



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0027019
(43) 공개일자 2016년03월09일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/005 (2006.01) A61K 39/12 (2006.01)
C07K 16/10 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07K 14/005 (2013.01)
A61K 39/12 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2016-7001891</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2014년06월26일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2016년01월22일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2014/044410</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2014/210358
국제공개일자 2014년12월31일</p> <p>(30) 우선권주장
61/839,687 2013년06월26일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
더 유니버시티 오브 노쓰 캐롤라이나 옛 채플 힐
미합중국 노쓰 캐롤라이나 27599 채플 힐 비숍 홀
308</p> <p>(72) 발명자
메세르, 윌리엄
미국 97210 오레곤주 포틀랜드 엔더블유 우드사이드
테라스 4605
배릭, 랄프
미국 27258 노쓰 캐롤라이나주 호 리버 노쓰 스트
럼 코트 2600
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
양영준, 김영</p> |
|---|--|

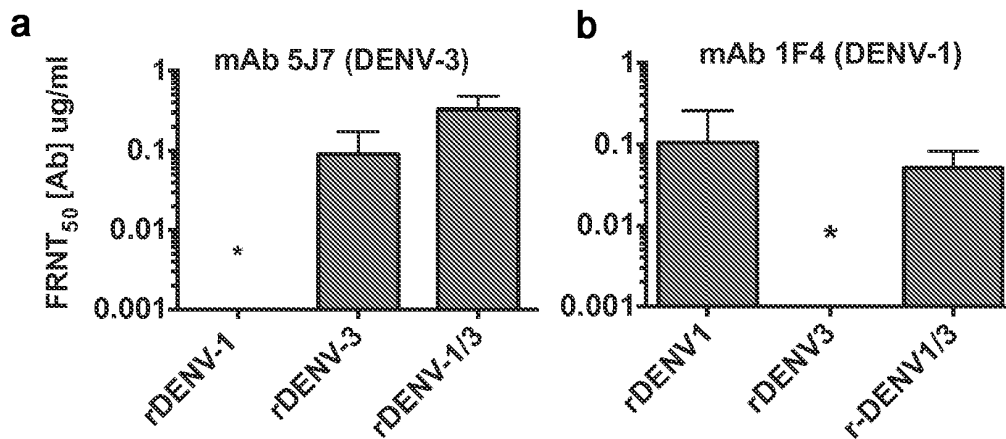
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **덴기 바이러스 백신에 대한 방법 및 조성물**

(57) 요약

본 발명은 덴기 바이러스 E 당단백질 백분의 덴기 바이러스 혈청형과 상이한 덴기 바이러스 혈청형으로부터 항체에 의해 인식되는 에피토프를 도입하는 아미노산 치환을 포함하는 덴기 바이러스 E 당단백질 백분을 포함하는 키메라 덴기 바이러스 E 당단백질을 포함하는 조성물 및 사용 방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07K 16/1081 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2319/00 (2013.01)

C12N 2770/24122 (2013.01)

C12N 2770/24134 (2013.01)

(72) 발명자

드실바, 아라빈다

미국 27514 노스 캐롤라이나주 채플 힐 화이트헤드
서클 419

윌트, 보이드

미국 27278 노스 캐롤라이나주 힐스버러 스코츠버
그 트레일 1002

명세서

청구범위

청구항 1

덴기 바이러스 E 당단백질 백본의 덴기 바이러스 혈청형과 상이한 덴기 바이러스 혈청형과 반응성인 항체에 의해 인식되는 에피토프를 도입하는 아미노산 치환을 포함하는 덴기 바이러스 E 당단백질 백본을 포함하는 키메라 덴기 바이러스 E 당단백질.

청구항 2

제1항에 있어서, 덴기 바이러스 E 당단백질 백본이 덴기 바이러스 혈청형 1로부터의 것인 키메라 덴기 바이러스 E 당단백질.

청구항 3

제1항에 있어서, 덴기 바이러스 E 당단백질 백본이 덴기 바이러스 혈청형 3으로부터의 것인 키메라 덴기 바이러스 E 당단백질.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체가 덴기 바이러스 혈청형 3과 반응성인 것인 키메라 덴기 바이러스 E 당단백질.

청구항 5

제1항 또는 제3항에 있어서, 항체가 덴기 바이러스 혈청형 1과 반응성인 것인 키메라 덴기 바이러스 E 당단백질.

청구항 6

제4항에 있어서, 항체가 모노클로날 항체 5J7인 키메라 덴기 바이러스 E 당단백질.

청구항 7

제5항에 있어서, 항체가 모노클로날 항체 1F4인 키메라 덴기 바이러스 E 당단백질.

청구항 8

제1항에 있어서, 하기 아미노산 서열:

```
MRCVGIGNRDFVEGLSGATWVDVVLEHGSCVTTMAKDKPFLDIELLKTEATQLATLRKLC
IEAKISNTTTDSRCPTQGEATLVEEQDTNFVCRRTFVDRGWNGCGLFGKGLITCAKFK
CVTKIEGKVVQYENLKYSVIVTVHTGDQHQVGNETTEHGTIATITPQAPTSEIQLTDYGA
LTLDCSPRTGLDFNEMILLTMKNKAWMVHRQWFLDLPLPWTSGASTSQETWNRQDLLVTF
KTAHAKKQEVVVVLSQEGAMHTALTGATEIQNSGGTSIFAGHLKCRLKMDKLTLLKGMSY
MCTGSFKLEKVAETQHGTVLVQVKYECTDAPCKIPFSSQDEKGVTQNGRLITANPIVTD
KEKPVNIEAEPFFGESYIVVGAGEKALKLSWFKK
```

을 포함하는 키메라 덴기 바이러스 E 당단백질.

청구항 9

제1항에 있어서, 하기 아미노산 서열:

```
MRCVGI GNRDFVEGLSGATWVDV VLEHGGCVTTMAKNKPTLDIELEFKTEVTNPAVLRKLCIEGK  
ITNITTD SRCPTQGEAVLPEEQDQNYVCKHTYVDRGWGNGCGLFPGKGLVTCAKEQCLEPIEGK  
VVQYENLKY SVIVTVHTGDQH QVGNETTEHGTTIATITPQAPTSEIQLTDYGALGLECSPTGLD  
FNEMILLPMKNKAWMVHRQWFFDLPLPWTSGATTETPTWNRKELLVTFKNAHAKKQEVVVLGSQ  
EGAMHTALPGATEIQTSCTTIFAGHLKORLKMDKLELKGMSYAMCTNTFVLKKEVSETPQHGTI  
LIKVEYKGEDAPCKIPFSTEDGQ GKAHNGRLITANPVVTKKEE PVNIEAEPPFFGESNIVIGIGD  
NALKINWYKKG
```

을 포함하는 키메라 뎅기 바이러스 E 당단백질.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 E 당단백질을 포함하는 플라비바이러스 입자 또는 바이러스 유사 입자 (VLP).

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 E 당단백질을 코딩하는 단리된 핵산 분자.

청구항 12

제10항의 플라비바이러스 입자 또는 VLP를 코딩하는 단리된 핵산 분자.

청구항 13

제약상 허용되는 담체 중 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 E 당단백질을 포함하는 조성물.

청구항 14

제약상 허용되는 담체 중 제11항 또는 제12항의 핵산 분자를 포함하는 조성물.

청구항 15

대상체에게 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 E 당단백질, 제10항의 플라비바이러스 입자, 제11항 또는 제12항의 핵산 분자 및/또는 제13항 또는 제14항의 조성물 및 그의 임의의 조합의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 뎅기 바이러스에 대한 면역 반응을 생성하는 방법.

청구항 16

대상체에게 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 E 당단백질, 제10항의 플라비바이러스 입자, 제11항 또는 제12항의 핵산 분자 및/또는 제13항 또는 제14항의 조성물 및 그의 임의의 조합의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 뎅기 바이러스 감염을 치료하는 방법.

