



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0122848
(43) 공개일자 2017년11월06일

<p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C12N 7/04 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류 C12N 7/045 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-7030841(분할)</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2009년08월10일 심사청구일자 없음</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2011-7005478 원출원일자(국제) 2009년08월10일 심사청구일자 2014년07월28일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2017년10월25일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2009/053249</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2010/017542 국제공개일자 2010년02월11일</p> <p>(30) 우선권주장 61/087,504 2008년08월08일 미국(US) 61/218,603 2009년06월19일 미국(US)</p>	<p>(71) 출원인 다케다 백신즈 인코퍼레이티드 미국 일리노이주 60015 디어필드 원 다케다 파크웨이</p> <p>(72) 발명자 리차드슨 찰스 미국 몬태나 59718 보즈만 2155 애널리시스 드라이브 리고사이트 파머슈티컬즈 인코퍼레이티드 내 바게츠 로버트 미국 몬태나 59718 보즈만 2155 애널리시스 드라이브 리고사이트 파머슈티컬즈 인코퍼레이티드 내 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인 석혜선, 김용인</p>
---	--

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **강화된 교차 반응성을 가진 복합체 캡시드 아미노산 서열들을 포함하는 바이러스-유사 입자들**

(57) 요약

본 발명은 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 단백질을 나타내는 공통 서열로부터 유도된 복합체 아미노산 서열을 가진 폴리펩타이드를 제공한다. 특히, 본 발명은 적어도 하나의 복합체 폴리펩타이드를 포함하는 바이러스-유사 입자를 제공한다. 이런 바이러스-유사 입자들은 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 항원 에피토프를 가지며 비-외피 바이러스의 하나 이상의 순환 균주에 대해 항혈청 교차 반응성을 증가시킨다. 복합체 바이러스-유사 입자들 및 복합체 바이러스-유사 입자들을 포함하는 백신 제제의 제조 방법이 개시된다.

대표도 - 도1

```

MKMAS-X1-DA-X2-PSDGS-X3-ANLVPEVNNEVMALEPVVGAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGG
EFTVSPRNAPGEILWSAPLGPDLNPLYLSHLARMYNGYAGGFVQVILAGNAFTAGKLIIFAAVPPNFPTG
LSPSQVTMFPHIIVDVRQLEPVLIPLPDVRNMFYHYNQSN-D-X4-TIKLIAMLYTPLRANNAG-X5-DVFT
VSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPF-X6-VPILTVEEMTNSRFPIPLEKLFRTGPS-X7-AFVVQPQ
NGRCTTDGVLGTTQLSPVNICTFRGDVTHIAG-X8-X9-X10-YTMNLAS-X11-NWNNDPTEEI PAPLGT
PDFVKGKIQGVLTQTT-X12-X13-DGSTRGHKATV-X14-TGS-X15-X16-FTPKLG-X17-X18-QF-X19-TD
T-X20-ND-X21-ET-X22-QNT-X23-FTPVGV-X24-QDG-X25-X26-X27-H-X28-NEPQQWVLP-X29-YSG
R-X30-X31-HNVHLAPAVAP-X32-FPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNM-X33-LDCLLPQEWV-X34-HFYQEA
APAQSDVALLRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHGTG-X35-HDLVIPPNGYFRFDSWVNOFYTLAPMGN
G-X36-GRRRA,
    
```

wherein X₁ = S or N; X₂ = S or N; X₃ = T or A; X₄ = S or P; X₅ = D or E;
X₆ = S or T; X₇ = G or S; X₈ = S or T; X₉ = Q, R, or H; X₁₀ = E, D, or N;
X₁₁ = Q or L; X₁₂ = R or K; X₁₃ = G or R; X₁₄ = S or Y; X₁₅ = V or A; X₁₆ =
P or H; X₁₇ = S or R; X₁₈ = V or I; X₁₉ = S or T; X₂₀ = S, E, or N; X₂₁ = F
or L; X₂₂ = G or H; X₂₃ = R or K; X₂₄ = V or I; X₂₅ = S or N; X₂₆ = S or T;
X₂₇ = A or T; X₂₈ = Q or R; X₂₉ = D, S, or N; X₃₀ = D, N, or T; X₃₁ = S, V,
or G; X₃₂ = S or T; X₃₃ = N or D; X₃₄ = Q or L; X₃₅ = Q or P; and X₃₆ = T or
A. **(SEQ ID NO: 2)**

(72) 발명자

헤인스 조엘

미국 몬태나 59718 보즈만 2155 애널리시스 드라이
브 리고사이트 파머슈티컬즈 인코퍼레이티드 내

스टे드먼 브라이언

미국 몬태나 59718 보즈만 2155 애널리시스 드라이
브 리고사이트 파머슈티컬즈 인코퍼레이티드 내

명세서

청구범위

청구항 1

비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주로부터의 캡시드 단백질의 아미노산 서열들을 정렬하는 단계;

상기 정렬된 아미노산 서열들로부터 공통 서열을 결정하는 단계;

상기 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 단백질 서열이 다르고, 상기 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 1 개의 다른 아미노산을 함유하는 각각의 가변 위치에, 상기 캡시드 단백질 아미노산 서열 중 하나에서 대응 위치에 존재하는 아미노산을 선택함으로써, 상기 공통 서열에 기초한 복합체 서열을 제조하는 단계; 및

숙주 세포에서 상기 복합체 서열을 발현시켜, 바이러스-유사 입자를 생산하는 단계를 포함하는 바이러스-유사 입자를 제조하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

비-외피 바이러스는 칼리시바이러스, 피코르나바이러스, 아스트로바이러스, 아데노바이러스, 레오바이러스, 폴리오마바이러스, 파필로마바이러스, 파보바이러스 및 E형 간염 바이러스로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

비-외피 바이러스는 칼리시바이러스인 방법.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

칼리시바이러스는 노로바이러스 또는 사포바이러스인 방법.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

노로바이러스는 유전자군 I 또는 유전자군 II 노로바이러스인 방법.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

노로바이러스는 유전자군 II, 유전자형 4 노로바이러스인 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

유전자군 II, 유전자형 4 노로바이러스 균주는 휴스턴 균주, 미네르바 균주 및 로렌스 균주로부터 선택되는 방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

바이러스-유사 입자는 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 항원 특성을 가지는 방법.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

바이러스-유사 입자는, 비-외피 바이러스의 하나 이상의 순환 균주에 대한 항혈청 교차-반응성에서, 상기 하나 이상의 순환 균주로부터 단백질만 함유하는 바이러스-유사 입자로 면역화에 의해 수득된 항혈청 교차-반응성과 비교하여, 적어도 2배 증가를 제공하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 백신, 특히 비-외피 바이러스들의 둘 이상의 캡시드 단백질을 나타내는 공통 서열(consensus sequence)로부터 유도된 복합체 아미노산 서열(composite amino acid sequence)을 가진 바이러스-유사 입자들을 포함하는 백신의 분야이다. 또한, 본 발명은 백신 조성물 제조 방법 및 본 발명의 백신 조성물을 사용하여 보호면역반응을 유도하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 계절적 패턴 또는 경년(year-to-year) 패턴을 가진 바이러스들에 대한 백신을 제조하기 위한 일반적인 접근법은 바이러스가 다른 항원 프로파일을 나타내도록 진화할 때 새로운 백신의 예상, 공표, 후속 합성을 요구하는 상업용 인플루엔자 백신들에 의해 모델링된다. 이 방법은 현저한 시간 지연과 비용을 일으키는데 이는 새로운 항원들이 다음해 바이러스 균주를 예상하여 합성되기 때문이다. 또한, 2008년 인플루엔자 백신의 실패에 의해 증명되었듯이, 예상 균주의 실수는 환자들은 보호를 충분히 받지 못하기 때문에 현저한 질환 관련 비용을 일으킬 수 있다. 따라서, 질환 유발 바이러스의 여러 순환 균주에 대항하여 방어하는 백신들을 설계하고 준비하기 위한 개량된 방법이 바람직하다.

[0003] 노로바이러스는 비 박테리아성 위장염의 유행병 발생의 단일한 가장 중요한 원인으로 부상한 비-배양성 인간 칼리시바이러스이다(Glass 등의 논문 [(2000) J Infect Dis, Vol. 181 (Sup 2): S254-S261]; Hardy 등의 논문 [(1999) Clin Lab Med, Vol. 19(3): 675-90]). 이들 바이러스는 5개의 다른 유전자군으로 분류되었고 유전자군 I 및 II는 25개 유전자형으로 더 나뉘지며 이 바이러스에 기인하는 인간의 대다수의 질병에 대한 병원체들이다. 급성 위장염의 적절한 동물 모델 및 배양액에서 바이러스 증식 불능을 포함하는, 노로바이러스에 대한 백신의 개발에 대한 현저한 난제들이 있다. 따라서, 오늘날 바이러스 독성약화 또는 시험관 내 중화 분석을 포함하는 표준 바이러스학 기술들이 가능하지 않다.

[0004] 노로바이러스는 3개의 오픈 리딩 프레임을 함유하는 7.5Kb 단일 가닥 포지티브 센스 RNA 게놈을 함유한다. 주요 바이러스 캡시드 단백질(VP1)은 OFR2에 의해 암호화되고, 이 단백질의 발현은, 바이러스의 구조를 모방하나 복제할 수 없는 바이러스-유사 입자(VLP)의 자발적 조립을 일으킨다. 이 구조는 VP1의 180개 모노머 서브유닛으로 이루어지고 급성 위장염을 막는 후보 백신이다. VP1 모노머는 두 도메인: 내부 바이러스 코어를 형성하는 덩개(S, shell) 도메인 및 유연한 힌지에 의해 연결된 주요 돌출(P, protruding) 도메인을 가진다. P 도메인은 두 개의 서브도메인 P1 및 P2로 추가로 나뉘며, 이 서브도메인은 가장 표면 노출 영역이고 중요한 세포 인식 및 항원 위치를 포함하는 것으로 생각된다. 상동 관계 분석은 VP1의 추가변 아미노산 영역의 대다수는 P2 도메인에 위치한다는 것을 알려준다(Allen 등의 논문 [(2008) PLoS One, Vol. 1: 1-9]).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 최근의 역학 연구들은, 인플루엔자 바이러스에 대해 관찰된 것과 유사하게, 노로바이러스 진화는 정체 기간에 이어 새로운 유행성 균주의 출현이 이어지는 새 시대라는 가설에 도달하였다. 가장 최근의 유행병 돌발은 약 2년의 지속 간격으로 GII.4 유전형에서 변형 바이러스의 출현과 관련이 있는 것으로 나타난다. 당분야에서는 여러 노로바이러스에 대한 교차 보호일 수 있는 항원성 에피토프, 또는 기타 비-외피 바이러스 균주를 제공하는 백신 후보에 대한 요구가 있고, 이는 동시 유행병 발생 균주 각각에 대한 백신의 제조를 필요 없게 할 것이다.

과제의 해결 수단

- [0006] 본 발명은 여러 유행하는 바이러스 균주로부터의 에피토프를 결합하는 복합체 캡시드 서열을 포함하는 폴리펩타이드가 여러 바이러스 균주에 더욱 강한 면역 반응을 일으키는데 사용될 수 있다는 발견에 부분적으로 기초한다. 이런 폴리펩타이드는 바이러스의 여러 순환 균주들에 대하여 보호성이고, 따라서 균주-대-균주(균주-to-균주) 및 경년(year-to-year) 보호를 향상시키는 백신 제제를 제조하기 위해 사용될 수 있다.
- [0007] 본 발명은 복합체 아미노산 서열을 가진 적어도 하나의 폴리펩타이드를 제공하며, 상기 복합체 아미노산 서열은 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 단백질을 나타내는 공통 서열로부터 유도되며, 적어도 하나의 폴리펩타이드는 숙주 세포에서 발현될 때 바이러스-유사 입자를 형성하며 상기 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 1개의 다른 아미노산을 포함한다. 한 실시예에서, 적어도 하나의 복합체 폴리펩타이드를 포함하는 바이러스-유사 입자는 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 항원 특성들(antigenic properties)을 가진다. 다른 실시예에서, 복합체 폴리펩타이드 또는 복합체 바이러스-유사 입자는 상기 하나 이상의 순환 균주로부터의 단백질만을 포함하는 바이러스-유사 입자로 면역화하여 얻은 항혈청 교차 반응성과 비교할 때 비-외피 바이러스의 하나 이상의 순환 균주에 대한 항혈청 교차 반응성을 증가시킨다.
- [0008] 바이러스-유사 입자는 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 단백질을 나타내는 공통 서열로부터 유도된 복합체 아미노산 서열을 가진 적어도 하나의 폴리펩타이드를 포함할 수 있고, 비-외피 바이러스는 칼리시바이러스(Calicivirus), 피코르나바이러스(Picornavirus), 아스트로바이러스(Astrovirus), 아데노바이러스(Adenovirus), 레오바이러스(Reovirus), 폴리오마바이러스(Polyomavirus), 파필로마바이러스(Papillomavirus), 파보바이러스(Parvovirus) 및 E형 간염 바이러스(Hepatitis E virus)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 한 실시예에서, 비-외피 바이러스는 칼리시바이러스이다. 다른 실시예에서, 칼리시바이러스는 노로바이러스(Norovirus) 또는 사포바이러스(Sapovirus)이다. 노로바이러스는 유전자군 I 또는 유전자군 II 노로바이러스일 수 있다.
- [0009] 공통 서열은 동일한 유전자군과 유전자형으로 분류된 둘 이상의 노로바이러스 균주로부터 유도될 수 있다. 한 실시예에서, 공통 서열은 휴스틴(GenBank Sequence ABY27560), 미네르바(Den Haag로도 알려짐; GenBank Sequence ABL74395) 및 로렌스(Yerseke로도 알려짐; GenBank Sequence ABL74391) 균주와 같은 유전자군 II, 유전자형 4 노로바이러스 균주로부터 유도된다. 다른 실시예에서, 공통 서열은 한 유전자군 내의 적어도 2개의 다른 유전자형의 노로바이러스 균주로부터 유도된다. 또 다른 실시예에서, 공통 서열은 적어도 2개의 다른 유전자군의 노로바이러스 균주로부터 유도된다.
- [0010] 본 발명은 또한 둘 이상의 유행하는 칼리시바이러스 균주로부터 유도된 적어도 하나의 복합체 폴리펩타이드 및 노로바이러스와 같은 제 2 비-외피 바이러스로부터의 캡시드 단백질을 포함하는 바이러스-유사 입자를 포함한다. 캡시드 단백질은 유전자군 I 또는 유전자군 II 노로바이러스로부터의 VP1 및/또는 VP2 단백질일 수 있다. 다른 실시예에서, 바이러스-유사 입자는 칼리시바이러스의 둘 이상의 순환 균주로부터 유도된 적어도 하나의 복합체 폴리펩타이드 및 제 2 칼리시바이러스의 둘 이상의 순환 균주로부터 유도된 제 2 복합체 폴리펩타이드를 포함한다. 바람직하게는, 바이러스-유사 입자는 제 1 칼리시바이러스의 둘 이상의 순환 균주 및 제 2 칼리시바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 항원 특성들(antigenic properties)을 가진다.
- [0011] 본 발명은 복합체 아미노산 서열을 가진 이의 분리된 폴리펩타이드 또는 단편을 제공하며, 여기서 상기 복합체 아미노산 서열은 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 단백질을 나타내는 공통 서열로부터 유도되고, 폴리펩타이드는 상기 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 1개의 다른 아미노산을 포함한다. 비-외피 바이러스는 사포바이러스 또는 노로바이러스와 같은 칼리시바이러스일 수 있다. 선택적으로, 비-외피 바이러스는 파필로마바이러스일 수 있다.
- [0012] 본 발명은 본 발명의 하나 이상의 복합체 폴리펩타이드 또는 복합체 바이러스-유사 입자들을 포함하는 백신 제제를 의도한다. 복합체 바이러스-유사 입자들의 각각은 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 단백질을 나타내는 공통 서열로부터 유도된 복합체 아미노산 서열을 가진 적어도 하나의 폴리펩타이드를 포함한다. 비-외피 바이러스는 유전자군 I 또는 유전자군 II 노로바이러스일 수 있다. 일부 실시예들에서, 백신 제제는 항원보강제를 더 포함할 수 있다. 다른 실시예에서, 백신 제제는 전달체를 더 포함할 수 있다. 또 다른 실시예에서, 백신 제제는 약학적으로 허용가능한 담체를 더 포함할 수 있다. 백신 제제는 액체 제제 또는 건 분말 제제일 수 있다.
- [0013] 본 발명은 또한 피험자에게 본 명세서에 개시된 백신 제제를 투여하는 단계를 포함하여 피험자의 바이러스 감염에 대한 보호 면역성을 유도하는 방법을 제공한다. 한 실시예에서, 바이러스 감염은 노로바이러스 감염이다. 다

른 실시예에서, 백신 제제는 노로바이러스 감염의 하나 이상의 증상으로부터 보호를 제공한다.

[0014] 본 발명은 또한 복합체 바이러스-유사 입자를 제조하는 방법을 의도한다. 한 실시예에서, 이 방법은 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주로부터의 캡시드 단백질들의 아미노산 서열들을 정렬하는 단계; 상기 정렬된 아미노산 서열들로부터 공통 서열을 결정하는 단계; 상기 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 1개의 다른 아미노산을 포함하는 상기 공통 서열을 기초로 한 복합체 아미노산 서열을 제조하는 단계; 및 숙주 세포에서 상기 복합체 아미노산 서열을 발현시켜, 바이러스-유사 입자를 생산하는 단계를 포함한다. 비-외피 바이러스는 칼리시바이러스, 피코르나바이러스, 아스트로바이러스, 아데노바이러스, 레오바이러스, 폴리오마바이러스, 파필로마바이러스, 파보바이러스 및 E형 간염 바이러스일 수 있다.

발명의 효과

[0015] 본 발명의 내용 중에 포함되어 있다.

도면의 간단한 설명

- [0016] 도 1. 유전자군 II, 유전자형 4 노로바이러스로부터의 VP1 단백질들의 아미노산 공통 서열(SEQ ID NO:2). 공통 서열은 휴스턴(GenBank Sequence ABY27560), 미네르바(Den Haag로도 알려짐 및 GenBank Sequence ABL74395) 및 로렌스 균주(Yerseke로도 알려짐 및 GenBank Sequence ABL74391)의 정렬로부터 결정되었다.
- 도 2. 유전자군 II, 유전자형 4 노로바이러스로부터의 복합체 VP1 단백질을 암호화하는 뉴클레오티드 서열(SEQ ID NO:3).
- 도 3. 수크로오스 구배 정제 복합체 VLPs의 SDS-PAGE/쿠마시 분석.
- 도 4. 수크로오스 구배로 정제한 복합체 발현 세포 배양액 상청액의 220nm(상부) 및 280nm(하부)에서의 기록의 HPLC SEC 크로마토그램이다.
- 도 5. 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제된 복합체 서열 VLPs의 SDS-PAGE/은-염색 분석.
- 도 6. 복합체 VLPs의 280nm에서 판독의 HPLC SEC 크로마토그램이다.
- 도 7. 복합체 VLP(CVLP)에 의한 면역화는 항원-특이적 IgG를 유도한다. 7마리 생쥐의 그룹은 0일 및 7일에 CVLP의 다양한 농도(x축에 나타냄)로 면역화되었다(i.p.). 혈청은 14일에 수집되었고 CVLP-특이적 IgG는 ELISA에 의해 측정되었다. 수평선은 각 처리 그룹의 기하학적 평균이다.
- 도 8. 복합체 VLP/놀위크 VLP(CVLP/NVLP) 조합에 의한 면역화는 NVLP-특이적 IgG를 유도한다. 7마리 생쥐의 그룹은 0일 및 14일에 NVLP 단독(자주색 막대)의 다양한 농도 또는 동일한 양의 CVLP(검은색 막대)와 조합으로 면역화되었다(i.p.). 혈청은 21일에 수집되었고 NVLP-특이적 IgG는 ELISA로 측정되었다. 데이터는 평균 + 평균의 표준 에러(SEM)로 보고된다.
- 도 9. 복합체 VLP/놀위크 VLP(CVLP/NVLP) 조합에 의한 면역화는 CVLP-특이적 IgG를 유도한다. 7마리 생쥐의 그룹은 0일 및 14일에 NVLP 단독(녹색 막대)의 다양한 농도 또는 동일한 양의 CVLP(검은색 막대)와 조합으로 면역화되었다(i.p.). 혈청은 21일에 수집되었고, CVLP-특이적 IgG는 ELISA로 측정되었다. 데이터는 평균 + 평균의 표준 에러(SEM)로 보고된다.
- 도 10. CVLP-특이적 IgG는 다른 노로바이러스 분리주와 교차 반응한다. 복합체 VLP 또는 GII.4 2002 VLPs에 의한 단일 면역화 21일 후 측정된 항체 역가들은 GII.4 2002 VLPs와 비교해서 ~ 10배 더 높은 역가를 나타낸다는 것을 보여준다. 모든 GII.4 VLPs로 면역화된 동물들의 항체 역가는 GI.1 VLPs에 대해 나쁜 교차 반응성을 나타낸다. 데이터는 기하학적 평균 + 평균의 표준 에러(SEM)로 표현된다.
- 도 11. 토끼들은 동일한 양의 놀위크 VLP(NVLP) 및 복합체 VLP(CVLP)로 0일 및 21일에 IM 면역화하였다. 혈청은 28일에 수집하였고 VLP-특이적 IgG를 평가하였다. 결과로 얻은 데이터는 로그 변형하였고 선형회귀분석으로 평가하였다. IgG 역가는 역수 희석(reciprocal dilution)으로 표현되고 기하학적 평균 역가로 나타내어진다.
- 도 12. 토끼들은 동일한 양의 놀위크 VLP(NVLP) 및 복합체 VLP(CVLP)로 0일 및 21일에 IM 면역화하였다. 비장들은 75일에 수집하고 분획되지 않은 세포들은 NVLP 또는 CVLP로 5일 동안 배양액에서 자극하였고 티미딘 포함의 양을 측정하였다. 평균 및 SD는 x축에 나타낸 치료 그룹에서 각각의 토끼에 대해 나타내었다. 데이터는 평균 + SD로 표현하였다.

도 13. 토끼들은 동일한 양의 놀위크 VLP(NVLP) 및 복합체 VLP(CVLP)로 0일 및 21일에 IM 면역화하였다. 비장들 및 장간막임파절들(LN)은 75일에 수집하고 ELISPOT에 의해 VLP-특이적 메모리 B-세포들의 존재를 분석하였다. 개개의 반응은 NVLP와 CVLP에 대해 나타내었다. 데이터는 존재하는 100만 세포당 VLP-특이적 IgG 분비 세포들의 숫자로 나타내었다.

도 14. 토끼들은 범례에서 나타낸 대로 동일한 양의 놀위크 VLP(NVLP) 및 복합체 VLP(CVLP)로 0일, 14일 및 21일에 IM 면역화하였다. 혈청은 21일과 35일에 수집하였고 NVLP-특이적 IgG와 IgA는 ELISA에 의해 측정하였다. 결과들은 기하학적 그룹 평균 + SEM으로 나타내었다.

도 15. 토끼들은 범례에서 나타낸 대로 동일한 양의 놀위크 VLP(NVLP) 및 복합체 VLP(CVLP)로 0일, 14일 및 21일에 IM 면역화하였다. 혈청은 21일과 35일에 수집하였고 CVLP-특이적 IgG와 IgA는 ELISA에 의해 측정하였다. 결과들은 기하학적 그룹 평균 + SEM으로 나타내었다.

도 16. 토끼들은 범례에서 나타낸 대로 동일한 양의 놀위크 VLP(NVLP) 및 복합체 VLP(CVLP)로 0일, 14일 및 21일에 IM 면역화하였다. 비장들은 35일에 수집하였고 분획되지 않은 세포들은 5일 동안 시험관 내에서 자극하였다. 비장세포들은 그래프 범례에서 나타낸 대로 2개의 유전자군으로부터의 다양한 VLPs로 자극하였다. 결과는 기하학적 그룹 평균 + SD로 나타내었다.

도 17. 생쥐들은 X축 상에 나타낸 대로 동일한 양의 놀위크 VLP(NVLP) 및 복합체 VLP(CVLP)로 0일 및 7일에 IP 면역화하였다. 혈청들은 14일에 수집하였고 ELISA에 의해 VLP-특이적 IgG의 존재에 대해 분석하였다. 개개의 반응들을 나타내었고 역가는 역수 희석으로 나타내었다. 수평 막대는 기하학적 그룹 평균값을 나타낸다.

도 18. 생쥐들은 X축 상에 나타낸 대로 동일한 양의 놀위크 VLP(NVLP) 및 복합체 VLP(CVLP)로 0일 및 7일에 IP 면역화하였다. 혈청들은 14일에 수집하였고 인간 적혈구 세포들(타입 0 포지티브)의 혈구응집반응을 억제할 수 있는 항체들의 존재에 대해 분석하였다. 개개의 반응들을 나타내었고 역가는 역수 희석으로 나타내었다. 수평 막대는 기하학적 그룹 평균값을 나타낸다.

도 19. 50 μ g의 VLP 백신 제제(놀위크 VLPs + 복합체 GII.4 VLPs)로 0일 및 21일에 비강으로 면역화된 토끼들에서 혈청 안티-VLP IgG. 개개의 반응들을 나타내었고 35일에 수집한 혈청으로부터 μ g/mL로 표현된다. 막대는 기하학적 그룹 평균을 나타낸다.

도 20. 유전자군 II 노로바이러스로부터의 VP1 단백질들의 아미노산 공통 서열(SEQ ID NO:7). 공통 서열은 GII.1(등록번호: AAL13001), GII.2 스노우 마운틴(등록번호: AAB61685) 및 GII.3(등록번호: AAL12998) 균주의 정렬로부터 측정하였다. "x"는 아미노산이 모든 세 균주들 사이에서 차이가 나는 위치를 나타낸다.

도 21. 유전자군 I 노로바이러스로부터의 VP1 단백질들의 아미노산 공통 서열(SEQ ID NO:12). 공통 서열은 놀위크 바이러스(등록번호: M87661), 사우스햄턴(등록번호: Q04542) 및 치바 바이러스(등록번호: BAB18267) 균주의 정렬로부터 측정하였다. "x"는 아미노산이 모든 세 균주들 사이에서 차이가 나는 위치를 나타낸다.

도 22. 인간 파필로마바이러스로부터의 L1 단백질들의 아미노산 공통 서열(SEQ ID NO:17). 공통 서열은 HPV-11, HPV-16 및 HPV-18 바이러스 균주의 정렬로부터 측정하였다. "x"는 아미노산이 모든 세 균주들 사이에서 차이가 나는 위치를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 본 발명은 복합체 아미노산 서열을 가진 폴리펩타이드를 포함하는 백신 제제를 제공하며, 복합체 아미노산 서열은 비-외피 바이러스의 순환 균주들의 캡시드 서열들로부터 유도된다. 이런 폴리펩타이드 서열들로부터 생산된 바이러스-유사 입자들은 여러 바이러스 균주들에 대한 항원 에피토프를 제공하며 여러 균주에 의한 바이러스 감염을 보호하는 면역 반응을 유도하는데 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 복합체 아미노산 서열을 가진 적어도 하나의 폴리펩타이드를 포함하는 바이러스-유사 입자를 제공한다. 본 명세서에서 사용된 "복합체 아미노산 서열" 또는 "복합체 서열"은 적어도 2개의 바이러스성 단백질 서열들의 공통 서열로부터 유도된 서열이다. 한 실시예에서, 바이러스성 단백질 서열들은 캡시드 서열들이다. 복합체 아미노산 서열은 공통 서열에서 가변 위치에 있는 둘 이상의 아미노산 중 하나를 선택함으로써 공통 서열로부터 유도될 수 있다.

[0018] 본 명세서에서 사용된 대로 "공통 서열(consensus sequence)"은 하나 이상의 가변 아미노산을 포함하는 서열이고 둘 이상의 바이러스의 바이러스성 단백질 서열을 정렬하고 비교함으로써 측정된다. 공통 서열은 둘 이상의 바이러스의 뉴클레오티드 서열을 정렬하고 비교함으로써 측정될 수 있다. 공통 서열은 비-외피 바이러스의 둘

이상, 셋 이상, 넷 이상, 다섯 이상, 여섯 이상, 일곱 이상, 여덟 이상 또는 아홉 이상의 순환 균주의 단백질 또는 뉴클레오티드 서열들로부터 측정될 수 있다.

[0019] 복합체 아미노산 서열을 가진 폴리펩타이드는 공통 서열을 측정하는데 사용된 둘 이상의 순환 균주의 단백질 서열의 개개와 비교할 때 적어도 하나의 다른, 적어도 둘의 다른, 적어도 셋의 다른, 적어도 넷의 다른, 적어도 다섯의 다른, 적어도 여섯의 다른, 적어도 일곱의 다른, 적어도 여덟의 다른, 적어도 아홉의 다른, 적어도 열의 다른, 적어도 열다섯의 다른, 적어도 스물의 다른, 적어도 스물다섯의 다른, 적어도 서른의 다른, 적어도 서른다섯의 다른, 적어도 마흔의 다른, 적어도 마흔다섯의 다른 또는 적어도 쉰의 다른 아미노산을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 복합체 아미노산 서열을 가진 폴리펩타이드는 숙주 세포에서 발현될 때 바이러스-유사 입자를 형성할 수 있다.

[0020] 본 발명의 한 실시예에서, 바이러스-유사 입자(VLP)는 복합체 아미노산 서열을 가진 적어도 하나의 폴리펩타이드를 포함하며, 상기 복합체 아미노산 서열은 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 단백질을 나타내는 공통 서열로부터 유도되며, 적어도 하나의 폴리펩타이드는 숙주 세포에서 발현될 때 바이러스-유사 입자를 형성하며 상기 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 1개의 다른 아미노산을 포함한다. 바람직하게는, 바이러스-유사 입자는 비-외피 바이러스의 둘 이상, 셋 이상, 넷 이상, 다섯 이상, 여섯 이상, 일곱 이상, 여덟 이상 또는 아홉 이상의 순환 균주의 항원 특성들을 가진다. 일부 실시예에서, 바이러스-유사 입자는 하나 이상의 순환 균주로부터의 단백질만을 포함하는 바이러스-유사 입자들로 면역화하여 얻은 항혈청 교차 반응성과 비교할 때 비-외피 바이러스의 둘 이상, 셋 이상, 넷 이상, 다섯 이상, 여섯 이상, 일곱 이상, 여덟 이상 또는 아홉 이상의 순환 균주에 대한 항혈청 교차 반응성을 증가시킨다. 한 실시예에서, 바이러스-유사 입자는 항혈청 교차 반응성에서 적어도 2배의 증가를 제공한다.

[0021] 다른 실시예에서, 바이러스-유사 입자는 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 단백질을 나타내는 공통 서열로부터 유도된 복합체 아미노산 서열을 가진 적어도 하나의 폴리펩타이드를 포함할 수 있고, 비-외피 바이러스는 칼리시바이러스, 피코르나바이러스, 아스트로바이러스, 아데노바이러스, 레오바이러스, 폴리오마바이러스, 파필로마바이러스, 파보바이러스 및 E형 간염 바이러스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 한 실시예에서, 비-외피 바이러스는 칼리시바이러스이다. 본 발명은 또한 출원시에 특징으로 나타내지 않거나 발견되지 않은 비-외피 바이러스의 균주들을 포함한다. 일부 실시예들에서, 다른 것들 중에서, 비-외피 바이러스는 칼리시바이러스이다. 칼리시바이러스는 네 개의 종류로 나뉜다: 인간에게 감염을 일으키는 노로바이러스 및 사포바이러스, 및 가축 감염과 관련된 라고바이러스 및 베시바이러스. 바람직한 실시예들에서, 칼리시바이러스는 사포바이러스 또는 노로바이러스이다.

