entecavir Elicits Sustained Control of Chronic Hepatitis B in the Woodchuck Model. *PLoS Pathog* 2013; **9**:e1003391.

Brass A, Frelin L, Milich DR, Sällberg M, Ahlén G. Functional Aspects of Intrahepatic Hepatitis B Virus-specific T Cells Induced by Therapeutic DNA Vaccination. *Mol Ther* 2015; **23**:578–590.

Yuen MF, Gane EJ, Kim DJ, Weilert F, Chan HLY, Lalezari J, *et al.* Antiviral Activity, Safety, and Pharmacokinetics of Capsid Assembly Modulator NVR 3-778 in Patients with Chronic HBV Infection. *Gastroenterology* Published Online First: 6 January 2019. doi:10.1053/J.GASTRO.2018.12.023

Liang TJ, Block TM, McMahon BJ, Ghany MG, Urban S, Guo J-T, *et al.* Present and future therapies of hepatitis B: From discovery to cure. *Hepatology* 2015; **62**:1893–1908.

Meuleman P, Vanlandschoot P, Leroux-Roels G. A simple and rapid method to determine the zygosity of uPA-transgenic SCID mice. doi:10.1016/S0006-291X(03)01388-3

[0187]

Meuleman P, Libbrecht L, De Vos R, de Hemptinne B, Gevaert K, Vandekerckhove J, *et al.* Morphological and biochemical characterization of a human liver in a uPA-SCID mouse chimera. *Hepatology* 2005; **41**:847–856.

Levander S, Holmström F, Frelin L, Ahlén G, Rupp D, Long G, *et al.* Immune-mediated effects targeting hepatitis C virus in a syngeneic replicon cell transplantation mouse model. *Gut* 2018; **67**:1525–1535.

Ahlén G, Söderholm J, Tjelle T, Kjeken R, Frelin L, Höglund U, *et al.* In vivo electroporation enhances the immunogenicity of hepatitis C virus nonstructural 3/4A DNA by increased local DNA uptake, protein expression, inflammation, and infiltration of CD3+ T cells. *J Immunol* 2007; **179**:4741–53.

Ni Y, Urban S. Hepatitis B Virus Infection of HepaRG Cells, HepaRG-hNTCP Cells, and Primary Human Hepatocytes. In: *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*.; 2017. pp. 15–25.

Donkers JM, Zehnder B, van Westen GJP, Kwakkenbos MJ, IJzerman AP, Oude Elferink RPJ, *et al.* Reduced hepatitis B and D viral entry using clinically applied drugs as novel inhibitors of the bile acid transporter NTCP. *Sci Rep* 2017; 7:15307.

Meuleman P, Lerouxroels G. The human liver-uPA-SCID mouse: A model for the evaluation of antiviral compounds against HBV and HCV. *Antiviral Res* 2008; **80**:231–238.

Wi J, Jeong MS, Hong HJ. Construction and characterization of an anti-hepatitis B virus preS1 humanized antibody that binds to the essential receptor binding site. *J Microbiol Biotechnol* 2017; **27**:1336–1344.

Lok ASF, McMahon BJ, Brown RS, Wong JB, Ahmed AT, Farah W, *et al.* Antiviral therapy for chronic hepatitis B viral infection in adults: A systematic review and meta-analysis. *Hepatology* 2016; **63**:284–306.

Revill PA, Chisari F V, Block JM, Dandri M, Gehring AJ, Guo H, *et al.* A global scientific strategy to cure hepatitis B. *Lancet Gastroenterol Hepatol* Published Online First: 10 April 2019. doi:10.1016/S2468-1253(19)30119-0

Neurath AR, Kent SB, Strick N, Parker K. Identification and chemical synthesis of a host cell receptor binding site on hepatitis B virus. *Cell* 1986; **46**:429–36.

Gripon P, Le Seyec J, Rumin S, Guguen-Guillouzo C. Myristylation of the Hepatitis B Virus Large Surface Protein Is Essential for Viral Infectivity. *Virology* 1995; **213**:292–299.

[0188]

Hong HJ, Ryu CJ, Hur H, Kim S, Oh HK, Oh MS, *et al.* In vivo neutralization of hepatitis B virus infection by an anti-preS1 humanized antibody in chimpanzees. *Virology* 2004; **318**:134–141.

Bogomolov P, Alexandrov A, Voronkova N, Macievich M, Kokina K, Petrachenkova M, *et al.* Treatment of chronic hepatitis D with the entry inhibitor myrcludex B: First results of a phase Ib/IIa study. *J Hepatol* 2016; **65**:490–498.

Blank A, Eidam A, Haag M, Hohmann N, Burhenne J, Schwab M, *et al.* The NTCP-inhibitor Myrcludex B: Effects on Bile Acid Disposition and Tenofovir Pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 2018; **103**:341–348.

Passioura T, Watashi K, Fukano K, Sureau C, Suga H, Correspondence TW. De Novo Macrocyclic Peptide Inhibitors of Hepatitis B Virus Cellular Entry. *Cell Chem Biol* 2018; **25**:906–915.

Bian Y, Zhang Z, Sun Z, Zhao J, Zhu D, Wang Y, *et al.* Vaccines Targeting PreS1 Domain Overcome Immune Tolerance in HBV Carrier Mice HHS Public Access. 2017; **66**:1067–1082.

Chen M, Jagya N, Bansal R, Frelin L, Sällberg M. Prospects and progress of DNA vaccines for treating hepatitis B. *Expert Rev Vaccines* 2016; **15**:629–640.

Yalcin K, Danis R, Degertekin H, Alp MN, Tekes S, Budak T. The lack of effect of therapeutic vaccination with a pre-S2/S HBV vaccine in the immune tolerant phase of chronic HBV infection. *J Clin Gastroenterol* 2003; **37**:330–5.

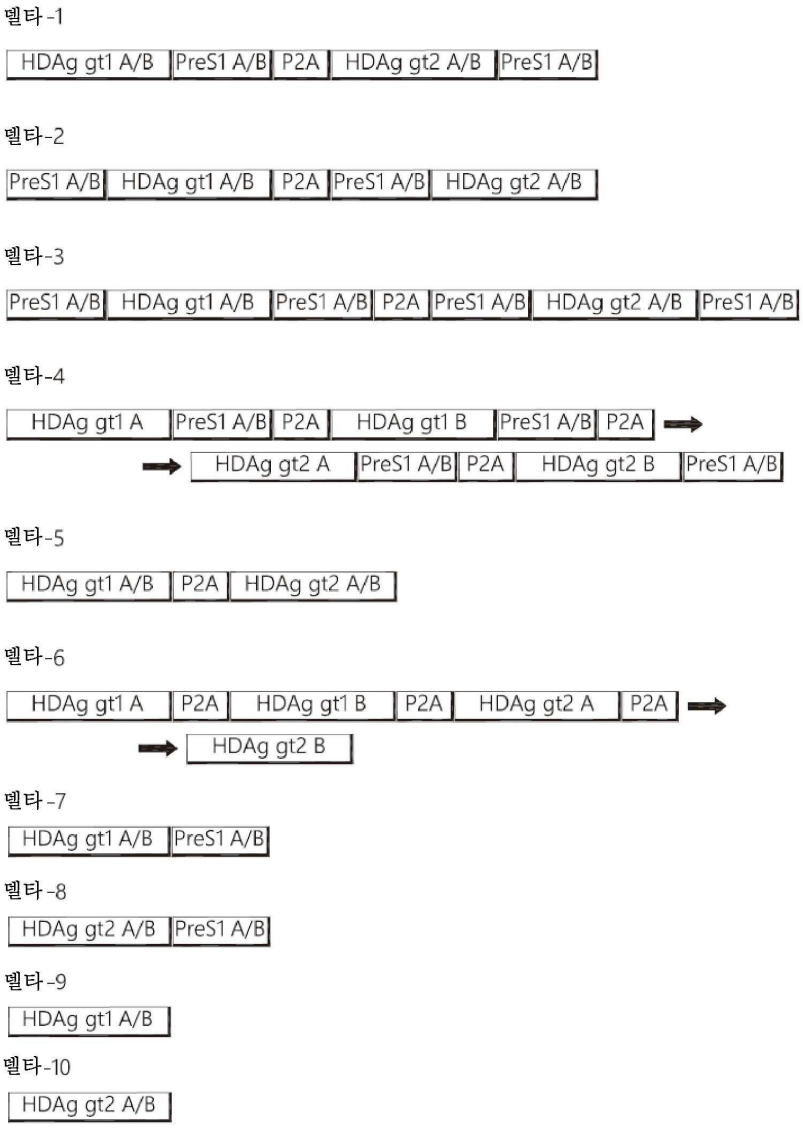
Zhao H-J, Han Q-J, Wang G, Lin A, Xu D-Q, Wang Y-Q, *et al.* I:C-based rHBVvac therapeutic vaccine eliminates HBV via generatioPolyn of HBV-specific CD8 + effector memory T cells. *Gut* 2019; :gutjnl-2017-315588.

Suslov A, Boldanova T, Wang X, Wieland S, Heim MH. Hepatitis B Virus Does Not Interfere With Innate Immune Responses in the Human Liver. *Gastroenterology* 2018; **154**:1778–1790.

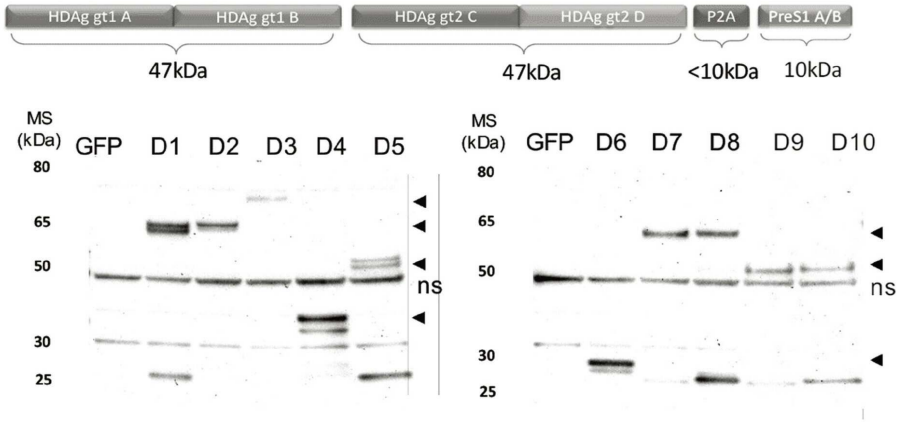
[0189]

도면

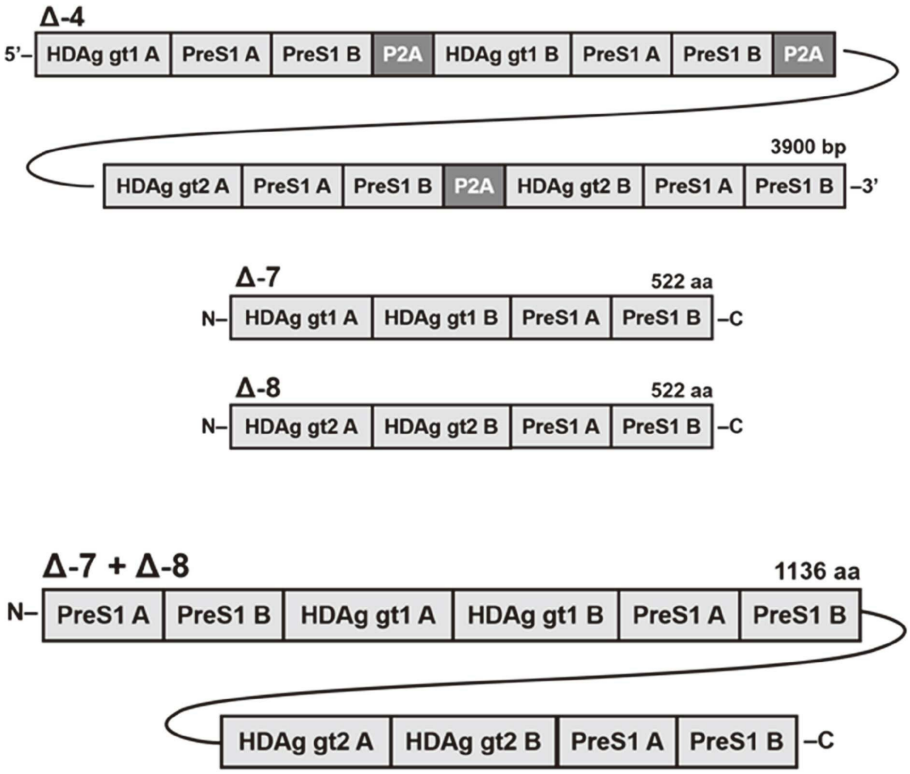
도면1a


벨타-1
HDAg gt1 A/B
PreS1 A/B
P2A
HDAg gt2 A/B
PreS1 A/B
벨타-2
PreS1 A/B
HDAg gt1 A/B
P2A
PreS1 A/B
HDAg gt2 A/B
벨타-3
PreS1 A/B
HDAg gt1 A/B
PreS1 A/B
P2A
PreS1 A/B
HDAg gt2 A/B
PreS1 A/B
벨타-4
HDAg gt1 A
PreS1 A/B
P2A
HDAg gt1 B
PreS1 A/B
P2A
HDAg gt2 A
PreS1 A/B
P2A
HDAg gt2 B
PreS1 A/B
벨타-5
HDAg gt1 A/B
P2A
HDAg gt2 A/B
벨타-6
HDAg gt1 A
P2A
HDAg gt1 B
P2A
HDAg gt2 A
P2A
HDAg gt2 B
벨타-7
HDAg gt1 A/B
PreS1 A/B
벨타-8
HDAg gt2 A/B
PreS1 A/B
벨타-9
HDAg gt1 A/B
벨타-10
HDAg gt2 A/B

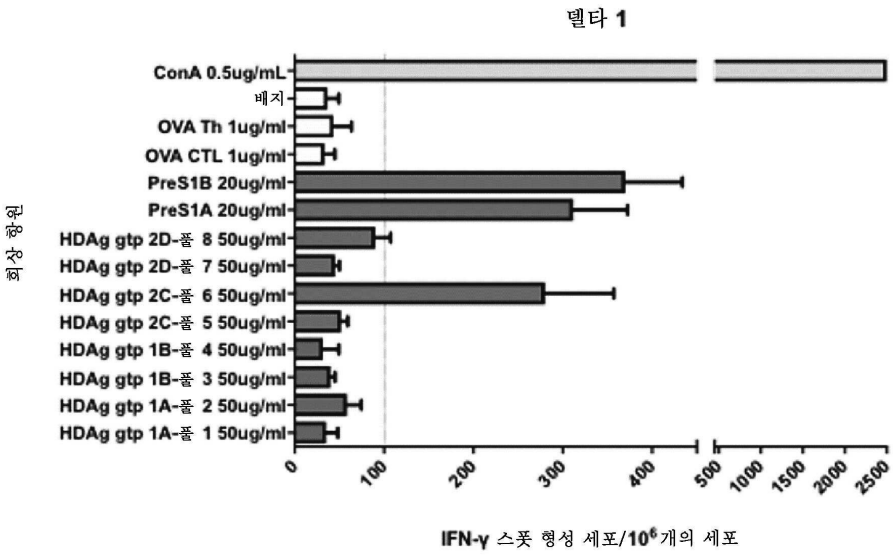
도면1b

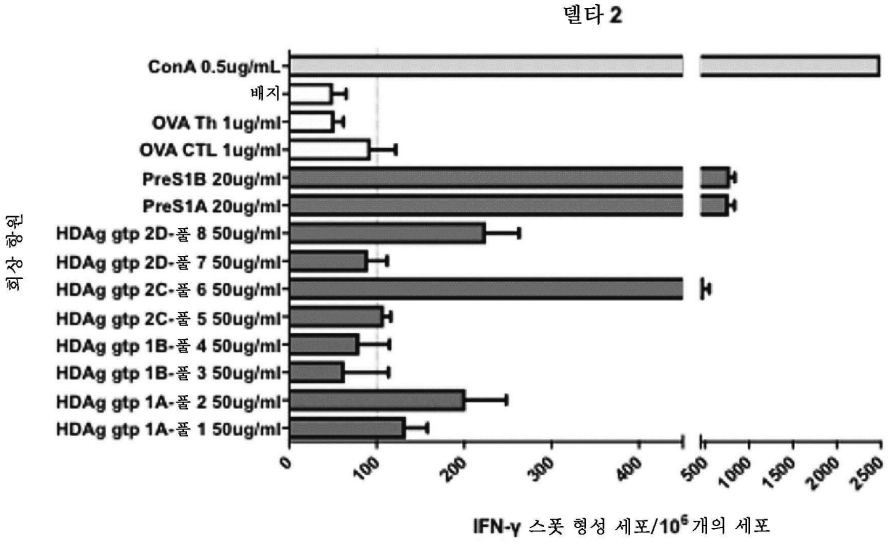

HDAg gt1 A
HDAg gt1 B
HDAg gt2 C
HDAg gt2 D
P2A
PreS1 A/B
47kDa
47kDa
<10kDa
10kDa
MS (kDa)
GFP
D1
D2
D3
D4
D5
80
65
50
30
25
ns
MS (kDa)
GFP
D6
D7
D8
D9
D10
80
65
50
30
25
ns

도면2

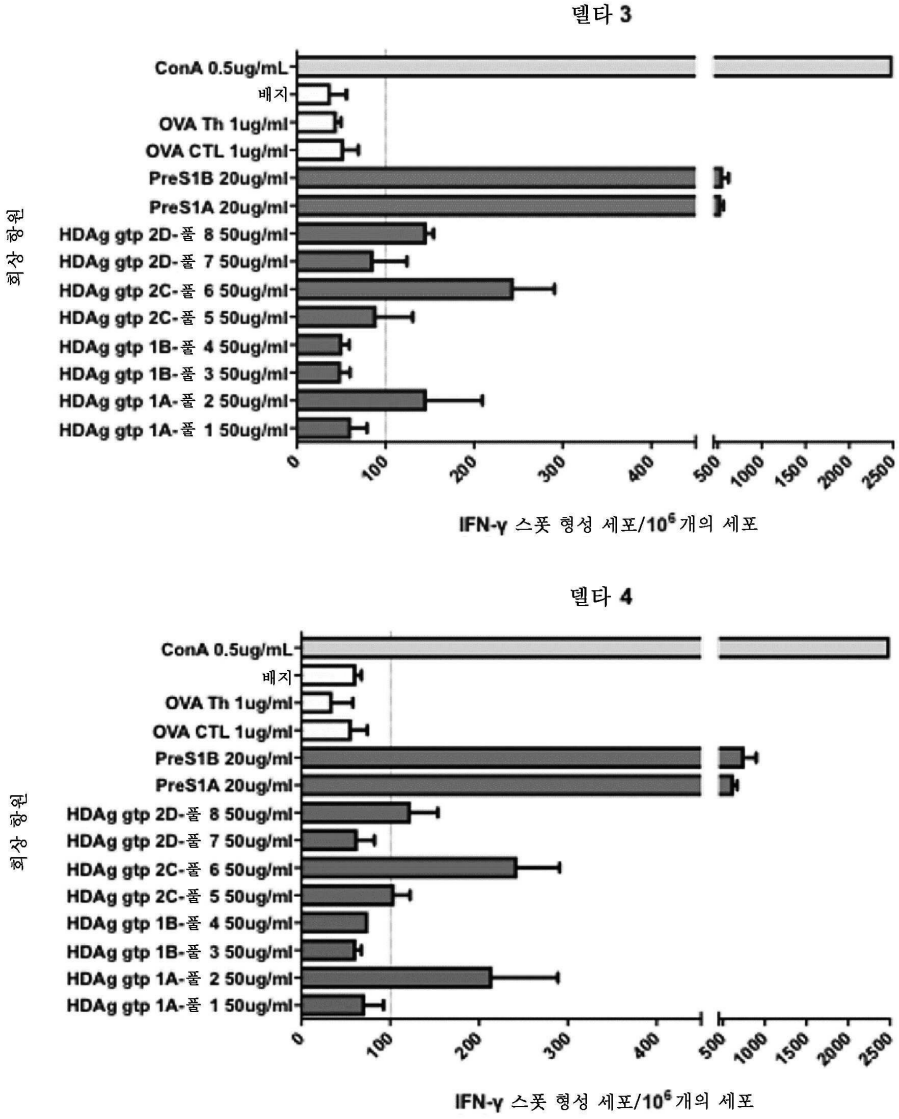

Δ-4
5'–
HDAg gt1 A
PreS1 A
PreS1 B
P2A
HDAg gt1 B
PreS1 A
PreS1 B
P2A
3900 bp
HDAg gt2 A
PreS1 A
PreS1 B
P2A
HDAg gt2 B
PreS1 A
PreS1 B
–3'
Δ-7
522 aa
N–
HDAg gt1 A
HDAg gt1 B
PreS1 A
PreS1 B
–C
Δ-8
522 aa
N–
HDAg gt2 A
HDAg gt2 B
PreS1 A
PreS1 B
–C
Δ-7 + Δ-8
1136 aa
N–
PreS1 A
PreS1 B
HDAg gt1 A
HDAg gt1 B
PreS1 A
PreS1 B
HDAg gt2 A
HDAg gt2 B
PreS1 A
PreS1 B
–C

도면3a


델타 1
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 1 50ug/ml
회장 항원
0
100
200
300
400
500
1000
1500
2000
2500
IFN-γ 스폿 형성 세포/10⁶개의 세포

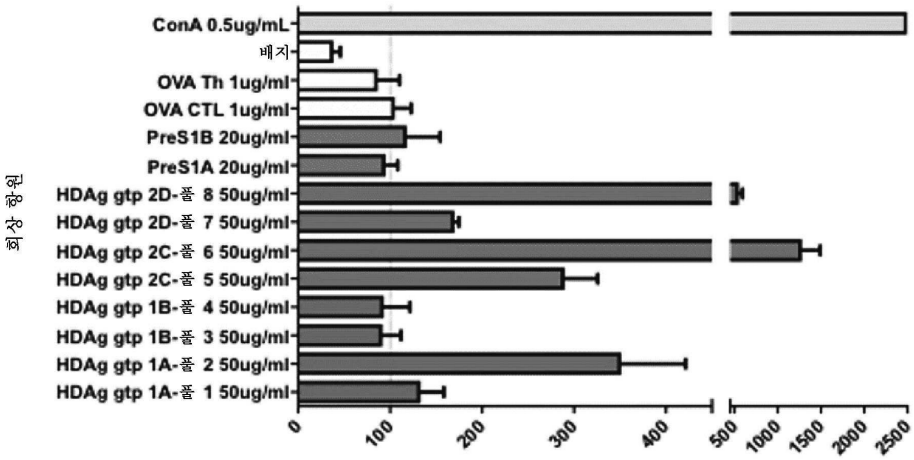

델타 2
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 1 50ug/ml
회장 항원
0
100
200
300
400
500
1000
1500
2000
2500
IFN-γ 스폿 형성 세포/10⁶개의 세포

도면3b

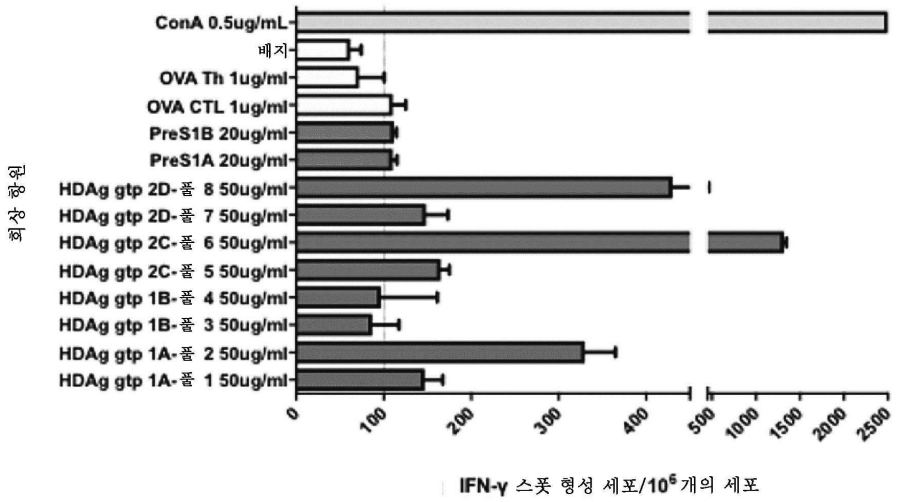

델타 3
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 1 50ug/ml
회상 항원
0
100
200
300
400
500
1000
1500
2000
2500
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6 개의 세포
델타 4
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 1 50ug/ml
회상 항원
0
100
200
300
400
500
1000
1500
2000
2500
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6 개의 세포

도면3c

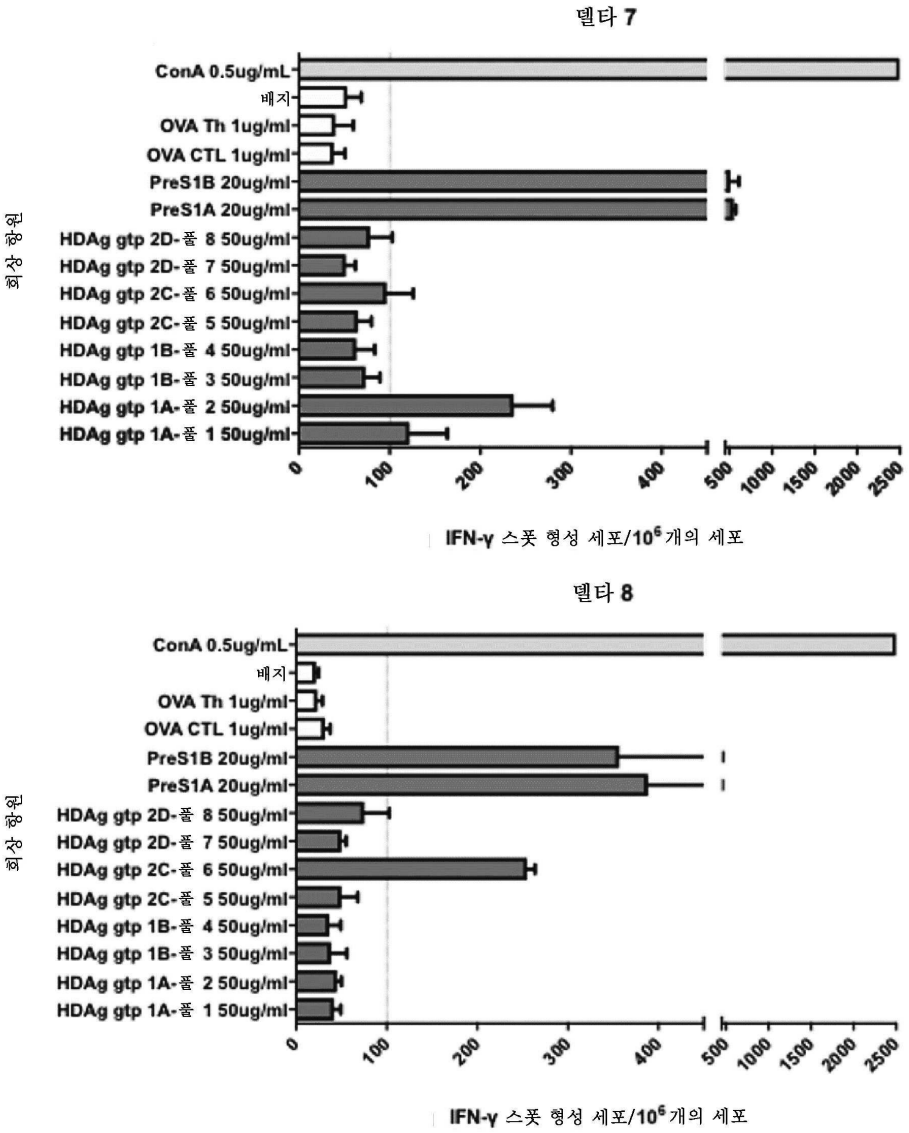
델타 5 (PreS1A/B 부재)