청구항 17

대상체에게 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 E 당단백질, 제10항의 플라비바이러스 입자, 제11항 또는 제12항의 핵산 분자 및/또는 제13항 또는 제14항의 조성물 및 그의 임의의 조합의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 뎅기 바이러스 감염을 예방하는 방법.

청구항 18

대상체에게 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 E 당단백질, 제10항의 플라비바이러스 입자, 제11항 또는 제12항의 핵산 분자 및/또는 제13항 또는 제14항의 조성물 및 그의 임의의 조합의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 뎅기 바이러스 감염의 영향으로부터 대상체를 보호하는 방법.

발명의 설명

기술분야

- [0001] 우선권의 진술
- [0002] 본원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에 2013년 6월 26일에 출원된 미국 가출원 일련 번호 61/839,687에 대한 이익을 주장하며, 그 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 정부 지원의 진술
- [0004] 본 발명은 미국 국립 보건원에 의해 수여된 승인 번호 U54 AI057157 하에 정부 지원으로 이루어졌다. 미국 정부는 본 발명에서 특정 권리를 갖는다.
- [0005] 발명의 분야
- [0006] 본 발명은 단일 공급원으로부터 1종 초과와 멧기 바이러스 혈청형에 대한 중화 항체를 유도하는 멧기 바이러스 백신에 관한 것이다.

배경기술

- [0007] 멧기는 전례없는 속도로 확산되고 50개를 초과하는 국가에서 주요 건강 및 경제적 부담으로 발전된 모기-매개 플라비바이러스이다. 모든 4종의 DENV 혈청형으로부터 보호하는 현행 DENV 백신은 각각 그러한 혈청형에 대한 보호를 제공하도록 의도되는 4종 바이러스 또는 4종 재조합 단백질의 "4가" 제제로서 전달되어야 한다. 최근에 가장 진전된 4가 생 약독화 키메라 바이러스가 태국에서의 대규모 2B상 시험에서 임상적으로 의미있는 보호를 제공하는데 실패한 것에 의해 분명해진 바와 같이, 균형잡힌 항체 반응을 달성하기 위한 4가 콕테일에서 혈청형의 정확한 혼합은 알려져 있지 않다 (Sabchareon A, et al., 2012). 1종 이상의 바이러스 혈청형이 다른 것을 경쟁에서 이기기 때문에 바이러스 간섭이 실패를 야기하는 것으로 생각된다. DENV-1/3 및 DENV 3/1 키메라 바이러스는 DENV-1 및 DENV-3 면역 개체 둘 다로부터의 중화 항체에 의해 인식되는 에피토프를 제시하는 단일 바이러스이다. 이는 2종의 바이러스 (DENV-1 및 3)를 1종의 바이러스 (DENV-1/3 또는 DENV-3/1)로 대체하여, 단일 바이러스가 2종의 혈청형을 한 번에 표적화하는 중화 항체를 도출할 수 있어야 함을 나타낸다.
- [0008] <도면의 간단한 설명>
- [0009] 도 1a-b. DENV-1/3 돌연변이체의 경우에, DENV3으로부터의 EDI-II 힌지를 DENV-1 배경, WestPac'74로 이식하여, DENV-3/1 힌지 돌연변이체를 생성하였다. EDI-II 힌지는 DENV3 특이적 인간 mAb 5J7을 사용하여 규정되었다. a) 생성된 바이러스, rDENV-1/3을 모노클로날 항체 5J7에 대해 시험하였다. 본 도면은 DENV-1이 5J7에 의해 중화되지 않지만, DENV-3은 중화됨을 제시한다. 오직 DENV-3 EDI/II 힌지 만을 함유하는 rDENV-1/3은 DENV-3 중화 농도와 등가인 농도에서 5J7에 의해 중화된다. 이는 DENV-1로의 5J7 에피토프의 성공적인 이식을 입증한다. b) 본 패널은 DENV-3이 mAb 1F4에 의해 중화되지 않고, DENV-1은 1F4에 의해 중화되고, rDENV-1/3이 또한 중화됨을 제시하고, 이는 1F4가 키메라 바이러스에 여전히 결합하여 이를 중화시킬 수 있음을 나타낸다.
- [0010] 도 2a-b. 본 도면은 DENV-1, DENV-3 및 힌지 키메라 바이러스 WestPac-3001 힌지 (rDENV-1/3)에 대해 시험된 1차 DENV-1 및 DENV-3 인간 면역 혈청을 제시한다. Y - 축은 조직 배양에서 투입된 바이러스의 50%를 중화시키는데 요구되는 면역 혈청의 배수 희석을 제시한다. 보다 높은 값은 보다 강력한 혈청을 나타낸다. a) DENV-1 1차 면역 혈청은 DENV-1을 강력하게 중화시키지만 DENV-3은 그렇지 않다. rDENV-1/3은 DENV-1과 유사한 농도에서 DENV-1 면역 혈청에 의한 중화에 감수성이며, 이는 모 DENV-3 바이러스와 대조적으로 키메라 바이러스가 DENV-1 면역 혈청에 의해 인식되는 에피토프를 디스플레이함을 나타낸다. b) DENV-3 1차 면역 혈청은 DENV-1을 중화시키지 않지만 DENV-3은 중화시킨다. rDENV-1/3은 DENV-3과 유사한 농도에서 DENV-3 1차 면역 혈청에 의해 중화되며, 이는 키메라 바이러스 rDENV-1/3이 DENV-3 인간 면역 혈청 중 DENV-3 항체에 의해 표적화되는 중요한 DENV-3 에피토프를 보존함을 나타낸다. *는 중화되지 않았음을 나타낸다.
- [0011] 도 3. 본 도면은 WestPac'74 3001-힌지가 레서스 마카크(rhesus macaque)에서 28, 60, 90, 120 및 180의 감염 후 일수에 교차-중화 항체를 광범위하게 유도함을 제시한다. Y 축은 상기와 같이 중화 항체 역가를 나타낸다. X 축은 각각의 바이러스 혈청형을 나타낸다. 각각의 플롯팅 지점은 주어진 혈청형에 대한 단일 레서스 마카크에 대한 중화 역가이다. 지점의 각 클러스터를 통한 중심 선은 각각의 혈청형에 대한 각각의 마카크 군에 대한 기하 평균 중화 역가이다. 위스커는 평균의 표준 오차를 제시한다. 각각의 시점 (28, 30, 60, 90, 120, 180일)은 모든 4종의 혈청형에 대한 광범위한 교차-중화 항체 반응을 제시한다.

[0012] 도 4a-b. DENV-3/1 돌연변이체의 경우에, DENV1 (WestPac '74)로부터의 모노클로날 항체 1F4 풋프린트에 의해 규정된 EDI-II 힌지를 DENV-3 배경 (3001)에 이식하여 DENV-1/3 힌지 돌연변이체를 생성하였다. 이러한 이식을 3종의 상이한 바이러스 (1F4S, 1F4R, 및 1F4E)에 대해 실행하였고, 각각의 변이체는 보다 큰 에피토프 영역을 나타내었다. rDENV-3으로부터의 EDI-II 힌지를 제조함 rDENV-1 바이러스에 넣었다. 본 도면은 Y-축 상의 광학 밀도 (OD)에 의한 항체의 상대 결합 및 X-축 상의 증가하는 항체 농도에 의한, 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA) 데이터를 제시한다. a) 3001-1F4S, R 및 E에 대한 mAb 1F4의 결합. 키메라 바이러스에 대한 상승 곡선은, mAb 1F4와 결합하지 않는 모 3001과 대조적인, 항체의 결합을 제시한다. b) 모 3001, 3001-1F4S, R 및 E에 대한 mAb 5J7의 결합. 5J7 결합은 이들 바이러스에서 보존되는 반면에, 에피토프 공여자 icWestPac '74는 5J7과 결합하지 않는다.