[0022] 노로바이러스 종류는 두 개의 주요 유전자군(GI 및 GII)으로 주로 나뉜다. 두 개의 다른 유전자군(GIII 및 GIV)이 제안되며 일반적으로 허용된다. GIII의 예는 소, 예나 균주이다. GIV는 한 바이러스, 알파프론을 포함한다. GI 및 GII 그룹은 유전적 분류를 기초로 클러스터 또는 유전자형으로 추가로 분류될 수 있다(Ando 등의 논문 [(2000) J. Infectious Diseases, Vol. 181(Supp2):S336-S348]; Lindell 등의 논문 [(2005) J. Clin. Microbiol., Vol. 43(3): 1086-1092]). 본 명세서에서 사용된 대로, 유전자 클러스터라는 용어는 유전자형과 상호교환해서 사용된다. 유전자군 I 내에, 6개 GI 클러스터(프로토타입 바이러스 균주 이름을 가짐)가 있다: GI.1(놀워크); GI.2(사우스햄턴); GI.3(데저트 쉘드); GI.4(크루즈 쉽 바이러스/치바); GI.5(318/무스그로부); 및 GI.6(혜체). 유전자군 II 내에, 9개 GII 클러스터(프로토타입 바이러스 균주 이름을 가짐)가 있다: GII.1(하와이); GII.2(스노우 마운틴/멜크샴); GII.3(토론토); GII.4(브리스톨/로드스데일); GII.5(290/힐링톤); GII.6(269/시크로프트); GII.7(273/리트); GII.8(539/암스테르담); 및 GII.9(378). 유행하는 노로바이러스 균주들은 이런 유전자 클러스터에 속하는 프로토타입 균주들과 비교하여 분류된다. 가장 일반적인 순환 균주들은 유전자군 II에 속한다.

[0023] 여러 노로바이러스 분리주들에 대한 핵산과 단백질 서열들이 공지되어 있다. ORF1, ORF2, ORF3의 서열들 및 노로바이러스 분리주로부터의 이들의 암호화된 폴리펩타이드들을 포함하는 다른 대표적이고, 비 제한적인 서열은 생명공학 정보 국제 센터(NCBI) 데이터베이스에 나열된다. 본 발명의 한 실시예에서, 노로바이러스는 유전자군 I 또는 유전자군 II 노로바이러스일 수 있다. 복합체 및 공통 아미노산 서열들은 공지된 노로바이러스 균주들 중 임의의 것으로부터 측정될 수 있다. 예를 들어, GenBank 목록: 노로바이러스 유전자군 1 균주 Hu/NoV/West Chester/2001/USA, GenBank 수탁 번호 AY502016; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Braddock Heights/1999/USA, GenBank 수탁 번호 AY502015; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Fayette/1999/USA, GenBank 수탁 번호 AY502014; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Fairfield/1999/USA, GenBank 수탁 번호 AY502013; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Sandusky/1999/USA, GenBank 수탁 번호 AY502012; 노로바이러

스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Canton/1999/USA, GenBank 수탁 번호 AY502011; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Tiffin/1999/USA, GenBank 수탁 번호 AY502010; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/CS-E1/2002/USA, GenBank 수탁 번호 AY502000; 노로바이러스 유전자군 1 균주 Hu/NoV/Wisconsin/2001/USA, GenBank 수탁 번호 AY502008; 노로바이러스 유전자군 1 균주 Hu/NoV/CS-841/2001/USA, GenBank 수탁 번호 AY502007; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Hiram/2000/USA, GenBank 수탁 번호 AY502006; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Tontogany/1999/USA, GenBank 수탁 번호 AY502005; 놀위크 바이러스, 완전한 게놈, GenBank 수탁 번호 NC.sub.--001959; 노로바이러스 Hu/GI/Otofuke/1979/JP 유전성 RNA, 완전한 게놈, GenBank 수탁 번호 AB187514; 노로바이러스 Hu/Hokkaido/133/2003/JP, GenBank 수탁 번호 AB212306; 노로바이러스 Sydney 2212, GenBank 수탁 번호 AY588132; 놀위크 바이러스 균주 SN2000JA, GenBank 수탁 번호 AB190457; 로드스태일 바이러스 완전한 게놈, GenBank 수탁 번호 X86557; 놀위크-유사 바이러스 유전성 RNA, Gifu'96, GenBank 수탁 번호 AB045603; 놀위크 바이러스 균주 Vietnam 026, 완전한 게놈, GenBank 수탁 번호 AF504671; 노로바이러스 Hu/GII.4/2004/N/L, GenBank 수탁 번호 AY883096; 노로바이러스 Hu/GII/Hokushin/03/JP, GenBank 수탁 번호 AB195227; 노로바이러스 Hu/GII/Kamo/03/JP, GenBank 수탁 번호 AB195228; 노로바이러스 Hu/GII/Sinsiro/97/JP, GenBank 수탁 번호 AB195226; 노로바이러스 Hu/GII/Ina/02/JP, GenBank 수탁 번호 AB195225; 노로바이러스 Hu/NLV/GII/Neustrelitz260/2000/DE, GenBank 수탁 번호 AY772730; 노로바이러스 Hu/NLV/Dresden174/pUS-Nor II/1997/GE, GenBank 수탁 번호 AY741811; 노로바이러스 Hu/NLV/Oxford/B2S16/2002/UK, GenBank 수탁 번호 AY587989; 노로바이러스 Hu/NLV/Oxford/B4S7/2002/UK, GenBank 수탁 번호 AY587987; 노로바이러스 Hu/NLV/Witney/B7S2/2003/UK, GenBank 수탁 번호 AY588030; 노로바이러스 Hu/NLV/Banbury/B9S23/2003/UK, GenBank 수탁 번호 AY588029; 노로바이러스 Hu/NLV/ChippingNorton/2003/UK, GenBank 수탁 번호 AY588028; 노로바이러스 Hu/NLV/Didcot/B9S2/2003/UK, GenBank 수탁 번호 AY588027; 노로바이러스 Hu/NLV/Oxford/B8S5/2002/UK, GenBank 수탁 번호 AY588026; 노로바이러스 Hu/NLV/Oxford/B6S4/2003/UK, GenBank 수탁 번호 AY588025; 노로바이러스 Hu/NLV/Oxford/B6S5/2003/UK, GenBank 수탁 번호 AY588024; 노로바이러스 Hu/NLV/Oxford/B5S23/2003/UK, GenBank 수탁 번호 AY588023; 노로바이러스 Hu/NLV/Oxford/B6S2/2003/UK, GenBank 수탁 번호 AY588022; 노로바이러스 Hu/NLV/Oxford/B6S6/2003/UK, GenBank 수탁 번호 AY588021; 놀위크-유사 바이러스 분리주 Bo/Thirsk10/00/UK, GenBank 수탁 번호 AY126468; 놀위크-유사 바이러스 분리주 Bo/Penrith55/00/UK, GenBank 수탁 번호 AY126476; 놀위크-유사 바이러스 분리주 Bo/Aberystwyth24/00/UK, GenBank 수탁 번호 AY126475; 놀위크-유사 바이러스 분리주 Bo/Dumfries/94/UK, GenBank 수탁 번호 AY126474; 노로바이러스 NLV/IF2036/2003/Iraq, GenBank 수탁 번호 AY675555; 노로바이러스 NLV/IF1998/2003/Iraq, GenBank 수탁 번호 AY675554; 노로바이러스 NLV/BUDS/2002/USA, GenBank 수탁 번호 AY660568; 노로바이러스 NLV/Paris Island/2003/USA, GenBank 수탁 번호 AY652979; 스노우 마운틴 바이러스, 완전한 게놈, GenBank 수탁 번호 AY134748; 놀위크-유사 바이러스 NLV/Fort Lauderdale/560/1998/US, GenBank 수탁 번호 AF414426; Hu/노로바이러스/hiroshima/1999/JP(9912-02F), GenBank 수탁 번호 AB044366; 놀위크-유사 바이러스 균주 11MSU-MW, GenBank 수탁 번호 AY274820; 놀위크-유사 바이러스 균주 B-1SVD, GenBank 수탁 번호 AY274819; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Farmington Hills/2002/USA, GenBank 수탁 번호 AY502023; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/CS-G4/2002/USA, GenBank 수탁 번호 AY502022; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/CS-G2/2002/USA, GenBank 수탁 번호 AY502021; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/CS-G12002/USA, GenBank 수탁 번호 AY502020; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Anchorage/2002/USA, GenBank 수탁 번호 AY502019; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/CS-D1/2002/CAN, GenBank 수탁 번호 AY502018; 노로바이러스 유전자군 2 균주 Hu/NoV/Germanton/2002/USA, GenBank 수탁 번호 AY502017; 인간 칼리시바이러스 NLV/GII/Langen1061/2002/DE, 완전한 게놈, GenBank 수탁 번호 AY485642; Murine 노로바이러스 1 polyprotein, GenBank 수탁 번호 AY228235; 놀위크 바이러스, GenBank 수탁 번호 AB067536; 인간 칼리시바이러스 NLV/Mex7076/1999, GenBank 수탁 번호 AF542090; 인간 칼리시바이러스 NLV/Oberhausen 455/01/DE, GenBank 수탁 번호 AF539440; 인간 칼리시바이러스 NLV/Herzberg 385/01/DE, GenBank 수탁 번호 AF539439; 인간 칼리시바이러스 NLV/Boxer/2001/US, GenBank 수탁 번호 AF538679; 놀위크-유사 바이러스 유전성 RNA, 완전한 게놈, GenBank 수탁 번호 AB081723; 놀위크-유사 바이러스 유전성 RNA, 완전한 게놈, 분리주:Saitama U201, GenBank 수탁 번호 AB039782; 놀위크-유사 바이러스 유전성 RNA, 완전한 게놈, 분리주:Saitama U18, GenBank 수탁 번호 AB039781; 놀위크-유사 바이러스 유전성 RNA, 완전한 게놈, 분리주:Saitama U25, GenBank 수탁 번호 AB039780; 놀위크 바이러스 균주:U25GII, GenBank 수탁 번호 AB067543; 놀위크 바이러스 균주:U201 GII, GenBank 수탁 번호 AB067542; 놀위크-유사 바이러스들 균주 416/97003156/1996/LA, GenBank 수탁 번호 AF080559; 놀위크-유사 바이러스들 균주 408/97003012/1996/FL, GenBank 수탁 번호 AF080558; 놀위크-유사 바이러스 NLV/Burwash Landing/331/1995/US,

GenBank 수탁 번호 AF414425; 놀워크-유사 바이러스 NLV/Miami Beach/326/1995/US, GenBank 수탁 번호 AF414424; 놀워크-유사 바이러스 NLV/White River/290/1994/US, GenBank 수탁 번호 AF414423; 놀워크-유사 바이러스 NLV/New Orleans/306/1994/US, GenBank 수탁 번호 AF414422; 놀워크-유사 바이러스 NLV/Port Canaveral/301/1994/US, GenBank 수탁 번호 AF414421; 놀워크-유사 바이러스 NLV/Honolulu/314/1994/US, GenBank 수탁 번호 AF414420; 놀워크-유사 바이러스 NLV/Richmond/283/1994/US, GenBank 수탁 번호 AF414419; 놀워크-유사 바이러스 NLV/Westover/302/1994/US, GenBank 수탁 번호 AF414418; 놀워크-유사 바이러스 NLV/UK3-17/12700/1992/GB, GenBank 수탁 번호 AF414417; 놀워크-유사 바이러스 NLV/Miami/81/1986/US, GenBank 수탁 번호 AF414416; 스노우 마운틴 균주, GenBank 수탁 번호 U70059; 데저트 쉘드 바이러스 DSV395, GenBank 수탁 번호 U04469; 놀워크 바이러스, 완전한 게놈, GenBank 수탁 번호 AF093797; 하와이 칼리시바이러스, GenBank 수탁 번호 U07611; 사우스햄턴 바이러스, GenBank 수탁 번호 L07418; 놀워크 바이러스 (SRSV-KY-89/89/J), GenBank 수탁 번호 L23828; 놀워크 바이러스 (SRSV-SMA/76/US), GenBank 수탁 번호 L23831; 캠퍼웰 바이러스, GenBank 수탁 번호 U46500; 인간 칼리시바이러스 균주 벨삼, GenBank 수탁 번호 X81879; 인간 칼리시 바이러스 균주 MX, GenBank 수탁 번호 U22498; Minireovirus TV24, GenBank 수탁 번호 U02030; 및 놀워크-유사 바이러스 NLV/Gwynedd/273/1994/US, GenBank 수탁 번호 AF414409를 참조하고, (본 출원의 출원일로 등록되기 때문에) 이의 모든 서열들은 참조로 본 명세서에 포함된다. 추가 노로바이러스 서열들은 다음 특허공보: WO 2005/030806, WO 2000/79280, JP2002020399, US2003129588, 미국특허 6,572,862, WO 1994/05700, 및 WO 05/032457에 개시되고, 이의 전부는 전문이 참조로 본 명세서에 포함된다. 또한 Green 등의 논문 [(2000) J. Infect. Dis., Vol. 181(Suppl. 2):S322-330]; Wang 등의 논문 [(1994) J. Virol., Vol. 68:5982-5990]; Chen 등의 논문 [(2004) J. Virol., Vol. 78: 6469-6479]; Chakravarty 등의 논문 [(2005) J. Virol., Vol. 79: 554-568]; Hansman 등의 논문 [(2006) J. Gen. Virol., Vol. 87:909-919]; Bull 등의 논문 [(2006) J. Clin. Micro., Vol. 44(2):327-333]; Siebenga, 등의 논문 [(2007) J. Virol., Vol. 81(18):9932-9941] 및 Fankhauser 등의 논문 [(1998) J. Infect. Dis., Vol. 178:1571-1578; for sequence comparisons and a discussion of genetic diversity and phylogenetic analysis of Noroviruses]을 참조하라.

[0024]

여러 사포바이러스 분리주에 대한 핵산과 단백질 서열들이 공지되어 있다. ORF1, ORF2, ORF3의 서열들 및 사포 바이러스 분리주로부터의 이들의 암호화된 폴리펩타이드들을 포함하는 다른 대표적인 사포바이러스 서열들은 생명공학 정보 국제 센터(NCBI) 데이터베이스에 나열된다. 예를 들어, GenBank 목록: 사포바이러스 Mc10, GenBank 수탁 번호 NC.sub.--010624; Sapporo virus, GenBank 수탁 번호 U65427; 사포바이러스 Mc10, GenBank 수탁 번호 AY237420; 사포바이러스 SaKaeo-15/Thailand, GenBank 수탁 번호 AY646855; Sapporo virus, GenBank 수탁 번호 NC.sub.--006269; 사포바이러스 C12, GenBank 수탁 번호 NC.sub.--006554; 사포바이러스 C12, GenBank 수탁 번호 AY603425; 사포바이러스 Hu/Dresden/pJG-Sap01/DE, GenBank 수탁 번호 AY694184; 인간 칼리시바이러스 SLV/cruise ship/2000/USA, GenBank 수탁 번호 AY289804; 인간 칼리시바이러스 SLV/Arg39, GenBank 수탁 번호 AY289803; Porcine enteric 칼리시바이러스 균주 LL14, GenBank 수탁 번호 AY425671; Porcine enteric 칼리시 바이러스, GenBank 수탁 번호 NC.sub.--000940; 인간 칼리시바이러스 균주 Mc37, GenBank 수탁 번호 AY237415; Mink enteric 칼리시바이러스 균주 Canada 151A, GenBank 수탁 번호 AY144337; 인간 칼리시바이러스 SLV/Hou7-1181, GenBank 수탁 번호 AF435814; 인간 칼리시바이러스 SLV/Mex14917/2000, GenBank 수탁 번호 AF435813; 인간 칼리시바이러스 SLV/Mex340/1990, GenBank 수탁 번호 AF435812; Porcine enteric 칼리시바이러스, GenBank 수탁 번호 AF182760; Sapporo virus-London/29845, GenBank 수탁 번호 U95645; Sapporo virus-Manchester, GenBank 수탁 번호 X86560; Sapporo virus-Houston/86, GenBank 수탁 번호 U95643; Sapporo virus-Houston/90, GenBank 수탁 번호 U95644; and 인간 칼리시바이러스 균주 HuCV/Potsdam/2000/DEU, GenBank 수탁 번호 AF294739를 참조하고, (본 출원의 출원일로 등록되기 때문에) 이의 모든 서열들은 참조로 본 명세서에 포함된다. 또한, Schuffenecker 등의 논문 [(2001) Arch Virol., Vol. 146(11):2115-2132]; Zintz 등의 논문 [(2005) Infect. Genet. Evol., Vol. 5:281-290]; Farkas 등의 논문 [(2004) Arch. Virol., Vol. 149:1309-1323; for sequence comparisons and a discussion of genetic diversity and phylogenetic analysis of Sapoviruses] 참조.

[0025]

복합체 및 공통 아미노산 서열들은 적어도 두 개의 노로바이러스 유전자군 I 또는 유전자군 II 균주의 캡시드 서열들로부터 유도될 수 있다. 한 실시예에서, VLP는 둘 이상의 유전자군 II, 유전자형 4 노로바이러스 균주로부터의 캡시드 단백질들의 공통 서열로부터 유도된 복합체 서열을 가진 폴리펩타이드를 포함한다. 유전자군 II, 유전자형 4 노로바이러스 균주들의 비 제한적인 예들은 휴스톤 균주(Houston strain), 미네르바 균주(Minerva strain), 로렌스 균주(Laurens strain), 브리스톨 균주(Bristol strain), 로드스데일 균주(Lordsdale strain), 파밍톤 힐 균주(Farmington Hills strain), 헌터 균주(Hunter strain), 칼로우 균주(Carlow strain) 및 US

95/96-US, 2006a 및 2006b 균주를 포함한다.

- [0026] 본 발명의 다른 실시예에서, 바이러스-유사 입자는 적어도 하나의 복합체 폴리펩타이드로 구성되며 복합체 폴리펩타이드의 서열은 휴스턴, 미네르바 및 로렌스의 VP1 서열들로부터 유도된다. 또 다른 실시예에서, 휴스턴, 미네르바 및 로렌스를 기초로 한 복합체 서열들은 SEQ ID NO:2에 의해 정의된 공통 서열로부터 유도될 수 있다.
- [0027] 일부 실시예들에서, 공통 서열은 적어도 두 개의 다른 유전자형 또는 적어도 두 개의 다른 유전자군으로부터의 노로바이러스 균주들로부터 결정될 수 있다. 본 발명의 한 실시예에서, 바이러스-유사 입자는 복합체 아미노산 서열을 가진 적어도 하나의 폴리펩타이드로 구성되며, 복합체 아미노산은 한 유전자군 내 적어도 두 개의 다른 유전자형으로부터의 노로바이러스 균주들의 캡시드 단백질들의 공통 서열로부터 유도된다. 예를 들어, 공통 서열은 유전자군 II, 유전자형 2 및 유전자군 II, 유전자형 4 노로바이러스 균주들의 캡시드 서열들로부터 유도될 수 있다. 다른 실시예에서, 공통 서열은 한 유전자군 내 셋 이상의 유전자형의 캡시드 서열들로부터 유도될 수 있다.
- [0028] 다른 실시예들에서, 공통 서열은 적어도 두 개의 다른 유전자군으로부터의 노로바이러스 균주들로부터 결정될 수 있다. 다른 것들 중에서, 한 이런 실시예는 복합체 아미노산 서열을 가진 폴리펩타이드를 포함하는 VLP일 수 있고, 상기 복합체 아미노산 서열은 유전자군 I, 유전자형 1 및 유전자군 II, 유전자형 4 노로바이러스 균주들의 캡시드 단백질들의 공통 서열로부터 유도된다.
- [0029] 본 발명은 또한 노로바이러스의 둘 이상의 순환 균주들로부터의 캡시드 단백질 및 제 2 노로바이러스로부터의 캡시드 단백질의 공통 서열로부터 유도된 복합체 폴리펩타이드를 포함하는 바이러스-유사 입자(VLP)를 제공한다. 제 2 노로바이러스는 유전자군 I 또는 유전자군 II 노로바이러스일 수 있다. 제 2 노로바이러스로부터의 캡시드 단백질은 ORF2에 의해 암호화된 주요 캡시드 단백질 VP1 또는 ORF3에 의해 암호화된 비 주요 캡시드 단백질, VP2 또는 VP1과 VP2의 조합일 수 있다. 한 실시예에서, 제 2 노로바이러스로부터의 캡시드 단백질은 유전자군 I 노로바이러스로부터의 VP1 단백질이다.
- [0030] 다른 실시예에서, 본 발명은 칼리시바이러스의 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 단백질들을 나타내는 공통 서열로부터 유도된 복합체 폴리펩타이드 및 제 2 복합체 아미노산 서열을 가진 제 2 폴리펩타이드를 포함하는 VLP를 제공하며, 상기 제 2 복합체 아미노산 서열은 제 2 칼리시바이러스의 둘 이상의 순환 균주들의 캡시드 단백질들을 나타내는 공통 서열로부터 유도된다. 바람직하게는, 바이러스-유사 입자는 제 1 칼리시바이러스의 둘 이상의 순환 균주들 및 제 2 칼리시바이러스의 둘 이상의 순환 균주들의 항원 특성들을 가진다.
- [0031] 제 2 폴리펩타이드는 제 2 칼리시바이러스의 상기 둘 이상의 순환 균주들의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 하나의 다른, 적어도 셋의 다른, 적어도 다섯의 다른, 적어도 열의 다른, 적어도 열다섯의 다른, 적어도 스물다섯의 다른, 적어도 스물다섯의 다른, 적어도 서른의 다른, 적어도 서른다섯의 다른, 적어도 마흔의 다른, 적어도 마흔다섯의 다른 또는 적어도 쉰의 다른 아미노산을 포함한다. 일부 실시예들에서, 제 2 폴리펩타이드는 숙주 세포에서 발현될 때 바이러스-유사 입자를 형성한다. 다른 실시예에서, 제 2 칼리시바이러스는 노로바이러스이다. 다른 실시예에서, 노로바이러스는 유전자군 I 노로바이러스이다. 유전자군 I 노로바이러스는 본 명세서에 개시된 유전자군 I 균주들 중 임의의 것일 수 있다. 한 실시예에서, 유전자군 I 노로바이러스는 놀위크 바이러스, 사우스햄튼 바이러스, 헤세 바이러스 및 치바 바이러스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0032] 본 발명은 또한 본 명세서에서 정의된 복합체 아미노산 서열들을 가진 분리된 폴리펩타이드들 또는 이의 단편들 뿐만 아니라 이를 암호화하는 핵산들 또는 벡터들을 포함한다. 한 실시예에서, 분리된 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 복합체 아미노산 서열을 가지며, 상기 복합체 아미노산 서열은 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주들의 캡시드 단백질들을 나타내는 공통 서열로부터 유도되며, 폴리펩타이드는 상기 둘 이상의 순환 균주들의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 1개의 다른 아미노산을 포함한다. 다른 실시예에서, 복합체 서열은 비-외피 바이러스의 하나 이상의 순환 균주들의 캡시드 서열과 비교할 때 적어도 3개의 다른 아미노산을 포함한다. 다른 실시예에서, 복합체 서열은 비-외피 바이러스의 하나 이상의 순환 균주들의 캡시드 서열과 비교할 때 5개 내지 50개의 다른 아미노산을 포함한다. 또 다른 실시예에서, 공통 서열은 SEQ ID NO:2이다.
- [0033] 복합체 폴리펩타이드는 본 명세서에 개시된 임의의 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주들로부터 유도된 서열을 가질 수 있다. 한 실시예에서, 비-외피 바이러스는 칼리시바이러스이다. 다른 실시예에서, 칼리시바이러스는 노로바이러스 또는 사포바이러스이다. 다른 실시예에서, 노로바이러스는 유전자군 I 또는 유전자군 II 노로바이러스 또는 이의 조합이다. 또 다른 실시예에서, 분리된 폴리펩타이드는 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 가진다.

- [0034] 한 실시예에서, 본 발명은 복합체 아미노산 서열을 가진 폴리펩타이드를 암호화하는 분리된 핵산을 제공하며, 상기 복합체 아미노산 서열은 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주들의 캡시드 단백질들을 나타내는 공통 서열로부터 유도되며, 폴리펩타이드는 상기 둘 이상의 순환 균주들의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 1개의 다른 아미노산을 포함한다. 다른 실시예에서, 핵산은 SEQ ID NO:3의 서열을 가진다. 다른 실시예에서, 본 발명은 복합체 폴리펩타이드를 암호화하는 분리된 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 또 다른 실시예에서, 본 발명은 복합체 폴리펩타이드를 암호화하는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0035] 본 발명의 항원 분자들(예를 들어, VLPs, 폴리펩타이드들 및 이의 단편들)은 자연적으로 발생하거나 제조할 기술들에 의해 제조될 수 있는 유기체들로부터 분리 및 정제에 의해 제조될 수 있다. 바람직한 입자-형성 폴리펩타이드들에 대한 암호화 서열들이 분리되거나 합성되면, 암호화 서열들은 발현을 위한 임의의 적절한 벡터 또는 레플리콘 속에 복제될 수 있다. 여러 클로닝 벡터들은 당업계에 공지된 것들이고, 적절한 클로닝 벡터의 선택은 당업자의 기술 내에 있다. 그런 후에 벡터는 적절한 숙주 세포를 변형시키는데 사용된다. 적절한 제조할 발현 시스템은 박테리아(예를 들어, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, 및 *Streptococcus*), 바콜로바이러스/곤충, 우두, 썸리키 삼립 바이러스(SFV), 알파바이러스(Sindbis, Venezuelan Equine Encephalitis (VEE)), 포유류(예를 들어, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, HEK-293 세포, HeLa 세포, 베이비 햄스터 신장(BHK) 세포, 생쥐 흑색종(SB20) 및 원숭이 신장 세포(COS)), 효모(예를 들어, *S. cerevisiae*, *S. pombe*, *Pichia pastoris* 및 기타 *Pichia* 발현 시스템), 식물 및 제노푸스 발현 시스템뿐만 아니라 당업계에 공지된 다른 것들을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 특히 바람직한 발현 시스템들은 포유류 세포주, 박테리아, 곤충 세포 및 효모 발현 시스템이다.
- [0036] 상기 항원들(예를 들어, VLPs, 폴리펩타이드들 또는 이의 단편들)의 각각은 실질적으로 순수한 상태로 사용되는 것이 바람직하다. 선택된 발현 시스템과 숙주에 따라, VLPs는 조건하에 있는 발현 벡터에 의해 변형된 숙주 세포들을 성장시키므로써 생산되어 입자-형성 폴리펩타이드가 발현되고 VLPs가 형성될 수 있다. 적절한 성장 조건들의 선택은 당해 기술에 속한다.
- [0037] 바람직하게는 VLP 항원들은 Sf9, High Five, TniPro, *Aedes aegypti*, *Autographa californica*, *Bombyx mori*, *Drosophila melanogaster*, *Spodoptera frugiperda*, 및 *Trichoplusia ni*와 같은 곤충 세포들로 제조된다. 곤충 세포 배양액에서 VLPs를 생산하는 절차들은 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 전문이 참조로 본 명세서에 포함된 미국특허 6,942,865 참조). 간략하게, 복합체 캡시드 서열을 지니는 제조할 바콜로바이러스들은 합성 cDNAs로부터 제조한다. 제조할 바콜로바이러스들은 곤충 배양액(예를 들어, Sf9, High Five, TniPro 세포들)을 감염시키는데 사용하고 복합체 VLPs는 세포 배양액으로부터 분리될 수 있다. "복합체 VLP"는 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주들의 캡시드 단백질들을 나타내는 공통 서열로부터 유도된 복합체 아미노산 서열을 가진 적어도 하나의 폴리펩타이드를 포함하는 VLP이다.
- [0038] VLPs가 세포 내로 형성되는 경우, 세포들은 세포들을 용해하면서 VLPs를 실질적으로 손상시키지 않는 화학적, 물리적 또는 기계적 수단들을 사용하여 파열된다. 이런 방법들은 당업자에게 공지되어 있고 예를 들어, [Protein Purification Applications: A Practical Approach, (E. L. V. Harris and S. Angal, Eds., 1990)]에 기술된다.
- [0039] 그런 후에 입자들은 수크로오스 구배, PEG-침전, 펠리타이징 등(예를 들어, Kirnbauer 등의 논문 [J. Virol. (1993) 67:6929-6936] 참조)과 같은 밀도 구배 원심분리뿐만 아니라 이온 교환 및 겔 여과 크로마토그래피를 포함하는 표준 정제 기술들과 같이 이들의 무결성을 보존하는 방법들을 사용하여 분리(또는 실질적으로 정제된다).
- [0040] 복제, 돌연변이 등과 같은 본 발명에 사용가능한 분자 생물학 기술들을 기술하는 일반적인 책들은 Berger 및 Kimmel의 [Guide to Molecular Cloning Techniques, Methods in Enzymology volume 152 Academic Press, Inc., San Diego, Calif. (Berger)]; Sambrook 등의 [Molecular Cloning--A Laboratory Manual (3rd Ed.), Vol. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., 2000 ("Sambrook")] 및 [Current Protocols in Molecular Biology], F. M. Ausubel 등, eds., [Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., ("Ausubel")]을 포함한다.
- [0041] 일부 실시예들에서, 본 발명의 항원 분자들(예를 들어, VLPs, 폴리펩타이드들 또는 이의 단편들)은 복합체 폴리펩타이드를 암호화하는 분리된 핵산을 포함하는 벡터의 투여에 의해 생체 내에서 생산된다. 적절한 벡터들은 소수포성 구내염 바이러스(VSV) 벡터, 뇌염 바이러스(EEV) 벡터, 폭스바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스(AAV), 레트로바이러스 벡터 및 pFastBac1, pWINEO, pSV2CAT, pOG44, pXT1, pSG, pSVK3,

pBPV, pMSG, 및 pSVL와 같은 발현 플라스미드를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 다른 적절한 벡터들은 당업자에게 명백해질 것이다.

[0042] 본 발명은 또한 본 명세서에 기술된 VLPs, 폴리펩타이드 또는 핵산을 포함하는 백신 제제를 포함한다. 한 실시예에서, 백신 제제는 복합체 VLP 및 제 2 바이러스-유사 입자를 포함하며, 상기 제 2 바이러스-유사 입자는 노로바이러스로부터의 캡시드 단백질을 포함한다. 제 2 VLP는 유전자군 I 또는 유전자군 II 노로바이러스로부터의 천연 캡시드 단백질을 포함할 수 있다. 제 2 VLP는 VP1 및/또는 VP2 단백질 또는 특정 VP1 또는 VP2 유도체와 같은 전장 노로바이러스 캡시드 단백질을 포함할 수 있다. 선택적으로, 제 2 VLP는 절단된 VP1 단백질과 같은 절단된 캡시드 단백질을 포함한다. 다른 실시예들에서, 모든 VLPs는 절단된 VP1 캡시드를 포함한다. 절단은 N-또는 C-말단 절단일 수 있다. 절단된 캡시드 단백질들은 적절한 기능성 캡시드 단백질 유도체들이다. 기능성 캡시드 단백질 유도체들은 면역반응이 전장 캡시드 단백질로 이루어진 VLP에 의해 일어나는 것과 동일한 방식으로 면역반응을 일으킬 수 있다. VLPs의 혼합물을 포함하는 백신 제제들은 전문이 참조로 본 명세서에 포함된 WO 2008/042789에 기술된다. 순전히 예로서 백신 제제는 노로바이러스 유전자군 II의 하나 이상의 균주로부터의 복합체 단백질을 포함하는 VLPs와 함께 노로바이러스 유전자군 I의 하나 이상의 균주로부터의 VLPs를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 노로바이러스 VLP 혼합물은 놀워크 및 유전자군 II, 유전자형 4 노로바이러스의 균주들로 이루어진다. 다른 실시예에서, 백신 제제는 복합체 VLP와 놀워크 VLP를 포함하며, 복합체 VLP는 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 가진 폴리펩타이드를 포함한다. 또 다른 실시예에서, 백신 제제는 제 1 복합체 VLP 및 제 2 복합체 VLP를 포함하며, 상기 제 1 및 제 2 복합체 VLPs는 다른 공통 서열들로부터 유도된 적어도 하나의 폴리펩타이드를 포함한다. 예를 들어, 제 1 복합체 VLP는 노로바이러스 유전자군 I의 하나 이상의 균주로부터 복합체 단백질을 포함하고 제 2 복합체 VLP는 노로바이러스 유전자군 II의 하나 이상의 균주로부터 복합체 단백질을 포함한다. 한 실시예에서, 제 1 복합체 VLP는 노로바이러스 유전자군 I, 유전자형 1(GI.1)의 하나 이상의 균주로부터의 복합체 단백질을 포함하고 제 2 복합체 VLP는 노로바이러스 유전자군 II, 유전자형 4(GII.4)의 하나 이상의 균주로부터의 복합체 단백질을 포함한다.