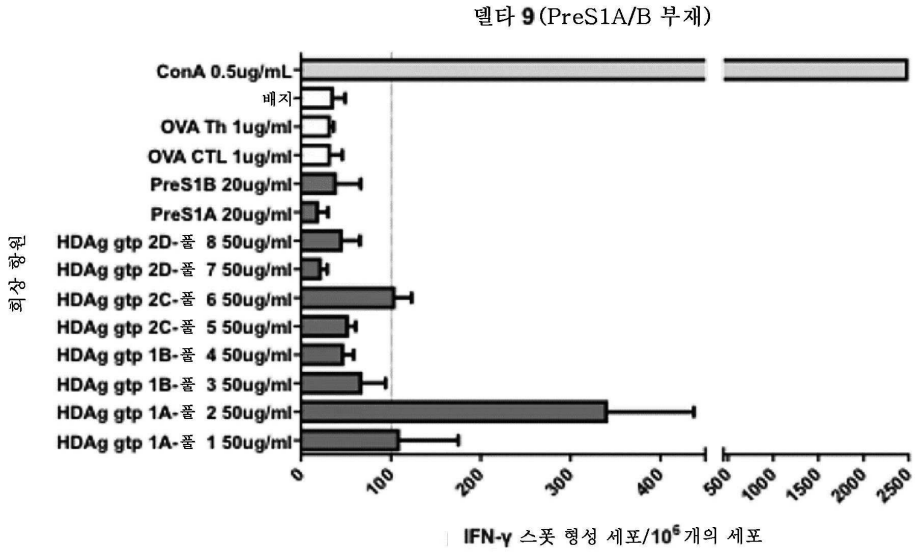
델타 6 (PreS1A/B 부재)

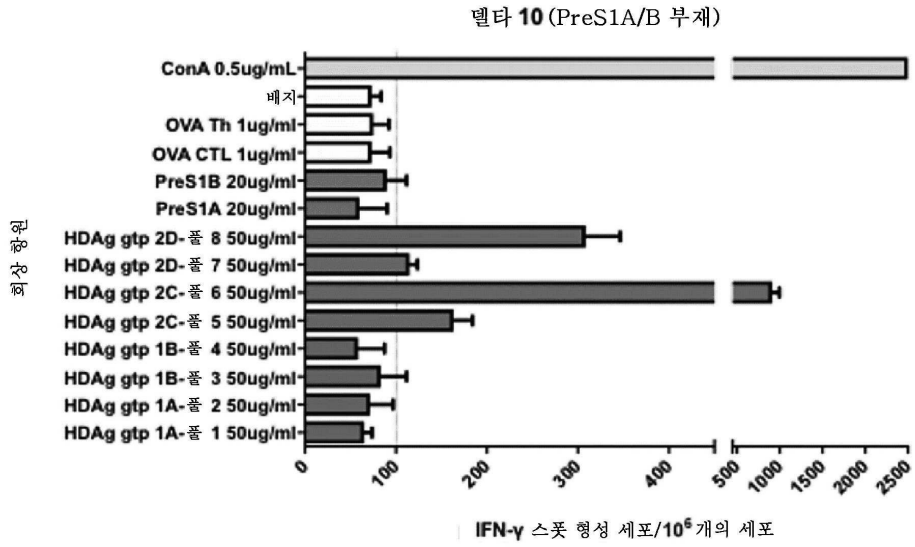


도면3d

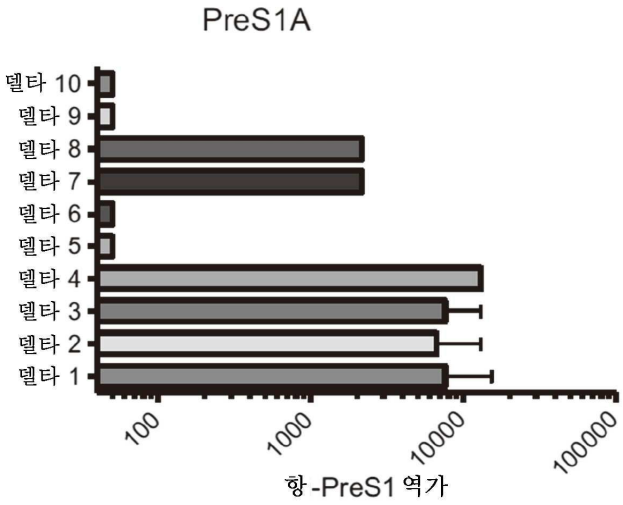

델타 7
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 1 50ug/ml
회장 항원
0
100
200
300
400
500
1000
1500
2000
2500
IFN-γ 스폿 형성 세포/10⁶개의 세포
델타 8
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 1 50ug/ml
회장 항원
0
100
200
300
400
500
1000
1500
2000
2500
IFN-γ 스폿 형성 세포/10⁶개의 세포

도면3e

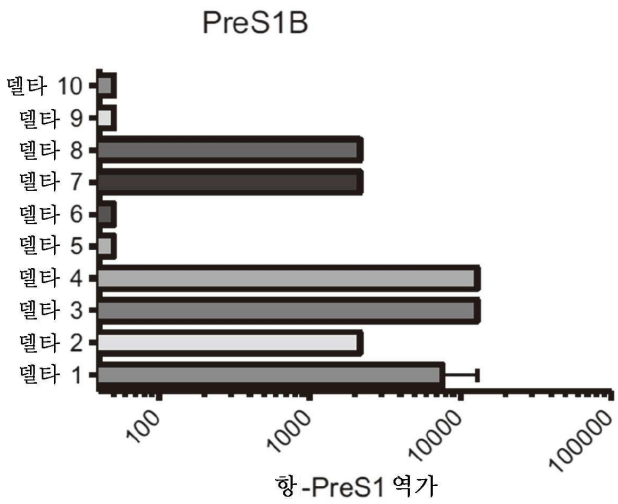

델타 9 (PreS1A/B 부재)
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 1 50ug/ml
회상 항원
0
100
200
300
400
500
1000
1500
2000
2500
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6 개의 세포


델타 10 (PreS1A/B 부재)
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-풀 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-풀 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-풀 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-풀 1 50ug/ml
회상 항원
0
100
200
300
400
500
1000
1500
2000
2500
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6 개의 세포

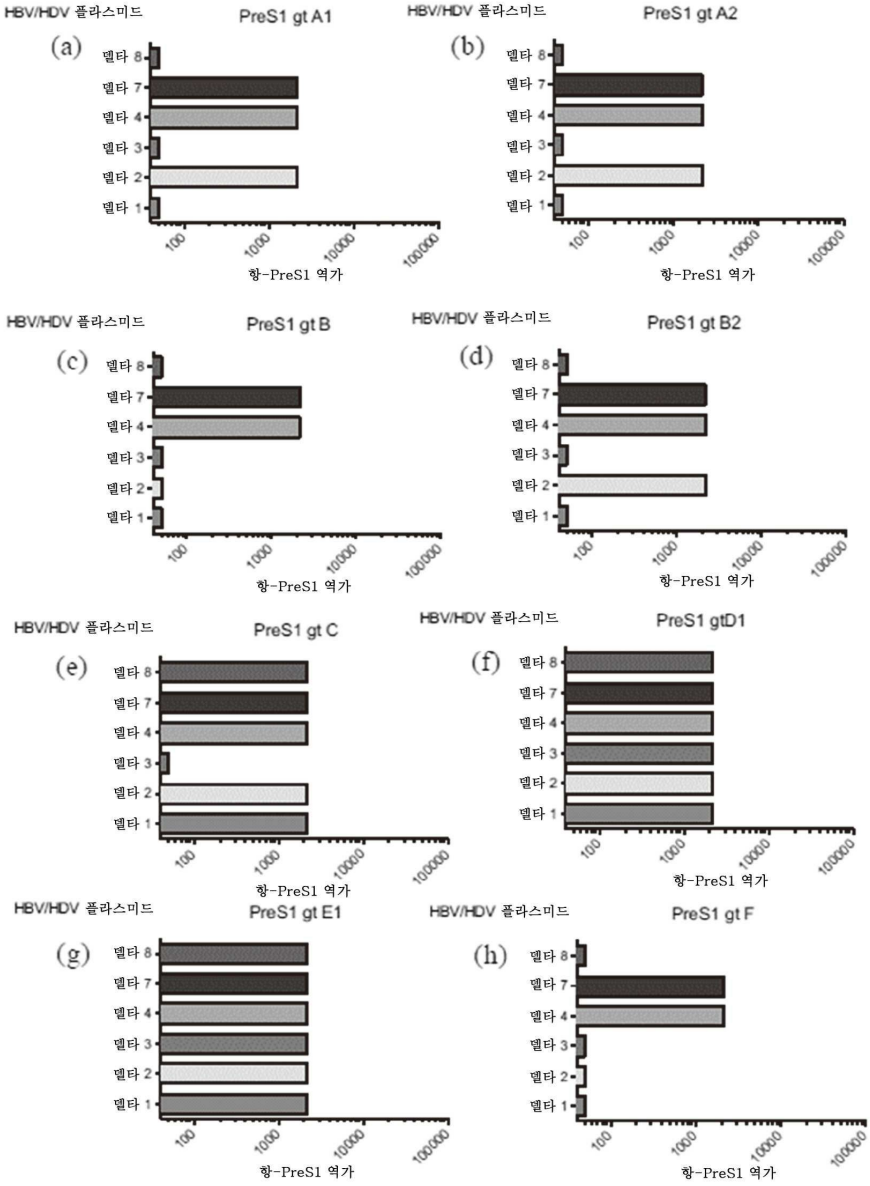
도면4a


PreS1A
델타 10
델타 9
델타 8
델타 7
델타 6
델타 5
델타 4
델타 3
델타 2
델타 1
100
1000
10000
100000
항-PreS1 역가

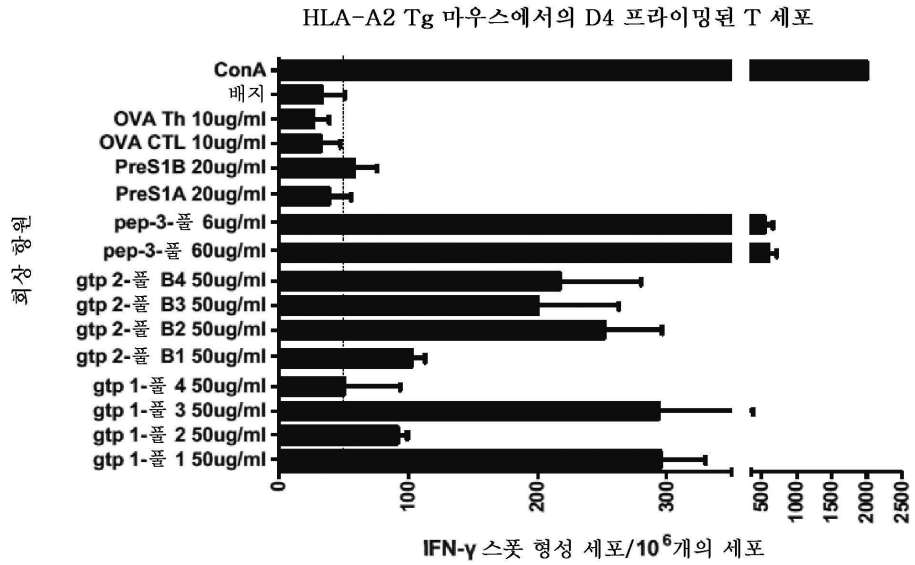
도면4b


PreS1B
델타 10
델타 9
델타 8
델타 7
델타 6
델타 5
델타 4
델타 3
델타 2
델타 1
100
1000
10000
100000
항-PreS1 역가

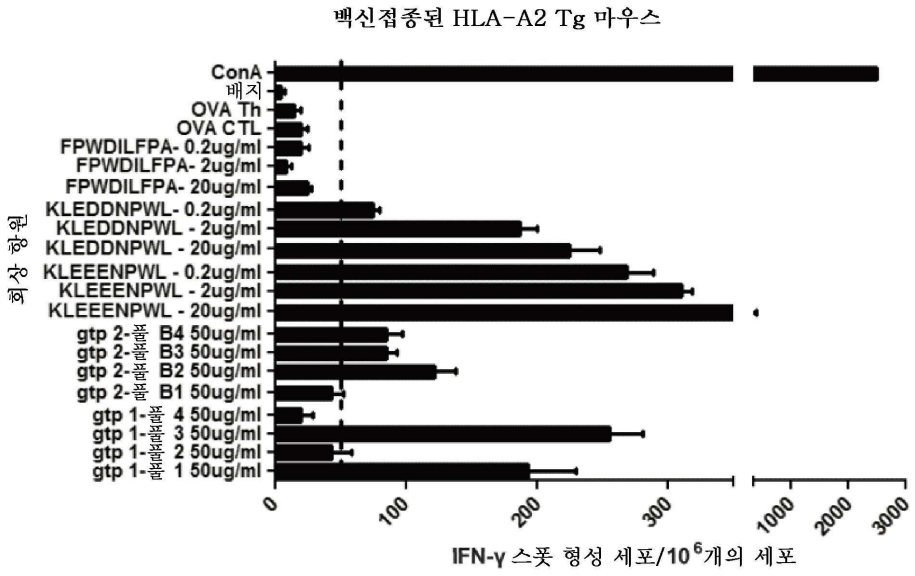
도면4c


HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt A1
(a)
델타 8
델타 7
델타 4
델타 3
델타 2
델타 1
100
1000
10000
100000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt A2
(b)
델타 8
델타 7
델타 4
델타 3
델타 2
델타 1
100
1000
10000
100000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt B
(c)
델타 8
델타 7
델타 4
델타 3
델타 2
델타 1
100
1000
10000
100000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt B2
(d)
델타 8
델타 7
델타 4
델타 3
델타 2
델타 1
100
1000
10000
100000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt C
(e)
델타 8
델타 7
델타 4
델타 3
델타 2
델타 1
100
1000
10000
100000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gtD1
(f)
델타 8
델타 7
델타 4
델타 3
델타 2
델타 1
100
1000
10000
100000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt E1
(g)
델타 8
델타 7
델타 4
델타 3
델타 2
델타 1
100
1000
10000
100000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt F
(h)
델타 8
델타 7
델타 4
델타 3
델타 2
델타 1
100
1000
10000
100000
항-PreS1 역가

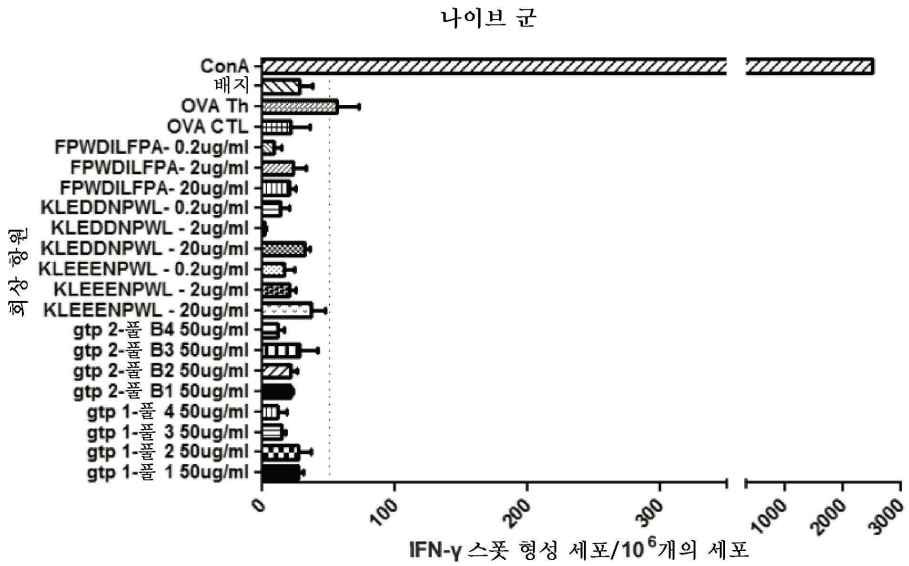
도면5a


HLA-A2 Tg 마우스에서의 D4 프라이밍된 T 세포
ConA
배지
OVA Th 10ug/ml
OVA CTL 10ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
pep-3-폴 6ug/ml
pep-3-폴 60ug/ml
gtp 2-폴 B4 50ug/ml
gtp 2-폴 B3 50ug/ml
gtp 2-폴 B2 50ug/ml
gtp 2-폴 B1 50ug/ml
gtp 1-폴 4 50ug/ml
gtp 1-폴 3 50ug/ml
gtp 1-폴 2 50ug/ml
gtp 1-폴 1 50ug/ml
회상 항원
0
100
200
300
500
1000
1500
2000
2500
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6개의 세포

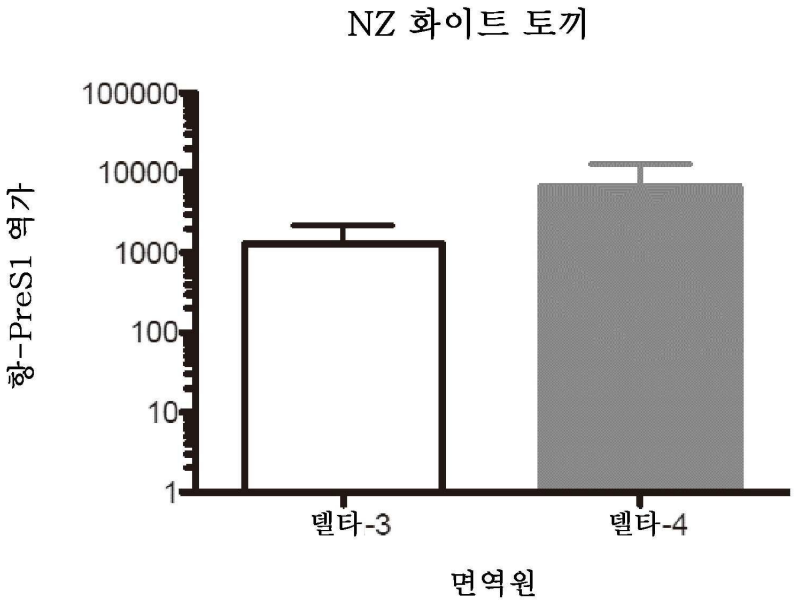
도면5b


백신접종된 HLA-A2 Tg 마우스
ConA
배지
OVA Th
OVA CTL
FPWDILFPA- 0.2ug/ml
FPWDILFPA- 2ug/ml
FPWDILFPA- 20ug/ml
KLEDDNPWL- 0.2ug/ml
KLEDDNPWL - 2ug/ml
KLEDDNPWL - 20ug/ml
KLEEENPWL - 0.2ug/ml
KLEEENPWL - 2ug/ml
KLEEENPWL - 20ug/ml
gtp 2-폴 B4 50ug/ml
gtp 2-폴 B3 50ug/ml
gtp 2-폴 B2 50ug/ml
gtp 2-폴 B1 50ug/ml
gtp 1-폴 4 50ug/ml
gtp 1-폴 3 50ug/ml
gtp 1-폴 2 50ug/ml
gtp 1-폴 1 50ug/ml
회상 항원
0
100
200
300
1000
2000
3000
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6개의 세포

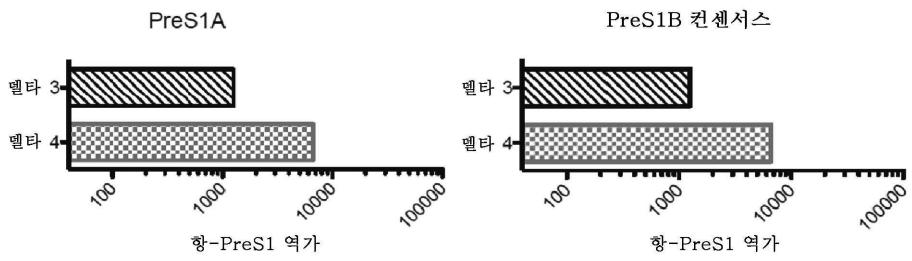
도면5c



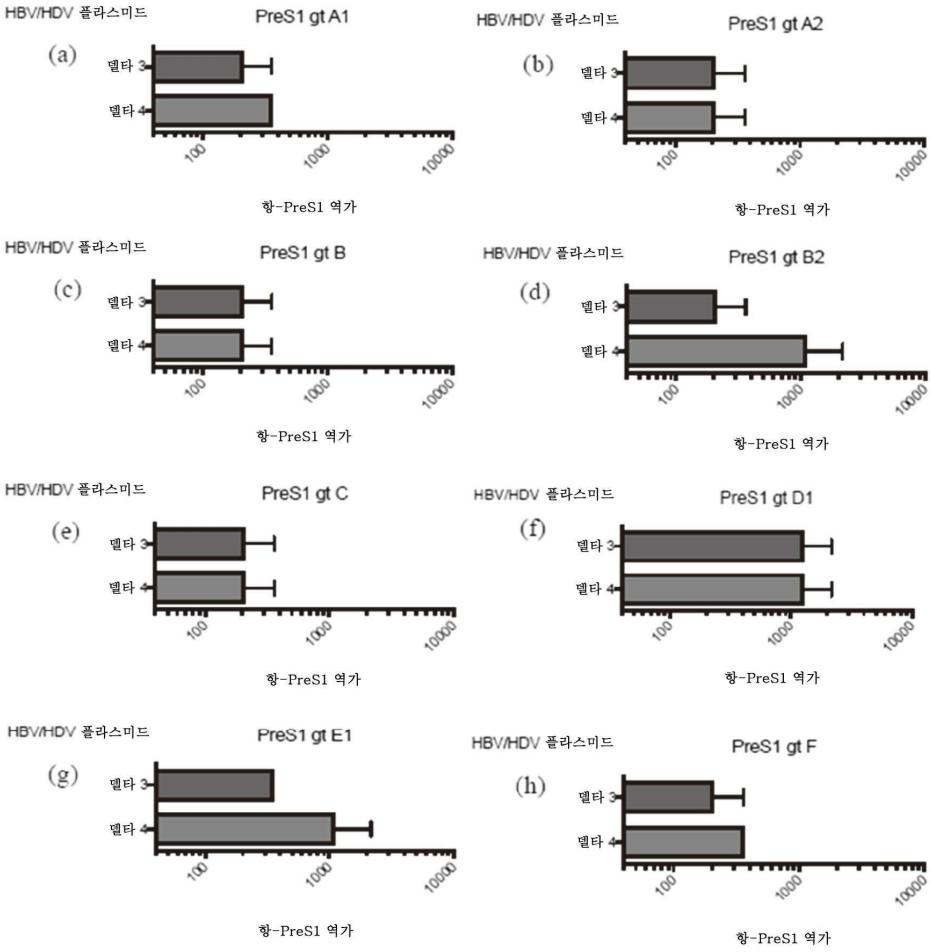
도면6a



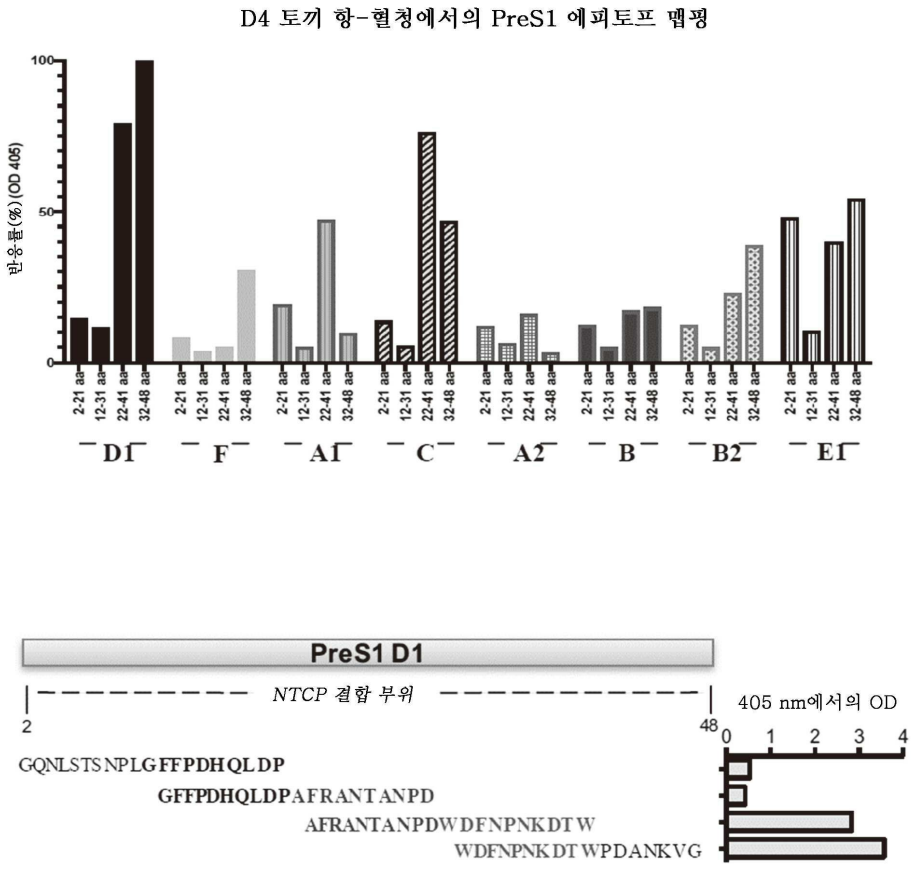
도면6b



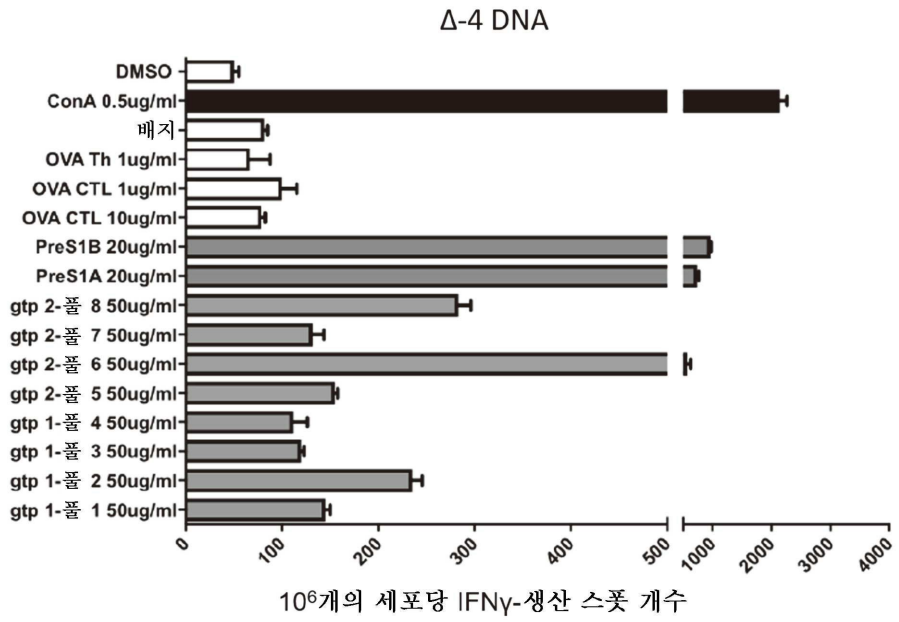
도면6c


HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt A1
(a)
델타 3
델타 4
100
1000
10000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt A2
(b)
델타 3
델타 4
100
1000
10000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt B
(c)
델타 3
델타 4
100
1000
10000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt B2
(d)
델타 3
델타 4
100
1000
10000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt C
(e)
델타 3
델타 4
100
1000
10000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt D1
(f)
델타 3
델타 4
100
1000
10000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt E1
(g)
델타 3
델타 4
100
1000
10000
항-PreS1 역가
HBV/HDV 플라스미드
PreS1 gt F
(h)
델타 3
델타 4
100
1000
10000
항-PreS1 역가