[0013] 도 5a-b. 본 도면은 DENV-1, DENV-3 및 힌지 키메라 바이러스 3001-1F4E에 대해 시험된 1차 DENV-1 및 DENV-3 인간 면역 혈청을 제시한다. Y - 축은 조직 배양에서 투입된 바이러스의 50%를 중화시키는데 요구되는 면역 혈청의 배수 희석을 제시한다. 보다 높은 값은 보다 강력한 혈청을 나타낸다. a) DENV-1 1차 면역 혈청은 DENV-1을 강력하게 중화시키지만 DENV-3은 그렇지 않다. 3001 1F4E는 DENV-1과 유사한 농도에서 DENV-1 면역 혈청에 의한 중화에 감수성이며, 이는 모 DENV-3 바이러스와 대조적으로 키메라 바이러스가 DENV-1 면역 혈청에 의해 인식되는 에피토프를 디스플레이함을 나타낸다. b) DENV-3 1차 면역 혈청은 DENV-1을 중화시키지 않지만 DENV-3은 중화시킨다. 3001 1F4E는 DENV-3과 유사한 농도에서 DENV-3 1차 면역 혈청에 의해 중화되며, 이는 키메라 바이러스 3001-1F4E가 DENV-3 인간 면역 혈청 중 DENV-3 항체에 의해 표적화되는 중요한 DENV-3 에피토프를 보존함을 나타낸다.

[0014] 도 6. 레서스 마카크에서 3001-1F4E의 면역원성. WestPac-3001 힌지에 대해 관찰된 것과 일치하는, 광범위한 교차-중화 항체를 제시하는 한 시점 만을 제공한다.

발명의 내용

[0015] 본 발명은 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본의 뎅기 바이러스 혈청형과 상이한 뎅기 바이러스 혈청형과 반응성인 항체에 의해 인식되는 에피토프를 도입하는 아미노산 치환을 포함하는 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본을 포함하는 키메라 뎅기 바이러스 E 당단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본은 뎅기 바이러스 혈청형 1로부터의 것이고, 한 실시양태에서 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본은 뎅기 바이러스 혈청형 3으로부터의 것이다. 일부 실시양태에서 항체는 뎅기 바이러스 혈청형 3과 반응성이고 (예를 들어, 모노클로날 항체 5J7), 다른 실시양태에서 항체는 뎅기 바이러스 혈청형 1과 반응성이다 (예를 들어, 모노클로날 항체 1F4).

[0016] 본 발명은 하기 아미노산 서열:

```
MRCVGIGNRDFEGLSGATWVDVVLEHGGCVTTMAKNDKPTLDIELLKTEATQLATLRKLC
IEAKISNTTDSRCPTQGEATLVEEQDTNEVCRRTFVDRGWGNGCGLEFGKGSLITCAKFK
CVTKIEGKVVQYENLKYSVIVTVHTGDQHQVGNETTEHGTIATITPQAPTSEIQLTDYGA
LTLDCSPRTGLDFNEMILLTMKNKAWMVHRQWFLDPLPWTSGASTSQETWNRQDLLVTF
KTAHAKKQEVVVLGSGQEGAMHTALTGATEIQNSGGTSIFAGHLKCRLKMDKLTLKGMSSYV
MCTGSFKLEKEVAETQHGTVLVQVKYEGTDAPCKIPFSSQDEKGVTQNGRLLITANPIVTD
KEKFPVIEAEPFFGESYIVVGGAGEKALKLSWFKKG
```

[0017] 을 포함하는 키메라 뎅기 바이러스 E 당단백질을 추가로 제공한다.

[0019] 또한 본원은 하기 아미노산 서열:

```
MRCVGIGNRDFEGLSGATWVDVVLEHGGCVTTMAKNDKPTLDIELLKTEATQLATLRKLCIE
GKITNITTTDSRCPTQGEAVLPEEQDQNYVCKHTYVDRGWGNGCGLEFGKGSSLVTCAKFQCLEP
IEGKVVQYENLKYSVIVTVHTGDQHQVGNETTEHGTIATITPQAPTSEIQLTDYGALGLECS
FRTGLDFNEMILLTMKNKAWMVHRQWFFDLPLPWTSGATTETFTWNRKELLVTFKNAHAKKQ
EVVVLGSGQEGAMHTALTGATEIQNSGGTSIFAGHLKCRLKMDKLTLKGMSSYAMCTNTFVLKK
EVSETQHGTILIKVYKCEDAPCKIPFSTEDGGQKAHNGRLLITANPVVTKKEEFPVIEAEPF
FGESNIVIGIGDNALKINWYKKG
```

[0020] 을 포함하는 키메라 뎅기 바이러스 E 당단백질을 제공한다.

[0022] 추가로 본원은 본 발명의 E 당단백질을 포함하는 플라비바이러스 입자 또는 바이러스 유사 입자 (VLP)를 제공한다.

[0023] 본 발명의 E 당단백질을 코딩하는 단리된 핵산 분자, 뿐만 아니라 본 발명의 플라비바이러스 입자 또는 VLP를

코딩하는 단리된 핵산 분자가 또한 본원에서 제공된다.

- [0024] 본 발명은 또한 제약상 허용되는 담체 중 본 발명의 E 당단백질을 포함하는 조성물을 제공하고, 제약상 허용되는 담체 중 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 조성물을 제공한다.
- [0025] 또한, 본 발명은 대상체 (예를 들어, 뎅기 바이러스에 대한 면역 반응의 생성을 필요로 하는 대상체)에게 본 발명의 E 당단백질, 본 발명의 플라비바이러스 입자, 본 발명의 핵산 분자 및/또는 본 발명의 조성물 및 그의 임의의 조합의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 뎅기 바이러스에 대한 면역 반응을 생성하는 방법을 제공한다.
- [0026] 본 발명은 또한 대상체에게 본 발명의 E 당단백질, 본 발명의 플라비바이러스 입자, 임의의 본 발명의 핵산 분자 및/또는 본 발명의 조성물 및 그의 임의의 조합의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 뎅기 바이러스 감염을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0027] 추가로 본원은 대상체 (예를 들어, 뎅기 바이러스 감염의 예방을 필요로 하는 대상체)에게 본 발명의 E 당단백질, 본 발명의 플라비바이러스 입자, 임의의 본 발명의 핵산 분자 및/또는 본 발명의 조성물 및 그의 임의의 조합의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 뎅기 바이러스 감염을 예방하는 방법을 제공한다.
- [0028] 대상체 (예를 들어, 뎅기 바이러스 감염의 영향으로부터 보호를 필요로 하는 대상체)에게 본 발명의 E 당단백질, 본 발명의 플라비바이러스 입자, 임의의 본 발명의 핵산 분자 및/또는 본 발명의 조성물 및 그의 임의의 조합의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 뎅기 바이러스 감염의 영향으로부터 대상체를 보호하는 방법도 또한 본원에서 제공된다.
- [0029] 본 발명은 추가로, 대상체에서 뎅기 바이러스에 대한 면역 반응을 생성하고/거나, 뎅기 바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 대상체에서 뎅기 바이러스 감염을 치료하고/거나, 대상체에서 뎅기 바이러스 감염을 예방하고/거나, 뎅기 바이러스 감염의 영향으로부터 대상체를 보호하기 위한 의약의 제조에 사용하기 위한, 본 발명의 E 당단백질, 본 발명의 플라비바이러스 입자, 본 발명의 핵산 분자 및/또는 본 발명의 조성물을 제공한다.
- [0030] 또한 본원은 대상체에서 뎅기 바이러스에 대한 면역 반응을 생성하고/거나, 뎅기 바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 대상체에서 뎅기 바이러스 감염을 치료하고/거나, 대상체에서 뎅기 바이러스 감염을 예방하고/거나, 뎅기 바이러스 감염의 영향으로부터 대상체를 보호하는데 사용하기 위한 본 발명의 E 당단백질, 본 발명의 플라비바이러스 입자, 본 발명의 핵산 분자 및/또는 본 발명의 조성물의 용도를 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0031] 본 발명은 DENV 혈청형을 규정하는 에피토프 영역을 상이한 DENV 혈청형의 단백질 백본으로 전달하여, 둘 다의 혈청형에 대한 항체 표적을 함유함으로써 단일 공급원으로부터 2종의 상이한 DENV 혈청형에 대한 중화 항체를 유도할 수 있는 2가 백신으로서 기능하는 키메라 분자를 생성할 수 있다는 예상치 못한 발견을 기반으로 한다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본의 뎅기 바이러스 혈청형과 상이한 뎅기 바이러스 혈청형과 반응성인 항체에 의해 인식되는 에피토프를 도입하는 아미노산 치환을 포함하는 키메라 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본의 구축을 위한 플랫폼을 제공한다.
- [0032] 일부 실시양태에서, 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본은 뎅기 바이러스 혈청형 1로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본은 뎅기 바이러스 혈청형 2, 뎅기 바이러스 혈청형 3 또는 뎅기 바이러스 혈청형 4로부터의 것일 수 있다.
- [0033] 일부 실시양태에서, 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본의 뎅기 바이러스 혈청형과 상이한 뎅기 바이러스 혈청형과 반응성인 항체는 뎅기 바이러스 혈청형 3과 반응성인 항체이다. 이러한 항체의 비제한적 예는 모노클로날 항체 5J7이다.
- [0034] 다른 실시양태에서, 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본의 뎅기 바이러스 혈청형과 상이한 뎅기 바이러스 혈청형과 반응성인 항체는 뎅기 바이러스 혈청형 1, 뎅기 바이러스 혈청형 2 또는 뎅기 바이러스 혈청형 4와 반응성인 항체이다.
- [0035] 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본에 대한 제1 뎅기 바이러스 혈청형 및 E 당단백질 백본 내에 도입된 에피토프를 인식하는 항체의 표적인 제2 뎅기 바이러스 혈청형의 임의의 조합이 사용될 수 있지만, 단 제1 뎅기 바이러스 혈청형 및 제2 뎅기 바이러스 혈청형은 상이하다는 것 (즉, 동일한 혈청형이 아님)이 이해되어야 한다.