[0043] 일부 실시예들에서, 백신 제제는 항원보강제를 더 포함한다. 대부분의 항원보강제는 빠른 이화작용으로부터 항원을 보호하도록 설계된 물질, 예를 들어, 수산화알루미늄 또는 미네랄 오일 및 단백질로부터 유도된 백일해 (*Bordetella pertussis*) 또는 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)과 같은 면역반응의 자극제를 함유한다. 적절한 항원보강제들은 구입할 수 있고, 예를 들어, 프레운드 불완전 항원보강제 및 완전 항원보강제(Pifco Laboratories, Detroit, Mich.); 머크 항원보강제 65(Merck and Company, Inc., Rahway, NJ.); 수산화알루미늄 겔(알룸)과 같은 알루미늄 염 또는 인산알루미늄; 칼슘, 철 또는 아연염; 아실화 티로신의 불용성 현탁액; 아실화 과당; 양이온적으로 또는 음이온적으로 유도된 폴리사카라이드; 폴리포스파젠; 생분해성 미세구; 및 쿨 A이다.

[0044] 또한 적절한 항원보강제는 톨-유사 수용체(TLR) 작용제, 모노포스포릴 지질 A(MPL), 합성 지질 A, 지질 A 모방체 또는 유사체, 알루미늄 염, 사이토카인, 사포닌, 무라밀 다이펩타이드(MDP) 유도체, CpG 올리고, 그람-음성 박테리아의 리포폴리사카라이드(LPS), 폴리포스파젠, 에멀전, 비로솜(virosome), 코클레이트(cochleate), 폴리(락티드-코-글리콜리드)(PLG) 미세입자, 폴록사머 입자, 미세입자, 리포솜, 오일-인-워터 에멀전, MF59 및 스쿠알렌을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일부 실시예들에서, 항원보강제는 박테리아로 유도된 엑소톡신이다. 다른 실시예에서, 3DMPL 또는 QS21과 같이 Th1 형태 반응을 자극하는 항원보강제들이 사용될 수 있다. 특정 실시예들에서, 항원보강제는 MPL과 수산화알루미늄의 조합이다.

[0045] 일부 실시예들에서, 항원보강제는 모노포스포릴 지질 A(MPL)이다. MPL은 살모넬라로부터의 지질 A의 비독성 유도체이고, 백신 항원보강제로 개발된 강력한 TLR-4 작용제이다(Evans 등의 논문 [(2003) Expert Rev Vaccines, Vol. 2: 219-229]). 임상 전 설치류 연구에서, 비강 MPL은 전신, 체액 반응뿐만 아니라 분비 반응을 향상시키는 것으로 나타났다(Baldrick 등의 논문 [(2000) Vaccine, Vol. 18: 2416-2425]; Yang 등의 논문 [(2002) Infect Immun., Vol. 70: 3557-3565]). 120,000 이상의 환자들의 임상 연구에서 백신 항원보강제로서 안정하고 효과적인 것으로 증명되었다(Baldrick 등의 논문 [(2002) Regul Toxicol Pharmacol, Vol. 35: 398-413]). MPL은 TLR-4 수용체를 통해 선천성 면역성의 유도를 자극하고 따라서 그람 음성 및 그람 양성 박테리아, 바이러스, 및 기생충을 포함하는 매우 넓은 범위의 감염성 병원균에 대해 비특이적 면역 반응을 일으킬 수 있다(Persing 등의 논문 [(2002) Trends Microbiol, Vol. 10: S32-37]). 비강 제제에 MPL을 포함하면 선천성 반응을 빠르게 유도하여, 바이러스 면역성 검사로부터 비특이적 면역반응을 유발하는 반면 백신의 항원 성분들에 의해 발생한 특이적 반응을 향상시킨다. 일부 실시예들에서, MPL은 하나 이상의 다른 보강제들과 혼합될 수 있다. 예를 들어, MPL은 백신 제제의 근육 내 투여를 위한 적절한 항원보강제를 만들기 위해 수산화알루미늄과 혼합될 수 있다.

- [0046] 다른 실시예들에서, 항원보강제는 스쿠알렌과 같은 천연 발생 오일이다. 스쿠알렌은 식물들로부터 생산된 트라이테르페노이드 탄화수소 오일(C₃₀H₅₀)이고 여러 식품들에 존재한다. 스쿠알렌은 사람에게 의해 풍부하게 생산되며, 이들에게 스쿠알렌은 콜레스테롤과 스테로이드 호르몬의 전구체로서 작용한다. 스쿠알렌은 간과 피부에서 합성되어 초저밀도 당단백질(VLDL) 및 저밀도 당단백질(LDL)에 의해 혈액으로 운반되고 피지샘에 의해 다량으로 분비된다.
- [0047] 스쿠알렌은 신체의 천연 성분이고 생분해성이기 때문에, 백신 항원보강제의 성분으로 사용되고 있다. 이런 스쿠알렌 항원보강제들 중 하나는 키론에 의해 개발된 MF5, 오일-인-워터 에멀전이다. MF59는 다양한 임상전 및 임상 연구들에서 매우 다양한 백신 항원들에 대한 면역반응을 현저하게 증가시키는 것으로 나타났다. MF59는 인플루엔자 서부유닛 백신의 일부이고, 1997년 이후 여러 유럽국가에서 허가를 받았다. 이런 백신은 2억 이상의 복용량이 제공되었고, 우수한 안정성 프로파일을 갖는 것으로 나타났다. MF59 항원보강제를 가진 백신들의 안전성은 1일 내지 3일된 신생아를 포함하는 다양한 나이군에서 B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 사이토메갈로 바이러스, 단순포진 바이러스, 인간면역결핍 바이러스, 요로 병원성 대장균으로부터의 재조합 항원들을 사용하는 다양한 탐사 임상 연구들에 의해 증명되었다.
- [0048] "유효량의 항원보강제"라는 용어는 당업자가 잘 이해할 것이고, 투여된 항원에 대한 면역 반응을 자극할 수 있는 하나 이상의 항원보강제의 양, 즉, 비강 세척에서 IgA 수준, 혈청 IgG 또는 IgM 수준 또는 B 및 T-세포 증식의 면에서 측정된 대로, 투여된 항원 조성물의 면역 반응을 증가시키는 양을 포함한다. 면역글로불린 수준의 적절하게 효과적인 증가는 어떠한 항원보강제 없는 동일한 항원 조성물과 비교해서 5% 이상, 바람직하게는 25% 이상 및 특히 50% 이상을 포함한다.
- [0049] 본 발명의 다른 실시예에서, 백신 제제는 숙주 점막폴리사카라이드의 부분 탈수의 단일 또는 결합 효과에 의한 증가된 유체 점도, 전달 물질의 물리적 특성을 기초로 또는 전달 물질 및 저장소 효과를 제공하는 노출 부위에서 숙주 조직들 사이의 이온 상호작용을 통해 항원 흡수를 증가시키는 작용을 하는 전달 물질을 포함한다. 선택적으로, 전달 물질은 전달 부위에서 항원 잔류 시간을 증가시킨다(예를 들어, 항원의 지연 배제). 이런 전달 물질은 생체접착성 물질일 수 있다. 특히, 생체접착제는 글리코사미노글리칸(예를 들어, 콘드로이틴 설페이트, 데르마탄 설페이트 콘드로이틴, 케라탄 설페이트, 헤파린, 헤파린 설페이트, 하이알루로난), 탄화수소 폴리머(예를 들어, 펙틴, 알지네이트, 글리코젠, 아밀라제, 아밀로펙틴, 셀룰로오스, 키틴, 스타키로스, 우놀린, 텍스트린, 텍스트란), 폴리(아크릴산)의 가교 유도체, 폴리바이닐 알코올, 폴리바이닐 피롤리돈, 폴리사카라이드(뮤신, 다른 점막폴리사카라이드 및 젤사이트[®](Gelsite)[®], 알로에 식물로부터 추출한 천연 산성 폴리사카라이드를 포함), 폴리이온, 셀룰로오스 유도체(예를 들어, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스, 카복시메틸셀룰로오스), 단백질(예를 들어, 락틴, 섬모 단백질) 및 데옥시리보핵산으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 점막접착제일 수 있다. 바람직하게는, 백신 제제는 키토산, 키토산 염, 키토산 염기 또는 천연 폴리사카라이드(예를 들어, Gelsite[®])와 같은 폴리사카라이드를 포함한다.
- [0050] 갑각류의 껍질에 있는 키틴으로부터 유도된 양전하 직선형 폴리사카라이드인 키토산은 상피 세포들 및 이들의 덮개 점막층에 대한 생체접착제이다. 키토산에 의한 항원 제제는 비강 점막과의 접촉 시간을 증가시켜, 저장소 효과에 의해 흡수를 증가시킨다(Illum 등의 논문 [(2001) Adv Drug Deliv Rev, Vol. 51: 81-96]; Illum 등의 논문 [(2003) J Control Release, Vol. 87: 187-198]; Davis 등의 논문 [(1999) Pharm Sci Technol Today, Vol. 2: 450-456]; Bacon 등의 논문 [(2000) Infect Immun., Vol. 68: 5764-5770]; van der Lubben 등의 논문 [(2001) Adv Drug Deliv Rev, Vol. 52: 139-144]; van der Lubben 등의 논문 [(2001) Eur J Pharm Sci, Vol. 14: 201-207]; Lim 등의 논문 [(2001) AAPS Pharm Sci Tech, Vol. 2: 20]). 키토산은 동물 모델과 인간에서 독감, 백일해 및 디프테리아를 포함하는 여러 백신들에 대한 비강 전달 시스템으로 검사하였다(Illum 등의 논문 [(2001) Adv Drug Deliv Rev, Vol. 51: 81-96]; Illum 등의 논문 [(2003) J Control Release, Vol. 87: 187-198]; Bacon 등의 논문 [(2000) Infect Immun., Vol. 68: 5764-5770]; Jabbal-Gill 등의 논문 [(1998) Vaccine, Vol. 16: 2039-2046]; Mills 등의 논문 [(2003) A Infect Immun, Vol. 71: 726-732]; McNeela 등의 논문 [(2004) Vaccine, Vol. 22: 909-914]). 이런 검사들에서, 키토산은 비경구 백신접종과 동일한 수준으로 전신 면역반응을 향상시키는 것으로 나타났다. 또한, 현저한 항원-특이적 IgA 수준이 점막 분비액에서 측정되었다. 따라서, 키토산은 비강 백신 효과를 크게 향상시킬 수 있다. 또한, 이의 물리적 특성들 때문에, 키토산은 분말로 제제화된 비강 백신으로 특히 적합하다(van der Lubben 등의 논문 [(2001) Eur J Pharm Sci, Vol. 14: 201-207]; Mikszta 등의 논문 [(2005) J Infect Dis, Vol. 191: 278-288]; Huang 등의 논문 [(2004) Vaccine, Vol. 23: 794-801]).

- [0051] 본 발명의 다른 실시예에서, 백신 제제는 약학적으로 허용가능한 담체를 더 포함할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 희석제 또는 부형제를 포함하는 약학적으로 허용가능한 담체는 백신 제제가 투여된 피험자에게 해로운 면역 반응의 생산을 자체로 유도하지 않고 지나친 독성 없이 투여될 수 있는 임의의 약학적 물질을 포함한다. 본 명세서에서 사용한 대로, "약학적으로 허용가능한"이란 용어는 포유류 및 더욱 구체적으로 인간에서 사용하기 위한 연방 정부 또는 주 정부의 규제기구에 의해 승인되거나 미국약전, 유럽 약전 또는 다른 일반적으로 인식된 약전에 기록된 것을 의미한다. 약학적으로 허용가능한 담체들은 식염수, 버퍼 식염수, 텍스트로스, 물, 글리세롤, 살균 등장액 버퍼 및 이의 조합을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 약학적으로 허용가능한 담체, 희석제 및 다른 부형제들의 철저한 검토는 레밍턴의 약학 사이언스(Mack Pub. Co. N.J. current edition)에 제공된다. 제제는 투여 모드와 일치해야 한다. 한 바람직한 실시예에서, 제제는 인간에 대한 투여에 적합하며, 바람직하게는 제제는 살균되고, 비-미립자 및/또는 비-발열성이다. 원하는 경우, 백신 제제는 습윤제 또는 유화제 또는 pH 버퍼제의 최소량을 포함할 수 있다.
- [0052] 다른 것들 중에서, 본 발명의 일부 실시예들에서, 백신 제제들은 키토산, 키토산 염 또는 키토산 염기를 포함한다. 키토산의 분자량은 10kDa 내지 800kDa, 바람직하게는 100kDa 내지 700kDa 및 더욱 바람직하게는 200kDa 내지 600kDa일 수 있다. 조성물에서 키토산의 농도는 통상적으로 약 80%(w/w)까지, 예를 들어, 5%, 10%, 30%, 50%, 70% 또는 80%일 것이다. 키토산은 적어도 75% 탈아세틸화, 예를 들어, 80-90%, 더욱 바람직하게는 82-88% 탈아세틸화, 특히 83%, 84%, 85%, 86% 및 87% 탈아세틸화된 것이다.
- [0053] 본 발명의 조성물들은 백신 또는 항원 제제로서 투여하기 위해 제제화될 수 있다. 본 발명에서 사용된 "백신"이란 용어는 상기한 대로 본 발명의 노로바이러스 VLPs 또는 다른 노로바이러스 항원을 함유하는 제제를 의미하고, 척추동물에게 투여될 수 있는 형태이고 감염을 완화 및/또는 VLPs 또는 감염의 적어도 하나의 증상을 감소 및/또는 항원의 다른 복용량의 효과를 향상시키기에 충분한 면역 반응을 유도하기 위해 치료 면역성을 유도하기에 충분한 면역반응을 유도한다. 본 발명에서 사용된 "항원 제제" 또는 "항원 조성물"이란 용어는 척추동물, 예를 들어, 포유류에게 투여될 때, 면역반응을 유도할 제제를 의미한다. 본 발명에서 사용된 "면역반응"이란 용어는 체액 면역반응 및 세포-매개 면역반응 모두를 의미한다. 체액 면역반응은, 예를 들어, 감염성 물질을 중성화하고, 감염성 물질이 세포에 들어가는 것을 막고, 상기 감염성 물질의 복제를 막고 및/또는 숙주 세포가 감염되고 파괴되는 것을 보호하는 B 림프구에 의한 항체들의 생산의 자극을 포함한다. 세포-매개 면역반응은 감염을 예방하거나 완화하거나 이의 적어도 하나의 증상을 완화시키는 척추동물(예를 들어, 인간)에 의해 나타나는 감염성 물질에 대한 T-림프구 및/또는 매크로파아지와 같은 다른 세포에 의해 매개되는 면역반응을 의미한다. 특히, "보호 면역성" 또는 "보호면역반응"은 감염을 예방 또는 완화하거나 감염의 적어도 하나의 증상을 완화시키는 척추동물(예를 들어, 인간)에 의해 나타나는 감염 물질에 대한 면역성 또는 면역반응을 유도하는 것을 의미한다. 구체적으로, 백신의 투여에 의한 보호면역반응의 유도는 위장염의 하나 이상의 증상의 존재를 제거 또는 완화 또는 이런 증상들의 지속 또는 심각성의 완화에 의해 명백하다. 노로바이러스에 의한 위장염의 임상적 증상들은 구역질, 설사, 묽은 변, 구토, 열 및 전신관태를 포함한다. 질환 증상들을 완화 또는 제거하는 보호면역반응은 사람들에서 노로바이러스 발생의 속도를 줄이거나 멈추게 할 것이다. 백신 제제는 일반적으로 백신 설계에서 개시된다(("The subunit and adjuvant approach" (eds Powell M. F. & Newman M. J.) (1995) Plenum Press New York). 본 발명의 조성물은, 예를 들어, 점막 또는 비경구(예를 들어, 근육내, 정맥내, 피하(subcutaneous), 내피, 피하(subdermal) 또는 경피)의 투여 경로로 피험자에게 투여하기 위해 제제화될 수 있다. 이런 점막 투여는 위장관, 비강, 구강 또는 질 전달될 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 한 실시예에서, 백신 제제는 비강 스프레이, 비강 드롭 또는 건조 분말의 형태이다. 다른 실시예에서, 백신 제제는 근육내 투여에 적합한 형태이다.
- [0054] 본 발명의 백신 제제들은 액체 제제 또는 건조 분말 제제일 수 있다. 조성물이 호흡기(예를 들어, 코) 점막에 전달하기 위한 것인 경우, 통상적으로 에어로졸 또는 비강 드롭과 같은 투여용 수용액 또는 선택적으로, 비강 내에서 빠른 침적을 위한 건조 분말로 제제화된다. 비강 드롭으로 투여하기 위한 조성물은 방부제, 점도 조절제, 긴장 조절제, 완충제 등과 같이 이런 조성물에 주로 포함되는 형태의 하나 이상의 부형제를 포함할 수 있다. 점도 조절제는 미세겔정 셀룰로오스, 키토산, 전분, 폴리사카라이드 등일 수 있다. 건조 분말로 투여하기 위한 조성물은 점막 접착제, 증량제 및 적절한 분말 흐름 및 크기 특성을 전달하기 위한 물질과 같이 이런 조성물에 주로 포함되는 하나 이상의 부형제를 포함할 수 있다. 증량제 및 분말 흐름 및 크기 물질은 만니톨, 수크로오스, 트레할로스 및 자일리톨을 포함할 수 있다.
- [0055] 한 실시예에서, 백신 제제는 면역원으로 하나 이상의 복합체 VLPs, MPL[®] 과 같은 항원보강제, 스쿠알렌 또는

MF59[®], 점막표면에 대한 접착력을 향상시키는 키토산 또는 GelSite[®]과 같은 생고분자 및 만니톨과 수크로오스와 같은 증량제를 함유하는 건조 분말로 제제화될 수 있다.

[0056] 예를 들어, 백신은 GII.4 복합체 VLP와 같은 본 명세서에 개시한 하나 이상의 복합체 VLPs, MPL[®] 항원보강제, 키토산 점막접착제 및 적절한 흐름 특성을 제공하는 증량제로서 만니톨과 수크로오스를 함유하는 10mg의 건조 분말로서 제제화될 수 있다. 상기 제제는 약 7.0mg(25 내지 90% w/w 범위) 키토산, 약 1.5mg 만니톨(0 내지 50% w/w 범위), 약 1.5mg 수크로오스(0 내지 50% w/w 범위), 약 25 μ g MPL[®](0.1 내지 5% w/w 범위), 및 약 100 μ g 복합체 VLP 항원(0.05 내지 5% w/w 범위)을 포함할 수 있다.

[0057] 복합체 VLPs/항원들은 약 0.01%(w/w) 내지 약 80%(w/w)의 농도로 존재할 수 있다. 한 실시예에서, VLPs는 양쪽 콧구멍 속에 투여하기 위해(콧구멍 당 10mg) 10mg 건조 분말 제제 당 약 5 μ g, 약 15 μ g, 약 25 μ g, 약 50 μ g, 약 100 μ g, 약 200 μ g, 약 500 μ g 및 1mg(0.05, 0.15, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 및 10.0% w/w) 또는 한쪽 콧구멍 속에 투여하기 위해 20mg 건조 분말 제제 당 약 10 μ g, 약 30 μ g, 약 50 μ g, 약 100 μ g, 약 200 μ g, 약 400 μ g, 약 1mg 및 약 2mg(0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 10.0 및 20.0% w/w)의 복용량으로 제제화될 수 있다. 상기 제제는 각 투여하는 동안 콧구멍 하나 또는 콧구멍 두 개에 제공될 수 있다. 첫 번째 투여 1 내지 12 주 후 면역반응을 향상시키기 위해 촉진 투여(booster administration)가 있을 수 있다. 백신과 항원 제제에서 VLP/항원의 각각의 함량은 1 μ g 내지 100mg, 바람직하게는 1-1000 μ g, 더욱 바람직하게는 5-500 μ g, 가장 통상적으로 10-200 μ g의 범위일 수 있다. 각 복용시 투여된 전체 VLP/항원은 두 콧구멍에 투여될 때 약 10 μ g, 약 30 μ g, 약 200 μ g, 약 250 μ g, 약 400 μ g, 약 500 μ g 또는 약 1000 μ g일 것이다. 건조 분말 특성들은 입자들의 10% 미만이 지름이 10 μ m 미만이게 된다. 평균 입자 크기는 지름이 10 내지 500 μ m이다.

[0058] 본 발명의 다른 실시예에서, 건조 분말 제제는 제제의 1회 이상의 복용량을 투여하기 위한 하나 이상의 장치와 결합될 수 있다. 이런 장치는 1회용 비강 투여 장치일 수 있다. 다른 실시예에서, 1회 이상의 복용량은 단위 복용량이다.

[0059] 일부 실시예들에서, 항원 및 백신 제제는 피험자에게 연속적으로 투여하기 위한 액체로 제제화될 수 있다. 비강 투여를 위한 액체 제제는 VLP/항원(들), 항원보강제, 및 키토산과 같은 전달 물질을 포함할 수 있다. 비경구(예를 들어, 피하, 내피 또는 근육내(i.m.))투여를 위한 액체 제제는 전달 물질(예를 들어, 키토산) 없이 복합체 VLP/항원(들), 항원보강제 및 버퍼를 포함할 수 있다.

[0060] 바람직하게는 항원 및 백신 조성물은 동결건조되어 사용될 때까지 무수 상태로 저장되며, 액체 제제에서 사용되는 경우 사용시점에 희석제로 재구성된다. 선택적으로, 본 발명의 다른 성분들은 키트 또는 장치(어떤 성분 또는 모든 성분이 동결건조됨)에 개별적으로 저장될 수 있다. 성분들은 건조 제제를 위해 동결건조 형태로 존재하거나 액체 제제를 위해 재구성될 수 있고 사용하기 이전에 혼합되거나 환자에게 개별적으로 투여될 수 있다. 건조 분말 투여의 경우, 백신 또는 항원 제제는 비강 전달 장치 또는 국소(예를 들어, 피부) 전달 패치 속에 미리 채워 사용시까지 저장될 수 있다. 바람직하게는, 이런 비강 전달 장치 및 관련 포장은 이의 내용물의 안정성을 보호하고 지킬 수 있다.

[0061] 본 발명은 본 명세서에 개시된 면역성 핵산, 폴리펩타이드 및/또는 VLPs의 하나 이상을 포함하는 조성물들을 포함한다. 복합체 폴리펩타이드 및 캡시드 폴리펩타이드 또는 이의 단편을 포함하는 다른 폴리펩타이드는 단일 제제와 함께 혼합될 수 있다. 이런 조합 내에서, 면역성 조성물의 항원은 하나 이상의 폴리펩타이드 또는 여러 에피토프 폴리펩타이드에 존재할 수 있다.

[0062] 면역성 조성물들은 복합체 폴리펩타이드 및 복합체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 혼합물을 포함할 수 있고, 동일하거나 다른 운반체를 사용하여 전달될 수 있다. 항원들은 개별적으로 또는 예를 들어, 예방(즉, 감염 예방) 또는 치료(감염 치료) 면역성 조성물에서 조합하여 투여될 수 있다. 면역성 조성물은 원하는 효과를 얻기 위해 1회 이상(예를 들어, "프라이밍" 투여 후 1회 이상의 "부스팅") 제공될 수 있다. 동일한 조성물은 1회 이상의 프라이밍 단계 및 1회 이상의 부스팅 단계에서 투여될 수 있다. 선택적으로, 다른 조성물들은 프라이밍과 부스팅을 위해 사용될 수 있다.

[0063] 본 발명은 또한 본 명세서에 기술된 백신 제제들 중 임의의 것을 투여하는 단계를 포함하여 피험자에서 바이러스 감염에 대한 보호 면역성을 유도하는 방법을 의도한다. 한 실시예에서, 바이러스 감염은 노로바이러스 감염이다. 다른 실시예에서, 백신 제제는 노로바이러스 감염의 하나 이상의 증상으로부터의 보호를 제공한다.

[0064] 본 발명은 또한 복합체 폴리펩타이드를 포함하는 VLP를 제조하는 방법을 제공한다. 한 실시예에서, 이 방법은

비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주로부터의 캡시드 단백질들의 아미노산 서열들을 정렬하는 단계; 상기 정렬된 아미노산 서열들로부터 공통 서열을 결정하는 단계; 상기 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 1개의 다른 아미노산을 포함하는 상기 공통 서열을 기초로 한 복합체 서열을 제조하는 단계; 및 숙주 세포에 상기 복합체 서열을 발현시켜, 바이러스-유사 입자를 생산하는 단계를 포함한다. 다른 실시예에서, 복합체 서열은 상기 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 3개의 다른 아미노산을 포함한다. 다른 실시예에서, 복합체 서열은 상기 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 5개의 다른 아미노산을 포함한다. 또 다른 실시예에서, 복합체 서열은 상기 둘 이상의 순환 균주의 캡시드 서열들의 개개와 비교할 때 적어도 9개의 다른 아미노산을 포함한다. 일부 실시예들에서, 공통 서열은 비-외피 바이러스의 둘 이상의 순환 균주로부터의 캡시드 단백질들의 아미노산 서열들을 정렬하고; 상기 공통 서열을 기초로 복합체 뉴클레오티드 서열을 제조함으로써 결정될 수 있다. 이 방법에 사용하는데 적절한 비-외피 바이러스의 비 제한적인 예들은 칼리시바이러스, 피코르나바이러스, 아스트로바이러스, 아데노바이러스, 레오바이러스, 폴리오마바이러스, 파필로마바이러스, 파보바이러스 및 E형 간염 바이러스이다. 일부 실시예들에서, 비-외피 바이러스는 칼리시바이러스이다. 칼리시바이러스는 노로바이러스 또는 사포바이러스일 수 있다. 다른 실시예에서, 노로바이러스는 유전자군 I 또는 유전자군 II 노로바이러스일 수 있다.

[0065] 본 발명은 다음 실시예들에서 개시한 특정 실시태양을 참조하여 더 상세하게 기술될 것이다. 실시예들은 본 발명을 설명하려는 목적이며 어떤 경우에도 범위를 제한하려는 것은 아니다.

[0066] 실시예들

[0067] 실시예 1. 노로바이러스 GII.4 공통 유전자의 설계

[0068] 유전자군 II, 유전자형 4(GII.4) 노로바이러스의 주요 캡시드 단백질(VP1)에 대한 공통 아미노산 서열은 두 개의 2006-b(Den Haag로도 알려짐; GenBank Sequence ABL74395인 GII.4 균주인 미네르바), 및 2006-a(Yerseke로도 알려짐; GenBank Sequence ABL74391인 로렌스)을, 2002년 얻은 GII.4 균주인 휴스턴 균주(GenBank Sequence ABY27560)와 상동관계 비교에 의해 결정하였다. 3개의 다른 노로바이러스 GII.4 분리주의 정렬은 아래에 도시된다. 3개 GII.4 균주의 상동관계 비교로부터 결정한 공통 서열(SEQ ID NO:2)은 도 1에 도시된다.

[0069] 복합체 서열은 미네르바, 로렌스, 및 휴스턴의 세 균주의 공통 서열로부터 유도되었는데, 구체적으로 세 균주의 공통 서열의 가변 위치 중에서 세 균주가 모두 다른 아미노산을 가지는 경우, 해당 아미노산을 로렌스 서열로부터 선택함으로써 유도되었다. 선택된 아미노산들은 제안된 탄화수소 결합 도메인 근처이나 이를 포함하지 않는 항원 영역에 존재하였다. 복합체 GII.4 서열은 복합체 GII.4 노로바이러스 VP1 단백질(SEQ ID NO:1)을 암호화하는 합성 유전자의 생산을 위해 사용하였다. GII.4 복합체 VP1 아미노산 서열(GII.4 Comp)은 휴스턴, 로렌스 및 미네르바 바이러스(SEQ ID NOs: 각각 4, 5 및 6)로부터의 VP1 단백질들의 아미노산 서열들과 함께 SEQ ID NO:1로서 아래 정렬에 도시된다. GII.4 복합체 VP1을 암호화하는 DNA 서열(SEQ ID NO:3)은 도 2에 도시된다.

Houston	MKMASSDASPSDGSSTANLVPEVNNVMALEPVVGAIIAAPVAGQQNVIDPWIR	53
Laurens	MKMASSDANPSDGSSTANLVPEVNNVMALEPVVGAIIAAPVAGQQNVIDPWIR	53
Minerva	MKMASSDANPSDGSSTANLVPEVNNVMALEPVVGAIIAAPVAGQQNVIDPWIR	53
GII.4 Comp	MKMASSDANPSDGSSTANLVPEVNNVMALEPVVGAIIAAPVAGQQNVIDPWIR	53
Houston	NNFVQAPGGFTVSPRNAPGEILWSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFVQ	106
Laurens	NNFVQAPGGFTVSPRNAPGEILWSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFVQ	106
Minerva	NNFVQAPGGFTVSPRNAPGEILWSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFVQ	106
GII.4 Comp	NNFVQAPGGFTVSPRNAPGEILWSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFVQ	106
Houston	VILAGNAFTAGKIIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPPIIVDVRQLEPVLIPLP	159
Laurens	VILAGNAFTAGKIIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPPIIVDVRQLEPVLIPLP	159
Minerva	VILAGNAFTAGKIIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPPIIVDVRQLEPVLIPLP	159
GII.4 Comp	VILAGNAFTAGKIIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPPIIVDVRQLEPVLIPLP	159
Houston	DVRNNFYHYNQSNDP*TIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDF	212
Laurens	DVRNNFYHYNQSNDP*TIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDF	212
Minerva	DVRNNFYHYNQSNDP*TIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDF	212
GII.4 Comp	DVRNNFYHYNQSNDP*TIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDF	212
Houston	IFLVPPTVESRTKPF*VPI*ILTVEEMTNSRFP*IPLEKLF*TG*PSGAF*VV*QP*QNGR	265
Laurens	IFLVPPTVESRTKPF*VPI*ILTVEEMTNSRFP*IPLEKLF*TG*PSGAF*VV*QP*QNGR	265
Minerva	IFLVPPTVESRTKPF*VPI*ILTVEEMTNSRFP*IPLEKLF*TG*PSGAF*VV*QP*QNGR	265
GII.4 Comp	IFLVPPTVESRTKPF*VPI*ILTVEEMTNSRFP*IPLEKLF*TG*PSGAF*VV*QP*QNGR	265
Houston	CTTDGVLLGTTQLSPVNI*CTFRGDVTHIAGT*E*Y*TMN*LAS*QNWNNYDPTEEIP	318
Laurens	CTTDGVLLGTTQLSPVNI*CTFRGDVTHIAGT*E*Y*TMN*LAS*QNWNNYDPTEEIP	318
Minerva	CTTDGVLLGTTQLSPVNI*CTFRGDVTHIAGT*E*Y*TMN*LAS*QNWNNYDPTEEIP	318
GII.4 Comp	CTTDGVLLGTTQLSPVNI*CTFRGDVTHIAGT*E*Y*TMN*LAS*QNWNNYDPTEEIP	318
Houston	APLGT*PDF*VG*IK*Q*GV*LT*Q*TT*RG*DG*STR*GH*KAT*V*ST*GS*V*HF*TP*KL*GS*V*Q*F*ST*DT	371
Laurens	APLGT*PDF*VG*IK*Q*GV*LT*Q*TT*RG*DG*STR*GH*KAT*V*ST*GS*V*HF*TP*KL*GS*V*Q*F*ST*DT	371
Minerva	APLGT*PDF*VG*IK*Q*GV*LT*Q*TT*RG*DG*STR*GH*KAT*V*ST*GS*V*HF*TP*KL*GS*V*Q*F*ST*DT	371
GII.4 Comp	APLGT*PDF*VG*IK*Q*GV*LT*Q*TT*RG*DG*STR*GH*KAT*V*ST*GS*V*HF*TP*KL*GS*V*Q*F*ST*DT	371
Houston	*N*DF*E*TG*Q*NT*K*F*TP*V*G*V*V*Q*DG*ST*H*Q*NE*P*Q*Q*W*V*L*P*P*Y*S*G*R*I*G*H*N*V*H*L*A*P*A*V*A*P	424
Laurens	*N*DF*E*TG*Q*NT*K*F*TP*V*G*V*V*Q*DG*ST*H*Q*NE*P*Q*Q*W*V*L*P*P*Y*S*G*R*I*G*H*N*V*H*L*A*P*A*V*A*P	424
Minerva	*N*DF*E*TG*Q*NT*K*F*TP*V*G*V*V*Q*DG*ST*H*Q*NE*P*Q*Q*W*V*L*P*P*Y*S*G*R*I*G*H*N*V*H*L*A*P*A*V*A*P	424
GII.4 Comp	*N*DF*E*TG*Q*NT*K*F*TP*V*G*V*V*Q*DG*ST*H*Q*NE*P*Q*Q*W*V*L*P*P*Y*S*G*R*I*G*H*N*V*H*L*A*P*A*V*A*P	424
Houston	T*F*P*G*E*Q*L*L*F*F*R*S*T*M*P*G*C*S*G*Y*P*N*M*N*L*D*C*L*L*P*Q*E*W*V*Q*H*F*Y*Q*E*A*A*P*A*Q*S*D*V*A*L*L*R*F	477
Laurens	T*F*P*G*E*Q*L*L*F*F*R*S*T*M*P*G*C*S*G*Y*P*N*M*N*L*D*C*L*L*P*Q*E*W*V*Q*H*F*Y*Q*E*A*A*P*A*Q*S*D*V*A*L*L*R*F	477
Minerva	T*F*P*G*E*Q*L*L*F*F*R*S*T*M*P*G*C*S*G*Y*P*N*M*N*L*D*C*L*L*P*Q*E*W*V*Q*H*F*Y*Q*E*A*A*P*A*Q*S*D*V*A*L*L*R*F	477
GII.4 Comp	T*F*P*G*E*Q*L*L*F*F*R*S*T*M*P*G*C*S*G*Y*P*N*M*N*L*D*C*L*L*P*Q*E*W*V*Q*H*F*Y*Q*E*A*A*P*A*Q*S*D*V*A*L*L*R*F	477
Houston	V*N*P*D*T*G*R*V*L*F*E*C*K*L*H*K*S*G*Y*V*T*V*A*H*T*G*H*D*L*V*I*P*P*N*G*Y*F*R*F*D*S*W*V*N*Q*F*Y*T*L*A*P*M	530
Laurens	V*N*P*D*T*G*R*V*L*F*E*C*K*L*H*K*S*G*Y*V*T*V*A*H*T*G*H*D*L*V*I*P*P*N*G*Y*F*R*F*D*S*W*V*N*Q*F*Y*T*L*A*P*M	530
Minerva	V*N*P*D*T*G*R*V*L*F*E*C*K*L*H*K*S*G*Y*V*T*V*A*H*T*G*H*D*L*V*I*P*P*N*G*Y*F*R*F*D*S*W*V*N*Q*F*Y*T*L*A*P*M	530
GII.4 Comp	V*N*P*D*T*G*R*V*L*F*E*C*K*L*H*K*S*G*Y*V*T*V*A*H*T*G*H*D*L*V*I*P*P*N*G*Y*F*R*F*D*S*W*V*N*Q*F*Y*T*L*A*P*M	530
Houston	G*N*G*T*G*R*R*R*A (SEQ ID NO: 4)	539
Laurens	G*N*G*T*G*R*R*R*A (SEQ ID NO: 5)	539
Minerva	G*N*G*T*G*R*R*R*A (SEQ ID NO: 6)	539
GII.4 Comp	G*N*G*T*G*R*R*R*A (SEQ ID NO: 1)	539

[0070]

[0071]

실시예 2. 복합체 VLPs의 정제

[0072]

실시예 1에 기술된 캡시드 도메인에 대한 노로바이러스 GII.4 복합체 서열의 합성 유전자 구조체는 재조합 바칼로바이러스 속에 복제하였다. 곤충 세포들의 감염은 높은 수율의 VLP 생산을 나타내었다. 40mL 분취량의 P2 pFastBac 재조합 바칼로바이러스 원료를 수크로오스 구배로 처리하여 복합체 VLPs의 발현과 어셈블리를 확인하였다. 컨디션드 배지(conditioned media)는 먼저 30% 수크로오스 쿠션 위에 층을 형성하였고 그 후 140 K x g에서 원심분리하여 VLP를 펠릿화하였다. 펠릿을 재현탁하고, 수크로오스 구배 위에 층을 형성하고 140 K x g에서 원심분리하였다. 눈에 보이는 흰색 층을 원심분리 후 구배 내에서 관찰하였다. 구배로부터 500 μ L 분획들을 수집하였고 SDS-PAGE/쿠마시 겔로 분석하였다(도 3). ~56 kDa에서 복합체 VLP에 대한 예상 밴딩 패턴은 수크로오스 구배 분획 내에서 관찰하였다.