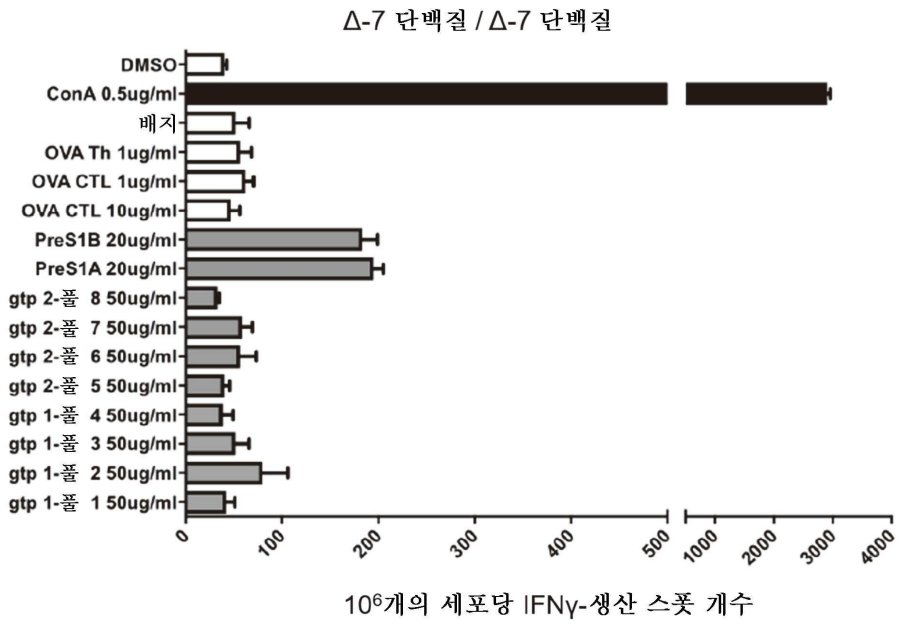
도면6d


D4 토끼 항-혈청에서의 PreS1 에피토프 맵핑
반응률(%)(OD 405)
100
50
0
2-21 aa
12-31 aa
22-41 aa
32-48 aa
D1
F
A1
C
A2
B
B2
E1
PreS1 D1
NTCP 결합 부위
2
48
405 nm에서의 OD
0
1
2
3
4
GQNLSTSNPLGFFPDHQLDP
GFFPDHQLDPAFRANTANPD
AFRANTANPDWDFNPNKDTW
WDFNPNKDTWPDANKVG

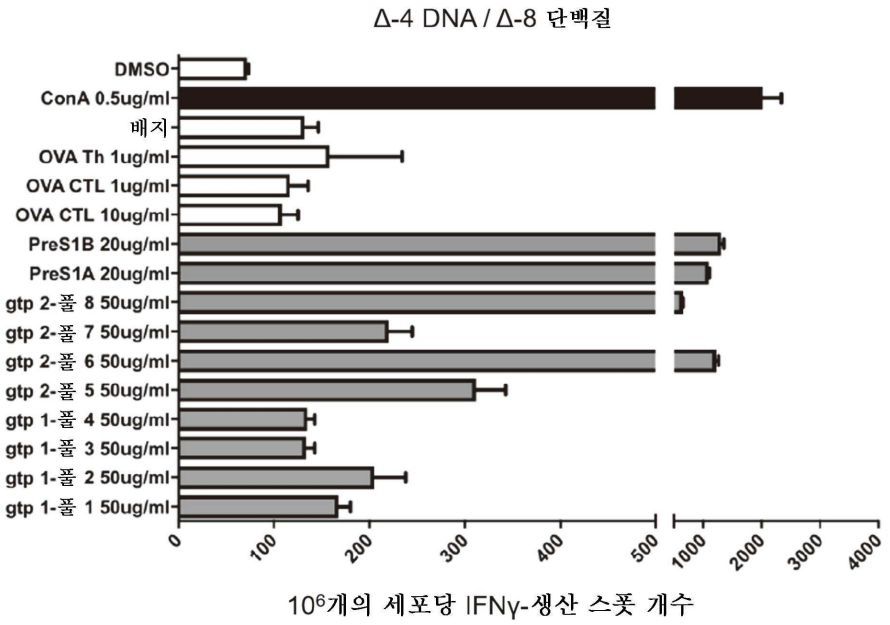
도면7a


Δ-4 DNA
DMSO
ConA 0.5ug/ml
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
OVA CTL 10ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
gtp 2-폴 8 50ug/ml
gtp 2-폴 7 50ug/ml
gtp 2-폴 6 50ug/ml
gtp 2-폴 5 50ug/ml
gtp 1-폴 4 50ug/ml
gtp 1-폴 3 50ug/ml
gtp 1-폴 2 50ug/ml
gtp 1-폴 1 50ug/ml
0
100
200
300
400
500
1000
2000
3000
4000
10⁶개의 세포당 IFNγ-생산 스폿 개수

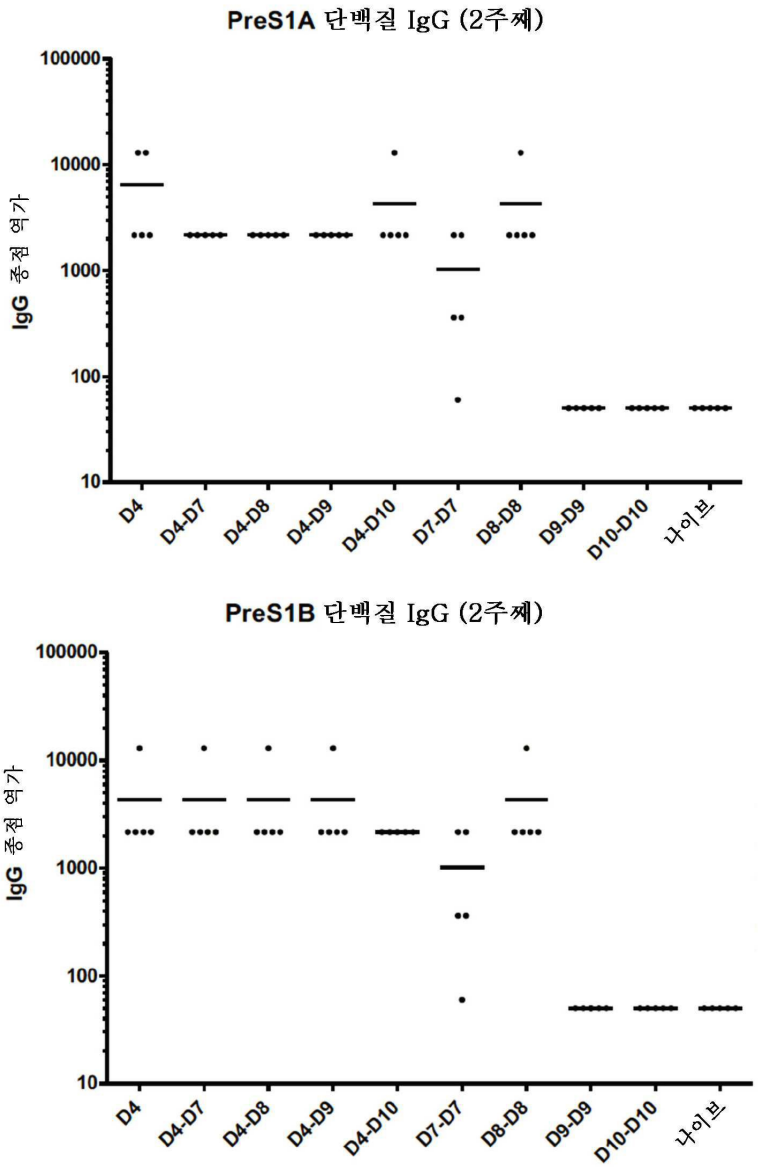
도면7b


Δ-7 단백질 / Δ-7 단백질
DMSO
ConA 0.5ug/ml
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
OVA CTL 10ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
gtp 2-폴 8 50ug/ml
gtp 2-폴 7 50ug/ml
gtp 2-폴 6 50ug/ml
gtp 2-폴 5 50ug/ml
gtp 1-폴 4 50ug/ml
gtp 1-폴 3 50ug/ml
gtp 1-폴 2 50ug/ml
gtp 1-폴 1 50ug/ml
0
100
200
300
400
500
1000
2000
3000
4000
10⁶개의 세포당 IFNγ-생산 스폿 개수

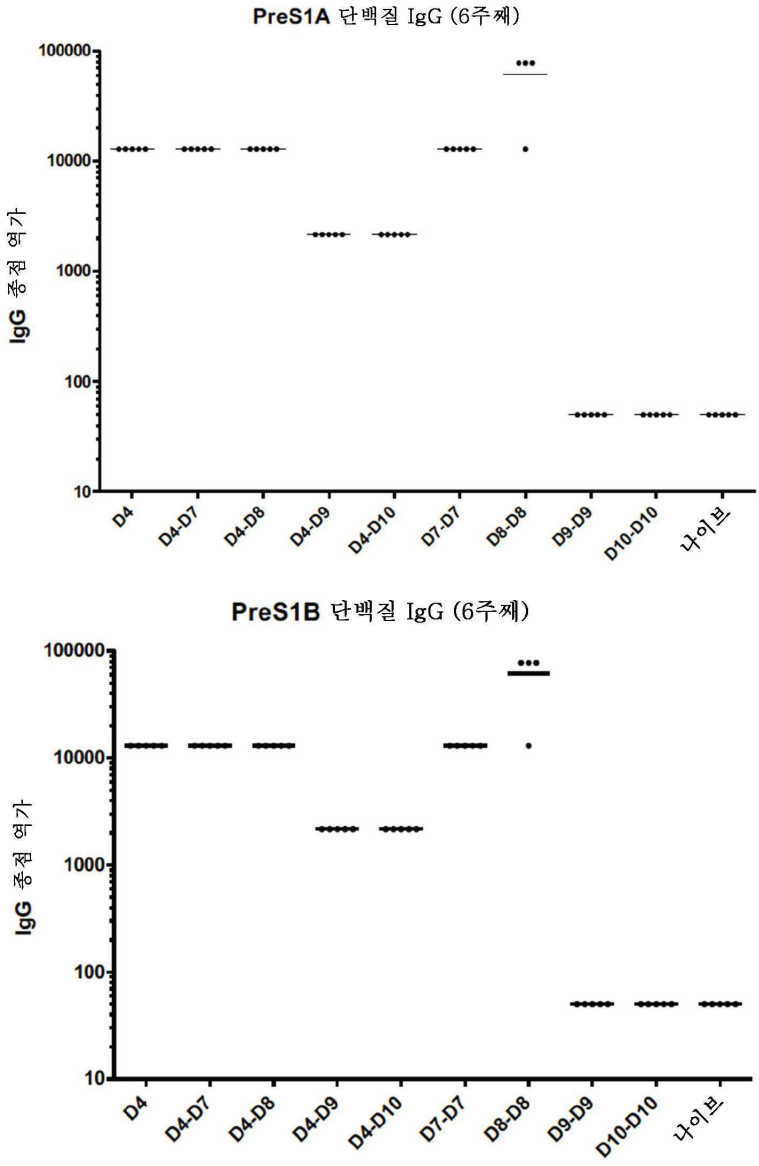
도면7c


Δ-4 DNA / Δ-8 단백질
DMSO
ConA 0.5ug/ml
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
OVA CTL 10ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
gtp 2-폴 8 50ug/ml
gtp 2-폴 7 50ug/ml
gtp 2-폴 6 50ug/ml
gtp 2-폴 5 50ug/ml
gtp 1-폴 4 50ug/ml
gtp 1-폴 3 50ug/ml
gtp 1-폴 2 50ug/ml
gtp 1-폴 1 50ug/ml
0
100
200
300
400
500
1000
2000
3000
4000
10⁶개의 세포당 IFNγ-생산 스폿 개수

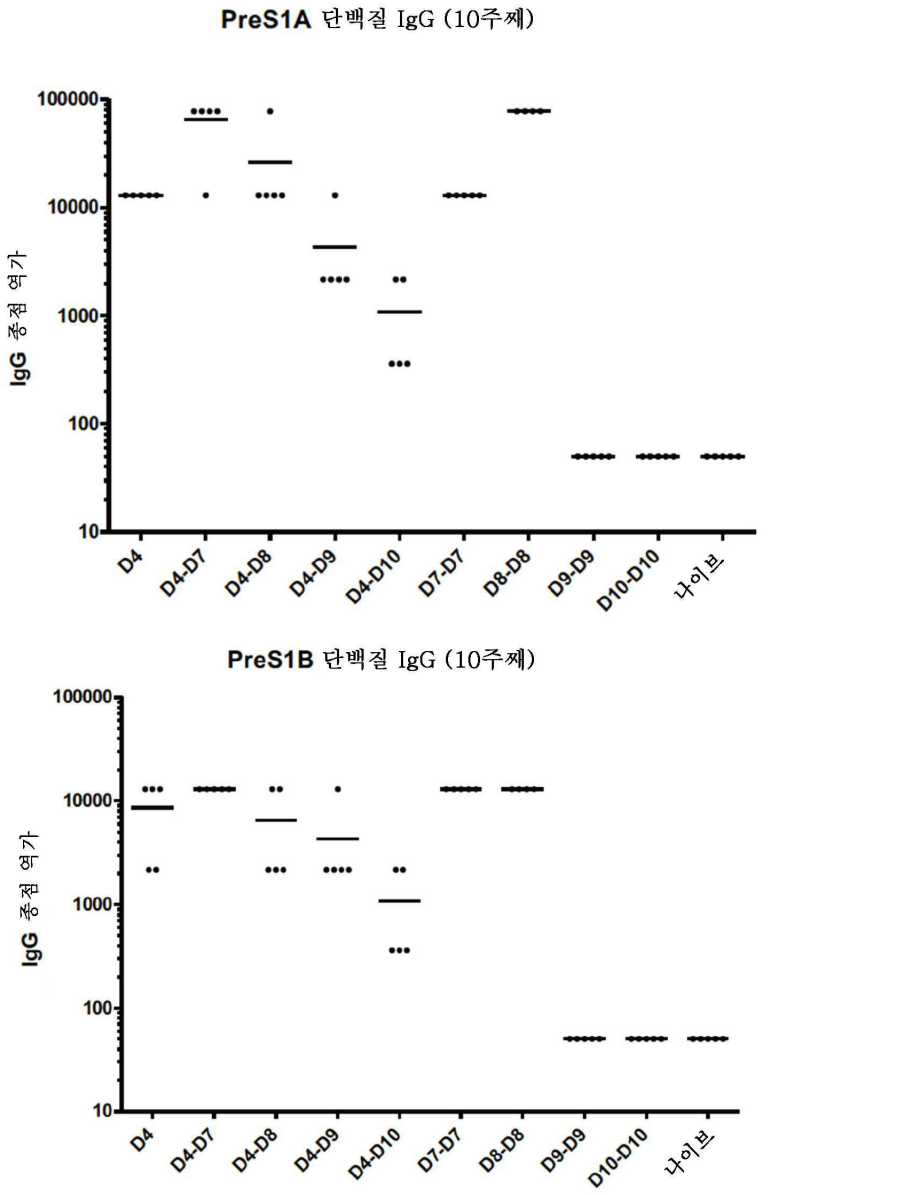
도면8a


PreS1A 단백질 IgG (2주째)
IgG 중점 역가
100000
10000
1000
100
10
D4
D4-D7
D4-D8
D4-D9
D4-D10
D7-D7
D8-D8
D9-D9
D10-D10
나이브
PreS1B 단백질 IgG (2주째)
IgG 중점 역가
100000
10000
1000
100
10
D4
D4-D7
D4-D8
D4-D9
D4-D10
D7-D7
D8-D8
D9-D9
D10-D10
나이브

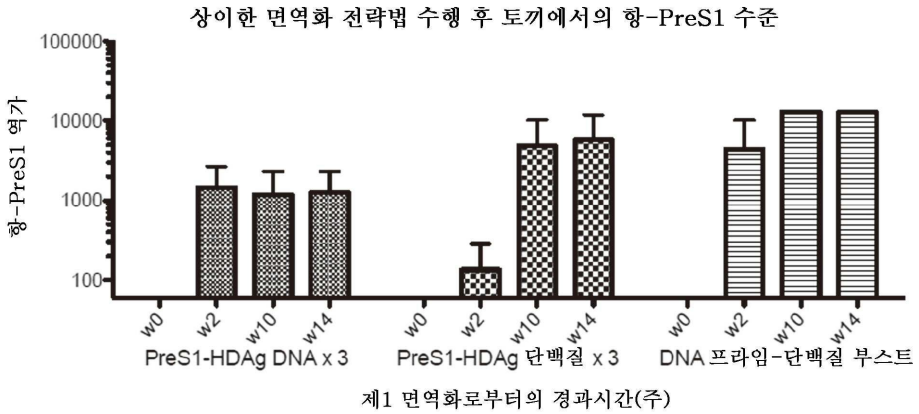
도면8b


PreS1A 단백질 IgG (6주째)
IgG 종점 역가
100000
10000
1000
100
10
D4
D4-D7
D4-D8
D4-D9
D4-D10
D7-D7
D8-D8
D9-D9
D10-D10
나이브
PreS1B 단백질 IgG (6주째)
IgG 종점 역가
100000
10000
1000
100
10
D4
D4-D7
D4-D8
D4-D9
D4-D10
D7-D7
D8-D8
D9-D9
D10-D10
나이브

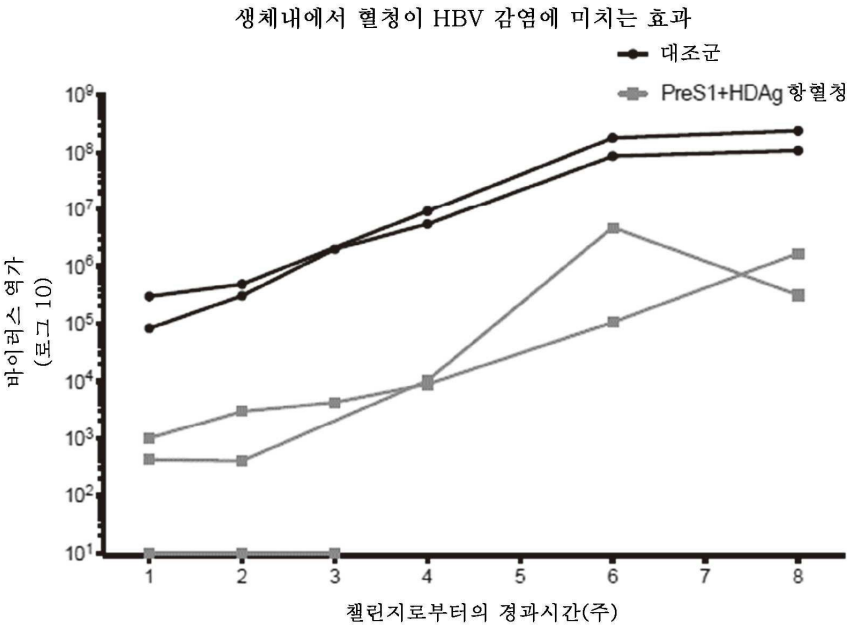
도면8c


PreS1A 단백질 IgG (10주째)
IgG 종점 역가
100000
10000
1000
100
10
D4
D4-D7
D4-D8
D4-D9
D4-D10
D7-D7
D8-D8
D9-D9
D10-D10
나이브
PreS1B 단백질 IgG (10주째)
IgG 종점 역가
100000
10000
1000
100
10
D4
D4-D7
D4-D8
D4-D9
D4-D10
D7-D7
D8-D8
D9-D9
D10-D10
나이브

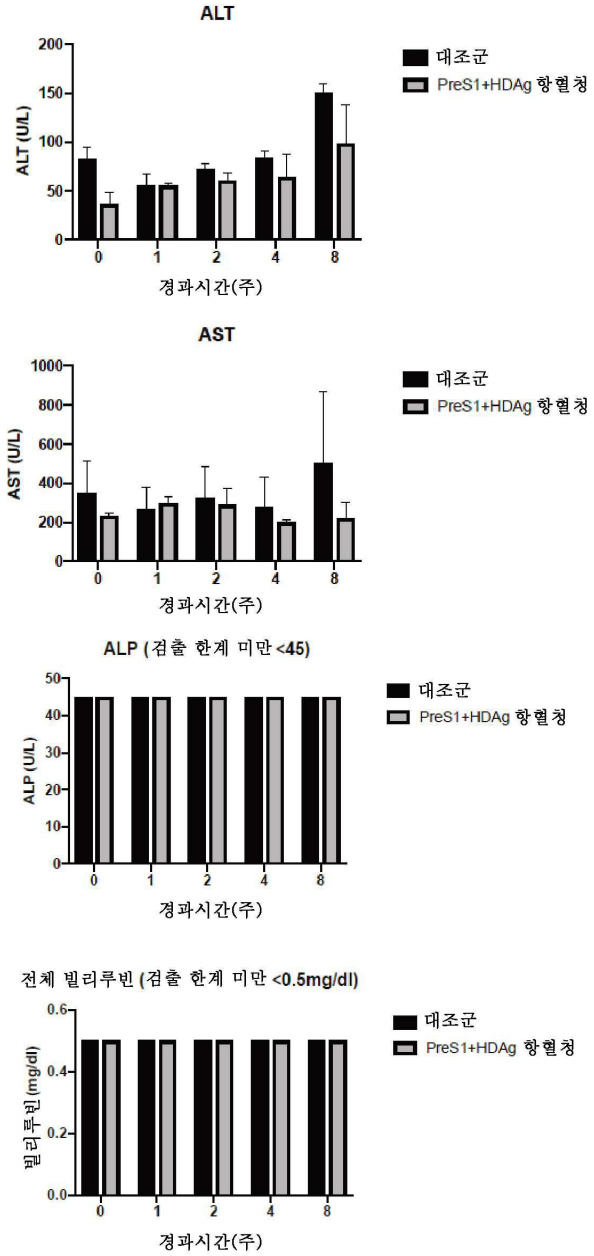
도면9


상이한 면역화 전략법 수행 후 토끼에서의 항-PreS1 수준
항-PreS1 역가
100000
10000
1000
100
w0
w2
w10
w14
PreS1-HDAg DNA x 3
PreS1-HDAg 단백질 x 3
DNA 프라임-단백질 부스트
제1 면역화로부터의 경과시간(주)

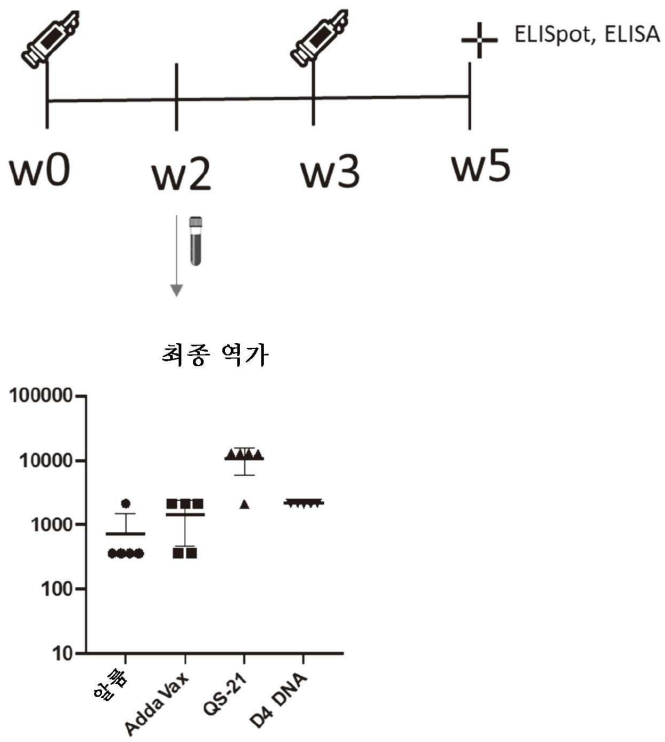
도면10a


생체내에서 혈청이 HBV 감염에 미치는 효과
대조군
PreS1+HDAg 항혈청
바이러스 역가
(로그 10)
10^9
10^8
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
1
2
3
4
5
6
7
8
챌린지로부터의 경과시간(주)

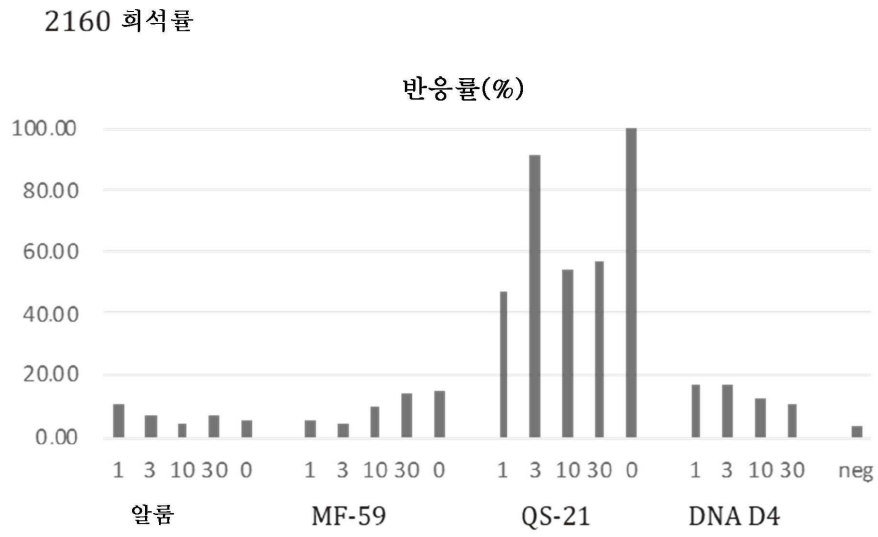
도면10b


ALT
ALT (U/L)
200
150
100
50
0
0
1
2
4
8
경과시간(주)
대조군
PreS1+HDAg 항혈청
AST
AST (U/L)
1000
800
600
400
200
0
0
1
2
4
8
경과시간(주)
대조군
PreS1+HDAg 항혈청
ALP (검출 한계 미만 <45)
ALP (U/L)
50
40
30
20
10
0
0
1
2
4
8
경과시간(주)
대조군
PreS1+HDAg 항혈청
전체 빌리루빈 (검출 한계 미만 <0.5mg/dl)
빌리루빈(mg/dl)
0.6
0.4
0.2
0.0
0
1
2
4
8
경과시간(주)
대조군
PreS1+HDAg 항혈청