[0036] 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 탱기 바이러스 E 당단백질은 하기 아미노산 서열을 포함하거나, 그로 본질적으로 이루어지거나, 또는 그로 이루어질 수 있다:

[0037] WestPac74-3001 힌지 (rDENV-1/3)

```
MRCVGIGNRDFVEGLSGATWVDVVLEHGSCVTTMAKDKPTLDIELLKTEATQLATLRKLC
IEAKISNTTTDSRCPTQGEATLVEEQDTNFVCRRTFVDRGWGNGCGLFGKGSLITCAKFK
CVTKIEGKVVQYENLKYSVIVTVHTGDQHQVGNETTEHGTIATITPQAPTSEIQLTDYGA
LTLDCSPRTGLDFNEMILLTMKNKAWMVHRQWFLDLPLPWTSGASTSQETWNRQDLLVTF
KTAHAKKQEVVVLGSQEGAMHTALTCATEIQNSGGTSIFAGHLKCRLKMDKLTLKGMSYV
MCTGSFKLEKEVAETQHGTVLVQVKYEGTDAPCKIPFSSQDEKGVTQNGRLITANPIVTD
KEKPVNIEAEPFFGESYIVVGAGEKALKLSWFKKG
```

[0038]

[0039] 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 탱기 바이러스 E 당단백질은 하기 아미노산 서열을 포함하거나, 그로 본질적으로 이루어지거나, 또는 그로 이루어질 수 있다:

[0040] 3001-1F4E (rDENV-3/1)

```
MRCVGIGNRDFVEGLSGATWVDVVLEHGSCVTTMAKNKPTLDIELFKTEVTNPAVLRKLCIE
GKITNITTTDSRCPTQGEAVLPEEQDQNYVCKHTYVDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAKFQCLEP
IEGKVVQYENLKYSVIVTVHTGDQHQVGNETTEHGTIATITPQAPTSEIQLTDYGALGLECS
PRTGLDFNEMILLTMKNKAWMVHRQWFFDLPLPWTSGATPTETPTWNRKELLVTFKNAHAKKQ
EVVVLGSQEGAMHTALTCATEIQTSGTTIFAGHLKCRLKMDKLELKGMSYAMCTNTFVLKK
EVSETQHGTVILIKVEYKGEDAPCKIPFSTEDGQGAHNRLITANFVVTKKKEPVNIEAEPF
FGESNIVIGIGDNALKINWYKKG
```

[0041]

[0042] 본 발명은 또한 본 발명의 키메라 E 당단백질을 포함하는 플라비바이러스 입자 또는 바이러스 유사 입자 (VLP)를 제공한다.

[0043] 본 발명의 키메라의 생성은 표 1에서 확인되는 아미노산 치환의 일부 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 등) 또는 전부를 탱기 바이러스 E 당단백질 백본 또는 플라비바이러스 E 당단백질 백본 내로 도입하는 것에 의해 수행될 수 있다. 표 1에서 확인되는 모든 아미노산이 본 발명의 키메라 단백질의 생성을 위해 치환되도록 요구되는 것은 아니다. 예를 들어, 일부 실시양태에서 각각의 에피토프 영역으로서 표 1에서 확인되는 인접 아미노산 서열의 어느 한 말단에서 약 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산의 추가의 치환 및/또는 치환의 생략이 본 발명의 키메라의 생성에 포함될 수 있다. 목적하는 입체형태적 에피토프를 생성하는데 필요한 치환의 수는 본원의 교시에 따라, 그리고 관련 기술분야에 널리 공지되어 있는 프로토콜에 따라 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 표 1에서 아미노산 위치 넘버링은 본원에 제공된 바와 같은 WestPac74 (DENV-1)의 아미노산 서열 또는 UNC 3001 (DENV-3)의 아미노산 서열을 기반으로 한다. 그러나 다른 탱기 바이러스 E 당단백질 아미노산 서열 또는 다른 플라비바이러스 E 당단백질 아미노산 서열에서 동등한 아미노산 위치가 용이하게 확인될 수 있고, 본 발명의 키메라 단백질의 생성에 사용될 수 있음은 통상의 기술자에 의해 용이하게 이해될 것이다.

[0044] 표 2는 DENV-3과 반응성인 모노클로날 항체 5J7에 의해 인식되는 에피토프를 도입하기 위해 DENV-1 E 당단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 대해 이루어질 수 있는 변형의 한 예를 제시한다. 이들 치환을 포함하는 뉴클레오티드 서열의 번역으로부터 생성된 아미노산 서열은 다음과 같다:

```
MRCVGIGNRDFVEGLSGATWVDVVLEHGSCVTTMAKDKPTLDIELLKTEATQLATLRKLC
IEAKISNTTTDSRCPTQGEATLVEEQDTNFVCRRTFVDRGWGNGCGLFGKGSLITCAKFK
CVTKIEGKVVQYENLKYSVIVTVHTGDQHQVGNETTEHGTIATITPQAPTSEIQLTDYGA
LTLDCSPRTGLDFNEMILLTMKNKAWMVHRQWFLDLPLPWTSGASTSQETWNRQDLLVTF
KTAHAKKQEVVVLGSQEGAMHTALTCATEIQNSGGTSIFAGHLKCRLKMDKLTLKGMSYV
MCTGSFKLEKEVAETQHGTVLVQVKYEGTDAPCKIPFSSQDEKGVTQNGRLITANPIVTD
KEKPVNIEAEPFFGESYIVVGAGEKALKLSWFKKG
```

[0045]

[0046] 표 2에 제공된 변형은 상기 아미노산 서열을 수득할 수 있는 방법의 한 예를 제공하며, 아미노산 코돈의 축중성으로 인해 이러한 아미노산 서열을 수득하기 위해 DENV-3 E 당단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 수많은 다른 변형이 이루어질 수 있음을 이해할 것이다.

[0047] 표 3은 WestPac'74 3001-힌지가 500,000 감염 단위의 바이러스에 의해 피하로 감염된 레서스 마카크에서 감염성을 제시한다. 각각의 일에 보고된 값은 면역초점 검정에 의해 정량화된 로그 변환된 원숭이 혈청 바이러스 역가이다.