[0073]

0.5mL/분의 유속에서 20mM Tris 150mM NaCl pH 7의 러닝 버퍼를 가진 고압 액체 크로마토그래피 시스템을 사용하여, 50 μ L의 분취량의 복합체 발현 세포 배양 상청액을 수퍼로스-6 크기 배제 컬럼 위에 놓았다. 온전한 VLP 피크를 280nm와 220nm에서 ~15.3분에서 관찰하여 복합체 VLPs의 무결성을 확인하였다(도 4).

[0074]

복합체 VLPs는 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 컨디션드 배지로부터 정제하였다. 컨디션드 배지는 양이온 교환

크로마토그래피로 처리하였다. 양이온 교환 용출 분획은 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC)에 의해 추가로 정제하였다. HIC 용출 분획은 접선 흐름 여과(tangential flow filtration)에 의해 농축하고 버퍼를 교환하였다. 최종 생성물을 살균하고 4°C로 저장하였다. 500ng의 정제 복합체 VLPs(CM3 lot)를 은-염색 SDS-PAGE로 분석하였다(도 5).

[0075] 0.5mL/분의 유속에서 20mM Tris 150mM NaCl pH 7의 러닝 버퍼를 가진 고압 액체 크로마토그래피 시스템을 사용하여, 50 μ L의 분취량의 CM3 복합체 VLPs를 수퍼로스-6 크기 배제 컬럼 위에 놓았다. 온전한 VLP 피크를 280nm에서 ~7.5분에서 관찰하여 복합체 VLPs의 무결성을 확인하였다(도 6).

[0076] 실시예 3. 복합체 면역원성

[0077] 대략 8-10주의 암컷 C57BL/6 생쥐를 50 μ g으로 시작하여 2배 내지 0.19 μ g로 감소시켜 복합체 VLP(CVLP)의 농도를 감소시키면서 복강으로 면역화하였다. CVLP는 실시예 1에 기술된 SEQ ID NO:1의 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함하였다. PBS 단독으로 면역화된 동물들의 한 그룹은 음성 대조군을 포함하였다. 혈청 샘플들을 수집하고 ELISA에 의해 CVLP-특이적 IgG의 존재를 분석하였다(도 7). 이 실험의 결과들은 복용량 곡선의 직선 범위는 대략 6 μ g 내지 0.2 μ g이다. 6.25 μ g 이상의 CVLP 복용량은 복용량-의존 방식으로 면역 반응을 향상시키는 것으로 보이지 않는다. EC₅₀ 값(50% 반응을 나타내는 유효 복용량으로 정의)은 소프트맥스 프로 소프트웨어(Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, CA)를 사용하여 대략 1.0 μ g/mL로 계산하였다.

[0078] 실시예 4. 복합체 VLPs의 다중 항원 효과

[0079] 암컷 C57BL/6 생쥐(8-10주)를 놀위크 VLP 단독(NVLP), 복합체 VLP(CVLP) 단독 또는 이의 조합으로 변하는 복용량으로 비강으로 면역화하였다. PBS 단독으로 면역화된 동물들의 한 그룹은 음성 대조군을 포함하였다. 혈청 샘플들을 수집하고 ELISA에 의해 CVLP-특이적 IgG의 존재를 분석하였다(도 8 및 9). 이 실험의 결과들은 CVLP와 NVLP의 조합에 의한 면역화는 면역 반응을 향상시켜 더 높은 IgG 수준은 더 낮은 복용량의 항원으로 성취된다는 것을 나타낸다. 예를 들어, 1 μ g의 각각의 NVLP와 CVLP에 의한 면역화는 VLP 단독에 의한 투여보다 더욱 강한 면역 반응을 유도한다. CVLP로 면역화된 동물들로부터의 항체들은 NVLP와 교차 반응하지 않으며 반대 또한 같다(데이터 도시되지 않음).

[0080] 실시예 5. 복합체 VLPs는 교차-반응성 항체들을 유도한다

[0081] 대략 10-12주의 암컷 C57BL/6 생쥐를 30 μ g 휴스턴 VLPs 또는 항원보강제로서 MPL(20 μ g)로 제제화된 복합체 VLPs로 복강으로 면역화하였다. 복합체 VLPs는 실시예 1에 기술된 대로 SEQ ID NO:1의 서열을 가진 폴리펩타이드를 포함하였다. 21일에 생쥐 피를 뽑고 면역화하였고 혈청은 항원-특이적 ELISA에서 분석하여 복합체, 휴스턴, 로렌스 및 놀위크 VLPs에 대한 항체 역가를 측정하였다. 데이터는 도 10에 도시된다. 복합체 VLP에 의한 면역화는 로렌스 균주들에 대한 더 큰 반응에 의해 증명된 것과 같이 더 많은 혈청형에 걸쳐 더 넓은 반응을 유도하면서 휴스턴 균주에 대한 반응을 유지한다. 휴스턴 VLPs에 의한 면역화는 복합체와 로렌스에 대한 교차 반응성 항체들을 유도하나 반응의 크기는 복합체 VLPs에 의한 면역화로 관찰한 것만큼 크지 않다. GI.1 노로바이러스인 놀위크 VLP에 대한 탐지가능한 반응은 없었다.

[0082] 실시예 6. 토끼들에서 2가 백신의 효능

[0083] 실시예 2에 기술된 대로 노로바이러스 GII.4 복합체 VLPs(CVLPs)와 놀위크 VLPs(NVLPs, GI.1)를 포함하는 2가 노로바이러스 백신의 효능을 평가하기 위한 연구를 수행하였다. 토끼들을 0일 및 21일에 2가 백신으로 근육내로 면역화하였다. VLP 사용량은 각 형태의 VLP의 20 μ g 내지 0.002 μ g 범위이었고 각 백신 제제는 25 μ g MPL과 250 μ g A10H를 포함하였다. 혈청은 28일에 각 토끼로부터 수집하였고 VLP-특이적 IgG를 평가하였다. 비장과 장간막 림프절들을 75일에 수집하였고 항원-특이적 세포 면역성의 존재에 대해 평가하였다.

[0084] 혈청 IgG 역가를 캡처(capture)로서 NVLP 또는 CVLP로 코팅된 미세적정 판들을 사용하여 ELISA에 의해 측정하였다. 역가는 역수 희석(reciprocal dilution)으로 표현하였다(도 11). 항원-특이적 T-세포 반응성을 5 μ g의 NVLP 또는 CVLP로 시험관 내 자극 5일 후 삼중수소 티미딘 포함으로 평가하였다(도 12). 메모리 B-세포들을 VLP-특이적 ELISPOT으로 평가하고 결과들은 100만 세포당 항체-분비 세포들로 표현하였다(도 13).

[0085] 이런 연구의 결과들은 항원보강제 MPL과 A10H로 제제화된 IM 2가 노로바이러스 백신은 높은 VLP-특이적 IgG 반응, 반응성 T-세포 및 NVLP와 CVLP 모두에 의한 자극에 반응할 수 있는 메모리 B-세포를 유도한다는 것을 증명하였다.

[0086] 실시예 7. 토끼들에서 높은 복용량 2가 백신접종

[0087] 이 실시예는 2가 백신에서 높은 복용량의 복합체 및 놀위크 VLPs가 어떠한 불리한 사건을 일으키는 지를 측정하기 위해 설계된 실험들을 요약한다. 토끼들은 0, 14 및 21일에 2가 백신(실시예 6 참조)으로 근육내로 면역화하였다. VLP 복용량은 각 VLP(놀위크 및 복합체)의 150 μ g 내지 5 μ g 범위이었고 각 제제는 50 μ g MPL과 500 μ g A10H를 포함하였다. 면역화된 토끼들의 전체적인 건강, 코트 상태 및 주사 위치를 먼저 72시간 동안 12시간 마다 관찰하고 그 후 매일 관찰하였다. 혈청은 21일과 35일에 각 토끼로부터 수집하였고 놀위크 VLP(NVLP)-특이적(도 14) 및 복합체 VLP(CVLP)-특이적(도 15) IgG 및 IgA를 평가하였다. 비장을 35일에 수집하였고 항원-특이적 세포 면역성의 존재에 대해 평가하였다(도 16).

[0088] 혈청 IgG 역가를 캡처(capture)로서 NVLP 또는 CVLP로 코팅된 미세적정 판들을 사용하여 ELISA에 의해 측정하였다. 역가는 역수 희석으로 표현하였다. 항원-특이적 T-세포 반응성을 표시된 항원들(예를 들어, 복합체 VLPs, GII.4(2002) VLPs, GII.4(2006) VLPs 및 놀위크 VLPs)로 시험관 내 자극 5일 후 삼중수소 티미딘 포함으로 평가하였다.

[0089] 이런 연구의 결과들은 노로바이러스 2가 백신은 모든 토끼들이 연구 기간 동안 건강한 것으로 보였고 주사 위치 반응이 관찰되지 않았다는 사실에 의해 증명된 것과 같이 검사 사용량에서 안전하다는 것을 보여준다. 백신접종된 토끼들로부터 측정된 면역반응들은 노로바이러스 2가 백신은 VLP-특이적 항체들뿐만 아니라 VLP-반응성 T-세포들을 유도하는데 효과적이라는 것을 확인한다.

[0090] 실시예 8. 노로바이러스 백신 효과에 대한 생쥐 역가 시험

[0091] 이 실시예는 2가 노로바이러스 백신의 역가를 평가하기 위한 생쥐 역가 시험의 전개를 요약한다. 생쥐들을 놀위크 VLP(NVLP) 및 복합체 VLP(CVLP)의 0.002 μ g 내지 30 μ g의 범위의 동일 농도를 가진 0 및 7일에 IP 면역화하였다. 혈청은 14일에 각 생쥐로부터 수집하였고 VLP-특이적 IgG를 평가하였다(도 17). 항체들의 중화 작용을 0형 양성 인간 적혈구 세포들을 사용하는 응집억제시험(HAI)에 의해 측정하였다. 놀위크-특이적 HAI 역가만이 시험될 수 있는데 이는 GII.4 유전자형은 적혈구 세포들을 응집하지 않기 때문이다.

[0092] 혈청 IgG 역가를 캡처로서 NVLP 또는 CVLP로 코팅된 미세적정 판들을 사용하여 ELISA에 의해 측정하였다. 역가는 역수 희석으로 표현하였다. HAI 역가는 표준 응집 시험에 의해 측정하였다.

[0093] 이 연구의 결과들은 2가 노로바이러스 백신에 의한 백신접종은 강력하고 기능적인 IgG 역가를 유도하여 인간 적혈구 세포들의 응집을 억제할 수 있다는 것을 나타낸다. 이런 결과들은 백신접종에 반응하여 유도된 항체들은 기능성을 가져서 감염 동안 실제 바이러스의 중화를 유도할 수 있기 때문에 특히 중요하다.

[0094] 실시예 9. 노로바이러스 2가 백신의 키토산 제제

[0095] 이 백신 제제에서 키토산의 역할을 평가하기 위해 2가 노로바이러스 VLP 백신으로 토끼들에서의 연구를 수행하였다. 제제는 동일한 양의 놀위크 VP1 VLP와 복합체 GII.4 VLP를 포함하였다(예를 들어, 실시예 2 참조). 토끼들은 0 및 21일에 건조 분말 제제로 비강으로 면역화하였다. VLP 사용량은 VLP의 각각 형태의 150 μ g 내지 5 μ g이었고 각 제제는 50 μ g MPL을 포함하였다. 키토산 농도는 면역원성에 대한 이들의 역할을 측정하기 위해서 각각의 사용량 범위(7mg, 0.7mg 및 0mg)에 대해 변화시켰다. 혈청은 각각의 토끼로부터 수집하였고 VLP-특이적 IgG를 평가하였다(도 19).

[0096] 혈청 IgG 역가를 캡처로서 VLP로 코팅된 미세적정 판들을 사용하여 ELISA에 의해 측정하였다. 특허된 인-하우스 토끼 항-VLP 혈청의 연속 희석은 표준 곡선들을 만드는데 사용하였다. 역가는 Unit 항-VLP/mL로 표현하였다(한 Unit은 대략 1 μ g과 동일하다).

[0097] 이런 실험들로부터의 결과는 최대 사용량의 키토산(7mg)은 최대 면역원성을 얻기 위해 필요하다는 것을 나타낸다. 50 μ g 사용량에 대한 IgG 데이터는 도 19에 도시되고 결과들은 U/ml로 나타내었다. IgA 항체 반응은 아래 표 1에 도시된다.

표 1

[0098]

항원-특이적 IgA 반응			
VLP(μ g)	50	50	50
키토산(mg)	7	0.7	0

기하 평균 IgA 역가 (95% CI)	770(474, 1253)	67(32, 142)	83(38, 179)
-----------------------------	----------------	-------------	-------------

[0099]

실시예 10. 노로바이러스 GII 공통 유전자의 설계

[0100]

본 발명의 방법들은 다른 GII 유전자형, GII.1, GII.2, GII.3과 다른 노로바이러스 GII 분리주들 중에서 캡시드 공통 서열들을 만드는데 사용될 수 있다. 다음 정렬은 3개의 다른 노로바이러스 GII 분리주로부터의 VP1 서열들로부터 얻었다. 3개의 GII 균주들의 상동 관계 비교로부터 측정된 공통 서열(SEQ ID NO:7)은 도 20에 도시된다.

[0101]

복합체 서열은 둘 이상의 균주가 다른 공통 서열의 가변 위치들에 대한 균주들 중 하나의 서열로부터 아미노산들을 선택하여 공통 서열로부터 유도된다. 바람직하게는 아미노산들이 선택된 서열은 최근 순환 균주 또는 질병 또는 평가된 균주들 중에서 더욱 일반적으로 발생하는 균주이다. 이 실시예에서, 아미노산들은 복합체 VP1 GII 서열을 만들도록 다른 모든 세 균주에서 공통 서열의 가변 위치들에서 스노우 마운틴 서열로부터 선택하였다. 복합체 GII 서열은 GII 노로바이러스 분리주 중에서 교차 면역성의 유도를 위한 복합체 GII VP1 단백질을 암호화하는 합성 유전자의 생산에 사용된다.

[0102]

복합체 GII VP1 아미노산 서열(복합체)은 GII.1(등록번호: AAL13001), GII.2 스노우 마운틴(등록번호: AAB61685) 및 GII.3 바이러스(등록번호: AAL12998)(각각 SEQ ID NO:8, 9 및 10)로부터의 VP1 단백질의 아미노산 서열과 함께 SEQ ID NO:11로서 아래 정렬에 도시된다.

```

Composite MKMASNDAAPSNDDGAAGLVPEINNEVMALEPVAGAAIAAPLTGQNNIIDPWIR 53
GII.1 MKMASNDAAPSNDDGAAGLVPEINNEVMALEPVAGAAIAAPLTGQNNIIDPWIR 53
GII.2 Snow MKMASNDAAPSNDDGAAGLVPEINNEVMALEPVAGAAIAAPLTGQNNIIDPWIR 53
GII.3 MKMASNDAAPSNDDGAAGLVPEINNEVMALEPVAGAAIAAPLTGQNNIIDPWIR 53

Composite MNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLLNLELGPENLPYLAHLARMYNGYAGGMEVQ 106
GII.1 MNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLLNLELGPENLPYLAHLARMYNGYAGGMEVQ 106
GII.2 Snow MNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLLNLELGPENLPYLAHLARMYNGYAGGMEVQ 106
GII.3 MNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLLNLELGPENLPYLAHLARMYNGYAGGMEVQ 106

Composite VMLAGNAFTAGKLVFAAIPPHFPIENLSPQIITMFPHVIIDVRTLEPVLLPLP 159
GII.1 VMLAGNAFTAGKLVFAAIPPHFPIENLSPQIITMFPHVIIDVRTLEPVLLPLP 159
GII.2 Snow VMLAGNAFTAGKLVFAAIPPHFPIENLSPQIITMFPHVIIDVRTLEPVLLPLP 159
GII.3 VMLAGNAFTAGKLVFAAIPPHFPIENLSPQIITMFPHVIIDVRTLEPVLLPLP 159

Composite DVRNFFHYNQKDDPRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDF 212
GII.1 DVRNFFHYNQKDDPRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDF 212
GII.2 Snow DVRNFFHYNQKDDPKMRVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDF 212
GII.3 DVRNFFHYNQKDDSRRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDF 212

Composite NYLVPPTVESKTKPFTLPILTIGELSNRFPVPIIDLYTSPNEIIVVQCQNGR 265
GII.1 NYLVPPTVESKTKPFTLPILTIGELSNRFPVPIIDLYTSPNEIIVVQCQNGR 265
GII.2 Snow NYLVPPTVESKTKPFTLPILTIGELSNRFPVPIIDLYTSPNEIIVVQCQNGR 265
    
```

[0103]

GII.3	NELVPPPTVESKTKIFTLPLITISEMSNSRFPVPIDSLHTSPTEINIVVQCQNGR	265
Composite	CTLDGELGTTQLQPSGICAFRGEVTR--AHLSDQEN-----DHRWNIQIT	318
GII.1	STLDGELGTTQLVPSMICSERG--RINAHLSD--N-----QHRWNMQVT	306
GII.2 Snow	CTLDGELGTTQLQVSGICAFKGEVT--AHL--QEN-----DHLVNIITIT	306
GII.3	VTLDGELMGTQLLPSQICAFRGTLTRSTSRASDAQDTPTRLEFNHRWHIQLD	318
Composite	NLNGTPFDPSIEDIPAPLGTPDFQGRVFGVIESQRNPNDT-----NRAHDAVV	371
GII.1	NANGTPFDPTEDVPAPLGTPDFLANIYGVIESQRNPNDT-----CRAHDGII	352
GII.2 Snow	NLNGSPFDPSIEDIPAPLGVPDFQGRVFGVITQRDKQNAAGQSOPANRQHDVV	359
GII.3	NLNGTPYDPAEDIPAPLGTPDFRQKVFVGVASQRNPDS--T-----TRAHEAKV	364
Composite	ETYSAQFTPKLGSVQIGTWETDDFDVNQPTKFTPV--GLNDTEHFNQWVLPYR	424
GII.1	ATMSPKFTPKLGSVVLGTWEDRDFDINQPTKFTPV--GLYDTEHFNQWVLPY	403
GII.2 Snow	ETVTAQYTPKLGQVQIGTWQTDIHKVNQPKFTPV--GLNDTEHFNQWVVPYR	410
GII.3	DTTSDRFTPKLGSLEIIT--ESGDFDINQSTKFTPVQIGVDNEAEFQWVSLPNY	416
Composite	SGALTLMNMLAPSVAPVFPGEQLLFFRSYPLPKGGYNSGAIDCLLPQEWVQHF	477
GII.1	SGALTLMNMLAPSVAPVFPGEQLLFFRSYVPLKGGTNSGAIDCLLPQEWVQHF	456
GII.2 Snow	AGALNLMNMLAPSVAPVFPGERLLFFRSYPLPKGGYNSGAIDCLLPQEWVQHF	463
GII.3	SGQFTLMNMLAPAVAPVFPGEQLLFFRSQLPSSGGRSNGVLDCLVPEWVQHF	469
Composite	YQESAPSMTEVALVRYINPDTGRVLFEAKLHRAFGMTVASNGSAPIVVPPNGY	530
GII.1	YQESAPSMTEVALVRYINPDTGRVLFEAKLHRQGFITVANSGRPIVVPPNGY	509
GII.2 Snow	YQEAAPSMSEVALVRYINPDTGRALFEAKLHRAFGMTVSSNTSAPVVPANGY	516
GII.3	YQESAPAQTEVALVRYINPDTGRVLFEAKLHKLIGFMTAKNGDSPIVVPPNGY	522
Composite	FRFDSWVNQFYSLAPMGTGNRRRI (SEQ ID NO: 11)	555
GII.1	FRFDSWVNQFYSLAPMGTGNRRRI (SEQ ID NO: 8)	534
GII.2 Snow	FRFDSWVNQFYSLAPMGTGNRRRI (SEQ ID NO: 9)	541
GII.3	FRFESWVNQFYTLAPMGTGNRRRI (SEQ ID NO: 10)	547

[0104]

[0106] 실시예 11. 노로바이러스 GI 공통 서열의 설계

[0107] 본 발명의 방법들은 노로바이러스 GI 분리주들 중에서 캡시드 공통 서열들을 만드는데 사용될 수 있다. 다음 정렬은 3개의 다른 노로바이러스 GI 분리주로부터의 VP1 서열들로부터 얻었다. 3개의 GI 균주들의 상동 관계 비교로부터 측정된 공통 GI 서열(SEQ ID NO:12)은 도 21에 도시된다.

[0108] 복합체 서열은 둘 이상의 균주가 다른 공통 서열의 가변 위치들에 대한 균주들 중 하나의 서열로부터 아미노산들을 선택하여 공통 서열로부터 유도된다. 바람직하게는 아미노산들이 선택된 서열은 최근 순환 균주 또는 질병 또는 평가된 균주들 중에서 더욱 일반적으로 발생하는 균주이다. 이 실시예에서, 아미노산들은 복합체 VP1 GI 서열을 만들도록 다른 모든 세 균주에서 공통 서열의 가변 위치들에서 사우스햄턴 서열로부터 선택하였다. 복합체 GI 서열은 GI 노로바이러스 분리주 중에서 교차 면역성의 유도를 위한 복합체 GI VP1 단백질을 암호화하는 합성 유전자의 생산에 사용된다.

[0109] 복합체 GI VP1 아미노산 서열(복합체)은 놀위크 바이러스(등록번호: M87661), 사우스햄턴(등록번호: Q04542) 및 치마 바이러스(등록번호: BAB182667)(각각 SEQ ID NO: 13, 14 및 15)로부터의 VP1 단백질의 아미노산 서열과 함께 SEQ ID NO:16으로서 아래 정렬에 도시된다.

Composite	MMMASKDATSSADGASGAGQLVPEVNTADPLPMDPVAGSSTAVATAGQVNMID	53
Norwalk VP	MMMASKDATSSADGASGAGQLVPEVNTADPLPMDPVAGSSTAVATAGQVNMID	53
Southampto	MMMASKDATSSADGASGAGQLVPEVNTADPLPMDPVAGSSTAVATAGQVNMID	53
Chiba VP1	MMMASKDATSSADGASGAGQLVPEVNTADPLPMDPVAGSSTAVATAGQVNMID	53
Composite	PWIINNFBVQAPQGEFTISPNNTPGDVLFDLQLGPHLNPFLSHLSQMYNGWVGN	106
Norwalk VP	PWIINNFBVQAPQGEFTISPNNTPGDVLFDLQLGPHLNPFLSHLSQMYNGWVGN	106
Southampto	PWIINNFBVQAPQGEFTISPNNTPGDVLFDLQLGPHLNPFLSHLSQMYNGWVGN	106
Chiba VP1	PWIINNFBVQAPQGEFTISPNNTPGDVLFDLQLGPHLNPFLSHLSQMYNGWVGN	106
Composite	MRVRIELAGNAFTAGKIIIVCCVPPGFTSSSLTIAQATLFPVHIADVRTLDPVE	159
Norwalk VP	MRVRIELAGNAFTAGKIIIVCCVPPGFTSSSLTIAQATLFPVHIADVRTLDPVE	159
Southampto	MRVRIELAGNAFTAGKIIIVCCVPPGFTSSSLTIAQATLFPVHIADVRTLDPVE	159
Chiba VP1	MRVRIELAGNAFTAGKIIIVCCVPPGFTSSSLTIAQATLFPVHIADVRTLDPVE	159
Composite	VPLEDVRNVLYHNNND-NQPTMRLVCMLYTPLRTGGGSGNSDSFVVAGRVLTC	212
Norwalk VP	VPLEDVRNVLYHNNND-NQPTMRLVCMLYTPLRTGGGSGNSDSFVVAGRVLTC	210
Southampto	VPLEDVRNVLYHNNND-NQPTMRLVCMLYTPLRTGGGSGNSDSFVVAGRVLTC	211
Chiba VP1	VPLEDVRNVLYHNNND-NQPTMRLVCMLYTPLRTGGGSGNSDSFVVAGRVLTC	211
Composite	SPDFNLFVLVPPPTVEQKTRPFTVPNIPLQLSLSNSRFPPIQGMILSPDASQV	265
Norwalk VP	SPDFNLFVLVPPPTVEQKTRPFTVPNIPLQLSLSNSRFPPIQGMILSPDASQV	263
Southampto	SPDFNLFVLVPPPTVEQKTRPFTVPNIPLQLSLSNSRFPPIQGMILSPDASQV	264
Chiba VP1	SPDFNLFVLVPPPTVEQKTRPFTVPNIPLQLSLSNSRFPPIQGMILSPDASQV	264
Composite	QFQNGRCTIDGQLLGTTPVSVSOLKVRGKITSGARVLNLTDELGKPFMAFDS	318
Norwalk VP	QFQNGRCTIDGQLLGTTPVSVSOLKVRGKITSGARVLNLTDELGKPFMAFDS	314
Southampto	QFQNGRCTIDGQLLGTTPVSVSOLKVRGKITSGARVLNLTDELGKPFMAFDS	317
Chiba VP1	QFQNGRCTIDGQLLGTTPVSVSOLKVRGKITSGARVLNLTDELGKPFMAFDS	317
Composite	PAPVGFDPDLGKCDWHIRMSKIPNSSSGSDPMSVSVQTNVQGFVPHLGSIQED	371
Norwalk VP	PAPVGFDPDLGKCDWHIRMSKIPNSSSGSDPMSVSVQTNVQGFVPHLGSIQED	362
Southampto	PAPVGFDPDLGKCDWHIRMSKIPNSSSGSDPMSVSVQTNVQGFVPHLGSIQED	370
Chiba VP1	PAPVGFDPDLGKCDWHIRMSKIPNSSSGSDPMSVSVQTNVQGFVPHLGSIQED	370
Composite	EVFS-PTGDYIGTIEWISPPSPFPGTDINLWKIPDYGSSLSQAANLAPVYPP	424
Norwalk VP	EVFS-PTGDYIGTIEWISPPSPFPGTDINLWKIPDYGSSLSQAANLAPVYPP	412
Southampto	EVFS-PTGDYIGTIEWISPPSPFPGTDINLWKIPDYGSSLSQAANLAPVYPP	423
Chiba VP1	EVFS-PTGDYIGTIEWISPPSPFPGTDINLWKIPDYGSSLSQAANLAPVYPP	422
Composite	GFGEVLVYFMSAPPGPNRRGAPNDVPCLLPQEIYITHFVSEQAPTIGEAALLHY	477
Norwalk VP	GFGEVLVYFMSAPPGPNRRGAPNDVPCLLPQEIYITHFVSEQAPTIGEAALLHY	461
Southampto	GFGEVLVYFMSAPPGPNRRGAPNDVPCLLPQEIYITHFVSEQAPTIGEAALLHY	476
Chiba VP1	GFGEVLVYFMSAPPGPNRRGAPNDVPCLLPQEIYITHFVSEQAPTIGEAALLHY	475
Composite	VDPDTRNRLGEFKLYPGGYLTCVPNGVSSGQPQLPLNGVVFVSWVSRFYQLK	530
Norwalk VP	VDPDTRNRLGEFKLYPGGYLTCVPNGVSSGQPQLPLNGVVFVSWVSRFYQLK	514
Southampto	VDPDTRNRLGEFKLYPGGYLTCVPNGVSSGQPQLPLNGVVFVSWVSRFYQLK	529
Chiba VP1	VDPDTRNRLGEFKLYPGGYLTCVPNGVSSGQPQLPLNGVVFVSWVSRFYQLK	528
Composite	PVGTASTARGRLGVR (SEQ ID NO: 16)	546
Norwalk VP	PVGTASTARGRLGVR (SEQ ID NO: 13)	530
Southampto	PVGTASTARGRLGVR (SEQ ID NO: 14)	545
Chiba VP1	PVGTASTARGRLGVR (SEQ ID NO: 15)	544

[0110]

[0111] 실시예 12. L1에 대한 인간 파필로마바이러스 공통 유전자의 설계

[0112] 본 발명의 방법은 비-외피 바이러스들 중에서 공통 서열들을 만드는데 사용될 수 있다. 다음 정렬은 3개의 인간 파필로마바이러스(HPV): HPV-11, HPV-16 및 HPV-18로부터 얻었다. 3개의 HPV 균주들의 상동 관계 비교로부터 측정된 공통 L1 캡시드 단백질 서열(SEQ ID NO: 17)은 도 22에 도시된다.

[0113] 복합체 아미노산 서열은 둘 이상의 균주가 다른 공통 서열의 가변 위치들에 대한 균주들 중 하나의 서열로부터 아미노산들을 선택하여 공통 서열로부터 유도된다. 바람직하게는 아미노산들이 선택된 서열은 최근 순환 균주 또는 질병 또는 평가된 균주들 중에서 더욱 일반적으로 발생하는 균주이다. 이 실시예에서, 아미노산들은 복합체 L1 HPV 서열을 만들도록 다른 모든 세 균주에서 공통 서열의 가변 위치들에서 HPV-18 서열로부터 선택하였다. 복합체 HPV 서열은 다양한 HPV 균주들 중에서 교차 면역성의 유도를 위한 복합체 L1 폴리펩타이드를 암호화하는 합성 유전자의 생산에 사용된다.