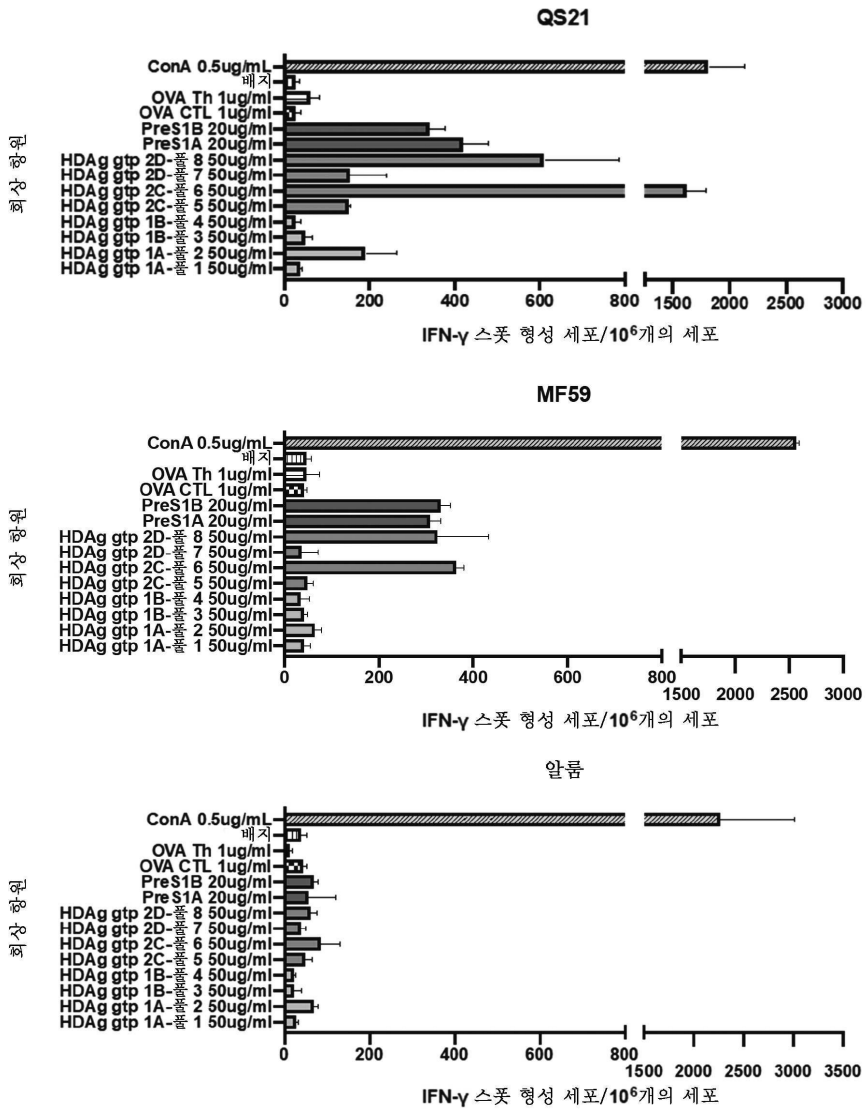
도면11a


ELISpot, ELISA
w0
w2
w3
w5
최종 역가
100000
10000
1000
100
10
알룸
Adda Vax
QS-21
D4 DNA

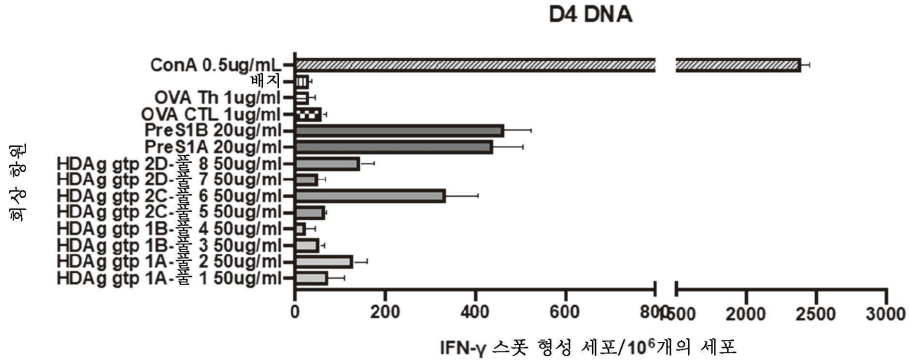
도면11b


2160 희석률
반응률(%)
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
1 3 10 30 0
1 3 10 30 0
1 3 10 30 0
1 3 10 30
neg
알룸
MF-59
QS-21
DNA D4

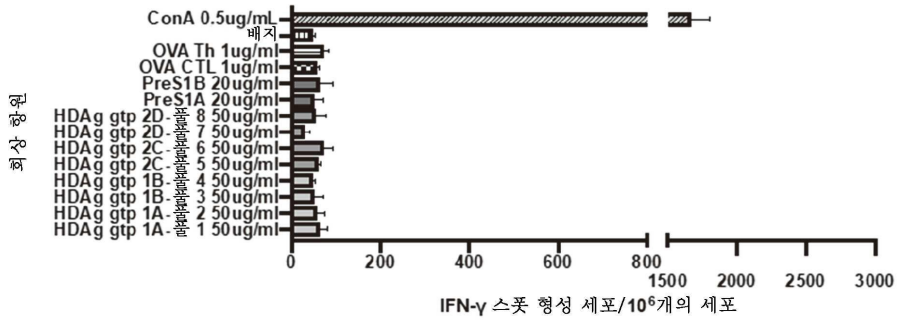
도면11ca


QS21
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 1 50ug/ml
회상 항원
0 200 400 600 800 1500 2000 2500 3000
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6개의 세포
MF59
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 1 50ug/ml
회상 항원
0 200 400 600 800 1500 2000 2500 3000
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6개의 세포
알룸
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 1 50ug/ml
회상 항원
0 200 400 600 800 1500 2000 2500 3000 3500
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6개의 세포

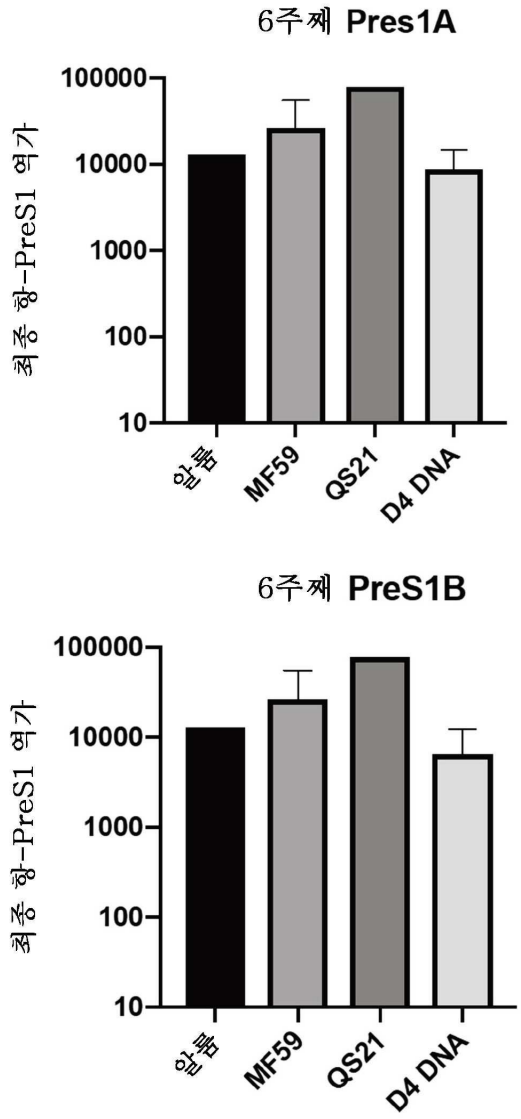
도면11cb


D4 DNA
ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 1 50ug/ml
회상 항원
0
200
400
600
800
1500
2000
2500
3000
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6개의 세포

나이브

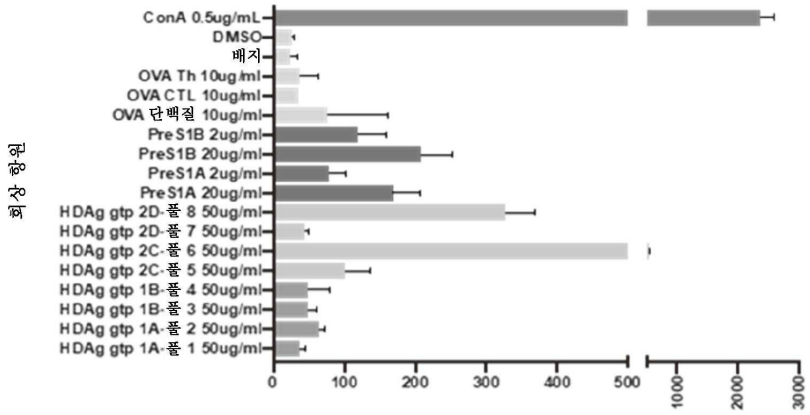

ConA 0.5ug/mL
배지
OVA Th 1ug/ml
OVA CTL 1ug/ml
PreS1B 20ug/ml
PreS1A 20ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 8 50ug/ml
HDAg gtp 2D-폴 7 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 6 50ug/ml
HDAg gtp 2C-폴 5 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 4 50ug/ml
HDAg gtp 1B-폴 3 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 2 50ug/ml
HDAg gtp 1A-폴 1 50ug/ml
회상 항원
0
200
400
600
800
1500
2000
2500
3000
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6개의 세포

도면11d


6주째 Pres1A
최종 항-PreS1 역가
100000
10000
1000
100
10
알룸
MF59
QS21
D4 DNA
6주째 PreS1B
최종 항-PreS1 역가
100000
10000
1000
100
10
알룸
MF59
QS21
D4 DNA

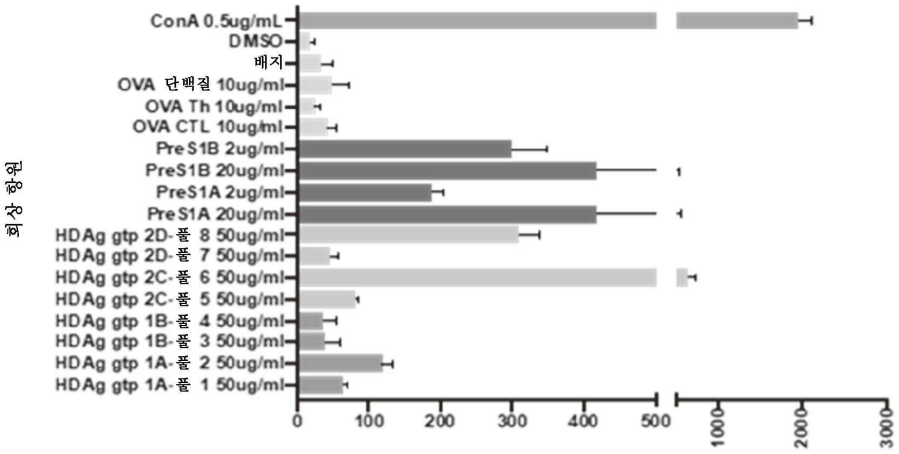
도면12aa

케이지 266 델타7-8 단백질 믹스 프라임 부스트



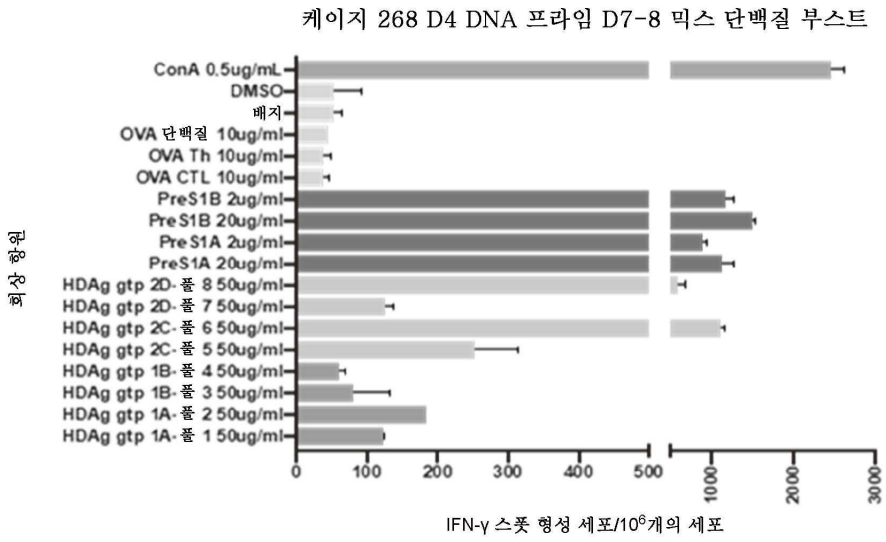
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6개의 세포

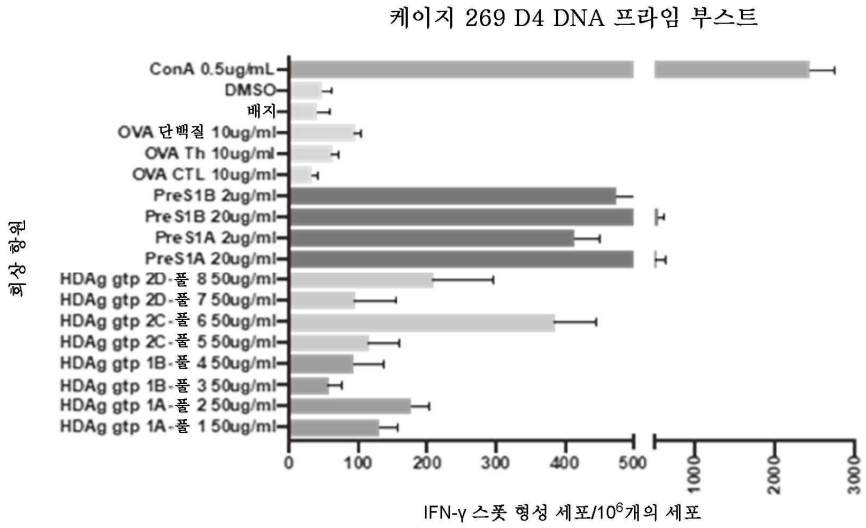
케이지 267 델타7-8 융합 단백질 프라임 부스트



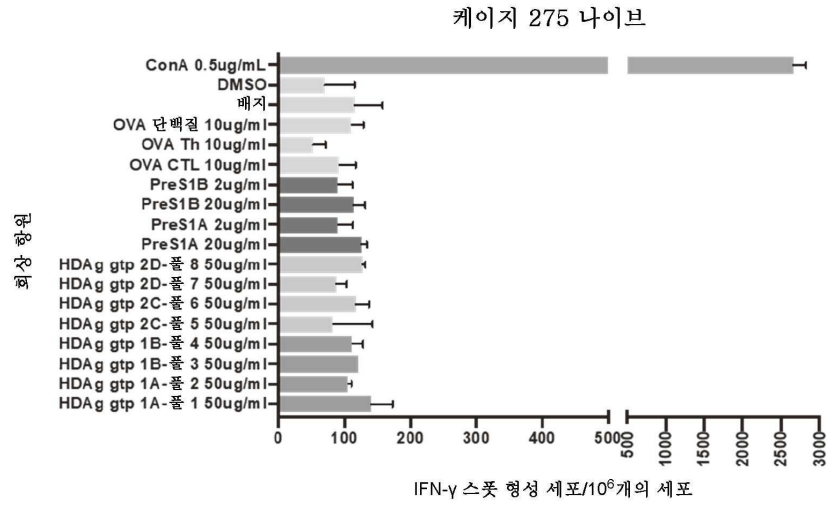
IFN-γ 스폿 형성 세포/10^6개의 세포

도면12ab

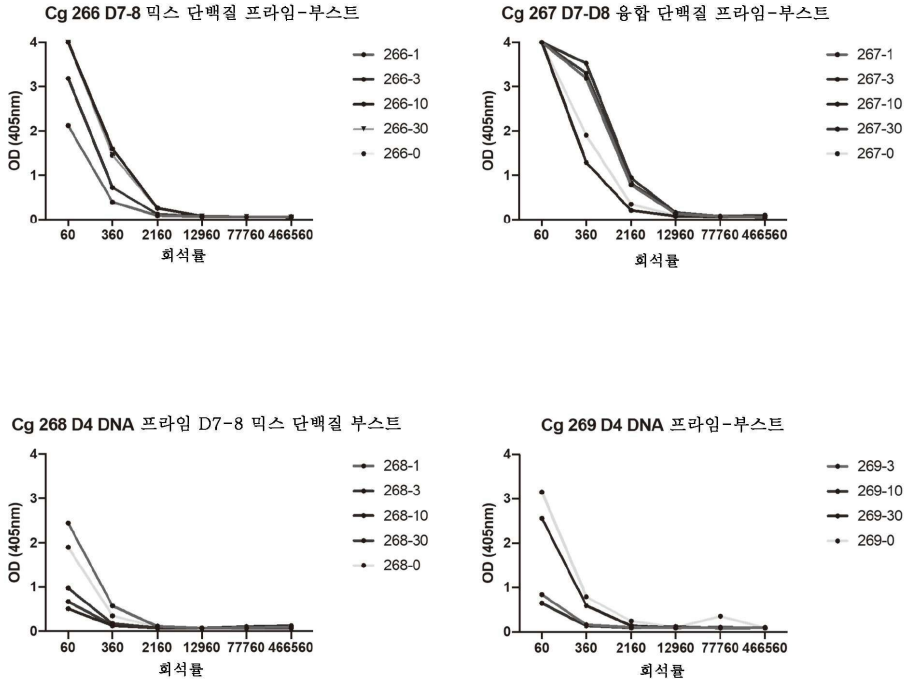




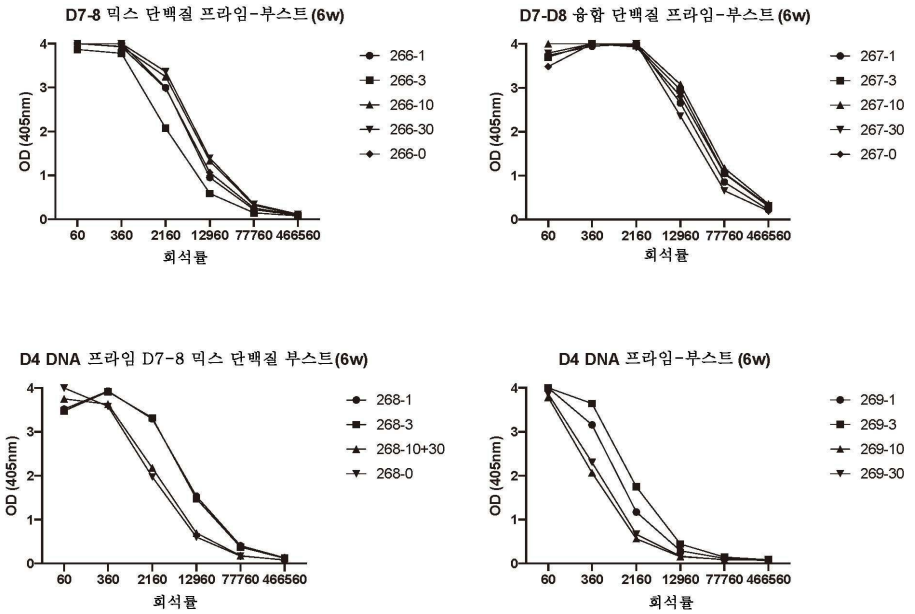
도면12ac



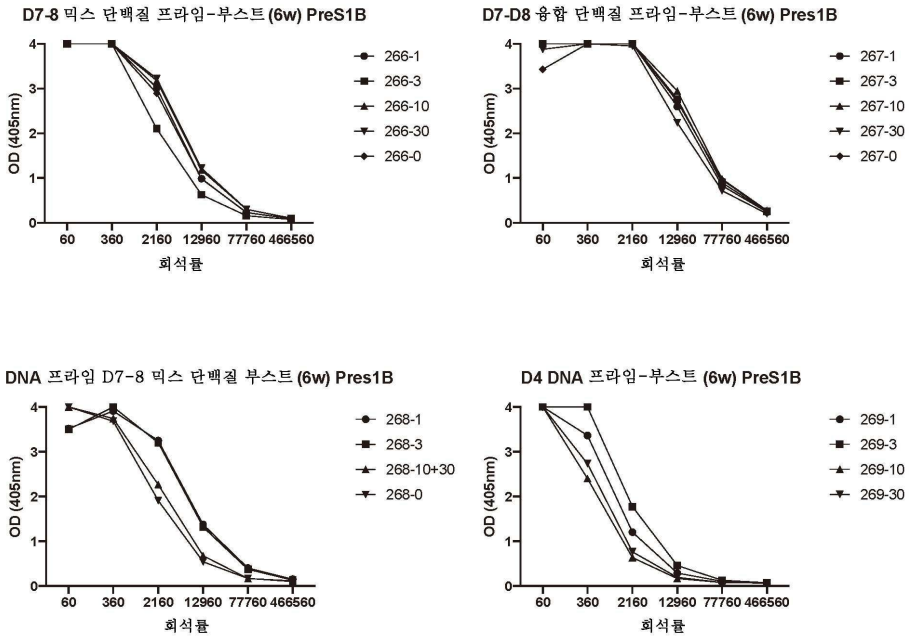
도면12b


Cg 266 D7-8 믹스 단백질 프라임-부스트
OD (405nm)
회석률
60 360 2160 12960 77760 466560
266-1
266-3
266-10
266-30
266-0
Cg 267 D7-D8 융합 단백질 프라임-부스트
267-1
267-3
267-10
267-30
267-0
Cg 268 D4 DNA 프라임 D7-8 믹스 단백질 부스트
268-1
268-3
268-10
268-30
268-0
Cg 269 D4 DNA 프라임-부스트
269-3
269-10
269-30
269-0

도면12c


D7-8 믹스 단백질 프라임-부스트 (6w)
OD (405nm)
회석률
60 360 2160 12960 77760 466560
266-1
266-3
266-10
266-30
266-0
D7-D8 융합 단백질 프라임-부스트 (6w)
267-1
267-3
267-10
267-30
267-0
D4 DNA 프라임 D7-8 믹스 단백질 부스트 (6w)
268-1
268-3
268-10+30
268-0
D4 DNA 프라임-부스트 (6w)
269-1
269-3
269-10
269-30

도면12d



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Svenska Vaccinfabriken Produktion AB

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING AND PREVENTING HEPATITIS B AND D

<130> SVF.005WO

<150> US 62/966970

<151> 2020-01-28

<160> 39

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 639

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HDAg genotype 1 A DNA sequence

<400> 1

agccgcagcg aaagcaaaaa aaaccgcggc ggccgcgaag aaattctgga acagtgggtg 60

ggcgcgcgca aaaaactgga agaactggaa cgcgatctgc gcaaaattaa aaaaaaaatt 120

aaaaaactgg aagaagaaaa cccgtggctg ggcaacatta aaggcattct gggcaaaaaa 180

gatcgcgaag gcgaaggcgc gccgccggcg aaacgcgcgc gcgcggatca gatggaagtg 240

gatagcggcc cgcgcaaacg cccgtttcgc ggcgaattta ccgataaaga acgccgcgat 300

catcgccgcc gcaaagcgct ggaaaacaaa cgcaaacagc tgagcagcgg cggcaaaagc 360

ctgagcaaag aagaagaaga agaactgcgc aaactgaccg aagaagatga acgccgcgaa 420

cgccgcgtgg cgggcccgcg cgtgggcggc gtgaacccgc tggaaggcgg cacccgcggc 480

gcgccgggcg gcggctttgt gccgagcatg cagggcgtgc cggaaagccc gtttgcgcgc 540

accggcgaag gcctggatgt gcgcggcaac cagggctttc cgtgggatat tctgtttccg 600

gcggatccgc cgtttagccc gcagagctgc cgcccgcag 639

<210> 2

<211> 639

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HDAg genotype 1 B DNA sequence

<400> 2

agccgcagcg aaagcaaaaa aaaccgcggc ggccgcgaag aagtgctgga acagtgggtg 60

aacggccgca aaaaactgga agaactggaa cgcgaactgc gccgcgcgcg caaaaaaatt 120

aaaaaactgg aagatgataa cccgtggctg ggcaacgtga aaggcattct gggcaaaaaa 180

gataaagatg gcgaaggcgc gccgccggcg aaacgcgcgc gcaccgatca gatggaaatt 240

gatagcggcc cgcgcaaacg cccgctgcgc ggcggcttta ccgatcgcga acgccaggat 300

catcgccgcc gcaaagcgct gaaaaacaaa aaaaaacagc tgagcgcggg cggcaaaagc 360

ctgagcaaag aagaagaaga agaactgaaa cgcctgaccc gcgaagatga agaacgcaaa 420

aaagaagaac atggcccgag ccgcctgggc gtgaacccga gcgaaggcgg cccgcgcggc 480

gcgccgggcg gcggctttgt gccgagcatg cagggcattc cggaaagccg ctttacccgc 540

accggcgaag gcctggatgt gcgcggcagc cgcggctttc cgcaggatat tctgtttccg 600

agcgatccgc cgtttagccc gcagagctgc cgcccgcag 639

<210> 3

<211> 639

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HDAg genotype 2 A DNA sequence

<400> 3

agccagagcg aaacccgccg cggccgccgc ggcacccgcg aagaaaccct ggaaaaatgg 60

attaccgcgc gcaaaaaagc ggaagaactg gaaaaagatc tgcgcaaaac ccgcaaaacc 120

attaaaaaac tggaagaaga aaacccgtgg ctgggcaaca ttgtgggcat tattcgcaaa 180

ggcaaagatg gcgaaggcgc gccgccggcg aaacgcccgc gcaccgatca gatggaagtg 240

gatagcggcc cgggcaaacg cccgcataaa agcggcttta ccgataaaga acgcgaagat 300

catcgccgcc gcaaagcgct ggaaaacaaa aaaaaacagc tgagcgcggg cggcaaaatt 360

ctgagcaaag aagaagaaga agaactgcgc cgcctgaccg atgaagatga agaacgcaaa 420

cgccgcgtgg cgggcccgcg cgtgggcgat gtgaacccga gccgcggcgg cccgcgcggc 480

gcgccgggcg gcggctttgt gccgcagatg gcgggcgtgc cggaaagccc gtttagccgc 540

accggcgaag gcctggatat tcgcggcacc cagggctttc cgtgggtgag cccgagcccg 600

ccgcagcagc gcctgccgct gctggaatgc accccgcag 639

<210> 4

<211> 639

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HDAg genotype 2 B DNA sequence