- [0048] 표 4. 레서스 마카크에서 3001-1F4E의 약독화. 이러한 표는 3001-1F4E가 500,000 감염 단위의 바이러스에 의해 피하로 감염된 레서스 마카크에서 감염성임을 제시한다. 그러나, 이 바이러스는 정량적 검출 수준 미만이다 (50 감염성 바이러스/mL 혈청). 보다 민감한 검정, 지연된 포커스 검정은 <50 감염 단위/mL의 바이러스를 검출할 수 있지만, 낮은 수준으로 존재하는 바이러스는 정량화할 수 없다. 따라서, 본 발명자들의 가장 민감한 검정에 의해 바이러스가 검출된 일은 "+"로 양으로 스코어링한다. 감염된 총 일수를 좌측 칼럼에 제시한다. 낮은 수준의 바이러스혈증 및 낮은 감염된 평균 일수 (2.25일)는 마카크에서의 바이러스 약독화와 일치한다.
- [0049] 표 5. 키메라 바이러스 DENV 1/3을 추가로 특성화하기 위해, DENV-1 특이적 모노클로날 항체, 1F4로 탐침하였다. 1F4는 혈청형 특이적이고, 그의 표적 에피토프는 EDI-II 힌지 내에 존재한다. 이식된 DENV-3 EDI-II 힌지가 1F4 에피토프를 교란시키는 경우에, 1F4는 키메라 WestPac74/3001 바이러스를 더 이상 중화시키지 않아야 한다.
- [0050] 일부 실시양태에서, 본 발명은 뎅기 바이러스가 아닌 플라비바이러스로부터의 플라비바이러스 E 당단백질 내에 뎅기 바이러스 에피토프를 도입하기 위해 아미노산 치환이 이루어진 키메라 플라비바이러스 E 당단백질을 제공한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명은 뎅기 바이러스 E 당단백질 백본이 아닌 플라비바이러스 E 당단백질 백본을 포함하는 키메라 E 당단백질을 포함하는 플라비바이러스 E 당단백질을 제공하며, 여기서 플라비바이러스 E 당단백질 백본은 뎅기 바이러스와 반응성인 항체에 의해 인식되는 에피토프를 도입하는 아미노산 치환을 포함한다.
- [0051] 사용될 수 있는 플라비바이러스의 비제한적 예는 황열 바이러스(yellow fever virus)(YFV) (예를 들어, 진뱅크(GenBank)® 데이터베이스 수탁 번호 JX503529), 일본 뇌염 바이러스(Japanese encephalitis virus)(JEV) (예를 들어, 진뱅크® 데이터베이스 수탁 번호 U14163), 웨스트 나일 바이러스(West Nile virus)(WNV) (예를 들어, 진뱅크® 데이터베이스 수탁 번호 DQ211652) 및 현재 공지되어 있거나 이후에 확인될 임의의 다른 플라비바이러스를 포함한다.
- [0052] 뎅기 바이러스 백신을 생성하기 위한 많은 시도는 비-중화 항체의 생성을 야기하고, 이는 천연 감염 또는 백신에 대한 후속 노출 시 병리상태의 가능성을 증가시킬 수 있는 것으로 관련 기술분야에 공지되어 있다. 조작된 에피토프를 제공하기 위한 또 다른 접근법은 또 다른 플라비바이러스 입자 또는 VLP 내에 혼입되어 있는 뎅기 바이러스 E 단백질의 전부 또는 일부를 전달하는 것이다. 대표적인 실시양태에서, 이종 플라비바이러스는 웨스트 나일 바이러스 또는 황열 바이러스이다. E 단백질의 부분은, 예를 들어 뎅기 바이러스 E 단백질 및/또는 다른 뎅기 바이러스 구조 단백질 내에 존재하는 비-중화 에피토프에 대한 비-중화 뎅기 바이러스 항체의 생성을 감소시키기 위해 이종 플라비바이러스 백본의 E 단백질에 그래프팅될 수 있다.
- [0053] 따라서, 키메라 플라비바이러스 또는 키메라 플라비바이러스 VLP는 키메라 플라비바이러스 또는 플라비바이러스 VLP 내에 존재하지 않는 뎅기 바이러스 E 단백질 및/또는 다른 구조 단백질의 다른 부분에 대한 비-중화 항체의 생성을 감소시키는 한편 4차 뎅기 바이러스 에피토프를 적절한 입체형태로 제시할 수 있다.
- [0054] 본 발명의 일부 실시양태에서 플라비바이러스 E 당단백질 또는 뎅기 바이러스 E 당단백질의 개별적 및 입체형태적 에피토프는 합성 백본 또는 지지체 구조 상에서 제시되어, 합성 백본 또는 지지체 구조 내의 에피토프가 E 당단백질, 바이러스 입자 또는 VLP의 구조 내의 에피토프의 입체형태 및 배열을 모방하도록 할 수 있다.
- [0055] 본 발명의 추가 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 E 당단백질의 개별적 및 입체형태적 에피토프를 모방한 펩티드 미모토프 (문헌 [Meloan et al. (2000) J. Mol. Recognit. 13, 352-359] 참조)를 제공한다. 미모토프는 임의의 관련 기술분야에 공지된 기술을 사용하여, 예컨대 표면 자극, 무작위 펩티드 라이브러리 또는 파지 디스플레이 라이브러리에 의해, 본 발명의 E 당단백질의 개별적 및 입체형태적 에피토프에 대한 항체 또는 항체들을 사용하여 확인될 수 있다.
- [0056] 본 발명은 뎅기 바이러스 에피토프 또는 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 (예를 들어, 단리된 핵산)을 추가로 제공한다.
- [0057] 본 발명은 본 발명의 키메라 플라비바이러스 VLP 또는 키메라 플라비바이러스 입자 (예를 들어, 플라비바이러스 입자의 바이러스 코트)를 코딩하는 핵산 (예를 들어, 단리된 핵산)을 추가로 제공한다.
- [0058] 또한, 본 발명의 핵산을 코딩하는 벡터를 제공한다.
- [0059] 또한, 본 발명의 벡터, 핵산, 뎅기 바이러스 에피토프, 폴리펩티드, 키메라 플라비바이러스 VLP 또는 키메라 플라비바이러스 입자를 포함하는 세포를 제공한다.