[0114] 복합체 HPV L1 아미노산 서열(복합체)은 HPV-11, HPV-16 및 HPV-18 바이러스(각각 SEQ ID NO: 18, 19 및 20)로

부터의 L1 단백질들의 아미노산 서열들과 함께 SEQ ID NO:21로서 아래 정렬에 도시된다.

Composite	MCLYTRVLIILHYHLLPLYGPLYHPRPLPLHSILVYVMVHIIICGHYIILFLRNV	53
HPV16 L1	MOVTFYIIL-VITC-----YENDV	18
HPV18 L1	MCLYTRVLIILHYHLLPLYGPLYHPRPLPLHSILVYVMVHIIICGHYIILFLRNV	53
Composite	NVFFIFIQMALWRPSDNTVYLPPP-PVSKVVNTDQYVTRTNIIFYHAGSSRLLA	106
HPV11 L1	MWRPSDSTVYVPPNPVSKVVATDAYVKRTNIIFYHAGSSRLLA	43
HPV16 L1	NVYHIFIQMSLWLPSEATVYLPPV-PVSKVSTDQYVARTNIIFYHAGTSRLLA	70
HPV18 L1	NVFFIFIQMALWRPSDNTVYLPPP-SVARVVNTDQYVTTTSIFYHAGSSRLLA	105
Composite	VGHPYFRRIKKGQGNKQDVPKVSQYRVRFRVQLPDPNKFGLPDTSYNPEPTQR	159
HPV11 L1	VGHPYYSIKK-VNKTVPKVSQYRVRFRVQLPDPNKFALPDSIEDPTTQR	94
HPV16 L1	VGHPYFRRIKKNKILVVPKVSQYRVRFRVQLPDPNKFGLPDTSYNPEPTQR	123
HPV18 L1	VGNPYFRVFPAGGNKQDIPKVSAYQYRVRFRVQLPDPNKFGLPDTSYNPEPTQR	158
Composite	LVWACAGVEVGRGQPLGVGLSGHPLLKLDDETSNAYTSNVGSDNRDNVSMD	212
HPV11 L1	LVWACGLEEVGRGQPLGVGVSGHPLLNKYDDVENSQGYGGNFGSDNRVNVGMD	147
HPV16 L1	LVWACAGVEVGRGQPLGVGLSGHPLLKLDDETSNAYTSNVGSDNRDNVSMD	176
HPV18 L1	LVWACAGVEIIRGQPLGVGLSGHPLFNKLDDETSNAYTSNVGSDNRDNVSMD	211
Composite	YKQTQLCLIGCAPPIGEHWGKGTACKNRPVSGDCPPLELINTVIQDGMVDT	265
HPV11 L1	YKQTQLCMVGCAPPIGEHWGKGTCSNTSVONGDCPPLELITSVIQDGMVDT	200
HPV16 L1	YKQTQLCLIGCAPPIGEHWGKGTCTNVAVNFGDCPPLELINTVIQDGMVDT	229
HPV18 L1	YKQTQLCLIGCAPAIGEHWAKGTACKSRPLSGDCPPLELINTVIQDGMVDT	264
Composite	GFGAMDFSTLQDNKSEVPLDICTSICKYPDYLOMSADPYGDSLFFYLRRQMF	318
HPV11 L1	GFGAMDFAELOQTNKSEVPLDICTVCKYPDYLOMSADPYGDLFFYLRRQMF	253
HPV16 L1	GFGAMDFSTLQDNKSEVPLDICTSICKYPDYTKMVSADPYGDSLFFYLRRQMF	282
HPV18 L1	GFGAMDFSTLQDTKSEVPLDICTSICKYPDYLOMSADPYGDSLFFYLRRQMF	317
Composite	ARHFFNRAGTVGEPVDDLYIKGTGMPASPASSVYSPTPSGSEVTSDAQLFNK	371
HPV11 L1	ARHFFNRAGTVGEPVDDLVKGGNNRSSVASSYVHTPSGSEVSSAQLFNK	306
HPV16 L1	VRHFFNRAGTVGEPVDDLYIKGTGMPASPASSVYSPTPSGSEVTSDAQLFNK	335
HPV18 L1	ARHFFNRAGTMGEPVDDLYIKGTGMPASPASSVYSPTPSGSEVTSDAQLFNK	370
Composite	PYWLQKAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMTLCAS-QSESPTTYDNTKFK	424
HPV11 L1	PYWLQKAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMTLCAS-VSKSA-TYINSDYK	357
HPV16 L1	PYWLQKAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMTLCAS-ISTSETTYKNTNFK	387
HPV18 L1	PYWLHKAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNETCASTOSPYPGQYDATKFK	423
Composite	EYSRHVEEYDLQFIFQLCTITLTADVMSYIHSMNSSILEDWNFGLPPTGTL	477
HPV11 L1	EYMRHVEEYDLQFIFQLCSITLSAEVMAYIHTMNSVLEDWNFGLPPTGTL	410
HPV16 L1	EYLRHVEEYDLQFIFQLCKITLTADVMTYIHSMNSSILEDWNFGLPPTGTL	440
HPV18 L1	EYSRHVEEYDLQFIFQLCTITLTADVMSYIHSMNSSILEDWNFGLPPTGTL	476
Composite	EDTYRFVQSQAITCQKHTPPAEKIDPYKIKFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRK	530
HPV11 L1	EDTYRFVQSQAITCQKHTPEKEKIDPYKIDMSFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRK	463
HPV16 L1	EDTYRFVTSQAITCQKHTPPAEKIDPKKYTFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRK	493
HPV18 L1	EDTYRFVQSVAITCQKDAAPAENKIDPYKIKFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRK	529
Composite	FLLQAGLRKPTI-GPRKRSAPSASTTSSTPAKRKRVRAR (SEQ ID NO: 21)	569
HPV11 L1	FLLQAGLRGETSARTGEKR-PAVSKRSTAKRKRKTK (SEQ ID NO: 18)	500
HPV16 L1	FLLQAGLRKAKPKFTLGKRRKATPTTSSTSTAKRKRK (SEQ ID NO: 19)	531
HPV18 L1	FLVQAGLRKPTI-GPRKRSAPSASTTSSTPAKRKRVRAR (SEQ ID NO: 20)	567

[0115]

[0116]

[0117]

[0118]

실시예 13. 인간에서 복합체 VLP 백신 제제의 복용량 증가 안정성 연구

노로바이러스 백신의 안정성 및 면역원성의 더블 블라인드(double-blind), 제어된, 복용량 증가 단계 1 연구를 수행하였다. 백신은 비강 투여를 위해 설계된 건조 분말 기질의 동결건조된 노로바이러스 바이러스-유사 입자들(VLPs)로 구성되었다. 복합체 VLPs는 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 가진 폴리펩타이드를 포함한다. 백신들은 H형 1 항원 분비자들인 건강한 성인 지원자들을 포함하였다. H형 1 항원 분비자들의 등록의 논리적 근거는 H형 1 항원 분비자들이 놀위크 바이러스에 감염되기 쉬운 반면 비 분비자들은 저항력이 있다는 것이다. 대조군으로서, 각 복용 레벨에서 2명의 추가 지원자들에게 기질을 단독으로 투여하였다. 건조 분말 기질(dry powder matrix)은 25µg MPL® 항원보강제, 7mg 키토산, 1.5mg 만니톨 및 1.5mg 수크로오스를 포함하였다. 지원자들에게 0일 및 21일에 복용시켰고 각 복용 이후 증상들의 7일 일기를 쓰도록 하였다. 혈청학을 위한 혈액, 항체 분비 세포들(ASC) 및 점막 항체 평가를 위한 대변 및 혈액 샘플을 수집하였다.

[0119] 백신의 성분들은 표 2에 나열된다. 백신은 비강 전달 장치에 포장된다. 복합체 VLP 백신의 1회 투여는 1회 복용 베스파크(영국, 밀토케인) 유니도스 DP 건조 분말 비강 전달 장치에 포장되었다. 각 장치는 10mg의 건조 분말 백신 제제를 전달하였다. 백신의 각 복용량은 각 콧구멍에 하나씩, 두 개의 전달 장치로 이루어졌다. 전체 백신 복용량은 20mg의 건조 분말이었다. 항원보강제/부형제의 제제는 복합체 VLP 항원이 제제에 포함되지 않는 것을 제외하고 복합체 VLP 백신과 동일하다. 항원보강제/부형제의 제제는(건조 분말 기질로도 불림) 표 3에 요약된다.

표 2

[0120] 복합체 VLP 백신 조성물

성분	분자 종류	10mg 건조 분말당 양	최종 제제의 %
복합체 VLP	재조합 단백질	2.5, 7.5, 25 또는 50 μ g	0.025, 0.075, 0.25 또는 0.50%
모노포스포릴 지질 A	인지질	25 μ g	0.25%
키토산	폴리사카라이드	7.0mg	70%
만니톨	당	1.5mg	15%*
수크로오스	당	1.5mg	15%

표 3

[0121] 항원보강제/부형제(건조 분말 기질)

성분	분자 종류	10mg 건조 분말당 양	최종 제제의 %
모노포스포릴 지질 A	인지질	25 μ g	0.25%
키토산	폴리사카라이드	7.0mg	70%
만니톨	당	1.5mg	15%
수크로오스	당	1.5mg	15%

[0122] 구체적으로, 백신의 복용량 증가는 다음과 같이 수행되었다: 건강한 사람을 적절하게 선별한 후, 3명의 지원자의 한 그룹에게 비강 경로로 5 μ g 복합체 VLP 백신과 건조 분말 기질(n=2) 또는 건조 분말 기질 단독(n=1)을 무작위로 투여하였다. 3명의 지원자는 21일 동안 안전성을 지켜 보았고 이들의 안전성 데이터를 독립된 안전성 모니터(ISM)에 의해 관찰하였다. ISM의 승인 후, 개인들에게 비강 경로로 5 μ g VLP 단백질과 건조 분말 기질(n=3) 또는 기질 단독(n=1)을 무작위로 투여하였다. ISM은 이 제 2 그룹으로부터 안정성 데이터를 받았고 ISM의 승인 후, 1차 복용 후 21일에 2차 비강 복용하였다. 지원자들은 각 복용 이후 증상들의 7일 일기를 썼다. ISM이 다음 높은 복용량에 대한 증가가 허용가능하다고 결정한 후, 7명 지원자의 다른 그룹에게 0일 및 21일에 비강 경로로 15 μ g VLP 단백질(n=5)을 함유하는 놀위크 VLP 백신 또는 건조 분말 기질 단독(n=2)을 무작위로 투여하였다. 다시, 7일 증상 일기를 기록하고 21일에 2차 복용 전에 ISM으로 검토하였다. 마지막으로, 1차 2개의 그룹으로부터의 안정성 데이터를 검토한 후, ISM은 복용량 증가가 허용가능하다고 결정한 후, 7명 지원자의 마지막 그룹에게 0일 및 21일에 비강 경로로 15 μ g VLP 단백질(n=5)을 함유하는 복합체 VLP 백신 또는 건조 분말 기질 단독(n=2)을 무작위로 투여하였다. 다시, 7일 증상 일기와 다른 안전 데이터를 21일에 2차 복용 전 ISM에 의해 검토하였다.

[0123] 지원자들에게 복합체 VLP 백신 또는 건조 분말 기질 단독을 투여한 후 7일 동안 증상들(콧물, 코 통증/불편, 코 막힘, 콧물 나옴, 코 가려움, 코피, 두통과 같은 국소 증상 및 일일 구강 온도, 근육통, 구역질, 구토, 복부 통증, 설사 및 식욕부진과 같은 전신 증상)의 일일 일기를 쓰게 하였다. 중간 의료 기록들은 각각의 다음 방문 때(7 \pm 1, 21 \pm 2, 28 \pm 2, 56 \pm 2 및 180 \pm 14일) 얻었고; 지원자들은 일시적 질환, 약 복용 및 의사 방문에 대해 질문받았다. 지원자들은 다음 방문 동안 듣지 못했던 사건들을 포함하는 모든 심각한 또는 심한 부작용을 보고하도록 요구받았다. 지원자들은 7일 및 28일(각 면역화 후 7일)에 CBC와 혈청 크레아틴, 글루코스, AST 및 ALT를 분석 받았고 이상이 있는 경우, 검사가 정상이거나 안전하다고 나올때 까지 이상 실험실 검사를 하였다.

[0124] 면역화 이전 및 7 \pm 1, 21 \pm 2, 28 \pm 2, 56 \pm 2 및 180 \pm 14일에 혈액을 수집하여 효소-연결 면역흡수 분석법(ELISA)에 의해 복합체 VLP 백신에 대한 혈청 항체들을 측정하였다. 백신 또는 건조 분말 기질의 각 복용량의 투여 이전 및 이후 7일에, 말초 혈액 림프구들을 수집하여 ELISPOT 분석법에 의해 항체 분비 세포들을 탐지하였다. 백신접종 이전 및 이후 21 \pm 2, 56 \pm 2 및 180 \pm 14일에, 혈액 샘플을 얻어서 세포들을 분리하고 복합체 VLP 항원

에 반응한 사이토카인 생산 및 림프구 증식을 포함하는 세포 매개 면역성의 이후 연구들을 위해 동결건조하였다. 전체 대변 샘플을 면역화 이전 및 안티-복합체 VLP sIgA 스크리닝을 위해 7 ± 1 , 21 ± 2 , 28 ± 2 , 56 ± 2 및 180 ± 14 일에 수집하였다. 타액을 면역화 이전 및 7 ± 1 , 21 ± 2 , 28 ± 2 , 56 ± 2 일에 구입할 수 있는 장치(NC, 뉴턴, 사르스테트, 살리베트)로 수집하였고 점막 항체들에 양성인 경우 56일, 180 ± 14 일에 샘플을 수집하고 안티-복합체 VLP sIgA에 대해 스크리닝하였다. 마지막으로 높은 복용량의 복합체 VLPs($50 \mu\text{g}$, 상기한 세 번째 그룹)를 투여받은 지원자들의 혈액을 0, 21, 56 및 180일에 메모리 B-세포에 대해 스크리닝하였다.

[0125] 다음 방법들은 면역화된 개인들 또는 건조 분말 기질 단독을 투여받은 개인들로부터 수집한 혈액, 대변 및 타액 샘플을 분석하는데 사용하였다.

[0126] A. ELISA에 의한 혈청 항체 측정

[0127] 20mL의 혈액을 코드화된 표본들을 스크리닝하기 위해 표적 항원으로서 정제된 재조합 복합체 VLPs를 사용하는 ELISA에 의해 복합체 VLP에 대한 항체들의 측정을 위해 백신접종 이전 및 이후 여러 시점에서 수집하였다. 간단하게, 탄산염 코팅 버퍼 pH 9.6에 있는 복합체 VLPs는 미세적정 판을 코팅하기 위해 사용하였다. 코팅된 판들을 세척하고, 차단하고 검사 혈청의 연속된 두 배 희석으로 배양하였고 뒤이어 세척하고 인간 IgG, IgM 및 IgA에 대해 특이적인 효소-접합 2차 항체 시약들로 배양하였다. 적절한 기질 용액들을 첨가하고, 색을 현상하고, 판들을 읽고 IgG, IgM 및 IgA 종점 역가를 각 항체 종류에 대한 기준 표준 곡선과 비교하여 측정하였다. 양성 반응은 백신접종 이후 역가의 4배 상승으로 나타났다.

[0128] B. 항체 분비 세포 분석법

[0129] ASC 분석법이 복합체 VLPs에 대한 항체들을 분비하는 세포들을 탐지하기 위해 헤파린 처리된 혈액(heparinized blood)으로부터 PBMCs를 수집하였다. 이런 분석법들은 복합체 VLP 백신 또는 건조 분말 단독의 투여 이후 0, 7 ± 1 , 21 ± 2 및 28 ± 2 일에 수행하였다. 양성 반응은 모든 피험자들(긴 거리에서)에 대한 평균 백신접종 이전 카운트 이상의 적어도 3배 표준 편차(SD)이고 유사한 분석법으로 측정된 대로 매질 자극 음성 대조군 웰(2 지점(spots) 더하기 3 SD의 평균에 해당하는 적어도 8 ASC 지점인 10^6 PBMC 당 백신접종 이후 ASC 카운트로 정의된다.

[0130] C. 복합체 VLP-특이적 메모리 B-세포들의 측정

[0131] 헤파린 처리된 혈액은 그룹 3으로부터 수집하였고(0 및 21일 30mL, 56 및 180일 50mL) 시험관 내 항원 자극보다 먼저 일어난 ELISpot 분석법을 사용하여 백신접종 이후 0, 21, 56 및 180일에 메모리 B 세포들을 측정하였다. 토끼들에서 놀워크 VLP 제제에 의해 일어난 메모리 B 세포들의 주기를 측정하는데 유사한 분석법을 성공적으로 사용하였다(참조로 본 발명에 포함된 국제출원 WO 2008/042789 참조). 항원 특이적 메모리 B 세포들의 클론 증식과 항체 분비 세포들로의 분화를 허용하도록 말초 혈액 단핵 세포들(24웰 플레이트에서 5×10^6 cells/mL, 1mL/well)을 복합체 VLP 항원($2-10 \mu\text{g}/\text{mL}$)으로 4일 동안 배양하였다. 대조군들은 항원 및/또는 관련되지 않은 항원으로 배양된 세포들의 부존재하에서 동일 조건들에서 배양된 세포들을 포함한다. 자극 이후, 세포들을 세척하고, 계수하고 복합체 바이러스 VLP로 코팅된 ELISpot 플레이트로 옮긴다. 전체 Ig-분비 B 림프구 당 바이러스 특이적 메모리 B 세포들의 주기를 측정하기 위해서, 증식된 B 세포들을 안티-인간 IgG 및 안티-인간 IgA 항체들로 코팅된 웰들에 첨가한다. 결합된 항체들을 HRP-표지화된 안티-인간 IgG 또는 안티-인간 IgA에 의해 뒤이어 트루 블루 기질에 의해 드러나 보이게 한다. IgA 및 IgG 서브클래스(IgA1, IgA2 및 IgG1-4)에 대한 집합체를 구별된 작동체 매커니즘과 관련이 있을 수 있는 항원 특이적 서브클래스 반응들과 면역 시초(immune priming)를 측정하는데 사용될 수 있다. 지점들은 ELISpot 리더로 계수한다. 각 지원자에 대한 증식된 세포 개체군은 이들의 메모리 B 세포 표현형, 즉, CD19+, CD27+, IgG+, IgM+, CD38+, IgD-을 확인하기 위해 유세포 분석기로 검사한다.

[0132] D. 세포 면역 반응들

[0133] 헤파린처리된 혈액(50mL 그룹 1 및 2, 25mL 그룹 3)을 코드화된 표본으로서 수집하였고 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 분리하고 놀워크 VLP 항원에 대한 CMI 반응들의 가능한 이후 평가를 위해 액체 질소에 냉동보관하였다. 수행될 수 있는 분석법은 복합체 VLP 항원에 대한 PBMC 증식 및 사이토카인 반응을 포함하고 확립된 기술들에 따라 인터페론(IFN)- γ 및 인터루킨(IL)-4 레벨을 측정함으로써 결정될 수 있다.

[0134] E. 안티-복합체 VLP sIgA를 위한 대변 및 타액의 수집

- [0135] 안티-복합체 VLP IgA는 대변과 타액 샘플들에서 측정한다. 타액 표본들을 프로테아제 억제제(즉, AEBSF, 루펨틴, 베스타틴 및 아프로티닌)(MO, 세이트 루이스, 시그마)로 처리하고, -70°C에서 저장하고 상기한 분석법(Mills 등의 논문 [(2003) Infect. Immun. 71: 726-732])의 변형을 사용하여 분석하였다. 대변은 백신접종 이후 여러 일 동안 수집하고 분석할 때까지 -70°C에서 저장한다. 표본들을 해동하고 프로테아제 억제제 버퍼를 첨가하여 10% w/v 대변 현탁액을 제조한다. 대변 상청액을 하기한 대로, ELISA에 의해 복합체 VLP-특이적 점막 IgA에 대해 분석한다.
- [0136] 대략 2-3mL의 전체 타액을 백신 접종 이전 및 이후 여러 시점에 수집하였다. 타액을 구입할 수 있는 장치(NC, 뉴턴, 사르스테트, 살리베트)로 수집하였고, 이 장치에서 살리베트 면봉은 타액이 충분히 배일 때까지 씹거나 30-45초 동안 혀 밑에 놓인다. 타액을 원심분리에 의해 면봉으로부터 수집한다.
- [0137] F. 대변 및 타액에서 안티-복합체 VLP의 측정
- [0138] 안티-인간 IgA 항체 시약 또는 표적 복합체 VLP 항원 코팅으로 코팅된 플레이트를 사용하는 ELISAs를 수행하여 각 표본에 대한 전체 IgA를 측정하고 및 특이적 안티 VLP IgA 반응들에 역가를 측정하였다. 전체 또는 특이적 IgA는 상기한 대로 HRP-표지화된 안티-인간 IgA로 드러나 보이게 된다. 내부 전체 IgA 표준 곡선은 IgA 함량을 정량하는 것을 포함한다. 반응은 특이적 항체에서 4배 상승으로 나타난다.
- [0139] 실시예 14. 인간에서 비강 복합체 VLP 백신의 2회 복용의 안전성과 면역원성 연구 연구
- [0140] 건강한 성인들에서 무작위, 더블 블라인드 연구를 수행하여 복합체 노로바이러스 바이러스 유사 입자(VLP) 백신의 2회 복용 레벨의 안전성과 면역원성을 항원보강제/부형제 및 플라시보 대조군(빈 장치)와 비교하였다. 백신은 실시예 13에 개시한 대로 비강 투여를 위해 설계된 건조 분말 기질의 동결건조된 복합체 노로바이러스 바이러스-유사 입자들(VLPs)로 구성되었다. 백신들은 H형 1 항원 분비자들인 건강한 성인 지원자들을 포함하였다. 인간 지원자들을 4 그룹 중 하나에 무작위로 배정하고 각 그룹에 다음 처리 중 하나를 받게 한다: 50 μ g 복용량의 복합체 VLP 백신, 100 μ g 복용량의 복합체 VLP 백신, 항원보강제/부형제 또는 플라시보. 지원자들에게 0일 및 21일에 복용시켰고 각 복용 이후 증상들의 7일 일기를 쓰도록 하였다. 혈청학을 위한 혈액, 항체 분비 세포들(ASC) 및 점막 항체 평가를 위한 대변 및 혈액 샘플을 수집하였다.
- [0141] 백신의 성분들은 실시예 13에 있는 표 2에 나열된다. 백신은 비강 전달 장치에 포장된다. 복합체 VLP 백신의 1회 투여는 1회 복용 베스파크(영국, 밀토케인) 유니도스 DP 건조 분말 비강 전달 장치에 포장되었다. 각 장치는 10mg의 건조 분말 백신 제제를 전달하였다. 백신의 각 복용량은 각 콧구멍에 하나씩, 두 개의 전달 장치로 이루어졌다. 전체 백신 복용량은 20mg의 건조 분말이었다. 따라서, 50 μ g 백신 복용량은 각각 10mg의 건조 분말 제제를 전달하는 두 장치로 구성되며, 각각의 10mg의 건조 분말 제제는 25 μ g의 복합체 VLP, 25 μ g MPL[®] 항원보강제, 7mg 키토산, 1.5mg 만니톨 및 1.5mg 수크로오스로 이루어진다. 유사하게, 100 μ g 백신 복용량은 10mg의 건조 분말 제제를 전달하는 두 장치로 구성되며, 각각의 10mg의 건조 분말 제제는 50 μ g의 복합체 VLP, 25 μ g MPL[®] 항원보강제, 7mg 키토산, 1.5mg 만니톨 및 1.5mg 수크로오스로 이루어진다. 항원보강제/부형제의 제제는 복합체 VLP 항원이 제제에 포함되지 않는 것을 제외하고 복합체 VLP 백신과 동일하다. 항원보강제/부형제의 제제는(건조 분말 기질로도 불림) 실시예 13에 있는 표 3에 요약된다. 플라시보 그룹은 2회 빈 장치가 투여된다.
- [0142] 지원자들에게 복합체 VLP 백신, 건조 분말 기질 단독 또는 플라시보를 투여한 후 7일 동안 증상들(콧물, 코 통증/불편, 코 막힘, 콧물 나옴, 코 가려움, 코피, 두통과 같은 국소 증상 및 일일 구강 온도, 근육, 구역질, 구토, 복부 통증, 설사 및 식욕부진과 같은 전신 증상)의 일일 일기를 쓰게 하였다. 중간 의료 기록들은 각각의 다음 방문 때(7+1, 21+2, 28+2, 56+2 및 180+14일) 얻었고; 지원자들은 일시적 질환, 약 복용 및 의사 방문에 대해 질문받았다. 지원자들은 다음 방문 동안 듣지 못했던 사건들을 포함하는 모든 심각한 또는 심한 부작용을 보고하도록 요구받았다. 지원자들은 7일 및 28일(각 면역화 후 7일)에 CBC와 혈청 크레아틴, 글루코스, AST 및 ALT를 분석 받았고 이상이 있는 경우, 검사가 정상이거나 안전하다고 나올 때까지 이상 실험실 검사를 하였다.
- [0143] 면역화 이전 및 7+1, 21+2, 28+2, 56+2 및 180+14일에 혈액을 수집하여 효소-연결 면역흡수 분석법(ELISA)에 의해 복합체 VLP 백신에 대한 혈청 항체들을 측정하였다. 백신 또는 건조 분말 기질의 각 복용량의 투여 이전 및 이후 7일에, 말초 혈액 림프구들을 수집하여 ELISPOT 분석법에 의해 항체 분비 세포들을 탐지하였다. 백신접종 이전 및 이후 21+2, 56+2 및 180+14일에, 혈액 샘플을 얻어서 세포들을 분리하고 복합체 VLP 항원에 반응한 사이토카인 생산 및 림프구 증식을 포함하는 세포 매개 면역성의 이후 연구들을 위해 동결건조하였다. 전체 대변 샘플을 면역화 이전 및 안티-복합체 VLP sIgA 스크리닝을 위해 7+1, 21+2, 28+2, 56+2 및 180+14일에 수집하였다. 타액을 면역화 이전 및 7+1, 21+2, 28+2, 56+2일에 구입할 수 있는 장치(NC, 뉴턴, 사르스테트, 살리베

트)로 수집하였고 점막 항체들에 양성인 경우 56일, 180+14일에 샘플을 수집하고 안티-복합체 VLP sIgA에 대해 스크리닝하였다. 혈액을 0, 21, 56 및 180일에 메모리 B-세포에 대해 스크리닝하였다.

- [0144] 면역화된 개인들 또는 건조 분말 기질 단독 또는 플라시보를 투여받은 개인들로부터 수집한 혈액, 대변 및 타액 샘플을 분석하는데 사용된 방법들은 실시예 13에 상세하게 기술된다.
- [0145] 실시예 15. 복합체 바이러스 VLP 백신에 의한 백신접종 후 감염성 노로바이러스에 의한 실험용 인간 챌린지 연구
- [0146] 여러 부위, 무작위, 더블 블라인드, 플라시보 제어 단계 1-2 챌린지 연구는 복합체 노로바이러스 VLP 백신으로 면역화된 80명 인간 지원자들에서 수행한다. 적절한 피험자들은 H형-1 올리고사카라이드(양성 타액 분비 상태로 측정)를 나타내고 B 혈액형 또는 AB 혈액형 이외인 18-50세의 건강한 사람들이 포함된다. H형-1 분비자가 아니거나 B 혈액형 또는 AB 혈액형인 피험자들은 놀워크 바이러스에 대한 감염에 더욱 저항력이 있다고 보고되며 연구로부터 배제된다. 적어도 80%의 지원자들은 이런 두 기준에 따라 적절하다고 예상된다.
- [0147] 스크리닝 이후, 모든 허용 기준을 충족하는 적절한 지원자들을 각 그룹에 대략 40명을 가진 두 개의 동일한 크기의 그룹 중 하나로 무작위로 추출한다(1:1). 그룹 1은 복합체 VLP로 면역화하고 그룹 2는 플라시보를 투여한다. 지원자들을 각 콧구멍에 10mg 복합체 VLP 백신(20mg 전체 건조 분말) 또는 플라시보로 면역화한다. 각 10mg의 복합체 VLP 백신은 50 μ g의 복합체 VLP, 7mg 키토산, 25 μ g MPL®, 1.5mg의 수크로오스 및 대략 1.5mg의 만니톨을 포함한다. 따라서, 그룹 1의 각 지원자는 각 면역화에서 100 μ g의 복합체 VLP 항원의 전체 복용량을 투여받는다. 지원자들은 연구 0 및 21일에 백신 또는 플라시보를 투여받는다.
- [0148] 플라시보와 비교된 복합체 바이러스 VLP 백신의 안정성을 분석한다. 지원자들은 백신 또는 플라시보로 면역화된 후 7일 동안 일기를 써서 부작용의 심각성과 지속을 문서화한다. 심각한 부작용(SAEs) 및 임의의 현저한 새로운 의학적 증상의 발생은 백신 또는 플라시보의 최종 복용 후 6개월 동안 및 감염성 바이러스에 의한 챌린지 후 4개월 동안 이어진다.
- [0149] 모든 지원자들을 백신 또는 플라시보의 2차 복용 후 21일 내지 42일(연구 42 내지 56일)에 감염성 노로바이러스로 챌린지한다. 각 지원자는 50% 이상의 인간 감염성 복용량(HID 50), 즉, 플라시보 그룹에서 적어도 50%의 지원자에서 질환을 일으키는 것으로 예상되는 감염성 바이러스의 양 또는 그 이상으로 투여된다. HID 50은 챌린지 바이러스의 약 48 내지 약 480 바이러스 당량이다. 챌린지 노로바이러스는 살균수와 혼합되고 구강으로 제공된다. 접종 이후 50mg 중탄산나트륨 용액이 주입되어, 위 산과 펩신에 의한 바이러스의 파괴를 예방한다. 중탄산나트륨 용액(물속 500mg 중탄산나트륨)의 2차 주입은 감염성 바이러스의 구강 접종 후 5분 소요된다. 지원자들은 급성 위장염(구토, 설사, 묽은 변, 복부 통증, 구역질 및 열)의 증상/신호가 사라진 후 적어도 4일 및 적어도 18일 동안 시설에 있다.
- [0150] 여러 측정기준을 관찰하여 바이러스 챌린지에 의해 유도된 위장염의 증상/신호를 예방하거나 감소시키는데 복합체 VLP 백신의 효과를 측정한다. 모든 지원자들은 자신들의 급성 위장염의 임상적 증상들을 기록하고 이런 증상들은 연구 장소에서 연구원들에 의해 문서화된다. 백신을 투여받은 그룹 1의 질환 증상/신호는 그룹 2 플라시보 투여자와 비교된다.
- [0151] 혈청 및 대변 샘플들을 백신 또는 플라시보 이전 및 챌린지 이후 모든 지원자들로부터 정기적으로 수집한다. 혈청 샘플들은 IgA 및 IgG에 대해 ELISA로 분석하고 챌린지 VLPs에 대해 역가를 측정한다. 챌린지 바이러스 항원 및 챌린지 바이러스 RNA는 바이러스의 존재, 장으로부터 유출된 바이러스의 양 및 바이러스 유출 기간을 나타내는 각각 ELISA 및 PCR에 의해 대변 샘플에서 검사한다. 챌린지 후 병이 든 피험자들은 증상/신호가 사라질 때까지 혈청 화학, BUN, 크라티닌 및 간 기능 검사를 포함하는 다른 실험실 연구를 받는다.
- [0152] 백신 그룹(그룹 1) 및 플라시보 그룹(그룹 2)으로부터의 결과는 비교되어 노로바이러스 질환 전체(1차 종점)에 대한 백신의 보호 효과 및/또는 증상/신호의 완화에 대한 백신의 효과(병의 심각성 및 병의 기일의 #) 및/또는 존재의 감소, 바이러스 유출 양 및/또는 유출 기간(2차 종점)을 분석한다.
- [0153] 본 발명은 본 발명의 개별 태양의 한 설명인 특정 실시예들에 의해 범위가 제한되지 않으며 기능적으로 균등한 방법 및 구성요소는 본 발명의 범위 내에 있다. 또한, 본 발명에서 도시되고 개시된 것들 이외에 본 발명의 다양한 변형은 일상적인 실험들을 사용하여 상기 설명과 첨부된 도면으로부터 당업자에게 명백해질 것이다. 이런 변형과 균등물은 첨부된 청구항의 범위 내에 해당할 것이다.
- [0154] 본 명세서에서 언급한 모든 공보, 특허 및 특허 출원은 각각의 공보, 특허 또는 특허 출원이 참조로 포함되는