<400> 4

agccagagcg aaagcaaaaa aaaccgccgc ggcggccgcg aagatattct ggaaaaatgg 60

attaccaccc gccgcaaagc ggaagaactg gaaaaagatc tgcgcaaagc gcgcaaaacc 120

attaaaaaac tggaagatga aaacccgtgg ctgggcaaca ttattggcat tattcgcaaa 180

ggcaaagatg gcgaaggcgc gccgccggcg aaacgcccgc gcaccgatca gatggaaatt 240

gatagcggca ccggcaaacg cccgcataaa agcggcttta ccgataaaga acgcgaagat 300

catcgccgcc gcaaagcgct ggaaaacaaa aaaaaacagc tgagcagcgg cggcaaaaac 360

ctgagccgcg aagaagaaga agaactgggc cgcctgaccg tggaagatga agaacgccgc 420

cgccgcgtgg cgggcccgcg caccggcgat gtgaacctga gcggcggcgg cccgcgcggc 480

gcgccgggcg gcggctttgt gccgcgcatg gaaggcgtgc cggaaagccc gtttacccgc 540

accggcgaag gcctggatat tcgcggcaac cagggctttc cgtgggtgcg cccgagcccg 600

ccgcagcagc gcctgccgct gctggaatgc accccgcag 639

<210> 5

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HDAg genotype 1 A polypeptide sequence

<400> 5

Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu Ile Leu
1 5 10 15
Glu Gln Trp Val Gly Ala Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Arg Asp

20 25 30
Leu Arg Lys Ile Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu Asn Pro
35 40 45
Trp Leu Gly Asn Ile Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Arg Glu Gly
50 55 60
Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Ala Asp Gln Met Glu Val
65 70 75 80
Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Phe Arg Gly Glu Phe Thr Asp Lys

85 90 95
Glu Arg Arg Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Arg Lys
100 105 110
Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu
115 120 125
Leu Arg Lys Leu Thr Glu Glu Asp Glu Arg Arg Glu Arg Arg Val Ala
130 135 140
Gly Pro Arg Val Gly Gly Val Asn Pro Leu Glu Gly Gly Thr Arg Gly

145 150 155 160
Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Val Pro Glu Ser
165 170 175
Pro Phe Ala Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Asn Gln Gly
180 185 190
Phe Pro Trp Asp Ile Leu Phe Pro Ala Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln
195 200 205
Ser Cys Arg Pro Gln
210

<210

> 6

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HDAg genotype 1 B polypeptide sequence

<400> 6

Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu Val Leu
1 5 10 15

Glu Gln Trp Val Asn Gly Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Arg Glu
20 25 30

Leu Arg Arg Ala Arg Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Asp Asp Asn Pro
35 40 45

Trp Leu Gly Asn Val Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Lys Asp Gly
50 55 60

Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile
65 70 75 80

Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Leu Arg Gly Gly Phe Thr Asp Arg
85 90 95

Glu Arg Gln Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Lys Asn Lys Lys Lys
100 105 110

Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu
115 120 125

Leu Lys Arg Leu Thr Arg Glu Asp Glu Glu Arg Lys Lys Glu Glu His
130 135 140

Gly Pro Ser Arg Leu Gly Val Asn Pro Ser Glu Gly Gly Pro Arg Gly
145 150 155 160

Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Ile Pro Glu Ser
165 170 175

Arg Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Ser Arg Gly
180 185 190

Phe Pro Gln Asp Ile Leu Phe Pro Ser Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln
195 200 205

Ser Cys Arg Pro Gln
210

<210> 7

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HDAg genotype 2 A polypeptide sequence

<400> 7

Ser Gln Ser Glu Thr Arg Arg Gly Arg Arg Gly Thr Arg Glu Glu Thr
1 5 10 15

Leu Glu Lys Trp Ile Thr Ala Arg Lys Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys
20 25 30

Asp Leu Arg Lys Thr Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu Asn
35 40 45

Pro Trp Leu Gly Asn Ile Val Gly Ile Ile Arg Lys Gly Lys Asp Gly
50 55 60

Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln Met Glu Val
65 70 75 80

Asp Ser Gly Pro Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly Phe Thr Asp Lys
85 90 95

Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Lys Lys
100 105 110

Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ile Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu
115 120 125

Leu Arg Arg Leu Thr Asp Glu Asp Glu Glu Arg Lys Arg Arg Val Ala
130 135 140

Gly Pro Arg Val Gly Asp Val Asn Pro Ser Arg Gly Gly Pro Arg Gly
145 150 155 160

Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Gln Met Ala Gly Val Pro Glu Ser
165 170 175

Pro Phe Ser Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Thr Gln Gly
180 185 190

Phe Pro Trp Val Ser Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu

195 200 205

Glu Cys Thr Pro Gln
210

<210> 8

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HDAg genotype 2 B polypeptide sequence

<400> 8

Ser Gln Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Arg Gly Gly Arg Glu Asp Ile
1 5 10 15

Leu Glu Lys Trp Ile Thr Thr Arg Arg Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys
20 25 30

Asp Leu Arg Lys Ala Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Asp Glu Asn
35 40 45

Pro Trp Leu Gly Asn Ile Ile Gly Ile Ile Arg Lys Gly Lys Asp Gly
50 55 60

Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile
65 70 75 80

Asp Ser Gly Thr Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly Phe Thr Asp Lys
85 90 95

Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Lys Lys
100 105 110

Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Asn Leu Ser Arg Glu Glu Glu Glu Glu
115 120 125

Leu Gly Arg Leu Thr Val Glu Asp Glu Glu Arg Arg Arg Arg Val Ala
130 135 140

Gly Pro Arg Thr Gly Asp Val Asn Leu Ser Gly Gly Gly Pro Arg Gly
145 150 155 160

Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Arg Met Glu Gly Val Pro Glu Ser
165 170 175

Pro Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Asn Gln Gly

180 185 190

Phe Pro Trp Val Arg Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu

195 200 205

Glu Cys Thr Pro Gln

210

<210> 9

<211> 141

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PreS1 A DNA sequence

<400> 9

ggcaccaacc tgagcaccag caacccgctg ggctttttc cggatcatca gctggatccg 60

gcgtttcgcg cgaacagcgc gaacccggat tgggatttta acccgaacaa agatacctgg 120

ccggatgcga acaaagtggg c 141

<210> 10

<211> 141

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PreS1 B DNA sequence

<400> 10

ggccagaacc tgagcaccag caacccgctg ggctttttc cggatcatca gctggatccg 60

gcgtttcgcg cgaacaccgc gaacccggat tgggatttta acccgaacaa agatacctgg 120

ccggatgcga acaaagtggg c 141

<210> 11

<211> 47

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PreS1 A polypeptide sequence

<400> 11

Gly Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His

1 5 10 15

Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp Asp

20 25 30

Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly

35 40 45

<210> 12

<211> 47

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PreS1 B polypeptide sequence

<

400> 12

Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His

1 5 10 15

Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp

20 25 30

Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly

35 40 45

<210> 13

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> P2A autocatalytic peptide cleavage site DNA sequence

<400> 13

ggaagcggag ctactaactt cagcctgctg aagcaggctg gagacgtgga ggagaaccct 60

ggacct 66

<210> 14

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P2A autocatalytic peptide cleavage site polypeptide sequence

<400> 14

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

1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 15

<211> 3198

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-1 codon optimized DNA sequence

<400> 15

atggccagca gaagtgaatc aaaaaagaat cggggagggc gggaagaaat cctggaacag 60

tgggtcggag cacggaagaa actggaagaa ctggagaggg acctgcgcaa gatcaagaag 120

aagatcaaga agctggagga ggagaacccc tggctgggca atatcaaggg catcctgggc 180

aagaaggatc gggagggaga gggagcacca cctgcaaaga gggccagagc cgaccagatg 240

gaggtggata gcggaccaag gaagcgccct ttcagaggag agtttaccga caaggagcgg 300

agagatcaca ggcgccggaa ggccctggag aacaagagga agcagctgag ctccggcggc 360

aagtccctgt ctaaggagga ggaggaggag ctgcgcaagc tgacagagga ggacgagaga 420

agggagagga gggtggcagg acctagggtg ggaggcgtga acccactgga gggaggaacc 480

agaggagcac ctggaggagg attcgtgcca tccatgcagg gagtgcccga gtctcctttt 540

gcccggacag gcgagggcct ggatgtgaga ggcaatcagg gcttcccctg ggacatcctg 600

tttcctgccg atccaccctt ctctcctcag agctgccggc cacagagcag atccgagtct 660

aagaagaaca ggggaggaag agaggaggtg ctggagcagt gggtgaatgg ccggaagaag 720

ctggaggagc tggagcggga gctgagaagg gccagaaaga agatcaagaa gctggaagac 780

gataatcctt ggctgggcaa tgtgaaaggc atcctgggca agaaggacaa ggatggagag 840

ggagcacctc cagcaaagag ggcaagaacc gaccagatgg agatcgattc tggaccaagg 900

aagcgccccc tgagaggagg cttcacagac cgggagagac aggatcaccg ccggagaaag 960

gccctgaaga acaagaagaa gcagctgtcc gccggaggca agagcctgtc caaagaagag 1020

gaagaggagc tgaagaggct gacccgcgag gacgaggaga ggaagaagga ggagcacgga 1080

ccaagcaggc tgggagtgaa tccttccgag ggaggaccta ggggagcacc aggaggaggc 1140

ttcgtgccat ctatgcaggg catccccgag agccggttta ccagaacagg agagggcctg 1200

gacgtgaggg gctcccgcgg ctttcctcag gacatcctgt tcccatctga tccccctttt 1260

tccccccagt cttgtaggcc tcagggcacc aacctgtcta caagcaatcc actgggcttc 1320

tttcccgacc accagctgga tcctgccttc cgcgccaaca gcgccaatcc cgactgggac 1380

ttcaacccaa ataaggacac ctggccagat gccaacaagg tcggcggcca gaacctgtcc 1440

acatctaatc ctctgggctt ctttccagac caccagctgg atccagcctt ccgggccaac 1500

acagctaacc ctgactggga cttcaacccc aataaggata cttggcccga cgccaacaag 1560

gtcggcggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggctggaga cgtggaggag 1620

aaccctggac ctatgagcca gtccgagaca aggaggggcc ggagaggaac cagggaggag 1680

acactggaga agtggatcac agcccgcaag aaggccgagg agctggagaa ggacctgcgg 1740

aagaccagaa agacaatcaa gaagctggaa gaagagaacc catggctggg caatatcgtg 1800

ggcatcatca gaaagggcaa ggacggcgag ggagcaccac cagcaaagag gcccaggact 1860

gatcagatgg aagtcgatag cggaccaggc aagcggcctc acaagtccgg cttcacagac 1920

aaggagagag aggaccatag gcgccggaag gccctggaaa acaagaagaa gcaattatcc 1980

gccggcggca agatcctgtc caaagaggaa gaagaggagc tgagaaggct gaccgacgag 2040

gatgaggaga ggaaaagaag ggtggcagga ccaagggtgg gcgacgtgaa tcccagcagg 2100

ggaggaccaa gaggcgcccc tggcggcggc ttcgtgccac agatggcagg agtgccagag 2160

agccccttt ccaggacagg agagggcctg gatatcagag gcacccaggg ctttccttgg 2220

gtgtctccaa gccctccaca gcagcggctg ccactgctgg agtgcacccc tcagtcccag 2280

tctgagagca agaagaacag aaggggcggc agagaggaca tcctggagaa gtggatcacc 2340

acacgcagaa aagctgaaga actggaaaag gacctgagga aggcccgcaa aacaatcaag 2400

aagctggagg atgaaaatcc atggctggga aacatcatcg gcatcatcag gaagggcaag 2460

gacggggaag gcgcaccacc tgcaaagcgg cctagaacag atcagatgga aatcgattct 2520

ggcaccggca agaggccaca caagagcggc ttcaccgaca aggagcgcga ggatcacaga 2580

aggcgcaagg ccctggagaa caagaagaag caattaagca gcggcggcaa gaatctgtcc 2640

agagaagaag aggaggagct gggccgcctg accgtggagg acgaggagcg gagaaggcgc 2700

gtggcaggac cacgcacagg cgatgtgaac ctgtccggag gaggaccaag gggagcacct 2760

ggaggcggct tcgtgcctag aatggaggga gtgcctgagt ccccccttcac ccgcaccgga 2820

gagggcctgg acatcagagg caatcaggga ttcccatggg tgaggcccag cccaccacag 2880

cagcgcctgc cactgctgga gtgtaccccc cagggcacaa acctgtccac ctctaatccc 2940

ctgggcttct ttcctgatca tcagctggac ccagccttca gggccaactc cgccaatcca 3000

gattgggact tcaacccgaa taaggatact tggccagatg caaacaaggt cggaggacag 3060

aacctgagca catccaaccc tctgggcttc tttcctgacc atcagctgga tcccgccttt 3120

cgcgccaata ccgccaaccc tgattgggac ttcaacccta ataaggatac ttggcctgat 3180

gctaataagg tcgggtga 3198

<210> 16

<211> 3198

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-2 codon optimized DNA sequence

<400> 16

atggccggca ctaacctgtc tacatcaaac cctctgggat ttttccccga tcatcagctg 60

gaccccgcat ttcgcgctaa ctctgctaac cctgactggg atttcaaccc taataaggac 120

acatggccag atgccaacaa ggtcggcggc cagaacctgt ccacctctaa tcccctgggc 180

ttctttcctg accaccagct ggatcctgcc ttcagggcca acaccgccaa tcccgactgg 240

gacttcaacc caaataagga tacctggcct gacgctaaca aggtcggcag ccggtccgag 300

tctaagaaga ataggggagg aagggaggag atcctggagc agtgggtggg cgccagaaag 360

aagctggagg agctggagcg ggacctgaga aagatcaaga agaagatcaa gaagctggag 420

gaggagaacc cctggctggg caatatcaag ggcatcctgg gcaagaagga tcgggaggga 480

gagggagcac cacctgcaaa gagggccaga gccgaccaga tggaggtgga ttccggccct 540

aggaagcgcc cattcagagg cgagtttaca gacaaggagc ggagagatca caggcgccgg 600

aaggccctgg agaacaagag gaagcagctg agctccggcg gcaagagcct gtccaaggag 660

gaggaggagg agctgcgcaa gctgaccgag gaggacgaga gaagggagag gagggtggca 720

ggacctaggg tgggaggcgt gaacccactg gagggaggaa caagaggagc acccggagga 780

ggcttcgtgc cttctatgca gggcgtgcct gagagcccat ttgccaggac cggagagggc 840

ctggacgtga gaggcaatca gggcttccca tgggacatcc tgtttcccgc cgatccaccc 900

ttcagcccac agtcctgcag gccccagtct cgcagcgagt ccaagaagaa cagaggcgga 960

agggaggagg tgctggagca gtgggtgaat ggcaggaaga agctggaaga actggagagg 1020

gagctgagaa gggcccgcaa gaagatcaag aagctggaag acgataatcc ttggctgggc 1080

aatgtgaaag gcatcctggg caagaaggac aaggatggag agggagcacc tccagcaaag 1140

agggcaagaa cagaccagat ggagatcgat tccggaccaa ggaagcgccc tctgagggga 1200

ggcttcaccg accgggagag acaggatcac cgccggagaa aggccctgaa gaacaagaag 1260

aagcagctga gcgccggcgg caagtctctg agtaaagaag aagaggagga gctgaagcgg 1320

ctgacaagag aggacgagga gaggaagaag gaggagcacg gaccatccag gctgggagtg 1380

aatccttctg agggaggacc aaggggcgcc cctggcggag gcttcgtgcc tagcatgcag 1440

ggcatcccag agtccaggtt taccaggaca ggcgaaggcc tggacgtgcg gggctctaga 1500

ggctttcccc aggacatcct gttccctagc gatccccctt tttctcctca gagctgtaga 1560

ccacagggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggctggaga cgtggaggag 1620

aaccctggac ctatgggcac caacctgtcc acatctaacc ctctgggctt ctttccagat 1680

catcagctgg acccagcctt cagggccaac agcgccaatc cagactggga cttcaacccc 1740

aataaggaca catggcctga cgcaaacaag gtcggaggac agaacctgag cacctccaat 1800

ccactgggct tctttcccga ccaccagctg gatccagcct tccgcgccaa cactgctaac 1860

cctgattggg acttcaaccc taataaggat acatggcctg atgccaataa ggtcggctct 1920

cagagcgaga caaggagggg ccggagagga accagggagg agacactgga gaagtggatc 1980

accgcccgca agaaggccga ggagctggag aaggacctga ggaagacccg caagacaatc 2040

aagaagctgg aagaagagaa cccatggctg ggcaatatcg tgggcatcat cagaaagggc 2100

aaggacggcg agggagcacc accagcaaag aggccccgca cagatcagat ggaagtggat 2160

tccggacctg gcaagcggcc acacaagtct ggcttcaccg acaaggagag agaggaccat 2220

aggcgccgga aggccctgga aaacaagaag aagcaattat ctgccggcgg caagatcctg 2280

agtaaagaag aggaagagga gctgagaagg ctgaccgacg aggatgagga gaggaagcgc 2340

cgggtggccg gcccacgcgt gggcgacgtg aatccctcca ggggaggacc aagaggagca 2400

cctggaggcg gcttcgtgcc ccagatggcc ggcgtgcccg agtccccttt ttctcggacc 2460

ggcgagggcc tggatatcag aggcacacag ggctttccat gggtgtcccc ctctcctcca 2520

cagcagaggc tgccactgct ggagtgcaca ccccagagcc agagcgaatc taagaagaac 2580

agaaggggag gccgcgagga catcctggaa aaatggatca ccacacgcag aaaagctgaa 2640

gaactggaaa aggacctgcg gaaggccaga aagaccatca agaagctgga ggatgaaaat 2700

ccatggctgg gaaacatcat cggcatcatc cggaagggca aggacgggga aggcgcacca 2760

cctgcaaagc ggcctagaac cgatcagatg gaaatcgata gcggcacagg caagaggcca 2820

cacaagtccg gcttcaccga taaagagcgc gaggatcaca gaaggcgcaa ggccctggag 2880

aacaagaaga agcaattaag cagcggcggc aagaatctgt ccagagaaga ggaggaagag 2940

ctgggccgcc tgacagtgga ggacgaggag cggagaaggc gcgtggcagg acccagaacc 3000

ggcgatgtga acctgtccgg aggaggacct aggggagcac caggaggcgg cttcgtgcct 3060

agaatggagg gcgtgccaga gtctcccttt acccggacag gcgagggcct ggacatcaga 3120

ggcaatcagg gctttccctg ggtccgcccc tccccccctc agcagagact gccactgctg 3180

gaatgcacac cacagtga 3198

<210> 17

<211> 3762

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-3 codon optimized DNA sequence

<400> 17

atggccggca ccaatctgtc tacctcaaat cccctgggct tcttccccga tcatcagctg 60

gaccctgcct tccgagcaaa ttccgctaat cctgattggg atttcaaccc aaataaggac 120

acatggccag atgccaacaa ggtcggcggc cagaacctgt ccacctctaa tcctctgggc 180

ttctttccag accaccagct ggatcccgcc ttcagggcca acacagccaa tcccgactgg 240

gacttcaacc ctaataagga cacctggcct gacgccaaca aggtcggcag caggtccgag 300

tctaagaaga ataggggagg aagggaggag atcctggagc agtgggtggg agcacgcaag 360

aagctggagg agctggagcg ggacctgaga aagatcaaga agaagatcaa gaagctggag 420

gaggagaacc cctggctggg caatatcaag ggcatcctgg gcaagaagga tcgggagggа 480

gagggagcac cacctgcaaa gagggccaga gccgaccaga tggaggtgga ttccggacca 540

aggaagcgcc ctttcagagg agagtttaca gacaaggagc ggagagatca caggcgccgg 600

aaggccctgg agaacaagcg gaagcagctg agctccggcg gcaagagcct gtccaaggag 660

gaggaggagg agctgagaaa gctgaccgag gaggacgaga gaagggagag gagggtggcc 720

ggccccaggg tgggcggcgt gaaccctctg gagggaggaa caaggggagc accaggagga 780

ggcttcgtgc cttccatgca gggcgtgccc gagtctcctt ttgccaggac cggagagggc 840

ctggacgtgc gcggcaatca gggcttccca tgggacatcc tgtttcccgc cgatccaccc 900

ttctctcccc agagctgcag gcctcagtct cgcagcgagt ccaagaagaa cagaggcgga 960

agggaggagg tgctggagca gtgggtgaat ggcaggaaga agctggaaga actggagagg 1020

gagctgagaa gggcccgcaa gaagatcaag aagctggaag acgataatcc ttggctgggc 1080

aatgtgaaag gcatcctggg caagaaggac aaggatggag agggagcacc tccagcaaag 1140

agggcaagaa cagaccagat ggagatcgat tctggaccaa ggaagcgccc cctgagggga 1200

ggcttcaccg accgggagag acaggatcac cgccggagaa aggccctgaa gaacaagaag 1260

aagcagctga gcgccggcgg caagtctctg agtaaagaag aagaggagga gctgaagcgg 1320

ctgaccagag aggacgagga gcggaagaag gaggagcacg gcccaagcag actgggagtg 1380

aatccatccg agggaggacc tagaggcgcc cctggcggcg gcttcgtgcc ttctatgcag 1440

ggcatcccag agagcaggtt taccaggaca ggcgaaggcc tggacgtgcg gggctccaga 1500

ggctttcccc aggacatcct gttcccttct gatccccctt tttccccaca gtcttgtagg 1560

ccccagggca ccaacctgtc cacatctaac ccactgggct tctttcctga tcaccagctg 1620

gatccagcct tccgcgccaa ctccgccaat ccagactggg acttcaaccc caataaggac 1680
acatggcctg atgctaacaa ggtcggaggc cagaacctga gcacctccaa tcccctgggc 1740
ttctttcctg accaccagct ggatcctgcc ttccgcgcca acacagctaa ccctgattgg 1800
gacttcaacc caaataagga tacctggcct gatgcaaaca aggtcggagg aagcggagct 1860
actaacttca gcctgctgaa gcaggctgga gacgtggagg agaaccctgg acctatgggc 1920
accaacctgt ctacaagcaa tccactgggc ttctttcccg accatcagct ggacccagcc 1980
ttcagggcca acagcgccaa ccctgactgg gacttcaacc caaataagga cacgtggcct 2040

gatgccaaca aggtcggagg acaaaacctg tccacctcta acccccctggg cttctttccc 2100
gatcatcaat tagacccagc cttccgcgct aacactgcta accctgactg ggacttcaac 2160
ccgaataagg atacttggcc tgatgccaat aaggtcggca gccagtccga gacaaggagg 2220
ggccggagag gaaccaggga ggagacactg gagaagtgga tcaccgccag aaagaaggcc 2280
gaggagctgg agaaggacct gaggaagacc cgcaagacaa tcaagaagct ggaagaagag 2340
aacccttggc tgggcaatat cgtgggcatc atcagaaagg gcaaggacgg cgagggagca 2400
ccaccagcca agaggccacg cacagatcag atggaagtgg atagcggacc aggcaagagg 2460

cctcacaagt ccggcttcac cgacaaggag agggaggacc ataggcgccg gaaggccctg 2520
gaaaacaaga agaagcaatt atccgccggc ggcaagatcc tgtctaaaga agaggaagaa 2580
gagctgagaa ggctgaccga cgaggatgag gagaggaaga ggagggtggc aggacctaga 2640
gtgggcgacg tgaatccatc caggggagga ccaagaggag caccaggagg cggcttcgtg 2700
ccacagatgg caggagtgcc agagagcccc ttttccagga caggagaggg cctggatatc 2760
aggggaaccc agggctttcc ttgggtgtct ccaagccctc cacagcagcg gctgccactg 2820
ctggagtgca caccccagtc ccagtctgag agcaagaaga acagaagggg cggcagagag 2880

gacatcctgg aaaaatggat caccacacgc agaaaagctg aagaactgga aaaggacctg 2940
cggaaggcca gaaagaccat caagaagctg gaggatgaaa atccatggct gggaaatatc 3000
atcggcatca tccggaaggg caaggacggg gaaggcgcac cacctgcaaa gcggcccagg 3060
accgatcaga tggaaatcga ttctggaacc ggcaagcggc ctcacaagag tggcttcacc 3120
gataaggaga gagaggatca cagaaggcgc aaggccctgg agaacaagaa gaagcaatta 3180
agcagcggcg gcaagaatct gtccagagaa gaggaagagg agctgggcag actgacagtg 3240
gaggacgagg agcggagaag gcgcgtggca ggaccaagaa ccggcgatgt gaacctgtcc 3300

ggaggaggac caaggggagc acctgggga ggcttcgtgc caaggatgga gggagtgcct 3360

gagtcccct tcaccagaac cggcgaaggc ctggacatca ggggcaatca gggattccca 3420

tgggtgcggc cctccccacc ccagcagaga ctgcctctgc tggagtgtac cccacagggc 3480

actaacctgt ccacctctaa cccgttaggc ttctttcctg accatcaatt agatcccgcc 3540

ttccgggcca acagcgccaa tcctgattgg gacttcaacc cgaataagga cacctggccc 3600

gacgcaaaca aggtcggagg gcaaaacctg agcacctcca acccttagg cttctttcca 3660

gatcatcagc tggatccagc ctttagagcc aataccgcca accctgactg ggatttcaac 3720

cctaacaaag atacctggcc cgacgctaac aaagtgggat ga 3762

<210> 18

<211> 3900

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-4 codon optimized DNA sequence