- [0060] 본 발명은 또한 본 발명의 세포, 벡터, 핵산, 뎅기 바이러스 에피토프, 폴리펩티드, 키메라 플라비바이러스 VLP 또는 키메라 플라비바이러스 입자를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 실시양태에서, 면역원성 조성물은 1가이다. 실시양태에서, 면역원성 조성물은 뎅기 바이러스 혈청형 DEN1, DEN2, DEN 3 및/또는 DEN4에 대해 다가가 (예를 들어, 4가)이다.
- [0061] 본 발명은 대상체에게 본 발명의 뎅기 바이러스 에피토프, 폴리펩티드, 키메라 플라비바이러스 VLP 또는 키메라 플라비바이러스 입자, 핵산, 벡터, 세포 또는 면역원성 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 뎅기 바이러스에 대한 면역 반응을 생성하는 방법을 포괄한다.
- [0062] 추가로, 본 발명은 1, 2, 3 또는 모든 4종의 DEN1, DEN2, DEN3 및 DEN4에 대한 면역 반응을 유도하기 위해 유리하게 실시될 수 있다. 혈청형 사이의 간섭 문제로 인해 효과적이고 안전한 다가 뎅기 백신을 설계하는 것이 도전과제인 것으로 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 면역 반응은 표적 혈청형 중 일부에 대해서만 우세하게 지시될 수 있다. 모든 혈청형에 대한 반응을 달성하기 위해서는 다중 백신접종을 시도하는 것이 요구되지만; 그러나, 뎅기 바이러스의 경우에, 이러한 접근법은 항체가 이미 존재하는 대상체에 대한 반복 투여가 뎅기 출혈열로 이어질 수 있기 때문에 위험할 수 있다.
- [0063] 본 발명의 추가 측면은 대상체에게 본 발명의 뎅기 바이러스 에피토프, 폴리펩티드, 키메라 플라비바이러스 VLP 또는 키메라 플라비바이러스 입자, 핵산, 벡터, 세포, 또는 면역원성 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 뎅기 바이러스 감염을 치료하는 방법이다.
- [0064] 본 발명의 추가 측면은 대상체에게 본 발명의 뎅기 바이러스 에피토프, 폴리펩티드, 키메라 플라비바이러스 VLP 또는 키메라 플라비바이러스 입자, 핵산, 벡터, 세포, 또는 면역원성 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 뎅기 바이러스 감염을 예방하는 방법이다.
- [0065] 본 발명의 추가 측면은 대상체에게 본 발명의 뎅기 바이러스 에피토프, 폴리펩티드, 키메라 플라비바이러스 VLP 또는 키메라 플라비바이러스 입자, 핵산, 벡터, 세포, 또는 면역원성 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 뎅기 바이러스 감염의 영향으로부터 대상체를 보호하는 방법이다.
- [0066] 4종의 뎅기 바이러스 혈청형 (DENV-1, DENV-2, DENV-3 및 DENV-4)이 존재한다. 각각의 혈청형 내에는 수많은 상이한 균주 또는 유전자형이 존재한다. 본 발명의 뎅기 바이러스 항원 및 에피토프는 현재 공지되어 있거나 이후에 확인될 모든 혈청형, 균주 및 유전자형을 비롯하여 임의의 뎅기 바이러스로부터 유래될 수 있다.
- [0067] 본 발명의 실시양태에서, 뎅기 바이러스는 UNC1017 균주 (DEN1), 웨스트 퍼시픽(West Pacific) 74 균주 (DEN1), S16803 균주 (DEN2), UNC2005 균주 (DEN2), UNC3001 균주 (DEN3), UNC3043 (DEN3 균주 059.AP-2, 필리핀, 1984), UNC3009 균주 (DEN3, D2863, 스리랑카 1989), UNC3066 (DEN3, 균주 1342, 푸에르토리코, 1977), CH53489 균주 (DEN3), UNC4019 균주 (DEN4), 또는 TVP-360 (DEN4)이다.
- [0068] 본 발명의 실시양태에서, 뎅기 바이러스 폴리펩티드의 "면역원성 활성 단편" (예를 들어, E 단백질)은 적어도 약 6, 8, 10, 12, 15, 20, 30, 50, 75, 100, 125, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450개 또는 그 초과인 아미노산, 임의로 인접 아미노산, 및/또는 약 495, 475, 450, 425, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 75 또는 50개 미만의 아미노산, 임의로 인접 아미노산 (하한치가 상한치 미만인 한 상기의 임의의 조합을 포함)을 포함하거나, 그로 본질적으로 이루어지거나, 또는 그로 이루어지고, "면역원성 활성 단편"은 숙주에서 뎅기 바이러스에 대해 면역 반응 (예를 들어, 천연 항원과 반응하는 IgG 및/또는 IgA), 임의로 보호성 면역 반응을 유도하고, 본 발명자들에 의해 새롭게 확인된 4차 뎅기 바이러스 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체의 생산을 유도한다.
- [0069] 본원에 사용된 용어 "에피토프"는 적절한 입체형태로 존재하는 경우에 항체 (예를 들어, B 세포 에피토프) 또는 T 세포 수용체 (예를 들어, T 세포 에피토프)에 대해 반응성 부위를 제공하는 특정 아미노산 서열을 의미한다.
- [0070] B-세포 에피토프를 포함하는 주어진 폴리펩티드의 부분은 관련 기술분야에 공지되어 있는 임의의 수의 에피토프 맵핑 기술을 사용하여 확인될 수 있다. (예를 들어, 문헌 [Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed., 1996, Humana Press, Totowa, N.J.] 참조). 예를 들어, 선형 에피토프는, 예를 들어 고체 지지체 상에서 단백질 분자의 부분에 상응하는 다수의 펩티드를 공동으로 합성하고, 펩티드가 상기 지지체에 부착되어 있는 동안 상기 펩티드를 항체와 반응시킴으로써 결정될 수 있다. 이러한 기술은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 미국 특허 번호 4,708,871; 문헌 [Geysen et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002; Geysen et al. (1986) Molec. Immunol. 23:709-715]에 기

재되어 있다.

- [0071] 유사하게, 아미노산의 공간 입체형태를 예컨대 예를 들어 X-선 결정학 및 2차원 핵 자기 공명에 의해 결정함으로써 입체형태적 에피토프를 용이하게 확인할 수 있다. 또한, 단백질의 항원 영역은 표준 항원성 및 소수친수성 플롯, 예컨대 예를 들어 옥스포드 몰레큘라 그룹(Oxford Molecular Group)으로부터 입수가 가능한 오미가(Omiga) 버전 1.0 소프트웨어 프로그램을 사용하여 계산된 것을 사용하여 확인할 수 있다. 이러한 컴퓨터 프로그램은 항원성 프로파일을 결정하기 위해 홉/우즈(Hopp/Woods) 방법 (Hopp et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA (1981) 78:3824-3828) 및 소수친수성 플롯을 위해 카이트-두리틀(Kyte-Doolittle) 기술 (Kyte et al., J. Mol. Biol. (1982) 157:105-132)을 사용한다.
- [0072] 일반적으로, 대상체의 면역계의 세포성 아암을 자극하는데 관여하는 T-세포 에피토프는 약 8-25개의 아미노산의 짧은 펩티드이다. T-세포 에피토프를 확인하는 통상적인 방식은 중첩 합성 펩티드를 사용하고, 예를 들어 효소-연결된 면역스팟 검정 (ELISPOT)을 사용하여 관심 항원에 대해 면역화된 동물로부터 T 세포에 의해 인식되는 이들 펩티드의 풀 또는 개별 펩티드를 분석하는 것이다. 이들 중첩 펩티드는 또한 다른 검정, 예컨대 시토카인 방출 또는 분비의 자극에서 사용될 수 있거나, 또는 펩티드를 함유하는 주요 조직적합성 (MHC) 사량체를 구축하는 것에 의해 평가될 수 있다. 이러한 면역원성 활성 단편은 또한 관심 항원으로부터의 다양한 단편에 의한 자극에 반응하여 림프구 증식을 자극하는 그의 능력을 기반으로 하여 확인할 수 있다.
- [0073] 본 발명은 예방, 치료 및/또는 진단 목적을 위해 실시될 수 있다. 또한, 본 발명은 임의의 목적, 예컨대 진단 또는 연구 목적을 위해, 또는 또 다른 대상체로의 전달에 의한 수동 면역화를 위해 항체를 생산하기 위해 실시될 수 있다.
- [0074] 본 발명은 본 발명의 1종 이상의 조성물을 포함하는 키트를 추가로 제공한다. 본 발명의 키트는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있는 바와 같이, 적절한 완충제 및/또는 희석제 및/또는 다른 용액과 함께 키트의 시약 (예를 들어, 항체, 항원, 핵산)을 수용하기 위한 1개 이상의 용기 및/또는 리셉터클, 및 키트를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함할 수 있는 것으로 통상의 기술자에 의해 잘 이해될 것이다. 이러한 키트는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있는 바와 같이, 아주반트 및/또는 다른 면역자극 또는 면역조절제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0075] 본 발명의 조성물 및 키트는 또한 다른 의약제, 제약 작용제, 담체, 희석제, 면역자극 시토카인 등을 포함할 수 있다. 이러한 투여 형태의 실제 제조 방법은 이러한 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있거나, 자명할 것이다.
- [0076] 대상체에 대한 투여는 관련 기술분야에 공지된 임의의 경로에 의할 수 있다. 비제한적 예로서, 투여 경로는 흡입 (예를 들어, 경구 및/또는 비강 흡입), 경구, 협측 (예를 들어, 설하), 직장, 질, 국소 (기도로의 투여 포함), 안내, 경피, 비경구 (예를 들어, 근육내 [예를 들어, 골격근에의 투여], 정맥내, 동맥내, 복강내 등), 피하 (발바닥으로의 투여 포함), 피내, 흉막내, 뇌내, 및/또는 척수강내 경로에 의할 수 있다.
- [0077] 본 발명의 에피토프, 폴리펩티드, VLP 및 바이러스 벡터는 그 자체로, 또는 그것을 코딩하는 핵산 (예를 들어, DNA)을 전달하는 것에 의해 전달될 수 있다.
- [0078] 면역조절 화합물, 예컨대 면역조절 케모카인 및 시토카인 (바람직하게는, CTL 유도 시토카인)이 대상체에게 공동으로 투여될 수 있다.
- [0079] 시토카인은 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 투여될 수 있다. 외인성 시토카인이 대상체에게 투여될 수 있거나, 또는 대안적으로 시토카인을 코딩하는 핵산이 적합한 벡터를 사용하여 대상체에게 전달될 수 있고, 시토카인은 생체내 생산된다. 특정한 실시양태에서, 바이러스 아주반트가 시토카인을 발현한다.
- [0080] 본 발명의 실시양태에서, 본 발명의 조성물의 다중 투여량 (예를 들어, 2, 3 또는 그 초과)은 검출가능한 병원성 (예를 들어, 뎅기 쇼크 증후군/뎅기 출혈열) 없이 투여될 수 있다.
- [0081] 본 발명의 실시양태에서, 본 발명의 다가 백신은 면역 간섭을 생성하지 않으며, 예를 들어 제시된 모든 항원에 대해 균형잡힌 면역 반응이 유도된다. 본 발명의 실시양태에서, 균형잡힌 반응은 DENV-1, DENV-2, DENV-3 및 DENV-4에 대해 보호성 면역을 생성한다.
- [0082] 본 발명의 실시양태에서, 다가 백신은 항-뎅기 모체 항체가 존재하는 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0083] 본 발명은 상이한 형태로 실시될 수 있으며 본원에 제시된 실시양태로만 제한되는 것으로 해석되어서는 안된다는 것을 인지하여야 한다. 오히려, 이들 실시양태가 제공됨으로써 본 개시내용은 철저하고 완벽해질 것이며,