것으로 구체적이고 개별적으로 나타난 것과 같이 어느 정도 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0155]

본 발명에서 참조문헌의 인용 또는 언급은 이런 문헌이 본 발명에 대한 종래기술이라는 것을 인정하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

도면

도면1

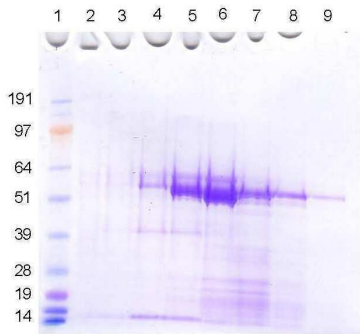
MKMAS-X₁-DA-X₂-PSDGS-X₃-ANLVPEVNNEVMALPEVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGG
EFTVSPRNAPGEILWSAPLGPDLNPLYLSHLARMYNGYAGGFVEVQVILAGNAFTAGKIIFAAVPPNFPTEG
LSPSQVMTMFPHLIIVDVRQLEPVLIPDPVRNNFYHYNQSN-D-X₄-TIKLIAMLYTPLRANNAG-X₅-DVFT
VSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPF-X₆-VPILTVEEMTNSRFPIPLEKLFPGPS-X₇-AFVVQFQ
NGRCTTDGVLGTTQLSPVNICFRGDVTHIAG-X₈-X₉-X₁₀-YTMNLAS-X₁₁-NWNNDPTEEIPAPLGT
PDFVGIQGVLTQTT-X₁₂-X₁₃-DGSTRGHKATV-X₁₄-TGS-X₁₅-X₁₆-FTPKLG-X₁₇-X₁₈-QF-X₁₉-TD
T-X₂₀-ND-X₂₁-ET-X₂₂-QNT-X₂₃-FTPVGV-X₂₄-QDG-X₂₅-X₂₆-X₂₇-H-X₂₈-NEPQQWVLP-X₂₉-YSG
R-X₃₀-X₃₁-HNHVLAPAVAP-X₃₂-FPGEQLEFFRSTMPGCSGYPNM-X₃₃-LDCLLPQEWV-X₃₄-HPYQEA
APAQSDVALLRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVHAHTG-X₃₅-HDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGN
G-X₃₆-GRRRA,

wherein X₁ = S or N; X₂ = S or N; X₃ = T or A; X₄ = S or P; X₅ = D or E;
X₆ = S or T; X₇ = G or S; X₈ = S or T; X₉ = Q, R, or H; X₁₀ = E, D, or N;
X₁₁ = Q or L; X₁₂ = R or K; X₁₃ = G or R; X₁₄ = S or Y; X₁₅ = V or A; X₁₆ =
P or H; X₁₇ = S or R; X₁₈ = V or I; X₁₉ = S or T; X₂₀ = S, E, or N; X₂₁ = F
or L; X₂₂ = G or H; X₂₃ = R or K; X₂₄ = V or I; X₂₅ = S or N; X₂₆ = S or T;
X₂₇ = A or T; X₂₈ = Q or R; X₂₉ = D, S, or N; X₃₀ = D, N, or T; X₃₁ = S, V,
or G; X₃₂ = S or T; X₃₃ = N or D; X₃₄ = Q or L; X₃₅ = Q or P; and X₃₆ = T or
A. (SEQ ID NO: 2)

도면2

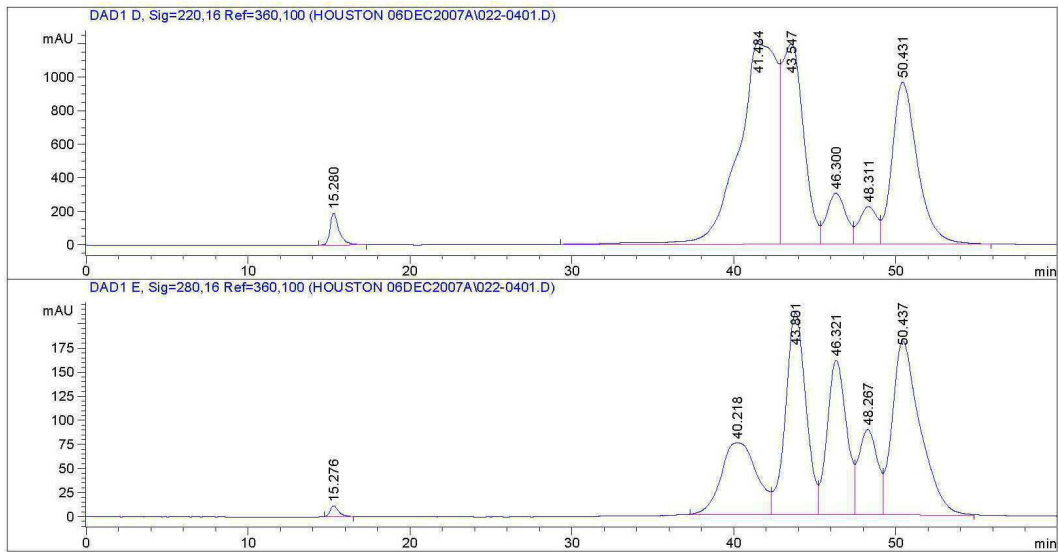
TTAATTAAGCGGCCGCCCTTACCATGAAGATGGCTTCCGCCAGCTAACCCCTCCG
ACGGTTCCACCCTAACCTGGTGCCCGAGGTGAACAACGAGGTGATGGCTCTCGAGCCCG
TGGTGGGCGCTGCTATCGCTGCTCCCGTGGCTGGCCAGCAGAACGTGATCGACCCCTGGGA
TCCGTAACAACCTTCGTGTCAGGCTCCCGGTGGCGAGTTCACCGTGTCCCCCGTAAACGCTC
CGGCGAGATCCTGTGGTCCGCTCCCTGGGTCCCGACCTGAACCCCTACCTGTCCCAAC
TGGCTCGTATGTACAACGGTTACGCTGGCGGTTTCGAGGTGCAGGTGATCCTGGCTGGTA
ACGCTTTCACCGCTGGCAAGATCATCTTCGCTGCTGTGCCCCCAACTTCCCCACCGAGG
GCTGAGCCCTCCCGAGGTGACCATGTTCACCCACATCATCGTGGACGTGCGCCAGCTCG
AGCCTGTGCTGATCCCCCTGCCGACGTGCGCAACAACCTTCAACACACACAACAGTCCA
ACGACCCCAACATCAAGCTGATCGCTATGCTGTACACCCCTGCGTGTAAACAACGCTG
GTGACGAGCTGTACTGTCTGCTGCGCTGACCCGCTCCCTCCCGGACTTCCGACT
TCATCTTCTCGTGGTGCCCTTACCGTGGAGTCCCGTACCAGCCCTTCCCGTGGCCATCC
TGACCGTGGAGGAGATGACCAACTCCCGTTTCCCAATCCCTCGAGAAGCTGTTCACCG
GTCCCTCCCGTGTCTTCGTGGTGCAGCCCGAAGCGTTCGTCACCAACGAGCTGTC
TGCTGGGCAACCTACAGCTGTCCCGGTGAACATCTGCACCTTCCGTGGTGAAGTGAAC
ACATCGCTGGCACCAAGAGTACACCATGAACCTGGCCCTCCAGAACGTGAACAACACTACG
ACCCCTACCGAGGAGATCCCCGCTCCTCTGGGCAACCCCTGACTTCTGTGGGCAAGATCCAGG
GTGCTCTGACCCAGACACCCCGGTGACGGCTCCACCCGTTGGTTCACAAAGCTTACCGTGT
CCACCGGTTCCGTCACCTTCAACCCCAAGCTGGGTTCCGTCCAGTTCACCAACGACACCT
CCAACGACTTCGAGACTGGCCAGAACAACCAAGTTCACCCCGTGGGTGTGGTGCAGGACG
GTTCACCAACCCAGAACGAGCCCGCAGTGGTGTGCTGACTTCCCGGTGCTG
ACTCCCAACGTCACCTGGCTCCCGCTGTGGCTCCCACTTCCCGGCGAGCAGCTGC
TGTTCCTCCGTTCCACCATGCCCGGTTGCTCCGGTTACCCCAACATGAACCTCGACTGCC
TGCTGCCCTCAGGAGTGGTCCAGCACTTCAACAGGAGGCTGCTCCCGCTCAGTCCGAGC
TGGCTCTGCTCGCTTCGTGAACCCCGACACCGGCTGCTGTGCTGTTCGAGTGCAGGCTGC
ACAAGTCCGGTTACGTGACCGTGGCTCACACCGGCCAGCAGCCTGGTGTACCCCTCCA
ACGGTTACTTCCGTTTCGACTTCCGGTGAACCAAGTTCACACCCCTGGCTCCATGGGTA
ACGGCACCGGTCGTGCTGCTGCTGTAATGGCTGGAGCTTCTTTGCTGGATTGGCATC
TGATTCCTTGGCTCGGACTTGGTTCCCTAATCAATGCTGGGGCTGGGGCCATCAACCA
AAAAGTTGAATTTGAAATAACAGAAAATTCGAACAAGCTTGGCGCGC (SEQ ID NO: 3)

도면3

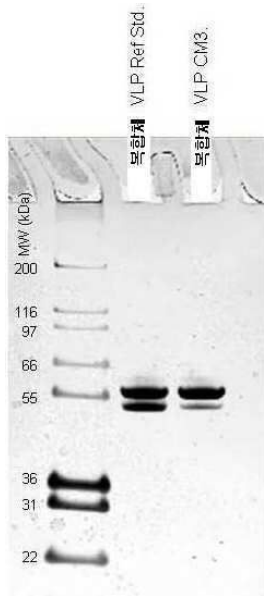


레인 1	분자량 마커
레인 2	수크로오스 구배 분획 1
레인 3	수크로오스 구배 분획 2
레인 4	수크로오스 구배 분획 3
레인 5	수크로오스 구배 분획 4
레인 6	수크로오스 구배 분획 5
레인 7	수크로오스 구배 분획 6
레인 8	수크로오스 구배 분획 7
레인 9	수크로오스 구배 분획 8

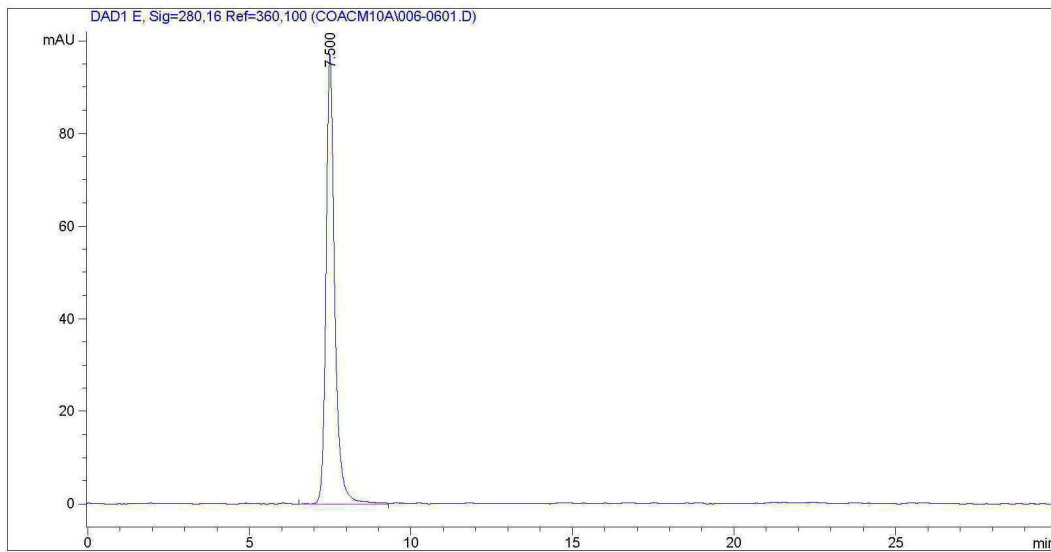
도면4



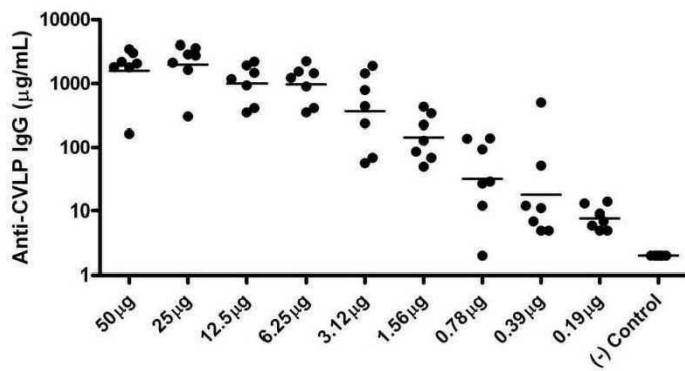
도면5



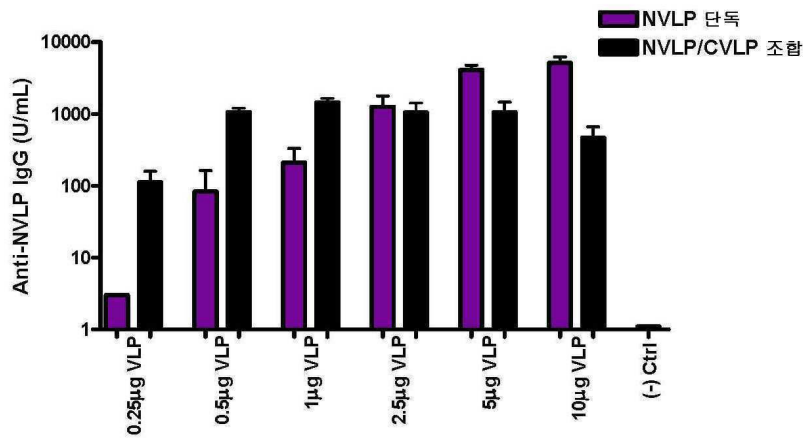
도면6



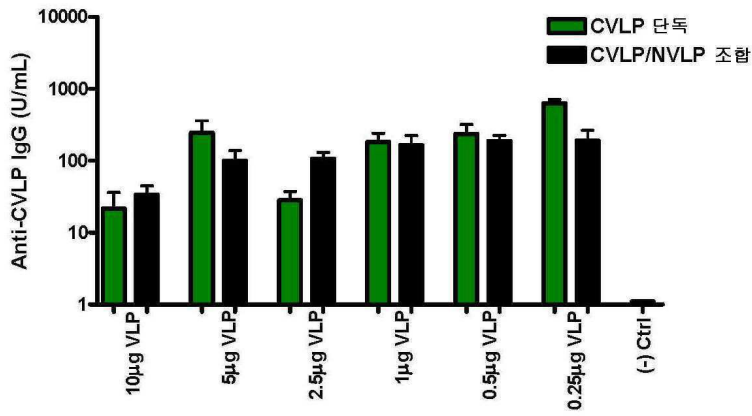
도면7



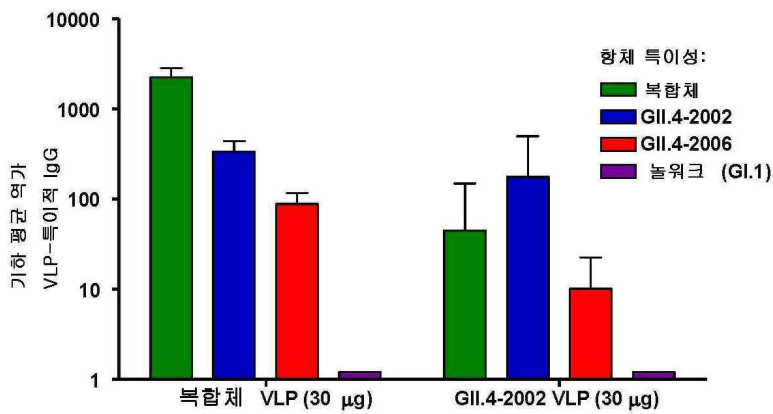
도면8



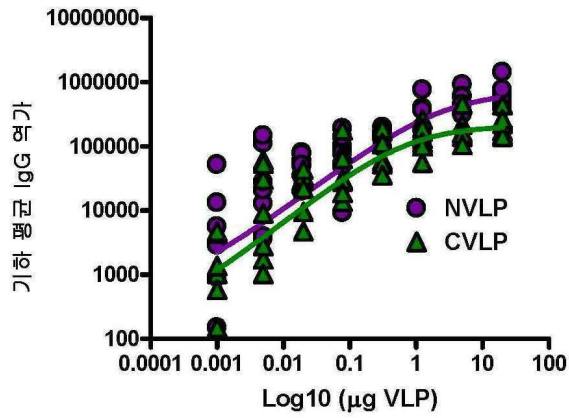
도면9



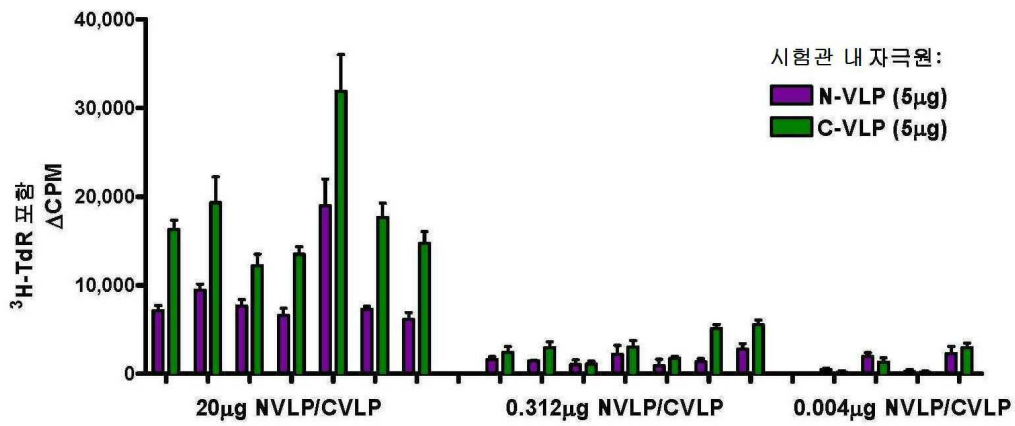
도면10



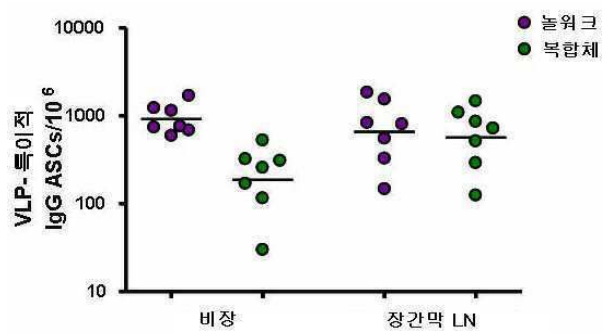
도면11



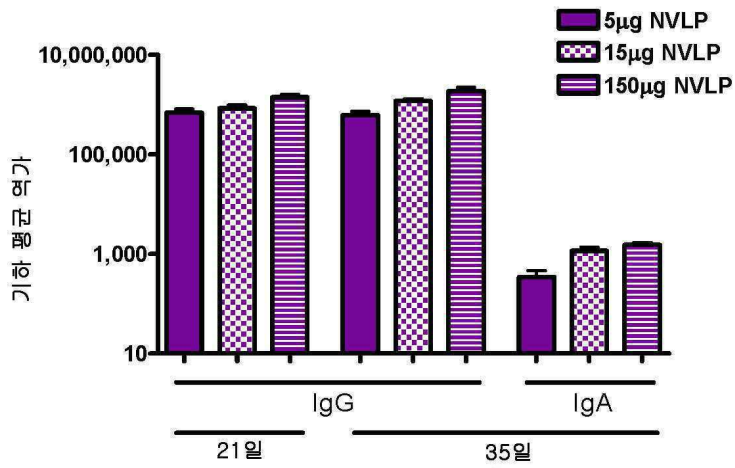
도면12



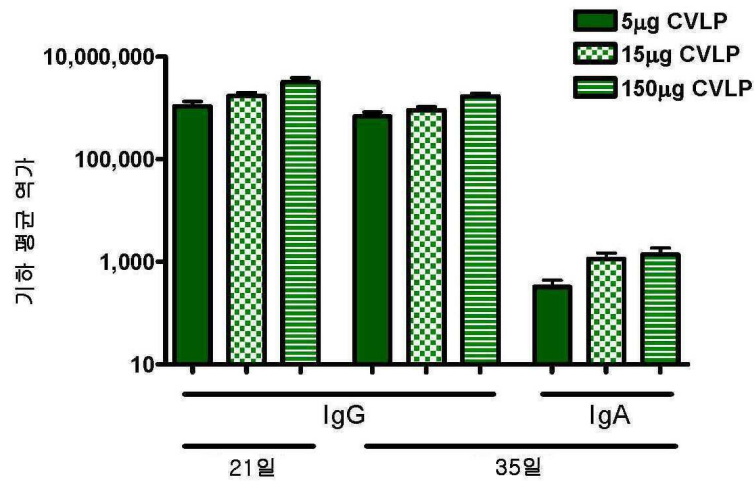
도면13



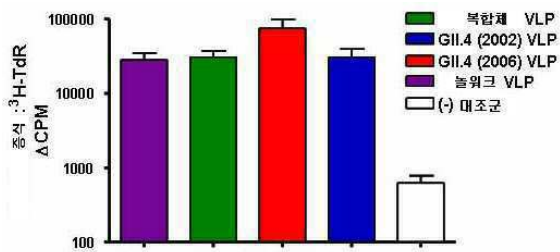
도면14



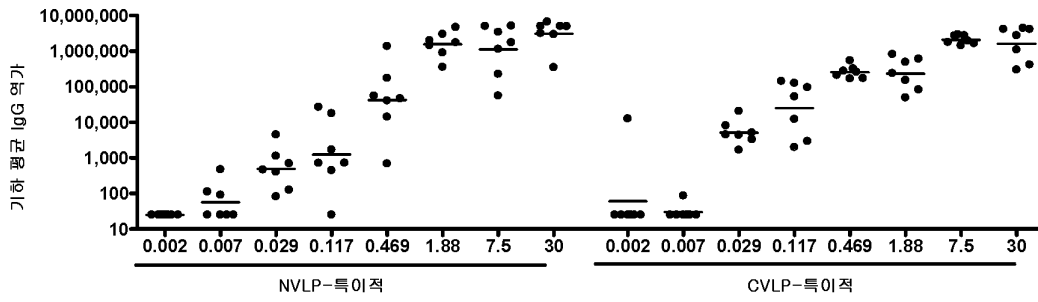
도면15



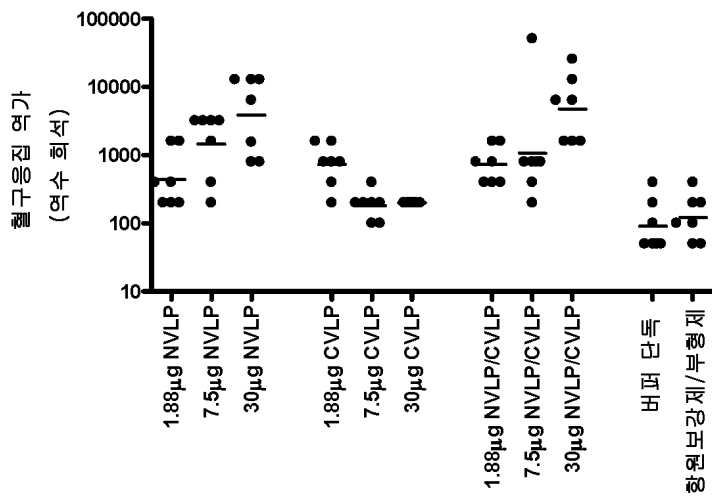
도면16



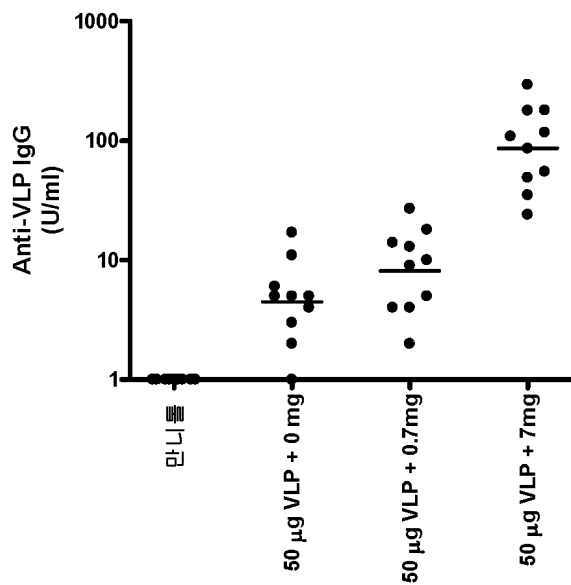
도면17



도면18



도면19



도면20

MKMASNDAAAPSNDAAGLVPExNNExMALEPVAGAAIAAPLTGQxNI IDPWIRxNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLLN
LELGPENLNPYLAHLARMYNGYAGGxEVQVxLAGNAFTAGKLVFAAI PPHFP IxNLS PxQITMFPHVI IDVRTLEPVLL
PLPDVRNNFHYNxxDPRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPS PDEFDFNYLVPPVTSBKTTPPTLP ILTI
GELSNRFPVP IDxLYTSPNEXIVVQCQNGRxTLDGELxGTTQLxPSxICAFRGxxTRxxAHLSDQxN - - - - -
xHRWN IQxTNLNGTTPDFxEDI PAPTGT PDEFxGxVFGVxSQRNPDNT - - - - -xRAHDAxVxTxSxxFTPKLGSV
xIGTWExxDfDxNQPTKFTPV -GLxDTxHFNQWVLPxYSGALTLNMNLAPS VAPxPFGBQLLFFRSxLPLKGGxSNG
AIDCCLLPQEWVQHFYQBSAPsxTxVALVR YxNPD TGRVLFBAKLHRxGFMTVAXNGSxPIVVPNGYFRPDSWVWQF
YSLAPMG TGNRRRI (SEQ ID NO: 7)

도면21

MMMASKDATxSADGASGAGQLVPEVNTADPLPMDPVAGSS TAVATAGQVNx IDPWI INNFOAPQGEFTI SPNNTP
GDVLFDLQLGPHLNPFLSHLSQMYNGWVGNMVR IxLAGNAFTAGKI IVCCVPPGFPxSxxLTIAQATLFPHVIADVRT
LDPIEVLVEDVRNLYHNNND -NQPTMRLVCMLYTPLRTGGSGxxDSFVAVGRVLTCPSPDFNLFVLPPTVEQKT
RPFVTVPNIP LxxLNSRxxPxPIxGMxLS PDxxQxVQFQNGRGTIDGQLLGTTPVsxSQLxKxRGxITSGxRVLNLTEL
DGxPFMAFxxPAPxGFPDLGxCDWHIxMSKxPNSsxQxxPxxSxSVxTNxQxVPHLGSIQxDEXxs -xxGDYIGT
IxWIS PPSxPxGxxNWLKI PDYGSxSLxEAxxLAPxVY PPGFGEVLVYFMSxxPGPNxxGAPNxVPCLLPQFYITHPx
SEQAPTxGEALLHYVDPDTNRNLGFBKLYPGGYLTCVPGxSxGPQQLPLNGVVFVSVWSRFYQLKPVGTASxARG
RLGVRR (SEQ ID NO: 12)

도면22

MCLYTRVILILHYHLLPLYGPLYHPRPLPxxxxxxxxYxxxxIxCxxxxxxxxxVNVxxIPxQMxLWRPSDxTVYLP PP-
PVSxVVxTDxYVxRTNIFYHAGSRLLA VGHYPYxIKKxxxNKxxVPKVSQYRVFRVxLPDPNKFGLPDTsxYN
PxTQRLVWACxGVEVGRGQLGVGxSGHPLLNLKDDTENSxAyxxNxGxDNRxNVSMYKQTLcxxGCAPPIGEHW
GKGTx CxNxVxxGDCPPLELINTVIQDGMVD TGFAMDFxTLQxNKSEVPLD ICxSIC KYPDY LQMxADPYGDSL
FFYLREQMFARHFNFNAGTVGExVPDDLYIKGxGxxASxASxYxPTPSGsxVTSDAQLEFNKPYWLQKAQGHNNGI
WGNQLFVTVVDTRSTNM TL CAS -xSxSxxTYxNTxPKFYxRHVEEYDLQFIPQLCxITLTADVMxYIHSMNSSIL
EDWNFGLxPPxGTL EDTYRFVQSQAITCQKxTPPAEKxDPYKxKxxFWEVNLKKEFSxDLDQFPPLGRKFLQAGLRxK
PxxxxGxKRxxPxSxxSTxAKRKRxKxx (SEQ ID NO: 17)

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Ligocyte Pharmaceuticals, Inc.