<400> 18

atggccagtc ggagcgaatc aaagaaaaat aggggagggc gggaagaaat cctggagcag 60

tgggtcggag cacgaaagaa actggaagaa ctggagaggg acctgcgcaa gatcaagaag 120

aagatcaaga agctggagga ggagaacccc tggctgggca atatcaaggg catcctgggc 180

aagaaggatc gggagggaga gggagcacca cctgcaaaga gggccagagc cgaccagatg 240

gaggtggata gcggccctag gaagcgccca ttcagaggcg agtttacaga caaggagcgg 300

agagatcaca ggcgccggaa ggccctggag aacaagcgga agcagctgag ctccggcggc 360

aagtccctgt ctaaggagga ggaggaggag ctgagaaagc tgaccgagga ggacgagaga 420

agggagagga gggtggcagg acctagggtg ggaggcgtga acccactgga gggaggaaca 480

aggggagcac ctggaggagg attcgtgcca tccatgcagg gagtgcctga gtctccattt 540

gccaggaccg gagagggcct ggatgtgcgc ggaaatcagg gcttcccctg ggacatcctg 600

tttcctgccg atccaccctt ctccccacag tcttgcaggc cacagggaac caacctgagc 660

acatccaatc ctctgggctt ctttccagac caccagctgg atcctgcctt cagagccaac 720

tccgccaatc cagactggga cttcaacccc aataaggaca catggcctga tgccaacaag 780

gtcggcggcc agaacctgtc taccagcaat cccctgggct tctttcctga ccaccagctg 840

gatccagcct tccgggccaa cactgctaac cctgattggg acttcaaccc taataaggat 900

acctggccag acgccaacaa ggtcggcgga agcggagcta ctaacttcag cctgctgaag 960

caggctggag acgtggagga gaaccctgga cctatgtcca ggtctgagag caagaagaat 1020

aggggaggaa gagaggaggt gctggagcag tgggtgaacg gccgcaagaa gctggaggag 1080

ctggagaggg agctgagaag ggcccgcaag aagatcaaga agctggaaga cgataatcct 1140

tggctgggca atgtgaaagg catcctgggc aagaaggaca aggatggaga gggagcacct 1200

ccagcaaaga gggcaagaac agaccagatg gagatcgatt ctggaccaag gaagcgccct 1260

ctgaggggag gcttcaccga ccgggagaga caggatcacc gccggagaaa ggccctgaag 1320

aacaagaaga agcagctgtc cgccggcggc aagtccctga gcaaagaaga ggaagaggag 1380

ctgaagaggc tgacccgcga ggacgaggag cggaagaagg aggagcacgg accaagcaga 1440

ctgggagtga atccttccga gggaggacca agaggagcac ccggaggagg cttcgtgcca 1500

tctatgcagg gcatccccga gagccggttt accagaacag gagagggcct ggacgtgagg 1560

ggctcccgcg gctttcctca ggacatcctg ttcccatctg atcccccttt tagcccacag 1620

tcctgtaggc cccagggcac taacctgagc acatccaacc cactgggctt ctttcctgat 1680

catcagctgg acccagcctt ccgcgccaac agcgccaacc ctgactggga cttcaaccca 1740

aataaggaca catggccaga tgctaacaag gtcggaggac aaaacctgtc taccagcaac 1800

cctctgggct tctttcccga tcatcagctg gaccccgcct tcagggccaa cacagccaat 1860

cccgactggg acttcaaccc gaataaggac acctggccag atgcaaacaa ggtcggagga 1920

agcggagcta ctaacttcag cctgctgaag caggctggag acgtggagga gaaccctgga 1980

cctatgagcc agtctgagac aaggaggggc cggagaggaa ccagggagga gacactggag 2040

aagtggatca ccgccagaaa gaaggccgag gagctggaga aggacctgcg gaagaccaga 2100

aagacaatca agaagctgga agaagagaac ccatggctgg gcaatatcgt gggcatcatc 2160

cgcaagggca aggacggcga gggagcacca ccagcaaaga ggccccgcac agatcagatg 2220

gaagtggata gcggccctgg caagaggcca cacaagtccg gcttcaccga caaggagagg 2280

gaggaccata ggcgccggaa ggccctggaa aacaagaaga agcaattatc cgccggcggc 2340

aagatcctgt ccaaagagga agaagaggag ctgagaaggc tgaccgacga ggatgaggag 2400

aggaaaagaa gggtggcagg accaagagtg ggcgacgtga atcccagcag aggcggacca 2460

agaggagcac ctggaggcgg cttcgtgccc cagatggccg gcgtgcccga gtctcctttt 2520

agcagaactg gagagggcct ggatatcagg ggaacacagg gctttccatg ggtgagccca 2580

tcccctccac agcagaggct gccactgctg gagtgcaccc ctcagggaac caacctgtct 2640

accagcaacc cgctgggctt ctttcccgac catcagctgg accctgcctt ccgcgccaac 2700

tccgccaacc ctgattggga cttcaacccg aataaggata cctggcccga cgctaacaag 2760

gtcggaggcc agaacctgtc cacctctaac cccttaggct tctttcccga tcaccagctg 2820

gatcccgcct tcagagccaa cactgctaac cccgattggg acttcaaccc gaataaggac 2880

acgtggccag acgctaacaa ggtcgggggga agcggagcta ctaacttcag cctgctgaag 2940

caggctggag acgtggagga gaaccctgga cctatgtcgc agtccgagtc taagaagaat 3000

agaaggggcg gccgggagga tatcctggaa aaatggatca ccacacgcag aaaagctgaa 3060

gaactggaaa aggacctgag gaaggcccgc aagaccatca agaagctgga ggatgaaaat 3120

ccatggctgg gaaacatcat cggcatcatc agaaagggca aggacgggga aggcgcccca 3180

cctgcaaagc ggcctagaac cgatcagatg gaaatcgatt ctggcacagg caagcggcca 3240

cacaagagtg gcttcaccga taaggagaga gaggatcaca gaaggcgcaa ggccctggag 3300

aacaagaaga agcaattaag cagcggcggc aagaatctgt ccagagaaga agaggaggag 3360

ctgggcagac tgacagtgga ggacgaggag cggagaaggc gcgtggcagg accaaggacc 3420

ggcgatgtga acctgagcgg aggaggacct aggggagcac caggaggcgg cttcgtgcct 3480

aggatggagg gagtgccaga gtcccccttt accaggactg gcgagggcct ggacatcagg 3540

ggaaatcagg gattcccatg ggtgcggcct agcccaccac agcagagact gccactgctg 3600

gagtgtacac cccagggcac aaacctgagc acatccaatc cgctgggctt ctttccagat 3660

catcaattag atccagcctt cagggccaac tccgccaatc cggattggga cttcaacccg 3720

aataaggaca cttggcccga cgcaaacaag gtcggagggc aaaacctgtc taccagcaat 3780

ccacttggct tctttcctga ccatcagctg gatcccgcct ttcgcgccaa taccgccaat 3840

cctgactggg acttcaatcc taacaaagac acctggcccg acgcaaacaa agtgggatga 3900

<210> 19

<211> 2634

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-5 codon optimized DNA sequence

<400> 19

atggcctcac ggtcagagtc aaagaaaaat agggggggcc gggaagaaat cctggaacag 60

tgggtcggag cacggaaaaa actggaagag ctggagaggg acctgcgcaa gatcaagaag 120

aagatcaaga agctggagga ggagaacccc tggctgggca atatcaaggg catcctgggc 180

aagaaggatc gggagggaga gggagcacca cctgcaaaga gggccagagc cgaccagatg 240

gaggtggata gcggccctag gaagcgccca ttcagaggcg agtttaccga caaggagcgg 300

agagatcaca ggcgccggaa ggccctggag aacaagcgga agcagctgag ctccggcggc 360

aagtccctgt ctaaggagga ggaggaggag ctgagaaagc tgacagagga ggacgagaga 420

agggagcgcc gggtggccgg cccaagggtg ggcggcgtga acccccctgga gggaggaacc 480

aggggagcac ctggaggagg cttcgtgcca tctatgcagg gcgtgcctga gagcccattt 540

gccaggacag gagagggcct ggatgtgcgc ggcaatcagg gcttcccctg ggacatcctg 600

tttcctgccg atccaccctt cagcccacag tcctgcaggc ctcagagcag atccgagtct 660

aagaagaaca ggggaggaag agaggaggtg ctggagcagt gggtgaatgg ccggaagaag 720

ctggaggagc tggagcggga gctgagaagg gccagaaaga agatcaagaa gctggaagac 780

gataatcctt ggctgggcaa tgtgaaaggc atcctgggca agaaggacaa ggatggagag 840

ggagcacctc cagcaaagag ggcaagaacc gaccagatgg agatcgatag cggaccaagg 900

aagcgccctc tgagaggagg cttcacagac cgggagagac aggatcaccg ccggagaaag 960

gccctgaaga acaagaagaa gcagctgtcc gccggaggca agagcctgtc caaagaagag 1020

gaagaggagc tgaagaggct gacccgcgag gacgaggagc ggaagaagga ggagcacggc 1080

ccttccagac tgggcgtgaa tccatctgag ggaggaccaa ggggagcacc aggcggcggc 1140

ttcgtgccaa gcatgcaggg catccccgag tcccggttta ccagaacagg agagggcctg 1200

gacgtgaggg gctctcgcgg ctttcctcag gacatcctgt tcccaagcga tccccctttt 1260

tctccacaga gctgtcgccc ccagggaagc ggagctacta acttcagcct gctgaagcag 1320

gctggagacg tggaggagaa ccctggacct atgtctcaga gcgagacaag gaggggccgg 1380

agaggaacca gggaggagac actggagaag tggatcacag ccagaaagaa ggccgaggag 1440

ctggagaagg acctgcggaa gaccagaaag acaatcaaga agctggaaga agaaaatcca 1500

tggctgggaa atatcgtggg catcatcagg aagggcaagg acggcgaggg agcaccacca 1560

gccaagaggc ctcgcactga tcagatggag gtggattccg gccctggcaa gaggccacac 1620

aagtctggct tcacagacaa ggagagggag gaccataggc gccggaaggc cctggaaaac 1680

aagaagaagc aattatctgc cggcggcaag atcctgagca aagaggaaga ggaggagctg 1740

agaaggctga ccgacgagga tgaggagagg aagaggaggg tggcaggacc aagagtgggc 1800

gacgtgaatc ctagcagagg cggaccaaga ggcgccccag gcgggggctt cgtgccacag 1860

atggcaggag tgccagagtc ccctttttct aggaccggag agggcctgga tatcagggga 1920

acacagggct ttccatgggt gtccccatct cctccacagc agaggctgcc actgctggag 1980

tgcacccctc agagccagtc cgagtctaag aagaatagaa ggggcggccg cgaggacatc 2040

ctggagaagt ggatcaccac acgcagaaaa gctgaagaac tggaaaagga cctgaggaag 2100

gcccgcaaaa caatcaagaa gctggaggat gagaaccctt ggctgggcaa tatcatcgga 2160

attatcagga agggcaagga tggcgaaggc gccccacctg caaagcggcc aaggactgat 2220

cagatggaaa tcgatagcgg aacaggcaag cggccccaca agtccggctt caccgacaag 2280

gagagagagg atcacagaag gcgcaaggcc ctggagaaca agaagaagca attaagcagc 2340

ggcggcaaga atctgtccag agaagaagag gaggagctgg gcagactgac cgtggaggac 2400

gaggagcgga gaaggcgcgt ggcaggacct cgcacaggcg atgtgaacct gtccggagga 2460

ggacctaggg gagcaccagg aggcggcttc gtgccacgca tggagggcgt gccagagtct 2520

ccctttaccc gcaccggaga gggcctggac atcaggggca atcagggctt tccctgggtc 2580

cgcccctccc cccctcagca gagactgccc ctgctggaat gcacaccaca gtga 2634

<210> 20

<211> 2772

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-6 codon optimized DNA sequence

<400> 20

atggcctcac ggtcagagtc aaagaagaac agaggcggaa gagaagaaat cctggagcag 60

tgggtcggag cacggaaaaa gctggaagaa ctggagaggg acctgcgcaa gatcaagaag 120

aagatcaaga agctggagga ggagaacccc tggctgggca atatcaaggg catcctgggc 180

aagaaggata gggagggaga gggagcacca cctgcaaaga gggccagagc cgaccagatg 240

gaggtggata gcggaccaag gaagcgcccc ttccgcggag agtttaccga caaggagcgg 300

agagatcaca ggcgccggaa ggccctggag aacaagagga agcagctgag ctccggcggc 360

aagtccctgt ctaaggagga ggaggaggag ctgcgcaagc tgacagagga ggacgagaga 420

agggagagga gggtggcagg accaagggtg ggaggagtga atcctctgga gggaggaacc 480

agaggagcac caggaggagg cttcgtgcca agcatgcagg gagtgccaga gtccccctttt 540

gccaggacag gagagggcct ggacgtgaga ggcaaccagg gcttcccttg ggacatcctg 600

tttccagccg atccaccctt cagccctcag tcctgcaggc cacagggaag cggagctact 660

aacttcagcc tgctgaagca ggctggagac gtggaggaga accctggacc tatgagccgg 720

tccgagtcta agaagaatag gggaggaaga gaggaggtgc tggagcagtg ggtgaacggc 780

agaaagaagc tggaggagct ggagagggag ctgagaaggg cccgcaagaa gatcaagaag 840

ctggaagacg ataatccttg gctgggcaat gtgaaaggca tcctgggcaa gaaggacaag 900

gatggagagg gagcacctcc agcaaagagg gcaagaaccg accagatgga gatcgatagc 960

ggacctagga agcgcccact gaggggaggc tttacagacc gggagagaca ggatcaccgc 1020

cggagaaagg ccctgaagaa caagaagaag cagctgtccg ccggaggcaa gagcctgtcc 1080
aaagaagagg aagaggagct gaagaggctg acccgcgagg acgaggagag gaagaaggag 1140
gagcacggac catctaggct gggagtgaat cccagcgagg gaggaccaag gggagcacct 1200
ggaggaggct tcgtgccctc catgcagggc atccctgagt ctcggtttac cagaaccggc 1260
gagggcctgg acgtgagggg cagccgcggc tttccacagg acatcctgtt cccctccgat 1320
ccccctttt ctccccagag ctgtcgccct caaggaagcg gagctactaa cttcagcctg 1380
ctgaagcagg ctggagacgt ggaggagaac cctggaccta tgtctcagag cgagacaagg 1440

aggggccgga gaggaaccag ggaggagaca ctggagaagt ggatcacagc ccgcaagaag 1500
gccgaggagc tggagaagga cctgcggaag accagaaaga caatcaagaa gctggaagaa 1560
gagaaccctt ggctgggcaa tatcgtgggc atcatcagga agggcaagga cggcgaggga 1620
gcaccaccag ccaagaggcc acgcactgat cagatggagg tggattctgg accaggcaag 1680
cggccccaca agagcggctt cacagacaag gagagagagg accataggcg ccggaaggcc 1740
ctggaaaaca agaagaagca attaagcgcc ggcggcaaga tcctgtccaa agaggaagag 1800
gaggagctga gaaggctgac cgacgaggat gaggagagga aaagaagggt ggcaggacct 1860

agggtgggcg acgtgaatcc aagcagggga ggacctagag gagcaccagg aggcggcttc 1920
gtgccacaga tggcaggagt gcctgagtcc ccattttctc ggaccggcga gggcctggat 1980
atcagaggca cacagggctt cccctgggtg tccccttctc ctccacagca gcggctgcct 2040
ctgctggagt gcacccctca gggaagcgga gctactaact tcagcctgct gaagcaggct 2100
ggagacgtgg aggagaaccc tggacctatg tcgcagagcg aatctaagaa gaatagaagg 2160
ggcggcagag aggatatcct ggagaagtgg atcaccacac gcagaaaagc tgaagaactg 2220
gaaaaggacc tgaggaaggc ccgcaagacc atcaagaagc tggaggatga aaatccatgg 2280

ctgggaaata tcatcggcat catccggaag ggcaaggacg gggaaggcgc cccacctgca 2340
aagcggccca ggactgatca gatggaaatc gattccggca caggcaagag gcctcacaag 2400
tctggcttca cagataaaga gcgcgaggat cacagaaggc gcaaggccct ggagaacaag 2460
aagaagcaat tatctagcgg cggcaagaat ctgtccagag aagaagagga ggagctgggc 2520
cgcctgaccg tggaggacga ggagcggaga aggcgcgtgg caggaccaag aacaggcgat 2580
gtgaacctgt ctggaggcgg cccaaggggc gcccccggcg gaggcttcgt gccaagaatg 2640
gaaggcgtgc cagagtcccc ttttacccgg acaggggaag gcctggacat tagaggcaat 2700

cagggctttc cctgggtgcg accaagcccc cctcagcagc gactgcctct gctggagtgt 2760

acccctcagt ga 2772

<210> 21

<211> 1569

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-7 codon optimized DNA sequence

<400> 21

atggcctcac ggtctgagtc aaagaagaat cgggggggaa gagaagaaat cctggaacag 60

tgggtcggcg cacggaaaaa actggaagaa ctggagcggg acctgagaaa gatcaagaag 120

aagatcaaga agctggagga agagaacccc tggctgggca atatcaaggg catcctgggc 180

aagaaggatc gggagggcga gggagcacca cctgcaaaga gggcaagggc agaccagatg 240

gaggtggatt ccggacctag gaagcggccc ttccggggag agtttaccga caaggagcgg 300

agagatcaca ggcgccggaa ggccctggag aacaagcgga agcagctgag ctccggcggc 360

aagtctctga gcaaggagga ggaggaggag ctgagaaagc tgacagagga ggacgagaga 420

agggagcgcc gggtggccgg cccaagggtg ggcggcgtga acccccctgga gggaggaacc 480

aggggagcac caggaggagg cttcgtgcct tctatgcagg gcgtgccaga gagccccttt 540

gccaggacag gagagggcct ggatgtgcgc ggcaatcagg gcttcccatg ggacatcctg 600

tttcccgccg atccaccctt ctcccctcag tcttgcaggc cacagtcccg ctctgagagc 660

aagaagaaca ggggaggaag ggaggaggtg ctggagcagt gggtgaatgg caggaagaag 720

ctggaggagc tggagcggga gctgagaagg gccagaaaga agatcaagaa gctggaagac 780

gataatcctt ggctgggcaa tgtgaaaggc atcctgggca agaaggacaa ggatggagag 840

ggagcacctc cagcaaagag ggcacgcacc gaccagatgg agatcgattc cggaccaagg 900

aagcggcccc tgaggggagg cttcacagac agggagcgcc aggatcaccg ccggagaaag 960

gccctgaaga acaagaagaa gcagctgtct gccggcggca agtccctgtc taaagaagag 1020

gaggaggagc tgaagcggct gaccagagag gacgaggagc ggaagaagga ggagcacggc 1080

ccttccagac tgggcgtgaa tccatctgag ggaggaccaa gaggcgcccc tggcggaggc 1140

ttcgtgccta gcatgcaggg catcccagag tccaggttta ccagaaccgg agagggcctg 1200

gacgtgcggg gctctagagg ctttccccag gacatcctgt tccctagcga tccccctttt 1260

agcccccagt cctgtaggcc tcagggcacc aacctgagca catccaatcc actgggcttc 1320

tttccagacc accagctgga tccagccttc cgcgccaaca gcgccaatcc agactgggac 1380

ttcaacccca ataaggacac ctggcctgat gccaacaagg tcggcggcca gaacctgtct 1440

acaagcaatc ctctgggctt ctttcctgat caccagctgg atcctgcctt tcgggccaat 1500

acagccaacc ctgactggga cttcaatcct aacaaagaca cttggcccga tgctaataag 1560

gtcggctga 1569

<210> 22

<211> 1569

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-8 codon optimized DNA sequence

<400> 22

atggccagtc agagcgagac ccgcagagga cggagaggaa cacgagaaga gacactggag 60

aaatggatta cagcacggaa gaaggcagaa gagctggaga aggacctgag gaagacccgc 120

aagacaatca agaagctgga ggaggagaac ccctggctgg gcaatatcgt gggcatcatc 180

aggaagggca aggatggaga gggagcacca cctgccaaga ggcctcgcac agaccagatg 240

gaggtggata gcggaccagg caagcggcct cacaagtccg gcttcaccga caaggagaga 300

gaggatcacc ggagaaggaa ggccctggag aacaagaaga agcagctgtc cgccggcggc 360

aagatcctgt ctaaggagga ggaggaggag ctgcgccggc tgacagacga ggatgaggag 420

aggaagagaa gggtggcagg accaagggtg ggcgacgtga atccttctag gggaggacca 480

aggggagcac caggaggagg cttcgtgcct cagatggccg gcgtgccaga gtctcccttt 540

agccggacag gcgagggcct ggatatcaga ggcacccagg gctttccttg ggtgtctcca 600

agcccaccac agcagcggct gccactgctg gagtgcacac cccagtccca gtctgagagc 660

aagaagaaca ggaggggagg aagagaggac atcctggaga agtggatcac cacaagaagg 720

aaggccgagg agctggagaa ggacctgcgg aaggccagaa agaccatcaa gaagctggag 780

gatgaaaatc cttggctggg aaatatcatc ggaattatta gaaaaggcaa ggacggagag 840

ggagcacctc cagcaaagcg gccaagaaca gaccagatgg agatcgattc tggaaccggc 900

aagaggcccc acaagagtgg cttcaccgat aaggagcgcg aggatcaccg ccggagaaag 960

gccctggaaa acaagaagaa gcaattaagc tccggcggca agaatctgag cagagaagaa 1020

gaggaggagc tgggccgcct gacagtggag gacgaggaga ggcgccggag agtggcagga 1080

cctagaaccg gcgatgtgaa cctgtccgga ggcggcccaa ggggagcacc tggaggcggc 1140

ttcgtgccac gcatggaggg cgtgcctgag tctcccttca ccaggacagg agagggcctg 1200

gacatcagag gcaatcaggg attcccatgg gtgcggccca gcccacctca gcagagactg 1260

cctctgctgg agtgtacccc acagggcaca aacctgtcca cctctaatcc tctgggcttc 1320

tttccagacc accagctgga tccagccttc agggccaact ccgccaaccc tgactgggac 1380

ttcaacccta ataaggacac atggccagat gccaacaagg tcggcggcca gaacctgagc 1440

acctccaatc ccctgggctt ctttcctgac caccagctgg atcccgcctt tcgcgccaat 1500

accgccaatc ccgactggga cttcaatcca aataaggaca cctggcccga tgctaacaaa 1560

gtgggatga 1569

<210> 23

<211> 1287

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-9 codon optimized DNA sequence

<400> 23

atggccagtc ggagcgaatc aaagaaaaat agaggggaa gagaagaaat cctggagcag 60

tgggtcgggg cacggaaaaa actggaagaa ctggagcggg acctgagaaa gatcaagaag 120

aagatcaaga agctggagga agagaacccc tggctgggca atatcaaggg catcctgggc 180

aagaaggata gggagggcga gggagcacca cctgcaaaga gggcaagggc agaccagatg 240

gaggtggatt ccggaccaag gaagcggccc ttccggggag agtttaccga caaggagcgg 300

agagatcaca ggcgccggaa ggccctggag aacaagcgga agcagctgag ctccggcggc 360

aagtctctga gcaaggagga ggaggaggag ctgagaaagc tgacagagga ggacgagaga 420

agggagagga gggtggcagg acctagggtg ggaggcgtga acccactgga gggaggaacc 480

aggggagcac ctggaggagg ctttgtgcca tctatgcagg gagtgccaga gagcctttc 540

gccaggacag gagagggcct ggatgtgcgc ggcaatcagg gcttcccctg ggacatcctg 600

tttcctgccg atccaccctt cagcccacag tcctgcaggc cacagtcccg ctctgagagc 660

aagaagaaca ggggaggaag ggaggaggtg ctggagcagt gggtgaatgg ccggaagaag 720

ctggaggagc tggagcggga gctgagaagg gccagaaaga agatcaagaa gctggaagac 780

gataatcctt ggctgggcaa tgtgaaaggc atcctgggca agaaggacaa ggatggagag 840

ggagcacctc cagcaaagag ggcacgcacc gaccagatgg agatcgattc tggacctagg 900

aagcggcccc tgagaggagg ctttacagac agggagcgcc aggatcaccg ccggagaaag 960

gccctgaaga acaagaagaa gcagctgagc gccggcggca agtccctgtc taaagaagag 1020

gaggaggagc tgaagcggct gaccagagag gacgaggagc ggaagaagga ggagcacgga 1080

ccatccagac tgggagtgaa tccttctgag ggaggaccaa gaggcgcccc aggcggcggc 1140

tttgtgccaa gcatgcaggg catccccgag tccaggttca ccagaaccgg cgaaggcctg 1200

gatgtgcggg gcagcagagg cttcccccag gatattctgt ttccctccga ccccccccttc 1260

agtccccagt cttgccgacc tcagtga 1287

<210> 24

<211> 1287

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-10 codon optimized DNA sequence

<400> 24

atggcctcac agagcgaaac acggcggggg cggaggggaa ctagagagga aacactggaa 60

aaatggatta cagcacggaa aaaggcagag gaactggaga aggacctgag gaagacccgc 120

aagacaatca agaagctgga ggaggagaac ccatggctgg gcaatatcgt gggcatcatc 180

cggaagggca aggatggaga gggagcacca cctgcaaaga ggccccgcac cgaccagatg 240

gaggtggatt ctggccctgg caagaggcca cacaagagcg gcttcacaga caaggagcgc 300

gaggatcacc ggagaaggaa ggccctggag aacaagaaga agcagctgag cgccggcggc 360

aagatcctgt ccaaggagga ggaggaggag ctgcgccggc tgaccgacga ggatgaggag 420

cggaagagaa gggtggcagg accaagagtg ggcgacgtga atccctctag gggaggacca 480

aggggagcac ctggaggagg cttcgtgcct cagatggcag gagtgccaga gtccccttttt 540

tctaggaccg gagagggcct ggatatcagg ggaacacagg gctttccatg ggtgtctcca 600

agcccaccac agcagaggct gccactgctg gagtgcaccc ctcagtccca gtctgagagc 660

aagaagaaca ggaggggagg aagggaggac atcctggaga agtggatcac cacaagaagg 720

aaggccgagg agctggagaa ggacctgcgg aaggccagaa aaacaatcaa gaagctggaa 780

gatgagaacc cctggctggg caatatcatc ggcatcatca gaaaaggcaa ggacggcgag 840

ggagcacctc cagcaaagcg gcctagaacc gaccagatgg agatcgattc cggcacaggc 900

aagcggccac acaagtctgg cttcaccgac aaggagagag aggatcaccg ccggagaaag 960

gccctggaaa acaagaagaa gcaattaagc tccggcggca agaatctgag cagagaagaa 1020

gaggaggagc tgggcagact gaccgtggag gacgaggaga ggcgccggag agtggcagga 1080

cccagaacag gcgatgtgaa cctgagcgga ggaggaccta ggggagcacc aggaggcggc 1140

ttcgtgccta gaatggaggg cgtgccagag tccccttta ccaggacagg agagggcctg 1200

gacatcaggg gcaatcaggg ctttccctgg gtccgccctt caccaccaca gcagagactg 1260

cccctgctgg aatgcacacc acagtga 1287

<210> 25

<211> 1065

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-1 polypeptide sequence

<400> 25

Met Ala Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu
1 5 10 15
Ile Leu Glu Gln Trp Val Gly Ala Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu

20 25 30
Arg Asp Leu Arg Lys Ile Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu
35 40 45
Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Arg
50 55 60
Glu Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Ala Asp Gln Met
65 70 75 80
Glu Val Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Phe Arg Gly Glu Phe Thr

85 90 95
Asp Lys Glu Arg Arg Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys
100 105 110
Arg Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu
115 120 125
Glu Glu Leu Arg Lys Leu Thr Glu Glu Asp Glu Arg Arg Glu Arg Arg
130 135 140
Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Gly Val Asn Pro Leu Glu Gly Gly Thr

145 150 155 160
Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Val Pro
165 170 175
Glu Ser Pro Phe Ala Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Asn
180 185 190
Gln Gly Phe Pro Trp Asp Ile Leu Phe Pro Ala Asp Pro Pro Phe Ser
195 200 205

Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg

210 215 220

Gly Gly Arg Glu Glu Val Leu Glu Gln Trp Val Asn Gly Arg Lys Lys
225 230 235 240
Leu Glu Glu Leu Glu Arg Glu Leu Arg Arg Ala Arg Lys Lys Ile Lys
245 250 255
Lys Leu Glu Asp Asp Asn Pro Trp Leu Gly Asn Val Lys Gly Ile Leu
260 265 270
Gly Lys Lys Asp Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala

275 280 285

Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Leu
290 295 300
Arg Gly Gly Phe Thr Asp Arg Glu Arg Gln Asp His Arg Arg Arg Lys
305 310 315 320
Ala Leu Lys Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ser Leu
325 330 335
Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Thr Arg Glu Asp Glu

340 345 350

Glu Arg Lys Lys Glu Glu His Gly Pro Ser Arg Leu Gly Val Asn Pro
355 360 365
Ser Glu Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser
370 375 380
Met Gln Gly Ile Pro Glu Ser Arg Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu
385 390 395 400
Asp Val Arg Gly Ser Arg Gly Phe Pro Gln Asp Ile Leu Phe Pro Ser

405 410 415

Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Gly Thr Asn Leu
420 425 430
Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro
435 440 445
Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn

```
    450                 455                 460
Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Gln Asn Leu Ser

465                 470                 475                 480
Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala
                485                 490                 495
Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys
            500                 505                 510
Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn
        515                 520                 525
Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro

    530                 535                 540
Met Ser Gln Ser Glu Thr Arg Arg Gly Arg Arg Gly Thr Arg Glu Glu
545                 550                 555                 560
Thr Leu Glu Lys Trp Ile Thr Ala Arg Lys Lys Ala Glu Glu Leu Glu
                565                 570                 575
Lys Asp Leu Arg Lys Thr Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu
            580                 585                 590
Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Val Gly Ile Ile Arg Lys Gly Lys Asp

        595                 600                 605
Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln Met Glu
    610                 615                 620
Val Asp Ser Gly Pro Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly Phe Thr Asp
625                 630                 635                 640
Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Lys
                645                 650                 655
Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ile Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu

            660                 665                 670
Glu Leu Arg Arg Leu Thr Asp Glu Asp Glu Glu Arg Lys Arg Arg Val
        675                 680                 685
Ala Gly Pro Arg Val Gly Asp Val Asn Pro Ser Arg Gly Gly Pro Arg
    690                 695                 700
```

Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Gln Met Ala Gly Val Pro Glu
705 710 715 720
Ser Pro Phe Ser Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Thr Gln

725 730 735
Gly Phe Pro Trp Val Ser Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu
740 745 750
Leu Glu Cys Thr Pro Gln Ser Gln Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Arg
755 760 765
Gly Gly Arg Glu Asp Ile Leu Glu Lys Trp Ile Thr Thr Arg Arg Lys
770 775 780
Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg Lys Ala Arg Lys Thr Ile Lys

785 790 795 800
Lys Leu Glu Asp Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Ile Gly Ile Ile
805 810 815
Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg
820 825 830
Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Thr Gly Lys Arg Pro His Lys
835 840 845
Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala

850 855 860
Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Asn Leu Ser
865 870 875 880
Arg Glu Glu Glu Glu Glu Leu Gly Arg Leu Thr Val Glu Asp Glu Glu
885 890 895
Arg Arg Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Thr Gly Asp Val Asn Leu Ser
900 905 910
Gly Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Arg Met

915 920 925
Glu Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp
930 935 940
Ile Arg Gly Asn Gln Gly Phe Pro Trp Val Arg Pro Ser Pro Pro Gln

945 950 955 960

Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln Gly Thr Asn Leu Ser

965 970 975

Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala

980 985 990

Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys

995 1000 1005

Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Gln Asn Leu Ser

1010 1015 1020

Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro

1025 1030 1035

Ala Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro

1040 1045 1050

Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly

1055 1060 1065

<210> 26

<211> 1065

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-2 polypeptide sequence

<400> 26

Met Ala Gly Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro

1 5 10 15

Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp

20 25 30

Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val

35 40 45

Gly Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp

50 55 60

His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp

65 70 75 80

Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly

85 90 95

Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu Ile Leu
100 105 110
Glu Gln Trp Val Gly Ala Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Arg Asp
115 120 125
Leu Arg Lys Ile Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu Asn Pro
130 135 140
Trp Leu Gly Asn Ile Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Arg Glu Gly
145 150 155 160

Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Ala Asp Gln Met Glu Val
165 170 175
Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Phe Arg Gly Glu Phe Thr Asp Lys
180 185 190
Glu Arg Arg Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Arg Lys
195 200 205
Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu
210 215 220

Leu Arg Lys Leu Thr Glu Glu Asp Glu Arg Arg Glu Arg Arg Val Ala
225 230 235 240
Gly Pro Arg Val Gly Gly Val Asn Pro Leu Glu Gly Gly Thr Arg Gly
245 250 255
Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Val Pro Glu Ser
260 265 270
Pro Phe Ala Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Asn Gln Gly
275 280 285

Phe Pro Trp Asp Ile Leu Phe Pro Ala Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln
290 295 300
Ser Cys Arg Pro Gln Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly
305 310 315 320
Arg Glu Glu Val Leu Glu Gln Trp Val Asn Gly Arg Lys Lys Leu Glu
325 330 335

Glu Leu Glu Arg Glu Leu Arg Arg Ala Arg Lys Lys Ile Lys Lys Leu
340 345 350

Glu Asp Asp Asn Pro Trp Leu Gly Asn Val Lys Gly Ile Leu Gly Lys
355 360 365
Lys Asp Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Thr
370 375 380
Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Leu Arg Gly
385 390 395 400
Gly Phe Thr Asp Arg Glu Arg Gln Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu
405 410 415

Lys Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys
420 425 430
Glu Glu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Thr Arg Glu Asp Glu Glu Arg
435 440 445
Lys Lys Glu Glu His Gly Pro Ser Arg Leu Gly Val Asn Pro Ser Glu
450 455 460
Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln
465 470 475 480

Gly Ile Pro Glu Ser Arg Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val
485 490 495
Arg Gly Ser Arg Gly Phe Pro Gln Asp Ile Leu Phe Pro Ser Asp Pro
500 505 510
Pro Phe Ser Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Gly Ser Gly Ala Thr Asn
515 520 525
Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
530 535 540

Met Gly Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp
545 550 555 560
His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp
565 570 575
Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly

580 585 590

Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His

595 600 605

Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp

610 615 620

Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Ser

625 630 635 640

Gln Ser Glu Thr Arg Arg Gly Arg Arg Gly Thr Arg Glu Glu Thr Leu

645 650 655

Glu Lys Trp Ile Thr Ala Arg Lys Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp

660 665 670

Leu Arg Lys Thr Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu Asn Pro

675 680 685

Trp Leu Gly Asn Ile Val Gly Ile Ile Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu

690 695 700

Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln Met Glu Val Asp

705 710 715 720

Ser Gly Pro Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu

725 730 735

Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln

740 745 750

Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ile Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu

755 760 765

Arg Arg Leu Thr Asp Glu Asp Glu Glu Arg Lys Arg Arg Val Ala Gly

770 775 780

Pro Arg Val Gly Asp Val Asn Pro Ser Arg Gly Gly Pro Arg Gly Ala

785 790 795 800

Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Gln Met Ala Gly Val Pro Glu Ser Pro

805 810 815

Phe Ser Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Thr Gln Gly Phe

820 825 830

Pro Trp Val Ser Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu
835 840 845
Cys Thr Pro Gln Ser Gln Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Arg Gly Gly
850 855 860

Arg Glu Asp Ile Leu Glu Lys Trp Ile Thr Thr Arg Arg Lys Ala Glu
865 870 875 880
Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg Lys Ala Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu
885 890 895
Glu Asp Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Ile Gly Ile Ile Arg Lys
900 905 910
Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp
915 920 925

Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Thr Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly
930 935 940
Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu
945 950 955 960
Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Asn Leu Ser Arg Glu
965 970 975
Glu Glu Glu Glu Leu Gly Arg Leu Thr Val Glu Asp Glu Glu Arg Arg
980 985 990

Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Thr Gly Asp Val Asn Leu Ser Gly Gly
995 1000 1005
Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Arg Met Glu
1010 1015 1020
Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp
1025 1030 1035
Ile Arg Gly Asn Gln Gly Phe Pro Trp Val Arg Pro Ser Pro Pro
1040 1045 1050

Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln
1055 1060 1065
<210> 27

<211> 1253

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-3 polypeptide sequence

<400> 27

Met Ala Gly Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro
1 5 10 15

Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp
20 25 30

Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val
35 40 45

Gly Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp
50 55 60

His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp
65 70 75 80

Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly
85 90 95

Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu Ile Leu
100 105 110

Glu Gln Trp Val Gly Ala Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Arg Asp
115 120 125

Leu Arg Lys Ile Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu Asn Pro
130 135 140

Trp Leu Gly Asn Ile Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Arg Glu Gly
145 150 155 160

Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Ala Asp Gln Met Glu Val
165 170 175

Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Phe Arg Gly Glu Phe Thr Asp Lys
180 185 190

Glu Arg Arg Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Arg Lys
195 200 205

Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu

210 215 220

Leu Arg Lys Leu Thr Glu Glu Asp Glu Arg Arg Glu Arg Arg Val Ala

225 230 235 240

Gly Pro Arg Val Gly Gly Val Asn Pro Leu Glu Gly Gly Thr Arg Gly

245 250 255

Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Val Pro Glu Ser

260 265 270

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

275 280 285

Phe Pro Trp Asp Ile Leu Phe Pro Ala Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln

290 295 300

Ser Cys Arg Pro Gln Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly

305 310 315 320

Arg Glu Glu Val Leu Glu Gln Trp Val Asn Gly Arg Lys Lys Leu Glu

325 330 335

Glu Leu Glu Arg Glu Leu Arg Arg Ala Arg Lys Lys Ile Lys Lys Leu

340 345 350

Glu Asp Asp Asn Pro Trp Leu Gly Asn Val Lys Gly Ile Leu Gly Lys

355 360 365

Lys Asp Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Thr

370 375 380

Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Leu Arg Gly

385 390 395 400

Gly Phe Thr Asp Arg Glu Arg Gln Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu

405 410 415

Lys Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys

420 425 430

Glu Glu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Thr Arg Glu Asp Glu Glu Arg

435 440 445

Lys Lys Glu Glu His Gly Pro Ser Arg Leu Gly Val Asn Pro Ser Glu

450 455 460

Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln
465 470 475 480
Gly Ile Pro Glu Ser Arg Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val

485 490 495
Arg Gly Ser Arg Gly Phe Pro Gln Asp Ile Leu Phe Pro Ser Asp Pro
500 505 510
Pro Phe Ser Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Gly Thr Asn Leu Ser Thr
515 520 525
Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe
530 535 540
Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp

545 550 555 560
Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser
565 570 575
Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg
580 585 590
Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr
595 600 605
Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser

610 615 620
Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Gly
625 630 635 640
Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln
645 650 655
Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe
660 665 670
Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Gln

675 680 685
Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu
690 695 700
Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn

705 710 715 720

Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Ser Gln Ser

725 730 735

Glu Thr Arg Arg Gly Arg Arg Gly Thr Arg Glu Glu Thr Leu Glu Lys

740 745 750

Trp Ile Thr Ala Arg Lys Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg

755 760 765

Lys Thr Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu Asn Pro Trp Leu

770 775 780

Gly Asn Ile Val Gly Ile Ile Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala

785 790 795 800

Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln Met Glu Val Asp Ser Gly

805 810 815

Pro Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu

820 825 830

Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser

835 840 845

Ala Gly Gly Lys Ile Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu Arg Arg

850 855 860

Leu Thr Asp Glu Asp Glu Glu Arg Lys Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg

865 870 875 880

Val Gly Asp Val Asn Pro Ser Arg Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly

885 890 895

Gly Gly Phe Val Pro Gln Met Ala Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Ser

900 905 910

Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Thr Gln Gly Phe Pro Trp

915 920 925

Val Ser Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr

930 935 940

Pro Gln Ser Gln Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Arg Gly Gly Arg Glu

945 950 955 960

Asp Ile Leu Glu Lys Trp Ile Thr Thr Arg Arg Lys Ala Glu Glu Leu

965 970 975

Glu Lys Asp Leu Arg Lys Ala Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Asp

980 985 990

Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Ile Gly Ile Ile Arg Lys Gly Lys

995 1000 1005

Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln

1010 1015 1020

Met Glu Ile Asp Ser Gly Thr Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly

1025 1030 1035

Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu

1040 1045 1050

Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Asn Leu Ser

1055 1060 1065

Arg Glu Glu Glu Glu Glu Leu Gly Arg Leu Thr Val Glu Asp Glu

1070 1075 1080

Glu Arg Arg Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Thr Gly Asp Val Asn

1085 1090 1095

Leu Ser Gly Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val

1100 1105 1110

Pro Arg Met Glu Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Thr Arg Thr Gly

1115 1120 1125

Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Asn Gln Gly Phe Pro Trp Val Arg

1130 1135 1140

Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro

1145 1150 1155

Gln Gly Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro

1160 1165 1170

Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro

1175 1180 1185

Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn

1190 1195 1200

Lys Val Gly Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe

1205 1210 1215

Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Thr Ala

1220 1225 1230

Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp

1235 1240 1245

Ala Asn Lys Val Gly

1250

<210> 28

<211> 1299

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-4 polypeptide sequence

<400> 28

Met Ala Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu

1 5 10 15

Ile Leu Glu Gln Trp Val Gly Ala Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu

20 25 30

Arg Asp Leu Arg Lys Ile Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu

35 40 45

Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Arg

50 55 60

Glu Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Ala Asp Gln Met

65 70 75 80

Glu Val Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Phe Arg Gly Glu Phe Thr

85 90 95

Asp Lys Glu Arg Arg Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys

100 105 110

Arg Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu

115 120 125

Glu Glu Leu Arg Lys Leu Thr Glu Glu Asp Glu Arg Arg Glu Arg Arg

130 135 140

Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Gly Val Asn Pro Leu Glu Gly Gly Thr

145 150 155 160

Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Val Pro

165 170 175

Glu Ser Pro Phe Ala Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Asn

180 185 190

Gln Gly Phe Pro Trp Asp Ile Leu Phe Pro Ala Asp Pro Pro Phe Ser

195 200 205

Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Gly Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro

210 215 220

Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn

225 230 235 240

Ser Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro

245 250 255

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

260 265 270

Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Thr

275 280 285

Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp

290 295 300

Ala Asn Lys Val Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys

305 310 315 320

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg Ser Glu

325 330 335

Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu Val Leu Glu Gln Trp Val

340 345 350

Asn Gly Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Arg Glu Leu Arg Arg Ala

355 360 365

Arg Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Asp Asp Asn Pro Trp Leu Gly Asn

370 375 380

Val Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro
385 390 395 400
Pro Ala Lys Arg Ala Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Pro
405 410 415
Arg Lys Arg Pro Leu Arg Gly Gly Phe Thr Asp Arg Glu Arg Gln Asp

420 425 430
His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Lys Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala
435 440 445
Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu
450 455 460
Thr Arg Glu Asp Glu Glu Arg Lys Lys Glu Glu His Gly Pro Ser Arg
465 470 475 480
Leu Gly Val Asn Pro Ser Glu Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly

485 490 495
Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Ile Pro Glu Ser Arg Phe Thr Arg
500 505 510
Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Ser Arg Gly Phe Pro Gln Asp
515 520 525
Ile Leu Phe Pro Ser Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln Ser Cys Arg Pro
530 535 540
Gln Gly Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp

545 550 555 560
His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp
565 570 575
Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly
580 585 590
Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His
595 600 605
Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp

610 615 620
Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly

625 630 635 640

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

645 650 655

Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Gln Ser Glu Thr Arg Arg Gly Arg Arg

660 665 670

Gly Thr Arg Glu Glu Thr Leu Glu Lys Trp Ile Thr Ala Arg Lys Lys

675 680 685

Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg Lys Thr Arg Lys Thr Ile Lys

690 695 700

Lys Leu Glu Glu Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Val Gly Ile Ile

705 710 715 720

Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg

725 730 735

Thr Asp Gln Met Glu Val Asp Ser Gly Pro Gly Lys Arg Pro His Lys

740 745 750

Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala

755 760 765

Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ile Leu Ser

770 775 780

Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu Arg Arg Leu Thr Asp Glu Asp Glu Glu

785 790 795 800

Arg Lys Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Asp Val Asn Pro Ser

805 810 815

Arg Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Gln Met

820 825 830

Ala Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Ser Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp

835 840 845

Ile Arg Gly Thr Gln Gly Phe Pro Trp Val Ser Pro Ser Pro Pro Gln

850 855 860

Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln Gly Thr Asn Leu Ser

865 870 875 880

Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala
885 890 895
Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys
900 905 910
Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Gln Asn Leu Ser Thr
915 920 925
Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe

930 935 940
Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp
945 950 955 960
Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe
965 970 975
Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met
980 985 990
Ser Gln Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Arg Gly Gly Arg Glu Asp Ile

995 1000 1005
Leu Glu Lys Trp Ile Thr Thr Arg Arg Lys Ala Glu Glu Leu Glu
1010 1015 1020
Lys Asp Leu Arg Lys Ala Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Asp
1025 1030 1035
Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Ile Gly Ile Ile Arg Lys Gly
1040 1045 1050
Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp

1055 1060 1065
Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Thr Gly Lys Arg Pro His Lys Ser
1070 1075 1080
Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala
1085 1090 1095
Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Asn Leu
1100 1105 1110
Ser Arg Glu Glu Glu Glu Glu Leu Gly Arg Leu Thr Val Glu Asp

1115 1120 1125

Glu Glu Arg Arg Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Thr Gly Asp Val

1130 1135 1140

Asn Leu Ser Gly Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe

1145 1150 1155

Val Pro Arg Met Glu Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Thr Arg Thr

1160 1165 1170

Gly Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Asn Gln Gly Phe Pro Trp Val

1175 1180 1185

Arg Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr

1190 1195 1200

Pro Gln Gly Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe

1205 1210 1215

Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn

1220 1225 1230

Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala

1235 1240 1245

Asn Lys Val Gly Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly

1250 1255 1260

Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Thr

1265 1270 1275

Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro

1280 1285 1290

Asp Ala Asn Lys Val Gly

1295

<210> 29

<211> 877

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-5 polypeptide sequence

<400> 29

Met Ala Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu

1 5 10 15

Ile Leu Glu Gln Trp Val Gly Ala Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu

20 25 30

Arg Asp Leu Arg Lys Ile Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu

35 40 45

Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Arg

50 55 60

Glu Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Ala Asp Gln Met

65 70 75 80

Glu Val Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Phe Arg Gly Glu Phe Thr

85 90 95

Asp Lys Glu Arg Arg Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys

100 105 110

Arg Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu

115 120 125

Glu Glu Leu Arg Lys Leu Thr Glu Glu Asp Glu Arg Arg Glu Arg Arg

130 135 140

Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Gly Val Asn Pro Leu Glu Gly Gly Thr

145 150 155 160

Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Val Pro

165 170 175

Glu Ser Pro Phe Ala Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Asn

180 185 190

Gln Gly Phe Pro Trp Asp Ile Leu Phe Pro Ala Asp Pro Pro Phe Ser

195 200 205

Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg

210 215 220

Gly Gly Arg Glu Glu Val Leu Glu Gln Trp Val Asn Gly Arg Lys Lys

225 230 235 240

Leu Glu Glu Leu Glu Arg Glu Leu Arg Arg Ala Arg Lys Lys Ile Lys

245 250 255

Lys Leu Glu Asp Asp Asn Pro Trp Leu Gly Asn Val Lys Gly Ile Leu
260 265 270
Gly Lys Lys Asp Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala
275 280 285
Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Leu
290 295 300

Arg Gly Gly Phe Thr Asp Arg Glu Arg Gln Asp His Arg Arg Arg Lys
305 310 315 320
Ala Leu Lys Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ser Leu
325 330 335
Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Thr Arg Glu Asp Glu
340 345 350
Glu Arg Lys Lys Glu Glu His Gly Pro Ser Arg Leu Gly Val Asn Pro
355 360 365

Ser Glu Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser
370 375 380
Met Gln Gly Ile Pro Glu Ser Arg Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu
385 390 395 400
Asp Val Arg Gly Ser Arg Gly Phe Pro Gln Asp Ile Leu Phe Pro Ser
405 410 415
Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Gly Ser Gly Ala
420 425 430

Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
435 440 445
Gly Pro Met Ser Gln Ser Glu Thr Arg Arg Gly Arg Arg Gly Thr Arg
450 455 460
Glu Glu Thr Leu Glu Lys Trp Ile Thr Ala Arg Lys Lys Ala Glu Glu
465 470 475 480
Leu Glu Lys Asp Leu Arg Lys Thr Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu
485 490 495

Glu Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Val Gly Ile Ile Arg Lys Gly

```
            500                 505                 510
Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln
        515                 520                 525
Met Glu Val Asp Ser Gly Pro Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly Phe
    530                 535                 540
Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn
545                 550                 555                 560

Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ile Leu Ser Lys Glu Glu
                565                 570                 575
Glu Glu Glu Leu Arg Arg Leu Thr Asp Glu Asp Glu Glu Arg Lys Arg
            580                 585                 590
Arg Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Asp Val Asn Pro Ser Arg Gly Gly
        595                 600                 605
Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Gln Met Ala Gly Val
    610                 615                 620

Pro Glu Ser Pro Phe Ser Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly
625                 630                 635                 640
Thr Gln Gly Phe Pro Trp Val Ser Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu
                645                 650                 655
Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln Ser Gln Ser Glu Ser Lys Lys Asn
            660                 665                 670
Arg Arg Gly Gly Arg Glu Asp Ile Leu Glu Lys Trp Ile Thr Thr Arg
        675                 680                 685

Arg Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg Lys Ala Arg Lys Thr
    690                 695                 700
Ile Lys Lys Leu Glu Asp Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Ile Gly
705                 710                 715                 720
Ile Ile Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg
                725                 730                 735
Pro Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Thr Gly Lys Arg Pro
            740                 745                 750
```

His Lys Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg
755 760 765

Lys Ala Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Asn
770 775 780

Leu Ser Arg Glu Glu Glu Glu Glu Leu Gly Arg Leu Thr Val Glu Asp
785 790 795 800

Glu Glu Arg Arg Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Thr Gly Asp Val Asn
805 810 815

Leu Ser Gly Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro
820 825 830

Arg Met Glu Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly
835 840 845

Leu Asp Ile Arg Gly Asn Gln Gly Phe Pro Trp Val Arg Pro Ser Pro
850 855 860

Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln
865 870 875

<210>
30

<211> 923

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-6 polypeptide sequence

<400> 30

Met Ala Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu
1 5 10 15

Ile Leu Glu Gln Trp Val Gly Ala Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu
20 25 30

Arg Asp Leu Arg Lys Ile Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu
35 40 45

Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Arg
50 55 60

Glu Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Ala Asp Gln Met
65 70 75 80

Glu Val Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Phe Arg Gly Glu Phe Thr
85 90 95
Asp Lys Glu Arg Arg Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys
100 105 110

Arg Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu
115 120 125
Glu Glu Leu Arg Lys Leu Thr Glu Glu Asp Glu Arg Arg Glu Arg Arg
130 135 140
Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Gly Val Asn Pro Leu Glu Gly Gly Thr
145 150 155 160
Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Val Pro
165 170 175

Glu Ser Pro Phe Ala Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Asn
180 185 190
Gln Gly Phe Pro Trp Asp Ile Leu Phe Pro Ala Asp Pro Pro Phe Ser
195 200 205
Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
210 215 220
Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg
225 230 235 240

Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu Val Leu Glu Gln
245 250 255
Trp Val Asn Gly Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Arg Glu Leu Arg
260 265 270
Arg Ala Arg Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Asp Asp Asn Pro Trp Leu
275 280 285
Gly Asn Val Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Lys Asp Gly Glu Gly
290 295 300

Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser
305 310 315 320
Gly Pro Arg Lys Arg Pro Leu Arg Gly Gly Phe Thr Asp Arg Glu Arg

325 330 335

Gln Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Lys Asn Lys Lys Lys Gln Leu

340 345 350

Ser Ala Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu Lys

355 360 365

Arg Leu Thr Arg Glu Asp Glu Glu Arg Lys Lys Glu Glu His Gly Pro

370 375 380

Ser Arg Leu Gly Val Asn Pro Ser Glu Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro

385 390 395 400

Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Ile Pro Glu Ser Arg Phe

405 410 415

Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Ser Arg Gly Phe Pro

420 425 430

Gln Asp Ile Leu Phe Pro Ser Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln Ser Cys

435 440 445

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

450 455 460

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Gln Ser Glu Thr Arg

465 470 475 480

Arg Gly Arg Arg Gly Thr Arg Glu Glu Thr Leu Glu Lys Trp Ile Thr

485 490 495

Ala Arg Lys Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg Lys Thr Arg

500 505 510

Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile

515 520 525

Val Gly Ile Ile Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala

530 535 540

Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln Met Glu Val Asp Ser Gly Pro Gly Lys

545 550 555 560

Arg Pro His Lys Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg

565 570 575

Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly
580 585 590

Lys Ile Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu Arg Arg Leu Thr Asp
595 600 605

Glu Asp Glu Glu Arg Lys Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Asp
610 615 620

Val Asn Pro Ser Arg Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe
625 630 635 640

Val Pro Gln Met Ala Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Ser Arg Thr Gly
645 650 655

Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Thr Gln Gly Phe Pro Trp Val Ser Pro
660 665 670

Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln Gly
675 680 685

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
690 695 700

Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Gln Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Arg
705 710 715 720

Gly Gly Arg Glu Asp Ile Leu Glu Lys Trp Ile Thr Thr Arg Arg Lys
725 730 735

Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg Lys Ala Arg Lys Thr Ile Lys
740 745 750

Lys Leu Glu Asp Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Ile Gly Ile Ile
755 760 765

Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg
770 775 780

Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Thr Gly Lys Arg Pro His Lys
785 790 795 800

Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala
805 810 815

Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Asn Leu Ser

820 825 830

Arg Glu Glu Glu Glu Glu Leu Gly Arg Leu Thr Val Glu Asp Glu Glu

835 840 845

Arg Arg Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Thr Gly Asp Val Asn Leu Ser

850 855 860

Gly Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Arg Met

865 870 875 880

Glu Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp

885 890 895

Ile Arg Gly Asn Gln Gly Phe Pro Trp Val Arg Pro Ser Pro Pro Gln

900 905 910

Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln

915 920

<210> 31

<211> 522

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-7 polypeptide sequence

<400> 31

Met Ala Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu

1 5 10 15

Ile Leu Glu Gln Trp Val Gly Ala Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu

20 25 30

Arg Asp Leu Arg Lys Ile Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu

35 40 45

Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Arg

50 55 60

Glu Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Ala Asp Gln Met

65 70 75 80

Glu Val Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Phe Arg Gly Glu Phe Thr

85 90 95

Asp Lys Glu Arg Arg Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys

100 105 110

Arg Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu

115 120 125

Glu Glu Leu Arg Lys Leu Thr Glu Glu Asp Glu Arg Arg Glu Arg Arg

130 135 140

Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Gly Val Asn Pro Leu Glu Gly Gly Thr

145 150 155 160

Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Val Pro

165 170 175

Glu Ser Pro Phe Ala Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Asn

180 185 190

Gln Gly Phe Pro Trp Asp Ile Leu Phe Pro Ala Asp Pro Pro Phe Ser

195 200 205

Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg

210 215 220

Gly Gly Arg Glu Glu Val Leu Glu Gln Trp Val Asn Gly Arg Lys Lys

225 230 235 240

Leu Glu Glu Leu Glu Arg Glu Leu Arg Arg Ala Arg Lys Lys Ile Lys

245 250 255

Lys Leu Glu Asp Asp Asn Pro Trp Leu Gly Asn Val Lys Gly Ile Leu

260 265 270

Gly Lys Lys Asp Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala

275 280 285

Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Leu

290 295 300

Arg Gly Gly Phe Thr Asp Arg Glu Arg Gln Asp His Arg Arg Arg Lys

305 310 315 320

Ala Leu Lys Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ser Leu

325 330 335

Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Thr Arg Glu Asp Glu

340 345 350

Glu Arg Lys Lys Glu Glu His Gly Pro Ser Arg Leu Gly Val Asn Pro
355 360 365
Ser Glu Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser
370 375 380
Met Gln Gly Ile Pro Glu Ser Arg Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu

385 390 395 400
Asp Val Arg Gly Ser Arg Gly Phe Pro Gln Asp Ile Leu Phe Pro Ser
405 410 415
Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Gly Thr Asn Leu
420 425 430
Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro
435 440 445
Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn

450 455 460
Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Gln Asn Leu Ser
465 470 475 480
Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala
485 490 495
Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys
500 505 510
Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly
515 520

<210> 32
<211> 522
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Delta-8 polypeptide sequence
<400> 32
Met Ala Ser Gln Ser Glu Thr Arg Arg Gly Arg Arg Gly Thr Arg Glu
1 5 10 15
Glu Thr Leu Glu Lys Trp Ile Thr Ala Arg Lys Lys Ala Glu Glu Leu
20 25 30

Glu Lys Asp Leu Arg Lys Thr Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Glu
35 40 45

Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Val Gly Ile Ile Arg Lys Gly Lys
50 55 60
Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln Met
65 70 75 80
Glu Val Asp Ser Gly Pro Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly Phe Thr
85 90 95
Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys
100 105 110

Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ile Leu Ser Lys Glu Glu Glu
115 120 125
Glu Glu Leu Arg Arg Leu Thr Asp Glu Asp Glu Glu Arg Lys Arg Arg
130 135 140
Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Asp Val Asn Pro Ser Arg Gly Gly Pro
145 150 155 160
Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Gln Met Ala Gly Val Pro
165 170 175

Glu Ser Pro Phe Ser Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Thr
180 185 190
Gln Gly Phe Pro Trp Val Ser Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro
195 200 205
Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln Ser Gln Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg
210 215 220
Arg Gly Gly Arg Glu Asp Ile Leu Glu Lys Trp Ile Thr Thr Arg Arg
225 230 235 240

Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg Lys Ala Arg Lys Thr Ile
245 250 255
Lys Lys Leu Glu Asp Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Ile Gly Ile
260 265 270
Ile Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro

275 280 285

Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Thr Gly Lys Arg Pro His

290 295 300

Lys Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys

305 310 315 320

Ala Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Asn Leu

325 330 335

Ser Arg Glu Glu Glu Glu Glu Leu Gly Arg Leu Thr Val Glu Asp Glu

340 345 350

Glu Arg Arg Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Thr Gly Asp Val Asn Leu

355 360 365

Ser Gly Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Arg

370 375 380

Met Glu Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu

385 390 395 400

Asp Ile Arg Gly Asn Gln Gly Phe Pro Trp Val Arg Pro Ser Pro Pro

405 410 415

Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln Gly Thr Asn Leu

420 425 430

Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro

435 440 445

Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn

450 455 460

Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Gln Asn Leu Ser

465 470 475 480

Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala

485 490 495

Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys

500 505 510

Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly

515 520

<210> 33

<211> 428

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-9 polypeptide sequence

<400> 33

Met Ala Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu
1 5 10 15

Ile Leu Glu Gln Trp Val Gly Ala Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu

20 25 30

Arg Asp Leu Arg Lys Ile Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu
35 40 45

Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Arg
50 55 60

Glu Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Ala Asp Gln Met
65 70 75 80

Glu Val Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Phe Arg Gly Glu Phe Thr

85 90 95

Asp Lys Glu Arg Arg Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys
100 105 110

Arg Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu
115 120 125

Glu Glu Leu Arg Lys Leu Thr Glu Glu Asp Glu Arg Arg Glu Arg Arg
130 135 140

Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Gly Val Asn Pro Leu Glu Gly Gly Thr

145 150 155 160

Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Val Pro
165 170 175

Glu Ser Pro Phe Ala Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Asn
180 185 190

Gln Gly Phe Pro Trp Asp Ile Leu Phe Pro Ala Asp Pro Pro Phe Ser
195 200 205

Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg

210 215 220

Gly Gly Arg Glu Glu Val Leu Glu Gln Trp Val Asn Gly Arg Lys Lys
225 230 235 240
Leu Glu Glu Leu Glu Arg Glu Leu Arg Arg Ala Arg Lys Lys Ile Lys
245 250 255
Lys Leu Glu Asp Asp Asn Pro Trp Leu Gly Asn Val Lys Gly Ile Leu
260 265 270
Gly Lys Lys Asp Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala

275 280 285

Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Leu
290 295 300
Arg Gly Gly Phe Thr Asp Arg Glu Arg Gln Asp His Arg Arg Arg Lys
305 310 315 320
Ala Leu Lys Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ser Leu
325 330 335
Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Thr Arg Glu Asp Glu

340 345 350

Glu Arg Lys Lys Glu Glu His Gly Pro Ser Arg Leu Gly Val Asn Pro
355 360 365
Ser Glu Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser
370 375 380
Met Gln Gly Ile Pro Glu Ser Arg Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu
385 390 395 400
Asp Val Arg Gly Ser Arg Gly Phe Pro Gln Asp Ile Leu Phe Pro Ser

405 410 415

Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln

420 425

<210> 34

<211> 428

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-10 polypeptide sequence

<400> 34

Met Ala Ser Gln Ser Glu Thr Arg Arg Gly Arg Arg Gly Thr Arg Glu
1 5 10 15

Glu Thr Leu Glu Lys Trp Ile Thr Ala Arg Lys Lys Ala Glu Glu Leu
20 25 30

Glu Lys Asp Leu Arg Lys Thr Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Glu
35 40 45

Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Val Gly Ile Ile Arg Lys Gly Lys
50 55 60

Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln Met
65 70 75 80

Glu Val Asp Ser Gly Pro Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly Phe Thr
85 90 95

Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys
100 105 110

Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ile Leu Ser Lys Glu Glu Glu
115 120 125

Glu Glu Leu Arg Arg Leu Thr Asp Glu Asp Glu Glu Arg Lys Arg Arg
130 135 140

Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Asp Val Asn Pro Ser Arg Gly Gly Pro
145 150 155 160

Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Gln Met Ala Gly Val Pro
165 170 175

Glu Ser Pro Phe Ser Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Thr
180 185 190

Gln Gly Phe Pro Trp Val Ser Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro
195 200 205

Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln Ser Gln Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg
210 215 220

Arg Gly Gly Arg Glu Asp Ile Leu Glu Lys Trp Ile Thr Thr Arg Arg
225 230 235 240
Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg Lys Ala Arg Lys Thr Ile
245 250 255
Lys Lys Leu Glu Asp Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Ile Gly Ile
260 265 270
Ile Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Pro
275 280 285

Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Thr Gly Lys Arg Pro His
290 295 300
Lys Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg Lys
305 310 315 320
Ala Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Asn Leu
325 330 335
Ser Arg Glu Glu Glu Glu Glu Leu Gly Arg Leu Thr Val Glu Asp Glu
340 345 350

Glu Arg Arg Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Thr Gly Asp Val Asn Leu
355 360 365
Ser Gly Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Arg
370 375 380
Met Glu Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu
385 390 395 400
Asp Ile Arg Gly Asn Gln Gly Phe Pro Trp Val Arg Pro Ser Pro Pro
405 410 415

Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln
420 425

<210> 35
<211> 3434
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Wild-type Delta-7/Delta-8 fusion nucleic acid sequence
<400> 35

aagcttgcac catggccggc accaacctga gcaccagcaa cccgctgggc ttttttccgg 60

atcatcagct ggatccggcg tttcgcgcga acagcgcgaa cccggattgg gattttaacc 120

cgaacaaaga tacctggccg gatgcgaaca aagtgggcgg ccagaacctg agcaccagca 180

acccgctggg ctttttttccg gatcatcagc tggatccggc gtttcgcgcg aacaccgcga 240

acccggattg ggattttaac ccgaacaaag atacctggcc ggatgcgaac aaagtgggca 300

gccgcagcga aagcaaaaaa aaccgcggcg gccgcgaaga aattctggaa cagtgggtgg 360

gcgcgcgcaa aaaactggaa gaactggaac gcgatctgcg caaaattaaa aaaaaaatta 420

aaaaactgga agaagaaaac ccgtggctgg gcaacattaa aggcattctg ggcaaaaaag 480

atcgcgaagg cgaaggcgcg ccgccggcga aacgcgcgcg cgcggatcag atggaagtgg 540

atagcggccc gcgcaaacgc ccgtttcgcg gcgaatttac cgataaagaa cgccgcgatc 600

atcgccgccg caaagcgctg gaaaacaaac gcaaacagct gagcagcggc ggcaaaagcc 660

tgagcaaaga agaagaagaa gaactgcgca aactgaccga agaagatgaa cgccgcgaac 720

gccgcgtggc gggcccgcgc gtgggcggcg tgaacccgct ggaaggcggc acccgcggcg 780

cgccgggcgg cggctttgtg ccgagcatgc agggcgtgcc ggaaagcccg tttgcgcgca 840

ccggcgaagg cctggatgtg cgcggcaacc agggctttcc gtgggatatt ctgtttccgg 900

cggatccgcc gtttagcccg cagagctgcc gcccgcagag ccgcagcgaa agcaaaaaaa 960

accgcggcgg ccgcgaagaa gtgctggaac agtgggtgaa cggccgcaaa aaactggaag 1020

aactggaacg cgaactgcgc cgcgcgcgca aaaaaattaa aaaactggaa gatgataacc 1080

cgtggctggg caacgtgaaa ggcattctgg gcaaaaaaga taaagatggc gaaggcgcgc 1140

cgccggcgaa acgcgcgcgc accgatcaga tggaaattga tagcggcccg cgcaaacgcc 1200

cgctgcgcgg cggctttacc gatcgcgaac gccaggatca tcgccgccgc aaagcgctga 1260

aaaacaaaaa aaaacagctg agcgcgggcg gcaaaagcct gagcaaagaa gaagaagaag 1320

aactgaaacg cctgacccgc gaagatgaag aacgcaaaaa agaagaacat ggcccgagcc 1380

gcctgggcgt gaacccgagc gaaggcggcc cgcgcggcgc gccgggcggc ggctttgtgc 1440

cgagcatgca gggcattccg gaaagccgct ttacccgcac cggcgaaggc ctggatgtgc 1500

gcggcagccg cggctttccg caggatattc tgtttccgag cgatccgccg tttagcccgc 1560

agagctgccg cccgcagggc accaacctga gcaccagcaa cccgctgggc ttttttccgg 1620

atcatcagct ggatccggcg tttcgcgcga acagcgcgaa cccggattgg gattttaacc 1680

cgaacaaaga tacctggccg gatgcgaaca aagtgggcgg ccagaacctg agcaccagca 1740

acccgctggg ctttttttccg gatcatcagc tggatccggc gtttcgcgcg aacaccgcga 1800

acccggattg ggattttaac ccgaacaaag atacctggcc ggatgcgaac aaagtgggca 1860

gccagagcga aacccgccgc ggccgccgcg gcacccgcga agaaaccctg gaaaaatgga 1920

ttaccgcgcg caaaaaagcg gaagaactgg aaaaagatct gcgcaaaacc cgcaaaacca 1980
ttaaaaaact ggaagaagaa aacccgtggc tgggcaacat tgtgggcatt attcgcaaag 2040
gcaaagatgg cgaaggcgcg ccgccggcga aacgcccgcg caccgatcag atggaagtgg 2100
atagcggccc gggcaaacgc ccgcataaaa gcggctttac cgataaagaa cgcgaagatc 2160
atcgccgccg caaagcgctg gaaaacaaaa aaaaacagct gagcgcgggc ggcaaaattc 2220
tgagcaaaga agaagaagaa gaactgcgcc gcctgaccga tgaagatgaa gaacgcaaac 2280
gccgcgtggc gggcccgcgc gtgggcgatg tgaacccgag ccgcggcggc ccgcgcggcg 2340

cgccgggcgg cggctttgtg ccgcagatgg cgggcgtgcc ggaaagcccg tttagccgca 2400
ccggcgaagg cctggatatt cgcggcaccc agggctttcc gtgggtgagc ccgagcccgc 2460
cgcagcagcg cctgccgctg ctggaatgca ccccgcagag ccagagcgaa agcaaaaaaa 2520
accgccgcgg cggccgcgaa gatattctgg aaaaatggat taccacccgc cgcaaagcgg 2580
aagaactgga aaaagatctg cgcaaagcgc gcaaaaccat taaaaaactg gaagatgaaa 2640
acccgtggct gggcaacatt attggcatta ttcgcaaagg caaagatggc gaaggcgcgc 2700
cgccggcgaa acgcccgcgc accgatcaga tggaaattga tagcggcacc ggcaaacgcc 2760

cgcataaaag cggctttacc gataaagaac gcgaagatca tcgccgccgc aaagcgctgg 2820
aaaacaaaaa aaaacagctg agcagcggcg gcaaaaacct gagccgcgaa gaagaagaag 2880
aactgggccg cctgaccgtg gaagatgaag aacgccgccg ccgcgtggcg ggcccgcgca 2940
ccggcgatgt gaacctgagc ggcggcggcc cgcgcggcgc gccgggcggc ggctttgtgc 3000
cgcgcatgga aggcgtgccg gaaagcccgt ttacccgcac cggcgaaggc ctggatattc 3060
gcggcaacca gggctttccg tgggtgcgcc cgagcccgcc gcagcagcgc ctgccgctgc 3120
tggaatgcac cccgcagggc accaacctga gcaccagcaa cccgctgggc ttttttccgg 3180

atcatcagct ggatccggcg tttcgcgcga acagcgcgaa cccggattgg gattttaacc 3240
cgaacaaaga tacctggccg gatgcgaaca aagtgggcgg ccagaacctg agcaccagca 3300
acccgctggg ctttttttccg gatcatcagc tggatccggc gtttcgcgcg aacaccgcga 3360
acccggattg ggattttaac ccgaacaaag atacctggcc ggatgcgaac aaagtgggct 3420
gatgagaatt ccgt 3434

<210> 36
<211> 3431
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon optimized Delta-7/Delta-8 fusion nucleic acid sequence

<400> 36

aagcttgcac catggcaggc accaatctgt caacctctaa ccctctgggc tttttccccg 60

accatcagct ggaccccgca ttccgagcaa actccgctaa ccctgactgg gatttcaacc 120

caaataagga cacctggccc gatgccaata aggtcggcgg ccagaacctg tccacatcta 180

atccactggg cttctttccc gaccaccagc tggatcctgc cttccgggcc aacacagcca 240

atcctgactg ggacttcaac cctaataagg atacctggcc cgatgccaac aaggtcggca 300

gcaggtccga gtctaagaag aataggggag gaagggagga gatcctggag cagtgggtgg 360

gagcacgcaa gaagctggag gagctggagc gggacctgag aaagatcaag aagaagatca 420

agaagctgga ggaggagaac ccctggctgg gcaatatcaa gggcatcctg ggcaagaagg 480

atcgggaggg agagggagca ccacctgcaa agagggccag agccgaccag atggaggtgg 540

attccggccc taggaagcgc ccattcagag gcgagtttac cgacaaggag cggagagatc 600

acaggcgccg gaaggccctg gagaacaagc ggaagcagct gagctccggc ggcaagagcc 660

tgtccaagga ggaggaggag gagctgagaa agctgacaga ggaggacgag agaagggaga 720

ggagggtggc aggacctagg gtgggaggcg tgaacccact ggagggagga accaggggag 780

cacctggagg aggattcgtg ccatccatgc agggagtgcc tgagtctcca tttgccagga 840

caggagaggg cctggacgtg cgcggaaatc agggcttccc ctgggacatc ctgtttcctg 900

ccgatccacc cttctcccct cagtcttgca ggccacagtc tcgcagcgag tccaagaaga 960

acagaggcgg aagggaggag gtgctggagc agtgggtgaa tggccggaag aagctggaag 1020

aactggagag ggagctgaga agggcccgca agaagatcaa gaagctggaa gacgataatc 1080

cttggctggg caatgtgaaa ggcatcctgg gcaagaagga caaggatgga gagggagcac 1140

ctccagcaaa gagggcaaga accgaccaga tggagatcga ttctggacca aggaagcgcc 1200

ctctgagagg aggcttcaca gaccgggaga gacaggatca ccgccggaga aaggccctga 1260

agaacaagaa gaagcagctg agcgccggcg gcaagtctct gagtaaagaa gaagaggagg 1320

agctgaagcg gctgaccaga gaggacgagg agcggaagaa ggaggagcac ggaccaagca 1380

gactgggagt gaatccttcc gagggaggac caagaggagc acccggagga ggcttcgtgc 1440

catctatgca gggcatcccc gagagcaggt ttaccagaac cggcgaaggc ctggacgtgc 1500

ggggctccag aggctttcct caggacatcc tgttcccatc tgatcccccc tttagccccc 1560

agtcctgtag gcctcagggc accaacctgt ccacatctaa ccctctgggc ttctttcctg 1620

atcatcagct ggacccagcc ttccgcgcca acagcgccaa tcccgattgg gacttcaacc 1680

caaataagga tacctggcca gacgctaaca aggtcggagg acagaacctg agcacatcca 1740
atcctctggg cttctttcca gaccaccagc tggatccagc cttcagggct aatacagcca 1800
atcccgactg ggacttcaac ccaaataagg acacgtggcc agacgcaaac aaggtcggct 1860
ctcagagcga gacaaggagg ggccggagag gaaccaggga ggagacactg gagaagtgga 1920
tcaccgccag aaagaaggcc gaggagctgg agaaggacct gaggaagacc cgcaagacaa 1980
tcaagaagct ggaagaagag aacccatggc tgggcaatat cgtgggcatc atccgcaagg 2040
gcaaggacgg cgagggagca ccaccagcaa agaggcccag gactgatcag atggaggtgg 2100

atagcggccc tggcaagagg ccacacaagt ccggcttcac agacaaggag agggaggacc 2160
ataggcgccg gaaggccctg gaaaacaaga agaagcaatt atccgccggc ggcaagatcc 2220
tgtctaaaga agaggaagaa gagctgagaa ggctgaccga cgaggatgag gagaggaaaa 2280
gaagggtggc aggaccaaga gtgggcgacg tgaatccctc cagaggcgga ccaagaggag 2340
cacctggagg cggcttcgtg ccccagatgg ccggcgtgcc cgagtctcct tttagcagaa 2400
ccggagaggg cctggatatc aggggaaccc agggctttcc atgggtgtcc ccatctcctc 2460
cacagcagcg gctgccactg ctggagtgca cccctcagag ccagagcgaa tctaagaaga 2520

acagaagggg cggcagagag gacatcctgg aaaaatggat caccacacgc agaaaagctg 2580
aagaactgga aaaggacctg cggaaggcca gaaaaacaat caagaagctg gaggatgaaa 2640
atccatggct gggaaacatc atcggcatca tcagaaaggg caaggacggg gaaggcgcac 2700
cacctgcaaa gcggcctaga acagatcaga tggaaatcga ttctggaacc ggcaagcggc 2760
cacacaagag cggcttcacc gacaaggaga gagaggatca cagaaggcgc aaggccctgg 2820
agaacaagaa gaagcaatta agcagcggcg gcaagaatct gtccagagaa gaggaagagg 2880
agctgggcag actgaccgtg gaggacgagg agcggagaag gcgcgtggca ggacccagga 2940

caggcgatgt gaacctgagc ggaggaggac ctaggggagc accaggaggc ggcttcgtgc 3000
ctaggatgga gggagtgcca gagtccccct ttaccagaac cggcgagggc ctggacatca 3060
ggggaaatca gggattccca tgggtgcggc cttccccacc acagcagaga ctgccactgc 3120
tggagtgtac cccccagggc acaaacctga gcacctccaa tcccctgggc ttctttcctg 3180
accatcagct ggaccctgcc ttcagggcca acagcgccaa cccagattgg gacttcaacc 3240
ctaataagga cacctggcca gatgcaaaca aggtcggcgg ccaaaacctg tctacaagca 3300
acccccctggg cttctttcca gatcaccagc tggatcccgc ctttcgcgcc aataccgcca 3360

accctgattg ggatttcaac cctaacaaag acacttggcc tgacgctaat aaggtcggct 3420

gatgagaatt c 3431

<210> 37

<211> 1136

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Delta-7/Delta-8 fusion polypeptide sequence

<400> 37

Met Ala Gly Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro
1 5 10 15

Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp
20 25 30

Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val
35 40 45

Gly Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp
50 55 60

His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp
65 70 75 80

Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly
85 90 95

Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly Arg Glu Glu Ile Leu
100 105 110

Glu Gln Trp Val Gly Ala Arg Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Arg Asp
115 120 125

Leu Arg Lys Ile Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu Asn Pro
130 135 140

Trp Leu Gly Asn Ile Lys Gly Ile Leu Gly Lys Lys Asp Arg Glu Gly
145 150 155 160

Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Ala Asp Gln Met Glu Val
165 170 175

Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Phe Arg Gly Glu Phe Thr Asp Lys
180 185 190

Glu Arg Arg Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Arg Lys
195 200 205
Gln Leu Ser Ser Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu
210 215 220

Leu Arg Lys Leu Thr Glu Glu Asp Glu Arg Arg Glu Arg Arg Val Ala
225 230 235 240
Gly Pro Arg Val Gly Gly Val Asn Pro Leu Glu Gly Gly Thr Arg Gly
245 250 255
Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln Gly Val Pro Glu Ser
260 265 270
Pro Phe Ala Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val Arg Gly Asn Gln Gly
275 280 285

Phe Pro Trp Asp Ile Leu Phe Pro Ala Asp Pro Pro Phe Ser Pro Gln
290 295 300
Ser Cys Arg Pro Gln Ser Arg Ser Glu Ser Lys Lys Asn Arg Gly Gly
305 310 315 320
Arg Glu Glu Val Leu Glu Gln Trp Val Asn Gly Arg Lys Lys Leu Glu
325 330 335
Glu Leu Glu Arg Glu Leu Arg Arg Ala Arg Lys Lys Ile Lys Lys Leu
340 345 350

Glu Asp Asp Asn Pro Trp Leu Gly Asn Val Lys Gly Ile Leu Gly Lys
355 360 365
Lys Asp Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg Ala Arg Thr
370 375 380
Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly Pro Arg Lys Arg Pro Leu Arg Gly
385 390 395 400
Gly Phe Thr Asp Arg Glu Arg Gln Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu
405 410 415

Lys Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ser Leu Ser Lys
420 425 430
Glu Glu Glu Glu Glu Leu Lys Arg Leu Thr Arg Glu Asp Glu Glu Arg

435 440 445

Lys Lys Glu Glu His Gly Pro Ser Arg Leu Gly Val Asn Pro Ser Glu

450 455 460

Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro Ser Met Gln

465 470 475 480

Gly Ile Pro Glu Ser Arg Phe Thr Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Val

485 490 495

Arg Gly Ser Arg Gly Phe Pro Gln Asp Ile Leu Phe Pro Ser Asp Pro

500 505 510

Pro Phe Ser Pro Gln Ser Cys Arg Pro Gln Gly Thr Asn Leu Ser Thr

515 520 525

Ser Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe

530 535 540

Arg Ala Asn Ser Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp

545 550 555 560

Thr Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Gly Gln Asn Leu Ser Thr Ser

565 570 575

Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg

580 585 590

Ala Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr

595 600 605

Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly Ser Gln Ser Glu Thr Arg Arg Gly

610 615 620

Arg Arg Gly Thr Arg Glu Glu Thr Leu Glu Lys Trp Ile Thr Ala Arg

625 630 635 640

Lys Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg Lys Thr Arg Lys Thr

645 650 655

Ile Lys Lys Leu Glu Glu Glu Asn Pro Trp Leu Gly Asn Ile Val Gly

660 665 670

Ile Ile Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala Pro Pro Ala Lys Arg

675 680 685

Pro Arg Thr Asp Gln Met Glu Val Asp Ser Gly Pro Gly Lys Arg Pro
690 695 700
His Lys Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu Asp His Arg Arg Arg
705 710 715 720
Lys Ala Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser Ala Gly Gly Lys Ile
725 730 735

Leu Ser Lys Glu Glu Glu Glu Glu Leu Arg Arg Leu Thr Asp Glu Asp
740 745 750
Glu Glu Arg Lys Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg Val Gly Asp Val Asn
755 760 765
Pro Ser Arg Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Gly Gly Phe Val Pro
770 775 780
Gln Met Ala Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Ser Arg Thr Gly Glu Gly
785 790 795 800

Leu Asp Ile Arg Gly Thr Gln Gly Phe Pro Trp Val Ser Pro Ser Pro
805 810 815
Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu Cys Thr Pro Gln Ser Gln Ser
820 825 830
Glu Ser Lys Lys Asn Arg Arg Gly Gly Arg Glu Asp Ile Leu Glu Lys
835 840 845
Trp Ile Thr Thr Arg Arg Lys Ala Glu Glu Leu Glu Lys Asp Leu Arg
850 855 860

Lys Ala Arg Lys Thr Ile Lys Lys Leu Glu Asp Glu Asn Pro Trp Leu
865 870 875 880
Gly Asn Ile Ile Gly Ile Ile Arg Lys Gly Lys Asp Gly Glu Gly Ala
885 890 895
Pro Pro Ala Lys Arg Pro Arg Thr Asp Gln Met Glu Ile Asp Ser Gly
900 905 910
Thr Gly Lys Arg Pro His Lys Ser Gly Phe Thr Asp Lys Glu Arg Glu
915 920 925

Asp His Arg Arg Arg Lys Ala Leu Glu Asn Lys Lys Lys Gln Leu Ser

930 935 940

Ser Gly Gly Lys Asn Leu Ser Arg Glu Glu Glu Glu Glu Leu Gly Arg

945 950 955 960

Leu Thr Val Glu Asp Glu Glu Arg Arg Arg Arg Val Ala Gly Pro Arg

965 970 975

Thr Gly Asp Val Asn Leu Ser Gly Gly Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly

980 985 990

Gly Gly Phe Val Pro Arg Met Glu Gly Val Pro Glu Ser Pro Phe Thr

995 1000 1005

Arg Thr Gly Glu Gly Leu Asp Ile Arg Gly Asn Gln Gly Phe Pro

1010 1015 1020

Trp Val Arg Pro Ser Pro Pro Gln Gln Arg Leu Pro Leu Leu Glu

1025 1030 1035

Cys Thr Pro Gln Gly Thr Asn Leu Ser Thr Ser Asn Pro Leu Gly

1040 1045 1050

Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser

1055 1060 1065

Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr Trp Pro

1070 1075 1080

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

1085 1090 1095

Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Arg Ala

1100 1105 1110

Asn Thr Ala Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Asn Lys Asp Thr

1115 1120 1125

Trp Pro Asp Ala Asn Lys Val Gly

1130 1135

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ovalbumin 257-264 CTL

<400> 38

Ser Ile Ile Asn Phe Glu Lys Leu

1 5

<210> 39

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ovalbumin 323-339 Th

<400> 39

Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu Ile Asn Glu Ala Gly

1 5 10 15

Arg