본 발명의 범위가 통상의 기술자에게 완전하게 전달될 것이다.

- [0084] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에서 본 발명의 설명에 사용된 용어는 단지 특정할 실시양태만을 기재하려는 목적을 위한 것이고, 본 발명을 제한하고자 의도되는 것은 아니다.
- [0085] 본원에 사용된 단수 용어는 1 또는 1 초과를 의미할 수 있다. 예를 들어, 세포는 단일 세포 또는 다수의 세포를 의미할 수 있다.
- [0086] 또한 본원에 사용된 "및/또는"은 연관된 열거된 항목 중 하나 이상의 임의의 및 모든 가능한 조합, 뿐만 아니라 대안적인 것 ("또는")으로 해석되는 경우에 조합의 부재를 지칭하고 이를 포괄한다.
- [0087] 본원에 사용된 용어 "약"은 측정가능한 값, 예컨대 용량의 양 (예를 들어, 지방산의 양) 등을 지칭하는 경우에, 명시된 양의 $\pm 20\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0.5\%$ 또는 심지어 $\pm 0.1\%$ 의 변화를 포괄하는 것으로 의도된다.
- [0088] 본원에 사용된 연결 어구 "로 본질적으로 이루어진"은 청구범위의 범위가 청구범위에서 언급된 명시된 물질 또는 단계, 및 청구된 본 발명의 "기본적이고 신규한 특징(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것"을 포괄하는 것으로 해석되어야 한다. 문헌 [In re Herz, 537 F.2d 549, 551-52, 190 U.S.P.Q. 461, 463 (CCPA 1976) (원본으로 강조)]을 참조하고; 또한 MPEP § 2111.03을 참조한다. 따라서, 용어 "로 본질적으로 이루어진"이 본 발명의 청구범위에서 사용된 경우에 이는 "포함하는"과 동등한 것으로 해석되도록 의도되지 않는다.
- [0089] 본원에 사용된 용어 "핵산"은 cDNA, 게놈 DNA, 합성 (예를 들어, 화학적 합성) DNA, 및 RNA 및 DNA의 키메라를 비롯하여, RNA 및 DNA 둘 다를 포괄한다. 핵산은 이중-가닥 또는 단일-가닥일 수 있다. 핵산은 뉴클레오타이드 유사체 또는 유도체 (예를 들어, 이노신 또는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드)를 사용하여 합성될 수 있다. 이러한 뉴클레오타이드는, 예를 들어 변경된 염기-쌍형성 능력 또는 뉴클레아제에 대해 증가된 내성을 갖는 핵산을 제조하는데 사용될 수 있다.
- [0090] 본원에 사용된 용어 "폴리펩티드"는, 달리 나타내지 않는 한, 펩티드 및 단백질 둘 다 (융합 단백질 포함)를 포괄한다.
- [0091] "융합 단백질"은 자연에서 함께 융합된 채로 발견되지 않는 2종 (또는 그 초과)의 상이한 폴리펩티드를 코딩하는 2종의 이중 뉴클레오타이드 서열 또는 그의 단편이 정확한 번역 리딩 프레임으로 함께 융합된 경우에 생산된 폴리펩티드이다.
- [0092] "재조합" 핵산, 폴리뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 서열은 유전자 조작 기술에 의해 생산된 것이다.
- [0093] "재조합" 폴리펩티드는 재조합 핵산, 폴리펩티드 또는 뉴클레오타이드 서열로부터 생성된다.
- [0094] 본원에 사용된 "단리된" 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, "단리된 핵산" 또는 "단리된 뉴클레오타이드 서열")는 자연 발생 유기체 또는 바이러스의 다른 성분, 예를 들어 세포 또는 바이러스 구조적 성분 또는 폴리뉴클레오타이드와 회합되어 통상적으로 발견되는 다른 폴리펩티드 또는 핵산의 적어도 일부로부터 적어도 부분적으로 분리된 폴리뉴클레오타이드를 의미한다. 임의로, 그러나 반드시 그러하지는 않지만, "단리된" 폴리뉴클레오타이드는 출발 물질과 비교하여 더 높은 농도로 존재한다 (즉, 풍부화된다) (예를 들어, 적어도 약 2-배, 3-배, 4-배, 10-배, 20-배, 50-배, 100-배, 500-배, 1000-배, 10000-배 또는 그 초과 농도). 대표적인 실시양태에서, 단리된 폴리뉴클레오타이드는 적어도 약 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 그 초과로 순수하다.
- [0095] "단리된" 폴리펩티드는 자연 발생 유기체 또는 바이러스의 다른 성분, 예를 들어 세포 또는 바이러스 구조적 성분 또는 폴리펩티드와 회합되어 통상적으로 발견되는 다른 폴리펩티드 또는 핵산의 적어도 일부로부터 적어도 부분적으로 분리된 폴리펩티드를 의미한다. 임의로, 그러나 반드시 그러하지는 않지만, "단리된" 폴리펩티드는 출발 물질과 비교하여 더 높은 농도로 존재한다 (즉, 풍부화된다) (예를 들어, 적어도 약 2-배, 3-배, 4-배, 10-배, 20-배, 50-배, 100-배, 500-배, 1000-배, 10000-배 또는 그 초과 농도). 대표적인 실시양태에서, 단리된 폴리펩티드는 적어도 약 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 그 초과로 순수하다.
- [0096] 또한, "단리된" 세포는 자연에서 정상적으로는 회합되어 있는 다른 성분으로부터 부분적으로 또는 완전히 분리된 세포이다. 예를 들어, 단리된 세포는 배양 배지 내의 세포 및/또는 제약상 허용되는 담체 중의 세포일 수 있다.