Richardson, Charles

Bargatze, Robert

Haynes, Joel

Steadman, Bryan

<120> VIRUS-LIKE PARTICLES COMPRISING COMPOSITE CAPSID AMINO ACID

SEQUENCES FOR ENHANCED CROSS REACTIVITY

<130> LIGO-022/01W0

<140> PCT/US2009/053249

<141> 2009-08-10

<150> US 61/218,603

<151> 2009-06-19

<150> US 61/087,504

<151> 2008-08-08

<160> 21

<170> PatentIn version 3.5

<210

> 1

<211> 540

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Composite GII.4 Norovirus VP1 amino acid sequence

<400> 1

Met Lys Met Ala Ser Ser Asp Ala Asn Pro Ser Asp Gly Ser Thr Ala

1 5 10 15

Asn Leu Val Pro Glu Val Asn Asn Glu Val Met Ala Leu Glu Pro Val

 20 25 30

Val Gly Ala Ala Ile Ala Ala Pro Val Ala Gly Gln Gln Asn Val Ile

 35 40 45

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

 50 55 60

Thr Val Ser Pro Arg Asn Ala Pro Gly Glu Ile Leu Trp Ser Ala Pro

65 70 75 80

Leu Gly Pro Asp Leu Asn Pro Tyr Leu Ser His Leu Ala Arg Met Tyr

 85 90 95

Asn Gly Tyr Ala Gly Gly Phe Glu Val Gln Val Ile Leu Ala Gly Asn

 100 105 110

Ala Phe Thr Ala Gly Lys Ile Ile Phe Ala Ala Val Pro Pro Asn Phe

 115 120 125

Pro Thr Glu Gly Leu Ser Pro Ser Gln Val Thr Met Phe Pro His Ile

 130 135 140

Ile Val Asp Val Arg Gln Leu Glu Pro Val Leu Ile Pro Leu Pro Asp

145 150 155 160

Val Arg Asn Asn Phe Tyr His Tyr Asn Gln Ser Asn Asp Pro Thr Ile

 165 170 175

Lys Leu Ile Ala Met Leu Tyr Thr Pro Leu Arg Ala Asn Asn Ala Gly

 180 185 190

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

 195 200 205

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

Ala Ala Pro Ala Gln Ser Asp Val Ala Leu Leu Arg Phe Val Asn Pro
 465 470 475 480

Asp Thr Gly Arg Val Leu Phe Glu Cys Lys Leu His Lys Ser Gly Tyr
 485 490 495

Val Thr Val Ala His Thr Gly Gln His Asp Leu Val Ile Pro Pro Asn
 500 505 510

Gly Tyr Phe Arg Phe Asp Ser Trp Val Asn Gln Phe Tyr Thr Leu Ala
 515 520 525

Pro Met Gly Asn Gly Thr Gly Arg Arg Arg Ala Leu
 530 535 540

<210> 2

<211> 539

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Consensus GII.4 VP1 amino acid sequence

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa may be Ser or Asn

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa may be Ser or Asn

<220><221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> Xaa may be Thr or Ala

<220><221> misc_feature

<222> (174)..(174)

<223> Xaa may be Ser or Pro

<220><221> misc_feature

<222> (193)..(193)

<223> Xaa may be Asp or Glu

<220><221> misc_feature

<222> (228)..(228)

<223> Xaa may be Ser or Thr

<220><221> misc_feature
<222> (255)..(255)
<223> Xaa may be Gly or Ser

<220><221> misc_feature
<222> (296)..(296)
<223> Xaa may be Ser or Thr

<220><221> misc_feature
<222> (297)..(297)
<223> Xaa may be Gln, Arg or His

<220><221> misc_feature
<222> (298)..(298)
<223> Xaa may be Glu, Asp or Asn

<220><221> misc_feature
<222> (306)..(306)
<223> Xaa may be Gln or Leu

<220><221> misc_feature
<222> (339)..(339)
<223> Xaa may be Arg or Lys

<220><221> misc_feature
<222> (340)..(340)
<223> Xaa may be Gly or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (352)..(352)
<223> Xaa may be Ser or Tyr
<220><221> misc_feature

<222> (356)..(356)
<223> Xaa may be Val or Ala
<220><221> misc_feature

<222> (357)..(357)
<223> Xaa may be Pro or His
<220><221> misc_feature

<222> (364)..(364)
<223> Xaa may be Ser or Arg

<220><221> misc_feature
<222> (365)..(365)
<223> Xaa may be Val or Ile
<220><221> misc_feature
<222> (368)..(368)
<223> Xaa may be Ser or Thr
<220><221> misc_feature
<222> (372)..(372)
<223> Xaa may be Ser, Glu or Asn

<220><221> misc_feature
<222> (375)..(375)
<223> Xaa may be Phe or Leu
<220><221> misc_feature
<222> (378)..(378)
<223> Xaa may be Gly or His
<220><221> misc_feature
<222> (382)..(382)
<223> Xaa may be Arg or Lys
<220><221> misc_feature
<222> (389)..(389)
<223> Xaa may be Val or Ile
<220><221> misc_feature
<222> (393)..(393)
<223> Xaa may be Ser or Asn
<220><221> misc_feature
<222> (394)..(394)
<223> Xaa may be Ser or Thr
<220><221> misc_feature
<222> (395)..(395)

<223> Xaa may be Ala or Thr
<220><221> misc_feature
<222> (397)..(397)
<223> Xaa may be Gln or Arg

<220><221> misc_feature
 <222> (407)..(407)
 <223> Xaa may be Asp, Ser or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (412)..(412)
 <223> Xaa may be Asp, Asn or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (413)..(413)
 <223> Xaa may be Ser, Val or Gly
 <220><221> misc_feature
 <222> (425)..(425)
 <223> Xaa may be Ser or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (448)..(448)
 <223> Xaa may be Asn or Asp

<220><221> misc_feature
 <222> (459)..(459)
 <223> Xaa may be Gln or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (504)..(504)
 <223> Xaa may be Gln or Pro
 <220><221> misc_feature
 <222> (534)..(534)
 <223> Xaa may be Thr or Ala
 <400> 2

Met Lys Met Ala Ser Xaa Asp Ala Xaa Pro Ser Asp Gly Ser Xaa Ala
 1 5 10 15
 Asn Leu Val Pro Glu Val Asn Asn Glu Val Met Ala Leu Glu Pro Val
 20 25 30

 Val Gly Ala Ala Ile Ala Ala Pro Val Ala Gly Gln Gln Asn Val Ile
 35 40 45
 Asp Pro Trp Ile Arg Asn Asn Phe Val Gln Ala Pro Gly Gly Glu Phe
 50 55 60

305 310 315 320
 Leu Gly Thr Pro Asp Phe Val Gly Lys Ile Gln Gly Val Leu Thr Gln
 325 330 335
 Thr Thr Xaa Xaa Asp Gly Ser Thr Arg Gly His Lys Ala Thr Val Xaa
 340 345 350

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

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

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

<210> 3

<211> 1789

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Composite GII.4 Norovirus VP1 DNA sequence

<400> 3

```

ttaaattaagc ggccgcccc ttcacatga agatggcttc ctccgacgct aaccctccg      60
acggttccac cgctaacctg gtgcccagg tgaacaacga ggtgatggct ctcgagcccc      120
tggtgggcgc tgctatcgt gctcccgtgg ctggccagca gaactgatc gaccctgga      180
tccgtaacaa cttcgtgac gctcccgtg gcgagttcac cgtgtcccc cgtaacgctc      240
ccggcgagat cctgtggfcc gctcccctgg gtcccacct gaaccctac ctgtcccacc      300
tggtcgtat gtacaacggt tacgctggcg gtttcgaggt gcaggtgatc ctggctggta      360

acgctttcac cgctggcaag atcatcttcg ctgctgtgcc cccaacttc cccaccgagg      420
gectgagccc ctcccagggt accatgttcc cccacatcat cgtggacgtg cccagctcg      480
agcctgtgct gatccccctg cccgacgtgc gcaacaactt ctaccactac aaccagtcca      540
acgaccccc catcaagctg atcgtatgc tftacacccc cctgcgtgct aacaacgctg      600
gtgacgacgt gttcactgtg tcttcccgtg tgctgaccgg tccctcccc gacttcgact      660
tcatcttct ggtgccccct accgtggagt cccgtaccaa gcccttacc gtgccatcc      720
tgaccgtgga ggagatgacc aactcccgtt tcccacccc cctcgagaag ctgttcaccg      780

gtccctccgg tgctttcgtg gtgcagcccc agaacggtcg ttgcaccacc gacggtgtcc      840
tgctgggcac cactcagctg tccccctga acatctgcac cttccgtggt gacgtgacc      900
acatcgtggt cacccaagag tacacatga acctggcctc ccagaactgg aacaactacg      960
accctaccga ggagatcccc gctcctctgg gcaccctga cttcgtgggc aagatccagg      1020
gtgtcctgac ccagaccacc cgcggtgacg gctccacccc ttggtcacaag gctaccgtgt      1080
ccaccggttc cgtgcacttc accccaagc tgggttccgt ccagttctcc accgacacct      1140
ccaacgactt cgagactggc cagaacacca agttcacccc cgtgggtgtg gtgcaggacg      1200

gttctaccac ccaccagaac gageccccagc agtgggtgct gcctgactac tccggtcgtg      1260
actcccacaa cgtgcacctg gctcccgtg ttgctccac cttccccggc gacgagctgc      1320
tgttcttccg ttccaccatg cccggttctg ccggttacc caacatgaac ctcgactgcc      1380
tgctgctca ggagtggttc cagcacttct accaggaggc tgctcccgt cagtccgacg      1440
tggctctgct gcgtttcgtg aaccccgaca ccggtcgtgt gctgttcgag tgcaagctgc      1500
acaagtccgg ttacgtgacc gtggttcaca ccggccagca cgacctggtg atccctccca      1560
acggttactt ccgtttcgac tcttgggtga accagttcta caccctggt cccatgggta      1620

```

acggcaccgg tcgtcgtcgt gctctgtaat ggctggagct ttccttgctg gattggcatc 1680
 tgatgtcctt ggctctggac ttggttcctt aatcaatgct ggggctgggg ccatcaacca 1740
 aaaagttaa tttgaaaata acagaaaatt gcaacaagct tggcgcgcc 1789

<210> 4

<211> 539

<212> PRT

<213> Norovirus Norwalk virus sp.

<400> 4

Met Lys Met Ala Ser Ser Asp Ala Ser Pro Ser Asp Gly Ser Thr Ala
 1 5 10 15
 Asn Leu Val Pro Glu Val Asn Asn Glu Val Met Ala Leu Glu Pro Val

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

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

 145 150 155 160
 Val Arg Asn Asn Phe Tyr His Tyr Asn Gln Ser Asn Asp Pro Thr Ile
 165 170 175
 Lys Leu Ile Ala Met Leu Tyr Thr Pro Leu Arg Ala Asn Asn Ala Gly
 180 185 190

Asp Asp Val Phe Thr Val Ser Cys Arg Val Leu Thr Arg Pro Ser Pro
 195 200 205
 Asp Phe Asp Phe Ile Phe Leu Val Pro Pro Thr Val Glu Ser Arg Thr
 210 215 220
 Lys Pro Phe Thr Val Pro Ile Leu Thr Val Glu Glu Met Thr Asn Ser
 225 230 235 240
 Arg Phe Pro Ile Pro Leu Glu Lys Leu Phe Thr Gly Pro Ser Gly Ala
 245 250 255
 Phe Val Val Gln Pro Gln Asn Gly Arg Cys Thr Thr Asp Gly Val Leu
 260 265 270
 Leu Gly Thr Thr Gln Leu Ser Pro Val Asn Ile Cys Thr Phe Arg Gly
 275 280 285
 Asp Val Thr His Ile Ala Gly Thr His Asp Tyr Thr Met Asn Leu Ala
 290 295 300
 Ser Gln Asn Trp Asn Asn Tyr Asp Pro Thr Glu Glu Ile Pro Ala Pro
 305 310 315 320
 Leu Gly Thr Pro Asp Phe Val Gly Lys Ile Gln Gly Val Leu Thr Gln
 325 330 335
 Thr Thr Arg Gly Asp Gly Ser Thr Arg Gly His Lys Ala Thr Val Ser
 340 345 350
 Thr Gly Ser Val His Phe Thr Pro Lys Leu Gly Ser Val Gln Phe Thr
 355 360 365
 Thr Asp Thr Asn Asn Asp Leu Glu Thr Gly Gln Asn Thr Lys Phe Thr
 370 375 380
 Pro Val Gly Val Val Gln Asp Gly Asn Ser Ala His Gln Asn Glu Pro
 385 390 395 400
 Gln Gln Trp Val Leu Pro Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Gly His Asn Val
 405 410 415
 His Leu Ala Pro Ala Val Ala Pro Thr Phe Pro Gly Glu Gln Leu Leu
 420 425 430
 Phe Phe Arg Ser Thr Met Pro Gly Cys Ser Gly Tyr Pro Asn Met Asn

Ala Phe Thr Ala Gly Lys Ile Ile Phe Ala Ala Val Pro Pro Asn Phe
 115 120 125
 Pro Thr Glu Gly Leu Ser Pro Ser Gln Val Thr Met Phe Pro His Ile
 130 135 140
 Ile Val Asp Val Arg Gln Leu Glu Pro Val Leu Ile Pro Leu Pro Asp
 145 150 155 160
 Val Arg Asn Asn Phe Tyr His Tyr Asn Gln Ser Asn Asp Pro Thr Ile
 165 170 175
 Lys Leu Ile Ala Met Leu Tyr Thr Pro Leu Arg Ala Asn Asn Ala Gly
 180 185 190
 Asp Asp Val Phe Thr Val Ser Cys Arg Val Leu Thr Arg Pro Ser Pro
 195 200 205
 Asp Phe Asp Phe Ile Phe Leu Val Pro Pro Thr Val Glu Ser Arg Thr
 210 215 220
 Lys Pro Phe Ser Val Pro Ile Leu Thr Val Glu Glu Met Thr Asn Ser
 225 230 235 240
 Arg Phe Pro Ile Pro Leu Glu Lys Leu Phe Thr Gly Pro Ser Ser Ala
 245 250 255
 Phe Val Val Gln Pro Gln Asn Gly Arg Cys Thr Thr Asp Gly Val Leu
 260 265 270
 Leu Gly Thr Thr Gln Leu Ser Pro Val Asn Ile Cys Thr Phe Arg Gly
 275 280 285
 Asp Val Thr His Ile Ala Gly Thr Gln Glu Tyr Thr Met Asn Leu Ala
 290 295 300
 Ser Gln Asn Trp Asn Asn Tyr Asp Pro Thr Glu Glu Ile Pro Ala Pro
 305 310 315 320
 Leu Gly Thr Pro Asp Phe Val Gly Lys Ile Gln Gly Val Leu Thr Gln
 325 330 335
 Thr Thr Arg Arg Asp Gly Ser Thr Arg Gly His Lys Ala Thr Val Ser
 340 345 350
 Thr Gly Ser Val His Phe Thr Pro Lys Leu Gly Arg Ile Gln Phe Ser

355 360 365
 Thr Asp Thr Ser Asn Asp Phe Glu Thr Gly Gln Asn Thr Arg Phe Thr

370 375 380
 Pro Val Gly Val Val Gln Asp Gly Ser Thr Thr His Gln Asn Glu Pro
 385 390 395 400

Gln Gln Trp Val Leu Pro Asp Tyr Ser Gly Arg Asp Ser His Asn Val
 405 410 415

His Leu Ala Pro Ala Val Ala Pro Ser Phe Pro Gly Glu Gln Leu Leu
 420 425 430

Phe Phe Arg Ser Thr Met Pro Gly Cys Ser Gly Tyr Pro Asn Met Asn

435 440 445
 Leu Asp Cys Leu Leu Pro Gln Glu Trp Val Gln His Phe Tyr Gln Glu
 450 455 460

Ala Ala Pro Ala Gln Ser Asp Val Ala Leu Leu Arg Phe Val Asn Pro
 465 470 475 480

Asp Thr Gly Arg Val Leu Phe Glu Cys Lys Leu His Lys Ser Gly Tyr
 485 490 495

Val Thr Val Ala His Thr Gly Gln His Asp Leu Val Ile Pro Pro Asn

500 505 510
 Gly Tyr Phe Arg Phe Asp Ser Trp Val Asn Gln Phe Tyr Thr Leu Ala
 515 520 525

Pro Met Gly Asn Gly Thr Gly Arg Arg Arg Ala

530 535

<210> 6

<211> 539

<212> PRT

<213> Norovirus Norwalk virus sp.

<400> 6

Met Lys Met Ala Ser Asn Asp Ala Asn Pro Ser Asp Gly Ser Ala Ala

1 5 10 15

Asn Leu Val Pro Glu Val Asn Asn Glu Val Met Ala Leu Glu Pro Val

Leu Gly Thr Thr Gln Leu Ser Pro Val Asn Ile Cys Thr Phe Arg Gly
 275 280 285
 Asp Val Thr His Ile Ala Gly Ser Arg Asn Tyr Thr Met Asn Leu Ala
 290 295 300
 Ser Leu Asn Trp Asn Asn Tyr Asp Pro Thr Glu Glu Ile Pro Ala Pro
 305 310 315 320
 Leu Gly Thr Pro Asp Phe Val Gly Lys Ile Gln Gly Val Leu Thr Gln
 325 330 335
 Thr Thr Lys Gly Asp Gly Ser Thr Arg Gly His Lys Ala Thr Val Tyr
 340 345 350
 Thr Gly Ser Ala Pro Phe Thr Pro Lys Leu Gly Ser Val Gln Phe Ser
 355 360 365
 Thr Asp Thr Glu Asn Asp Phe Glu Thr His Gln Asn Thr Lys Phe Thr
 370 375 380
 Pro Val Gly Val Ile Gln Asp Gly Ser Thr Thr His Arg Asn Glu Pro
 385 390 395 400
 Gln Gln Trp Val Leu Pro Ser Tyr Ser Gly Arg Asn Val His Asn Val
 405 410 415
 His Leu Ala Pro Ala Val Ala Pro Thr Phe Pro Gly Glu Gln Leu Leu
 420 425 430
 Phe Phe Arg Ser Thr Met Pro Gly Cys Ser Gly Tyr Pro Asn Met Asp
 435 440 445
 Leu Asp Cys Leu Leu Pro Gln Glu Trp Val Gln His Phe Tyr Gln Glu
 450 455 460
 Ala Ala Pro Ala Gln Ser Asp Val Ala Leu Leu Arg Phe Val Asn Pro
 465 470 475 480
 Asp Thr Gly Arg Val Leu Phe Glu Cys Lys Leu His Lys Ser Gly Tyr
 485 490 495
 Val Thr Val Ala His Thr Gly Gln His Asp Leu Val Ile Pro Pro Asn
 500 505 510
 Gly Tyr Phe Arg Phe Asp Ser Trp Val Asn Gln Phe Tyr Thr Leu Ala

<222> (171)..(171)
 <223> Xaa may be Glu, Lys or Gly
 <220><221> misc_feature
 <222> (172)..(172)
 <223> Xaa may be Pro, Asp or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (248)..(248)
 <223> Xaa may be Glu, Gln or Ser
 <220>
 ><221> misc_feature
 <222> (256)..(256)
 <223> Xaa may be Gly, Val or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (266)..(266)
 <223> Xaa may be Ser, Cys or Val
 <220><221> misc_feature
 <222> (273)..(273)
 <223> Xaa may be Leu, Gln or Met
 <220><221> misc_feature
 <222> (279)..(279)
 <223> Xaa may be Val, Gln or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (282)..(282)
 <223> Xaa may be Asn, Gly or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (289)..(289)
 <223> Xaa may be Glu or Thr
 <220><221> misc_feature

 <222> (290)..(290)
 <223> Xaa may be Val or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (293)..(293)
 <223> Xaa may be Ile or Ser
 <220><221> misc_feature

<222> (294)..(294)
 <223> Xaa may be Asn or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (301)..(301)
 <223> Xaa may be Asp or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (303)..(303)
 <223> Xaa may be Gln, Asp or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (310)..(310)
 <223> Xaa may be Val, Ile or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (321)..(321)
 <
 223> Xaa may be Thr, Ser or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (334)..(334)
 <223> Xaa may be Leu, Gln or Arg
 <220><221> misc_feature
 <222> (336)..(336)
 <223> Xaa may be Asn, Arg or Lys
 <220><221> misc_feature
 <222> (341)..(341)
 <223> Xaa may be Thr, Ile or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (350)..(350)
 <223> Xaa may be Cys, Asn or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (356)..(356)
 <223> Xaa may be Ile, Val or Lys
 <220><221> misc_feature
 <222> (358)..(358)
 <223
 > Xaa may be Ala, Pro or Asp
 <220><221> misc_feature

<222> (360)..(360)
 <223> Xaa may be Trp, Tyr or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (362)..(362)
 <223> Xaa may be Pro, Ala, or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (363)..(363)
 <223> Xaa may be Lys, Gln or Arg
 <220><221> misc_feature
 <222> (372)..(372)
 <223> Xaa may be Val, Gln or Glu
 <220><221> misc_feature
 <222> (378)..(378)
 <223> Xaa may be Asp, Thr or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (379)..(379)
 <223> Xaa may be Arg, Asp or Gly

 <220><221> misc_feature
 <222> (383)..(383)
 <223> Xaa may be Ile, Val or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (395)..(395)
 <223> Xaa may be Tyr, Asn or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (398)..(398)
 <223> Xaa may be Asp, Glu or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (407)..(407)
 <223> Xaa may be Tyr, Arg or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (425)..(425)
 <223> Xaa may be Leu, Val or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (437)..(437)

<223> Xaa may be His, Tyr or Gln

<220

><221> misc_feature

<222> (444)..(444)

<223> Xaa may be Tyr, Thr or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (469)..(469)

<223> Xaa may be Ser Met or Gln

<220><221> misc_feature

<222> (471)..(471)

<223> Xaa may be Asp, Glu or Gln

<220><221> misc_feature

<222> (478)..(478)

<223> Xaa may be Thr, Ile or Val

<220><221> misc_feature

<222> (494)..(494)

<223> Xaa may be Gln, Ala or Leu

<220><221> misc_feature

<222> (501)..(501)

<223> Xaa may be Asn, Ser or Lys

<220><221

> misc_feature

<222> (505)..(505)

<223> Xaa may be Arg, Ala or Ser

<400> 7

Met Lys Met Ala Ser Asn Asp Ala Ala Pro Ser Asn Asp Gly Ala Ala

1 5 10 15

Gly Leu Val Pro Glu Xaa Asn Asn Glu Xaa Met Ala Leu Glu Pro Val

 20 25 30

Ala Gly Ala Ala Ile Ala Ala Pro Leu Thr Gly Gln Xaa Asn Ile Ile

 35 40 45

Asp Pro Trp Ile Arg Xaa Asn Phe Val Gln Ala Pro Asn Gly Glu Phe

 50 55 60

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

<400> 8

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

485 490 495
 Ser Gly Ser Arg Pro Ile Val Val Pro Pro Asn Gly Tyr Phe Arg Phe
 500 505 510
 Asp Ser Trp Val Asn Gln Phe Tyr Ser Leu Ala Pro Met Gly Thr Gly
 515 520 525
 Asn Gly Arg Arg Arg Val
 530

<210> 9

<211> 541

<212> PRT

<213> Norovirus Norwalk virus sp.

<400> 9

Met Lys Met Ala Ser Asn Asp Ala Ala Pro Ser Thr Asp Gly Ala Ala
 1 5 10 15
 Gly Leu Val Pro Glu Ser Asn Asn Glu Val Met Ala Leu Glu Pro Val
 20 25 30
 Ala Gly Ala Ala Leu Ala Ala Pro Val Thr Gly Gln Thr Asn Ile Ile
 35 40 45
 Asp Pro Trp Ile Arg Ala Asn Phe Val Gln Ala Pro Asn Gly Glu Phe
 50 55 60
 Thr Val Ser Pro Arg Asn Ala Pro Gly Glu Val Leu Leu Asn Leu Glu
 65 70 75 80
 Leu Gly Pro Glu Leu Asn Pro Tyr Leu Ala His Leu Ala Arg Met Tyr
 85 90 95
 Asn Gly Tyr Ala Gly Gly Met Glu Val Gln Val Met Leu Ala Gly Asn
 100 105 110
 Ala Phe Thr Ala Gly Lys Leu Val Phe Ala Ala Val Pro Pro His Phe
 115 120 125
 Pro Val Glu Asn Leu Ser Pro Gln Gln Ile Thr Met Phe Pro His Val
 130 135 140
 Ile Ile Asp Val Arg Thr Leu Glu Pro Val Leu Leu Pro Leu Pro Asp
 145 150 155 160

Val Arg Asn Asn Phe Phe His Tyr Asn Gln Lys Asp Asp Pro Lys Met
 165 170 175

Arg Ile Val Ala Met Leu Tyr Thr Pro Leu Arg Ser Asn Gly Ser Gly
 180 185 190

Asp Asp Val Phe Thr Val Ser Cys Arg Val Leu Thr Arg Pro Ser Pro
 195 200 205

Asp Phe Asp Phe Thr Tyr Leu Val Pro Pro Thr Val Glu Ser Lys Thr
 210 215 220

Lys Pro Phe Thr Leu Pro Ile Leu Thr Leu Gly Glu Leu Ser Asn Ser
 225 230 235 240

Arg Phe Pro Val Ser Ile Asp Gln Met Tyr Thr Ser Pro Asn Glu Val
 245 250 255

Ile Ser Val Gln Cys Gln Asn Gly Arg Cys Thr Leu Asp Gly Glu Leu
 260 265 270

Gln Gly Thr Thr Gln Leu Gln Val Ser Gly Ile Cys Ala Phe Lys Gly
 275 280 285

Glu Val Thr Ala His Leu Gln Asp Asn Asp His Leu Tyr Asn Ile Thr
 290 295 300

Ile Thr Asn Leu Asn Gly Ser Pro Phe Asp Pro Ser Glu Asp Ile Pro
 305 310 315 320

Ala Pro Leu Gly Val Pro Asp Phe Gln Gly Arg Val Phe Gly Val Ile
 325 330 335

Thr Gln Arg Asp Lys Gln Asn Ala Ala Gly Gln Ser Gln Pro Ala Asn
 340 345 350

Arg Gly His Asp Ala Val Val Pro Thr Tyr Thr Ala Gln Tyr Thr Pro
 355 360 365

Lys Leu Gly Gln Val Gln Ile Gly Thr Trp Gln Thr Asp Asp Leu Lys
 370 375 380

Val Asn Gln Pro Val Lys Phe Thr Pro Val Gly Leu Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400

His Phe Asn Gln Trp Val Val Pro Arg Tyr Ala Gly Ala Leu Asn Leu

405 410 415
 Asn Thr Asn Leu Ala Pro Ser Val Ala Pro Val Phe Pro Gly Glu Arg

420 425 430
 Leu Leu Phe Phe Arg Ser Tyr Leu Pro Leu Lys Gly Gly Tyr Gly Asn

435 440 445
 Pro Ala Ile Asp Cys Leu Leu Pro Gln Glu Trp Val Gln His Phe Tyr

450 455 460
 Gln Glu Ala Ala Pro Ser Met Ser Glu Val Ala Leu Val Arg Tyr Ile

465 470 475 480
 Asn Pro Asp Thr Gly Arg Ala Leu Phe Glu Ala Lys Leu His Arg Ala

485 490 495
 Gly Phe Met Thr Val Ser Ser Asn Thr Ser Ala Pro Val Val Val Pro

500 505 510
 Ala Asn Gly Tyr Phe Arg Phe Asp Ser Trp Val Asn Gln Phe Tyr Ser

515 520 525
 Leu Ala Pro Met Gly Thr Gly Asn Gly Arg Arg Arg Ile

530 535 540

<210> 10

<211> 547

<212> PRT

<213> Norovirus Norwalk virus sp.

<400> 10

Met Lys Met Ala Ser Asn Asp Ala Ala Pro Ser Asn Asp Gly Ala Ala
 1 5 10 15

Gly Leu Val Pro Glu Ile Asn Asn Glu Ala Met Ala Leu Glu Pro Val
 20 25 30

Ala Gly Ala Ala Ile Ala Ala Pro Leu Thr Gly Gln Gln Asn Ile Ile
 35 40 45

Asp Pro Trp Ile Met Asn Asn Phe Val Gln Ala Pro Gly Gly Glu Phe
 50 55 60

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

Asn Gly Thr Pro Tyr Asp Pro Ala Glu Asp Ile Pro Ala Pro Leu Gly
 325 330 335

Thr Pro Asp Phe Arg Gly Lys Val Phe Gly Val Ala Ser Gln Arg Asn
 340 345 350

Pro Asp Ser Thr Thr Arg Ala His Glu Ala Lys Val Asp Thr Thr Ser
 355 360 365

Asp Arg Phe Thr Pro Lys Leu Gly Ser Leu Glu Ile Ile Thr Glu Ser
 370 375 380

Gly Asp Phe Asp Thr Asn Gln Ser Thr Lys Phe Thr Pro Val Gly Ile
 385 390 395 400

Gly Val Asp Asn Glu Ala Glu Phe Gln Gln Trp Ser Leu Pro Asn Tyr
 405 410 415

Ser Gly Gln Phe Thr His Asn Met Asn Leu Ala Pro Ala Val Ala Pro
 420 425 430

Asn Phe Pro Gly Glu Gln Leu Leu Phe Phe Arg Ser Gln Leu Pro Ser
 435 440 445

Ser Gly Gly Arg Ser Asn Gly Val Leu Asp Cys Leu Val Pro Gln Glu
 450 455 460

Trp Val Gln His Phe Tyr Gln Glu Ser Ala Pro Ala Gln Thr Gln Val
 465 470 475 480

Ala Leu Val Arg Tyr Val Asn Pro Asp Thr Gly Arg Val Leu Phe Glu
 485 490 495

Ala Lys Leu His Lys Leu Gly Phe Met Thr Ile Ala Lys Asn Gly Asp
 500 505 510

Ser Pro Ile Thr Val Pro Pro Asn Gly Tyr Phe Arg Phe Glu Ser Trp
 515 520 525

Val Asn Pro Phe Tyr Thr Leu Ala Pro Met Gly Thr Gly Asn Gly Arg
 530 535 540

Arg Arg Ile

545

<210> 11

<211> 537

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Composite GII VP1 amino acid sequence

<400> 11

Met Lys Met Ala Ser Asn Asp Ala Ala Pro Ser Asn Asp Gly Ala Ala

1 5 10 15

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

 20 25 30

Ala Gly Ala Ala Ile Ala Ala Pro Leu Thr Gly Gln Thr Asn Ile Ile

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gly Pro Glu Leu Asn Pro Tyr Leu Ala His Leu Ala Arg Met Tyr

 85 90 95

Asn Gly Tyr Ala Gly Gly Met Glu Val Gln Val Met Leu Ala Gly Asn

 100 105 110

Ala Phe Thr Ala Gly Lys Leu Val Phe Ala Ala Ile Pro Pro His Phe

 115 120 125

Pro Ile Glu Asn Leu Ser Pro Gln Gln Ile Thr Met Phe Pro His Val

 130 135 140

Ile Ile Asp Val Arg Thr Leu Glu Pro Val Leu Leu Pro Leu Pro Asp

145 150 155 160

Val Arg Asn Asn Phe Phe His Tyr Asn Gln Lys Asp Asp Pro Arg Met

 165 170 175

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

 180 185 190

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

 195 200 205

Asp Phe Asp Phe Asn Tyr Leu Val Pro Pro Thr Val Glu Ser Lys Thr

Pro Ser Met Thr Glu Val Ala Leu Val Arg Tyr Ile Asn Pro Asp Thr
 465 470 475 480

Gly Arg Val Leu Phe Glu Ala Lys Leu His Arg Ala Gly Phe Met Thr
 485 490 495

Val Ala Ser Asn Gly Ser Ala Pro Ile Val Val Pro Pro Asn Gly Tyr
 500 505 510

Phe Arg Phe Asp Ser Trp Val Asn Gln Phe Tyr Ser Leu Ala Pro Met
 515 520 525

Gly Thr Gly Asn Gly Arg Arg Arg Ile
 530 535

<210> 12

<211> 544

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Consensus GI sequence

<220><221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa may be Ser Gln or Pro

<220><221> misc_feature

<222> (51)..(51)

<223> Xaa may be Pro, Met or Leu

<220><221> misc_feature

<222> (112)..(112)

<223> Xaa may be Met, Leu or Val

<220><221> misc_feature

<222> (133)..(133)

<223> Xaa may be Gly, Thr or Gln

<220><221> misc_feature

<222> (135)..(135)

<223> Xaa may be His, Ser or Arg

<220><221> misc_feature

<

222> (136)..(136)

<223> Xaa may be Asn, Ser or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (197)..(197)
 <223> Xaa may be Asn or Gly
 <220><221> misc_feature
 <222> (198)..(198)
 <223> Xaa may be Ser or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (240)..(240)
 <223> Xaa may be Ser, Gln or Lys
 <220><221> misc_feature
 <222> (241)..(241)
 <223> Xaa may be Ser, Thr or Tyr
 <220><221> misc_feature
 <222> (247)..(247)
 <223> Xaa may be Ala, Phe or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (249)..(249)

 <223> Xaa may be Leu, Ser or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (252)..(252)
 <223> Xaa may be Ser, Gln, or Glu
 <220><221> misc_feature
 <222> (255)..(255)
 <223> Xaa may be Gly, Ile or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (260)..(260)
 <223> Xaa may be Asn, Ala or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (261)..(261)
 <223> Xaa may be Val, Ser or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (263)..(263)
 <223> Xaa may be Ser, Val or Asn

<220><221> misc_feature
 <222> (285)..(285)
 <223>
 > Xaa may be Leu, Ser or Val
 <220><221> misc_feature
 <222> (289)..(289)
 <223> Xaa may be Ala, Phe or Cys
 <220><221> misc_feature
 <222> (291)..(291)
 <223> Xaa may be Ile, Val or Phe
 <220><221> misc_feature
 <222> (294)..(294)
 <223> Xaa may be Lys or Arg
 <220><221> misc_feature
 <222> (299)..(299)
 <223> Xaa may be Gly, Ala or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (310)..(310)
 <223> Xaa may be Thr, Lys or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (316)..(316)
 <223> Xaa may be Glu, Asp or Ala

 <220><221> misc_feature
 <222> (317)..(317)
 <223> Xaa may be Gly, Ser or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (321)..(321)
 <223> Xaa may be Ile, Val or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (328)..(328)
 <223> Xaa may be Gly, Lys or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (334)..(334)
 <223> Xaa may be Asn, Arg or Glu

<220><221> misc_feature
 <222> (338)..(338)
 <223> Xaa may be Phe, Thr or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (343)..(343)
 <223> Xaa may be Gly or Thr
 <220><221>
 > misc_feature
 <222> (345)..(345)
 <223> Xaa may be Thr, Gly or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (346)..(346)
 <223> Xaa may be Gln, Asp or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (348)..(348)
 <223> Xaa may be Met or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (349)..(349)
 <223> Xaa may be Arg or Val
 <220><221> misc_feature
 <222> (350)..(350)
 <223> Xaa may be Ser or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (351)..(351)
 <223> Xaa may be Tyr, Val or Asn
 <220><221> misc_feature

 <222> (354)..(354)
 <223> Xaa may be Asp, Gln or Lys
 <220><221> misc_feature
 <222> (357)..(357)
 <223> Xaa may be Pro, Val or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (359)..(359)
 <223> Xaa may be Thr, Gly or Gln

<220><221> misc_feature
 <222> (369)..(369)
 <223> Xaa may be Ala, Phe or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (372)..(372)
 <223> Xaa may be Ile, Val or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (373)..(373)
 <223> Xaa may be Gly, Phe or Val
 <220><221> misc_feature
 <222>
 > (375)..(375)
 <223> Xaa may be Pro or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (376)..(376)
 <223> Xaa may be Thr or Gly
 <220><221> misc_feature
 <222> (384)..(384)
 <223> Xaa may be Ser, Glu or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (391)..(391)
 <223> Xaa may be His, Thr or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (393)..(393)
 <223> Xaa may be Ser, Pro or Gly
 <220><221> misc_feature
 <222> (395)..(395)
 <223> Xaa may be Ser, Thr or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (396)..(396)

 <223> Xaa may be Gln, Asp or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (397)..(397)
 <223> Xaa may be Val, Ile or Thr

<220><221> misc_feature
 <222> (410)..(410)
 <223> Xaa may be Thr, Ser or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (413)..(413)
 <223> Xaa may be Thr, Ala or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (414)..(414)
 <223> Xaa may be His, Asn or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (418)..(418)
 <223> Xaa may be Ser, Pro or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (434)..(434)
 <223
 > Xaa may be Lys, Ala or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (435)..(435)
 <223> Xaa may be Met, Phe or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (440)..(440)
 <223> Xaa may be Asn or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (441)..(441)
 <223> Xaa may be Arg or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (446)..(446)
 <223> Xaa may be Asp or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (460)..(460)
 <223> Xaa may be Ala, Val or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (467)..(467)
 <223> Xaa may be Val, Met or Gln

<220><221> misc_feature

<222> (502)..(502)

<223> Xaa may be Ala, Val or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (504)..(504)

<223> Xaa may be Ser, Ala or Thr

<220><221> misc_feature

<222> (535)..(535)

<223> Xaa may be Ser, Thr or Pro

<400> 12

Met Met Met Ala Ser Lys Asp Ala Thr Xaa Ser Ala Asp Gly Ala Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Met Asp Pro Val Ala Gly Ser Ser Thr Ala Val Ala Thr Ala Gly Gln

35 40 45

Val Asn Xaa Ile Asp Pro Trp Ile Ile Asn Asn Phe Val Gln Ala Pro

50 55 60

Gln Gly Glu Phe Thr Ile Ser Pro Asn Asn Thr Pro Gly Asp Val Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Gln Met Tyr Asn Gly Trp Val Gly Asn Met Arg Val Arg Ile Xaa

100 105 110

Leu Ala Gly Asn Ala Phe Thr Ala Gly Lys Ile Ile Val Cys Cys Val

115 120 125

Pro Pro Gly Phe Xaa Ser Xaa Xaa Leu Thr Ile Ala Gln Ala Thr Leu

130 135 140

Phe Pro His Val Ile Ala Asp Val Arg Thr Leu Asp Pro Ile Glu Val

145 150 155 160

Pro Leu Glu Asp Val Arg Asn Val Leu Tyr His Asn Asn Asp Asn Gln

165 170 175

Pro Thr Met Arg Leu Val Cys Met Leu Tyr Thr Pro Leu Arg Thr Gly
 180 185 190
 Gly Gly Ser Gly Xaa Xaa Asp Ser Phe Val Val Ala Gly Arg Val Leu
 195 200 205
 Thr Cys Pro Ser Pro Asp Phe Asn Phe Leu Phe Leu Val Pro Pro Thr
 210 215 220

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

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

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

 Pro Xaa Val Tyr Pro Pro Gly Phe Gly Glu Val Leu Val Tyr Phe Met

Ser Gln Met Tyr Asn Gly Trp Val Gly Asn Met Arg Val Arg Ile Met
 100 105 110

Leu Ala Gly Asn Ala Phe Thr Ala Gly Lys Ile Ile Val Ser Cys Ile
 115 120 125

Pro Pro Gly Phe Gly Ser His Asn Leu Thr Ile Ala Gln Ala Thr Leu
 130 135 140

Phe Pro His Val Ile Ala Asp Val Arg Thr Leu Asp Pro Ile Glu Val
 145 150 155 160

Pro Leu Glu Asp Val Arg Asn Val Leu Phe His Asn Asn Asp Arg Asn
 165 170 175

Gln Gln Thr Met Arg Leu Val Cys Met Leu Tyr Thr Pro Leu Arg Thr
 180 185 190

Gly Gly Gly Thr Gly Asp Ser Phe Val Val Ala Gly Arg Val Met Thr
 195 200 205

Cys Pro Ser Pro Asp Phe Asn Phe Leu Phe Leu Val Pro Pro Thr Val
 210 215 220

Glu Gln Lys Thr Arg Pro Phe Thr Leu Pro Asn Leu Pro Leu Ser Ser
 225 230 235 240

Leu Ser Asn Ser Arg Ala Pro Leu Pro Ile Ser Ser Ile Gly Ile Ser
 245 250 255

Pro Asp Asn Val Gln Ser Val Gln Phe Gln Asn Gly Arg Cys Thr Leu
 260 265 270

Asp Gly Arg Leu Val Gly Thr Thr Pro Val Ser Leu Ser His Val Ala
 275 280 285

Lys Ile Arg Gly Thr Ser Asn Gly Thr Val Ile Asn Leu Thr Glu Leu
 290 295 300

Asp Gly Thr Pro Phe His Pro Phe Glu Gly Pro Ala Pro Ile Gly Phe
 305 310 315 320

Pro Asp Leu Gly Gly Cys Asp Trp His Ile Asn Met Thr Gln Phe Gly
 325 330 335

His Ser Ser Gln Thr Gln Tyr Asp Val Asp Thr Thr Pro Asp Thr Phe

340 345 350
 Val Pro His Leu Gly Ser Ile Gln Ala Asn Gly Ile Gly Ser Gly Asn
 355 360 365

Tyr Val Gly Val Leu Ser Trp Ile Ser Pro Pro Ser His Pro Ser Gly

370 375 380
 Ser Gln Val Asp Leu Trp Lys Ile Pro Asn Tyr Gly Ser Ser Ile Thr
 385 390 395 400

Glu Ala Thr His Leu Ala Pro Ser Val Tyr Pro Pro Gly Phe Gly Glu
 405 410 415

Val Leu Val Phe Phe Met Ser Lys Met Pro Gly Pro Gly Ala Tyr Asn
 420 425 430

Leu Pro Cys Leu Leu Pro Gln Glu Tyr Ile Ser His Leu Ala Ser Glu

435 440 445
 Gln Ala Pro Thr Val Gly Glu Ala Ala Leu Leu His Tyr Val Asp Pro
 450 455 460

Asp Thr Gly Arg Asn Leu Gly Glu Phe Lys Ala Tyr Pro Asp Gly Phe
 465 470 475 480

Leu Thr Cys Val Pro Asn Gly Ala Ser Ser Gly Pro Gln Gln Leu Pro
 485 490 495

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

500 505 510
 Leu Lys Pro Val Gly Thr Ala Ser Ser Ala Arg Gly Arg Leu Gly Leu
 515 520 525

Arg Arg

530

<210> 14

<211> 545

<212> PRT

<213> Norovirus Norwalk virus sp.

<400> 14

Met Met Met Ala Ser Lys Asp Ala Pro Gln Ser Ala Asp Gly Ala Ser
 1 5 10 15

Gly Ala Gly Gln Leu Val Pro Glu Val Asn Thr Ala Asp Pro Leu Pro
 20 25 30

Met Glu Pro Val Ala Gly Pro Thr Thr Ala Val Ala Thr Ala Gly Gln
 35 40 45

Val Asn Met Ile Asp Pro Trp Ile Val Asn Asn Phe Val Gln Ser Pro
 50 55 60

Gln Gly Glu Phe Thr Ile Ser Pro Asn Asn Thr Pro Gly Asp Ile Leu
 65 70 75 80

Phe Asp Leu Gln Leu Gly Pro His Leu Asn Pro Phe Leu Ser His Leu
 85 90 95

Ser Gln Met Tyr Asn Gly Trp Val Gly Asn Met Arg Val Arg Ile Leu
 100 105 110

Leu Ala Gly Asn Ala Phe Ser Ala Gly Lys Ile Ile Val Cys Cys Val
 115 120 125

Pro Pro Gly Phe Thr Ser Ser Ser Leu Thr Ile Ala Gln Ala Thr Leu
 130 135 140

Phe Pro His Val Ile Ala Asp Val Arg Thr Leu Glu Pro Ile Glu Met
 145 150 155 160

Pro Leu Glu Asp Val Arg Asn Val Leu Tyr His Thr Asn Asp Asn Gln
 165 170 175

Pro Thr Met Arg Leu Val Cys Met Leu Tyr Thr Pro Leu Arg Thr Gly
 180 185 190

Gly Gly Ser Gly Asn Ser Asp Ser Phe Val Val Ala Gly Arg Val Leu
 195 200 205

Thr Ala Pro Ser Ser Asp Phe Ser Phe Leu Phe Leu Val Pro Pro Thr
 210 215 220

Ile Glu Gln Lys Thr Arg Ala Phe Thr Val Pro Asn Ile Pro Leu Gln
 225 230 235 240

Thr Leu Ser Asn Ser Arg Phe Pro Ser Leu Ile Gln Gly Met Ile Leu
 245 250 255

Ser Pro Asp Ala Ser Gln Val Val Gln Phe Gln Asn Gly Arg Cys Leu

260 265 270
 Ile Asp Gly Gln Leu Leu Gly Thr Thr Pro Ala Thr Ser Gly Gln Leu
 275 280 285

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

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

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

 Thr Asn Arg Asn Leu Gly Glu Phe Lys Leu Tyr Pro Gly Gly Tyr Leu
 485 490 495
 Thr Cys Val Pro Asn Gly Val Gly Ala Gly Pro Gln Gln Leu Pro Leu
 500 505 510

Asn Gly Val Phe Leu Phe Val Ser Trp Val Ser Arg Phe Tyr Gln Leu
 515 520 525
 Lys Pro Val Gly Thr Ala Ser Thr Ala Arg Gly Arg Leu Gly Val Arg
 530 535 540

 Arg
 545
 <210> 15
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Norovirus Norwalk virus sp.
 <400> 15

 Met Met Met Ala Ser Lys Asp Ala Thr Pro Ser Ala Asp Gly Ala Thr
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Gln Leu Val Pro Glu Val Asn Thr Ala Asp Pro Ile Pro
 20 25 30
 Ile Asp Pro Val Ala Gly Ser Ser Thr Ala Leu Ala Thr Ala Gly Gln
 35 40 45
 Val Asn Leu Ile Asp Pro Trp Ile Ile Asn Asn Phe Val Gln Ala Pro

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

 115 120 125
 Pro Pro Gly Phe Gln Ser Arg Thr Leu Ser Ile Ala Gln Ala Thr Leu
 130 135 140
 Phe Pro His Val Ile Ala Asp Val Arg Thr Leu Asp Pro Val Glu Val
 145 150 155 160
 Pro Leu Glu Asp Val Arg Asn Val Leu Tyr His Asn Asn Asp Thr Gln

Pro Ala Val Tyr Pro Pro Gly Phe Asn Glu Val Ile Val Tyr Phe Met
 420 425 430

Ala Ser Ile Pro Gly Pro Asn Gln Ser Gly Ser Pro Asn Leu Val Pro
 435 440 445

Cys Leu Leu Pro Gln Glu Tyr Ile Thr His Phe Ile Ser Glu Gln Ala
 450 455 460

Pro Ile Gln Gly Glu Ala Ala Leu Leu His Tyr Val Asp Pro Asp Thr
 465 470 475 480

Asn Arg Asn Leu Gly Glu Phe Lys Leu Tyr Pro Gly Gly Tyr Leu Thr
 485 490 495

Cys Val Pro Asn Ser Ser Ser Thr Gly Pro Gln Gln Leu Pro Leu Asp
 500 505 510

Gly Val Phe Val Phe Ala Ser Trp Val Ser Arg Phe Tyr Gln Leu Lys
 515 520 525

Pro Val Gly Thr Ala Gly Pro Ala Arg Gly Arg Leu Gly Val Arg Arg
 530 535 540

<210> 16
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Composite GI VP1 amino acid sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (285)..(285)
 <223> Xaa may be Leu, Ser OR Val

<400> 16

Met Met Met Ala Ser Lys Asp Ala Thr Gln Ser Ala Asp Gly Ala Ser
 1 5 10 15

Gly Ala Gly Gln Leu Val Pro Glu Val Asn Thr Ala Asp Pro Leu Pro
 20 25 30

Met Asp Pro Val Ala Gly Ser Ser Thr Ala Val Ala Thr Ala Gly Gln
 35 40 45

Val Asn Met Ile Asp Pro Trp Ile Ile Asn Asn Phe Val Gln Ala Pro

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

Val Gly Phe Pro Asp Leu Gly Lys Cys Asp Trp His Ile Arg Met Ser
 325 330 335

Lys Thr Pro Asn Ser Ser Gly Gln Gly Asp Pro Met Arg Ser Val Ser
 340 345 350

Val Gln Thr Asn Val Gln Gly Phe Val Pro His Leu Gly Ser Ile Gln
 355 360 365

Phe Asp Glu Val Phe Ser Pro Thr Gly Asp Tyr Ile Gly Thr Ile Glu
 370 375 380

Trp Ile Ser Pro Pro Ser Thr Pro Pro Gly Thr Asp Ile Asn Leu Trp
 385 390 395 400

Lys Ile Pro Asp Tyr Gly Ser Ser Leu Ser Glu Ala Ala Asn Leu Ala
 405 410 415

Pro Pro Val Tyr Pro Pro Gly Phe Gly Glu Val Leu Val Tyr Phe Met
 420 425 430

Ser Ala Phe Pro Gly Pro Asn Asn Arg Gly Ala Pro Asn Asp Val Pro
 435 440 445

Cys Leu Leu Pro Gln Glu Tyr Ile Thr His Phe Val Ser Glu Gln Ala
 450 455 460

Pro Thr Met Gly Glu Ala Ala Leu Leu His Tyr Val Asp Pro Asp Thr
 465 470 475 480

Asn Arg Asn Leu Gly Glu Phe Lys Leu Tyr Pro Gly Gly Tyr Leu Thr
 485 490 495

Cys Val Pro Asn Gly Val Ser Ala Gly Pro Gln Gln Leu Pro Leu Asn
 500 505 510

Gly Val Phe Val Phe Val Ser Trp Val Ser Arg Phe Tyr Gln Leu Lys
 515 520 525

Pro Val Gly Thr Ala Ser Thr Ala Arg Gly Arg Leu Gly Val Arg Arg
 530 535 540

<210> 17

<211> 567
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Consensus L1 amino acid sequence
<220><221> misc_feature
<222> (29)..(29)
<223> Xaa may be Met or Leu
<220><221> misc_feature
<222> (30)..(30)
<223> Xaa may be Gln or His

<220><221> misc_feature
<222> (31)..(31)
<223> Xaa may be Val or Ser
<220><221> misc_feature
<222> (32)..(32)
<223> Xaa may be Thr or Ile
<220><221> misc_feature
<222> (33)..(33)
<223> Xaa may be Phe or Leu
<220><221> misc_feature
<222> (34)..(34)
<223> Xaa may be Ile or Val
<220><221> misc_feature
<222> (36)..(36)
<223> Xaa may be Ile or Met
<220><221> misc_feature
<222> (37)..(37)
<223> Xaa may be Leu or Val
<220><221> misc_feature
<222> (38)..(38)

<223> Xaa may be Absent or His
<220><221> misc_feature
<222> (39)..(39)

<223> Xaa may be val or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (41)..(41)
 <223> Xaa may be Thr or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (43)..(43)
 <223> Xaa may be Absent or Gly
 <220><221> misc_feature
 <222> (44)..(44)
 <223> Xaa may be Absent or His
 <220><221> misc_feature
 <222> (45)..(45)
 <223> Xaa may be Absent or Tyr
 <220><221> misc_feature
 <222> (46)..(46)
 <223> Xaa may be Absent or Ile

 <220><221> misc_feature
 <222> (47)..(47)
 <223> Xaa may be Absent or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (48)..(48)
 <223> Xaa may be Absent or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (49)..(49)
 <223> Xaa may be Tyr or Phe
 <220><221> misc_feature
 <222> (50)..(50)
 <223> Xaa may be Glu or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (51)..(51)
 <223> Xaa may be Asn or Arg
 <220><221> misc_feature
 <222> (52)..(52)
 <223> Xaa may be Asp or Asn

<220><221> misc_feature

<222> (56)..(56)

<223> Xaa may be Tyr or Phe

<220><221> misc_feature

<222> (57)..(57)

<223> Xaa may be His or Pro

<220><221> misc_feature

<222> (60)..(60)

<223> Xaa may be Phe or Leu

<220><221> misc_feature

<222> (63)..(63)

<223> Xaa may be Ser or Ala

<220><221> misc_feature

<222> (70)..(70)

<223> Xaa may be Ser, Ala or Asn

<220><221> misc_feature

<222> (84)..(84)

<223> Xaa may be Ala, Ser or Asn

<220><221> misc_feature

<222> (87)..(87)

<223> Xaa may be Ala, Glu or Asp

<220><221> misc_feature

<222> (90)..(90)

<223> Xaa may be Lys, Ala or Thr

<220><221> misc_feature

<222> (112)..(112)

<223> Xaa may be Ser, Pro or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (116)..(116)

<223> Xaa may be Pro or Gly

<220><221> misc_feature

<222> (117)..(117)

<223> Xaa may be Asn or Gly

<220><221> misc_feature
 <222> (118)..(118)
 <223> Xaa may be Val or Asn
 <220><221> misc_feature
 <222> (121)..(121)
 <223> Xaa may be Thr, Ile or Gln
 <220><221> misc_feature

 <222> (122)..(122)
 <223> Xaa may be Val, Leu or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (137)..(137)
 <223> Xaa may be Val, His or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (151)..(151)
 <223> Xaa may be Leu, Phe or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (155)..(155)
 <223> Xaa may be Thr, Asp or Glu
 <220><221> misc_feature
 <222> (164)..(164)
 <223> Xaa may be Thr, Val or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (178)..(178)
 <223> Xaa may be Val, Ile or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222>
 > (194)..(194)
 <223> Xaa may be Gly, Ser or His
 <220><221> misc_feature
 <222> (197)..(197)
 <223> Xaa may be Gly, Ala or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (198)..(198)
 <223> Xaa may be Gly, Ala or Ser

<220><221> misc_feature
 <222> (200)..(200)
 <223> Xaa may be Pro, Ala or Val
 <220><221> misc_feature
 <222> (202)..(202)
 <223> Xaa may be Gln, Val or Glu
 <220><221> misc_feature
 <222> (206)..(206)
 <223> Xaa may be Val, Glu or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (219)..(219)

 <223> Xaa may be Met, Leu or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (220)..(220)
 <223> Xaa may be Val, Ile or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (235)..(235)
 <223> Xaa may be Gln, Pro or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (237)..(237)
 <223> Xaa may be Ser, Thr or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (239)..(239)
 <223> Xaa may be Thr, Val or Arg
 <220><221> misc_feature
 <222> (240)..(240)
 <223> Xaa may be Ser, Ala or Pro
 <220><221> misc_feature
 <222> (242)..(242)

 <223
 > Xaa may be Gln, Asn or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (243)..(243)
 <223> Xaa may be Asn, Pro or Gln

<220><221> misc_feature
 <222> (272)..(272)
 <223> Xaa may be Ala, Thr or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (276)..(276)
 <223> Xaa may be Thr, Ala or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (287)..(287)
 <223> Xaa may be Gly, Thr or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (299)..(299)
 <223> Xaa may be Ala, Val or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (331)..(331)
 <223> Xaa may be Pro, Asn or Thr

 <220><221> misc_feature
 <222> (341)..(341)
 <223> Xaa may be Gly, Ser or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (343)..(343)
 <223> Xaa may be Asn, Ser or Met
 <220><221> misc_feature
 <222> (344)..(344)
 <223> Xaa may be Arg, Thr or Pro
 <220><221> misc_feature
 <222> (347)..(347)
 <223> Xaa may be Val, Leu or Pro
 <220><221> misc_feature
 <222> (351)..(351)
 <223> Xaa may be Ile, Asn or Val
 <220><221> misc_feature
 <222> (353)..(353)
 <223> Xaa may be Val, Phe or Ser
 <220>

><221> misc_feature
 <222> (360)..(360)
 <223> Xaa may be Leu, Met and Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (409)..(409)
 <223> Xaa may be Val, Ile or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (411)..(411)
 <223> Xaa may be Lys, Thr or Pro
 <220><221> misc_feature
 <222> (413)..(413)
 <223> Xaa may be Ala, Glu or Pro
 <220><221> misc_feature
 <222> (414)..(414)
 <223> Xaa may be Thr or Gly
 <220><221> misc_feature
 <222> (417)..(417)
 <223> Xaa may be Thr or Lys
 <220><221> misc_feature

<222> (420)..(420)
 <223> Xaa may be Asp, Asn or Lys
 <220><221> misc_feature
 <222> (425)..(425)
 <223> Xaa may be Met, Leu or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (441)..(441)
 <223> Xaa may be Ser, Lys or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (450)..(450)
 <223> Xaa may be Ala, Thr or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (468)..(468)
 <223> Xaa may be Ser, Gln or Pro
 <220><221> misc_feature

<222> (472)..(472)
 <223> Xaa may be Asn, Gly or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222>
 > (492)..(492)
 <223> Xaa may be Pro, His or Asp
 <220><221> misc_feature
 <222> (499)..(499)
 <223> Xaa may be Gln, Glu or Lys
 <220><221> misc_feature
 <222> (505)..(505)
 <223> Xaa may be Met, Tyr or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (506)..(506)
 <223> Xaa may be Ser, Thr or Lys
 <220><221> misc_feature
 <222> (518)..(518)
 <223> Xaa may be Ser, Ala or Leu
 <220><221> misc_feature
 <222> (537)..(537)
 <223> Xaa may be Gly, Ala or Arg
 <220><221> misc_feature
 <222> (540)..(540)

 <223> Xaa may be Ser, Lys or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (541)..(541)
 <223> Xaa may be Ala, Phe or Ile
 <220><221> misc_feature
 <222> (542)..(542)
 <223> Xaa may be absent, Arg or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (543)..(543)
 <223> Xaa may be Thr, Leu or Gly
 <220><221> misc_feature

<222> (545)..(545)
 <223> Xaa may be Ile, Lys or Arg
 <220><221> misc_feature
 <222> (548)..(548)
 <223> Xaa may be Ala or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (549)..(549)
 <223>
 Xaa may be Thr or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (551)..(551)
 <223> Xaa may be Ala, Thr or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (552)..(552)
 <223> Xaa may be Val, Thr or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (554)..(554)
 <223> Xaa may be Lys, Ser or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (555)..(555)
 <223> Xaa may be Pro, Thr or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (558)..(558)
 <223> Xaa may be Ala, Thr or Pro
 <220><221> misc_feature
 <222> (564)..(564)
 <223> Xaa may be Thr, Arg or Val

 <220><221> misc_feature
 <222> (566)..(566)
 <223> Xaa may be Thr, Leu or Ala
 <220><221> misc_feature
 <222> (567)..(567)
 <223> Xaa may be Lys or Arg
 <400> 17

Met Cys Leu Tyr Thr Arg Val Leu Ile Leu His Tyr His Leu Leu Pro
 1 5 10 15
 Leu Tyr Gly Pro Leu Tyr His Pro Arg Pro Leu Pro Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45

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

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

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

 Val Xaa Xaa Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Ile Asn Thr Val Ile

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

Arg Lys Arg Xaa Lys Xaa Xaa
 565

<210> 18

<211> 500

<212> PRT

<213> Human papillomavirus type 11

<400> 18

Met Trp Arg Pro Ser Asp Ser Thr Val Tyr Val Pro Pro Pro Asn Pro
 1 5 10 15
 Val Ser Lys Val Val Ala Thr Asp Ala Tyr Val Lys Arg Thr Asn Ile
 20 25 30
 Phe Tyr His Ala Ser Ser Ser Arg Leu Leu Ala Val Gly His Pro Tyr
 35 40 45

Tyr Ser Ile Lys Lys Val Asn Lys Thr Val Val Pro Lys Val Ser Gly
 50 55 60

Tyr Gln Tyr Arg Val Phe Lys Val Val Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe
 65 70 75 80

Ala Leu Pro Asp Ser Ser Leu Phe Asp Pro Thr Thr Gln Arg Leu Val
 85 90 95

Trp Ala Cys Thr Gly Leu Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val
 100 105 110

Gly Val Ser Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Tyr Asp Asp Val Glu Asn
 115 120 125

Ser Gly Gly Tyr Gly Gly Asn Pro Gly Gln Asp Asn Arg Val Asn Val

130 135 140
 Gly Met Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Met Val Gly Cys Ala Pro
 145 150 155 160
 Pro Leu Gly Glu His Trp Gly Lys Gly Thr Gln Cys Ser Asn Thr Ser
 165 170 175

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

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

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

 Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Ser Ile Thr Leu Ser Ala Glu Val Met
 370 375 380

Ala Tyr Ile His Thr Met Asn Pro Ser Val Leu Glu Asp Trp Asn Phe
 385 390 395 400

Gly Leu Ser Pro Pro Pro Asn Gly Thr Leu Glu Asp Thr Tyr Arg Tyr
 405 410 415

Val Gln Ser Gln Ala Ile Thr Cys Gln Lys Pro Thr Pro Glu Lys Glu
 420 425 430

Lys Gln Asp Pro Tyr Lys Asp Met Ser Phe Trp Glu Val Asn Leu Lys
 435 440 445

Glu Lys Phe Ser Ser Glu Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe
 450 455 460

Leu Leu Gln Ser Gly Tyr Arg Gly Arg Thr Ser Ala Arg Thr Gly Ile
 465 470 475 480

Lys Arg Pro Ala Val Ser Lys Pro Ser Thr Ala Pro Lys Arg Lys Arg
 485 490 495

Thr Lys Thr Lys
 500

<210> 19
 <211> 531
 <212> PRT
 <213> Human papillomavirus type 16
 <400> 19

Met Gln Val Thr Phe Ile Tyr Ile Leu Val Ile Thr Cys Tyr Glu Asn
 1 5 10 15

Asp Val Asn Val Tyr His Ile Phe Phe Gln Met Ser Leu Trp Leu Pro
 20 25 30

Ser Glu Ala Thr Val Tyr Leu Pro Pro Val Pro Val Ser Lys Val Val
 35 40 45

Ser Thr Asp Glu Tyr Val Ala Arg Thr Asn Ile Tyr Tyr His Ala Gly
 50 55 60

Thr Ser Arg Leu Leu Ala Val Gly His Pro Tyr Phe Pro Ile Lys Lys
 65 70 75 80

Pro Asn Asn Asn Lys Ile Leu Val Pro Lys Val Ser Gly Leu Gln Tyr

85 90 95
 Arg Val Phe Arg Ile His Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Phe Pro
 100 105 110

Asp Thr Ser Phe Tyr Asn Pro Asp Thr Gln Arg Leu Val Trp Ala Cys
 115 120 125

Val Gly Val Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Ile Ser
 130 135 140

Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Leu Asp Asp Thr Glu Asn Ala Ser Ala
 145 150 155 160

Tyr Ala Ala Asn Ala Gly Val Asp Asn Arg Glu Cys Ile Ser Met Asp
 165 170 175

Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Leu Ile Gly Cys Lys Pro Pro Ile Gly
 180 185 190

Glu His Trp Gly Lys Gly Ser Pro Cys Thr Asn Val Ala Val Asn Pro
 195 200 205

Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Ile Asn Thr Val Ile Gln Asp Gly
 210 215 220

Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asp Phe Thr Thr Leu Gln
 225 230 235 240

Ala Asn Lys Ser Glu Val Pro Leu Asp Ile Cys Thr Ser Ile Cys Lys
 245 250 255

Tyr Pro Asp Tyr Ile Lys Met Val Ser Glu Pro Tyr Gly Asp Ser Leu
 260 265 270

Phe Phe Tyr Leu Arg Arg Glu Gln Met Phe Val Arg His Leu Phe Asn
 275 280 285

Arg Ala Gly Ala Val Gly Glu Asn Val Pro Asp Asp Leu Tyr Ile Lys
 290 295 300

Gly Ser Gly Ser Thr Ala Asn Leu Ala Ser Ser Asn Tyr Phe Pro Thr
 305 310 315 320

Pro Ser Gly Ser Met Val Thr Ser Asp Ala Gln Ile Phe Asn Lys Pro
 325 330 335

Tyr Trp Leu Gln Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp Gly
 340 345 350
 Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn Met
 355 360 365

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

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

 Gln Ala Gly Leu Lys Ala Lys Pro Lys Phe Thr Leu Gly Lys Arg Lys
 500 505 510
 Ala Thr Pro Thr Thr Ser Ser Thr Ser Thr Thr Ala Lys Arg Lys Lys
 515 520 525
 Arg Lys Leu
 530
 <210> 20
 <211> 567
 <212> PRT
 <213> Human papillomavirus type 18
 <400> 20
 Met Cys Leu Tyr Thr Arg Val Leu Ile Leu His Tyr His Leu Leu Pro

1 5 10 15

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

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

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

 Ser Val Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Leu Gly Cys Ala Pro
 210 215 220
 Ala Ile Gly Glu His Trp Ala Lys Gly Thr Ala Cys Lys Ser Arg Pro
 225 230 235 240
 Leu Ser Gln Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Lys Asn Thr Val Leu
 245 250 255

Glu Asp Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Tyr Gly Ala Met Asp Phe Ser
 260 265 270

Thr Leu Gln Asp Thr Lys Cys Glu Val Pro Leu Asp Ile Cys Gln Ser
 275 280 285

Ile Cys Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Gln Met Ser Ala Asp Pro Tyr Gly
 290 295 300

Asp Ser Met Phe Phe Cys Leu Arg Arg Glu Gln Leu Phe Ala Arg His
 305 310 315 320

Phe Trp Asn Arg Ala Gly Thr Met Gly Asp Thr Val Pro Gln Ser Leu
 325 330 335

Tyr Ile Lys Gly Thr Gly Met Pro Ala Ser Pro Gly Ser Cys Val Tyr
 340 345 350

Ser Pro Ser Pro Ser Gly Ser Ile Val Thr Ser Asp Ser Gln Leu Phe
 355 360 365

Asn Lys Pro Tyr Trp Leu His Lys Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Val
 370 375 380

Cys Trp His Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Pro Ser
 385 390 395 400

Thr Asn Leu Thr Ile Cys Ala Ser Thr Gln Ser Pro Val Pro Gly Gln
 405 410 415

Tyr Asp Ala Thr Lys Phe Lys Gln Tyr Ser Arg His Val Glu Glu Tyr
 420 425 430

Asp Leu Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Thr Ile Thr Leu Thr Ala Asp
 435 440 445

Val Met Ser Tyr Ile His Ser Met Asn Ser Ser Ile Leu Glu Asp Trp
 450 455 460

Asn Phe Gly Val Pro Pro Pro Pro Thr Thr Ser Leu Val Asp Thr Tyr
 465 470 475 480

Arg Phe Val Gln Ser Val Ala Ile Thr Cys Gln Lys Asp Ala Ala Pro
 485 490 495

Ala Glu Asn Lys Asp Pro Tyr Asp Lys Leu Lys Phe Trp Asn Val Asp

500 505 510
 Leu Lys Glu Lys Phe Ser Leu Asp Leu Asp Gln Tyr Pro Leu Gly Arg
 515 520 525

Lys Phe Leu Val Gln Ala Gly Leu Arg Arg Lys Pro Thr Ile Gly Pro
 530 535 540
 Arg Lys Arg Ser Ala Pro Ser Ala Thr Thr Ser Ser Lys Pro Ala Lys
 545 550 555 560
 Arg Val Arg Val Arg Ala Arg
 565

<210> 21
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Consensus L1 capsid amino acid sequence
 <400> 21

Met Cys Leu Tyr Thr Arg Val Leu Ile Leu His Tyr His Leu Leu Pro

1 5 10 15
 Leu Tyr Gly Pro Leu Tyr His Pro Arg Pro Leu Pro Leu His Ser Ile
 20 25 30
 Leu Val Tyr Met Val His Ile Ile Ile Cys Gly His Tyr Ile Ile Leu
 35 40 45
 Phe Leu Arg Asn Val Asn Val Phe Pro Ile Phe Leu Gln Met Ala Leu
 50 55 60
 Trp Arg Pro Ser Asp Asn Thr Val Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Val Ser

65 70 75 80
 Lys Val Val Asn Thr Asp Asp Tyr Val Thr Arg Thr Asn Ile Phe Tyr
 85 90 95
 His Ala Gly Ser Ser Arg Leu Leu Ala Val Gly His Pro Tyr Phe Arg
 100 105 110
 Ile Lys Lys Gly Gly Gly Asn Lys Gln Asp Val Pro Lys Val Ser Gly
 115 120 125

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