- [0097] 용어 "면역원" 및 "항원"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 세포성 및/또는 체액성 면역 반응이 지시될 수 있는 임의의 화합물 (폴리펩티드 포함)을 의미한다. 특정한 실시양태에서, 면역원 또는 항원은 뎅기 바이러스 감염의 영향에 대해 보호성 면역 반응을 유도할 수 있다.
- [0098] 본원에 사용된 "유효량"은 치료 및/또는 유익한 효과일 수 있는 목적하는 효과를 생성하기에 충분한 본 발명의 벡터, 핵산, 에피토프, 폴리펩티드, 세포, 입자, VLP, 조성물 또는 제제의 양을 지칭한다. 유효량은 대상체의 연령, 전반적 상태, 치료할 상태의 중증도, 투여된 특정한 작용제, 치료 지속기간, 임의의 공동 치료의 속성, 사용된 제약상 허용가능한 담체, 및 통상의 기술자의 지식 및 경험 내의 기타 인자에 의해 달라질 것이다. 적절하게는, 임의의 개별적 경우에 "유효량"은 관련 문서 및 문헌을 참조하고/거나 상용 실험을 사용하여 통상의 기술자에 의해 결정될 수 있다.
- [0099] 본원에 사용된 용어 "면역원성 양" 또는 "효과적인 면역화 용량"은, 달리 나타내지 않는 한, 비-면역화 대상체의 고유 면역보다 더 큰, 치료된 대상체에서 면역 반응 (임의로 보호성 반응일 수 있음)을 유도하기에 충분한 양 또는 용량을 의미한다. 임의의 특정한 문맥에서 면역원성 양 또는 효과적인 면역화 용량은 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 상용적으로 결정될 수 있다.
- [0100] 용어 "백신", "백신접종" 및 "면역화"는 관련 기술분야에서 잘 이해되고, 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 예를 들어, 용어 백신, 백신접종 또는 면역화는 (예를 들어, 능동 면역 반응을 제공하는 것에 의해) 면역원에 대한 대상체의 면역 반응을 증가시키고, 따라서 감염으로부터 저항, 극복 및/또는 회복하는 그의 능력 (즉, 보호성 면역 반응)을 증가시키는 과정 또는 조성물인 것으로 이해될 수 있다.
- [0101] 용어 "치료하다", "치료하는" 또는 "의 치료" (및 그의 문법적 변형)는, 대상체의 상태의 중증도가 감소되거나, 적어도 부분적으로 개선 또는 호전되고/거나, 적어도 하나의 임상 증상에서 일부 경감, 완화 또는 감소가 달성 되고/거나, 질환 또는 장애의 진행에서 지연이 존재하는 것을 의미한다. 대표적인 실시양태에서, 용어 "치료하다", "치료하는" 또는 "의 치료" (및 그의 문법적 변형)는 임상 질환의 다른 징후의 존재 또는 부재 하에, 바이러스혈증의 중증도에서의 감소 및/또는 바이러스혈증의 진행에서의 지연을 지칭한다.
- [0102] 본원에 사용된 "치료 유효"량은 대상체를 치료 (본원에 정의된 바와 같음)하기에 충분한 양이다. 통상의 기술자는 대상체에게 일부 이익이 제공되는 한 치료 효과가 완전하거나 치유적일 필요는 없음을 인식할 것이다.
- [0103] 용어 "예방하다", "예방하는" 또는 "의 예방" (및 그의 문법적 변형)은, 본 발명의 방법의 부재 하에 일어나는 것에 비해 대상체에서 질환, 장애 및/또는 임상 증상(들)의 발병 및/또는 진행의 예방 및/또는 지연, 및/또는 질환, 장애 및/또는 임상 증상(들)의 발병 및/또는 진행의 중증도에서의 감소를 지칭한다. 대표적인 실시양태에서, 용어 "예방하다", "예방하는" 또는 "의 예방" (및 그의 문법적 변형)은 임상 질환의 다른 징후의 존재 또는 부재 하에, 대상체에서 바이러스혈증의 발병 및/또는 진행의 예방 및/또는 지연을 지칭한다. 예방은 완전할 수 있고, 예를 들어 질환, 장애 및/또는 임상 증상(들)이 전체적으로 부재할 수 있다. 예방은 또한, 대상체에서의 질환, 장애 및/또는 임상 증상(들)의 발생 및/또는 발병의 중증도 및/또는 진행이 본 발명의 부재 하에 일어나는 것보다 낮도록 부분적일 수 있다.
- [0104] 본원에 사용된 "예방 유효"량은 대상체에서 질환, 장애 및/또는 임상 증상을 예방 (본원에 정의된 바와 같음)하기에 충분한 양이다. 통상의 기술자는 대상체에게 일부 이익이 제공되는 한 예방 수준이 완전할 필요는 없음을 인식할 것이다.
- [0105] 본 발명의 방법에 의한 뎅기 바이러스 감염을 치료 및/또는 예방하는 효능은, 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있는 바와 같이, 대상체의 증상 및/또는 임상 파라미터 (예를 들어, 바이러스혈증)에서의 변화에 의해 나타내어 지는 임상 개선을 검출하는 것에 의해 결정될 수 있다.
- [0106] 달리 나타내지 않는 한, 용어 "보호하다", "보호하는", "보호" 및 "보호성" (및 그의 문법적 변형)은 뎅기 바이러스의 1종 또는 다중 균주, 유전자형 또는 혈청형에 관계없이, 대상체에서 뎅기 바이러스 감염을 예방 및 치료하는 방법 둘 다를 포괄한다.
- [0107] 본원에 사용된 용어 "보호성" 면역 반응 또는 "보호성" 면역는 면역 반응이 질환 또는 감염의 임의의 다른 징후의 발생 및/또는 중증도 및/또는 지속을 예방하거나 감소시킨다는 점에서 대상체에게 일부 이익을 제공하는 것을 나타낸다. 예를 들어, 대표적인 실시양태에서, 보호성 면역 반응 또는 보호성 면역는 임상 질환을 동반하든 그렇지 않든, 감소된 바이러스 혈증을 생성한다. 대안적으로, 보호성 면역 반응 또는 보호성 면역는 기존 질환의 치유적 치료에 유용할 수 있다.

- [0108] "능동 면역 반응" 또는 "능동 면역"은 면역원과의 접촉 후에 숙주 조직 및 세포의 참여를 특징으로 한다. 이는 림프세포 조직에서 면역적격 세포의 분화 및 증식을 수반하며, 이는 항체의 합성 또는 세포-매개 반응성의 발생, 또는 둘 다로 이어진다. 문헌 [Herbert B. Herscovitz, Immunophysiology: Cell Function and Cellular Interactions in Antibody Formation, in IMMUNOLOGY: BASIC PROCESSES 117 (Joseph A. Bellanti ed., 1985)]. 대안적으로 말하면, 능동 면역 반응은 감염에 의한 또는 백신접종에 의한 면역원체의 노출 후에 숙주에 의해 시작된다. 능동 면역은 "능동적으로 면역화된 숙주로부터 사전형성된 물질 (항체, 전달 인자, 흡선 이식편, 인터류킨-2)의 비-면역 숙주로의 전달"을 통해 획득되는 수동 면역과 대조될 수 있다. Id.
- [0109] 본 발명의 "대상체"는 땡기 바이러스 감염에 감수성인 임의의 동물을 포함한다. 이러한 대상체는 일반적으로 포유동물 대상체 (예를 들어, 실험 동물, 예컨대 래트, 마우스, 기니 피그, 토끼, 영장류 등), 농장 또는 상업용 동물 (예를 들어, 소, 말, 염소, 당나귀, 양 등) 또는 가축 (예를 들어, 고양이, 개, 페럿 등)이다. 특정한 실시양태에서, 대상체는 영장류 대상체, 비-인간 영장류 대상체 (예를 들어, 침팬지, 개코원숭이, 원숭이, 고릴라 등) 또는 인간이다. 본 발명의 대상체는 땡기 바이러스에 의한 감염의 위험이 있는 것으로 공지되어 있거나 그러한 것으로 여겨지는 대상체일 수 있다. 대안적으로, 본 발명에 따른 대상체는 또한 땡기 바이러스에 의해 감염된 것으로 또는 땡기 바이러스 감염에 대한 치료를 필요로 하는 것으로 이전에 공지되어 있거나 그러한 것으로 의심되지 않은 대상체를 포함할 수 있다.
- [0110] 대상체는 임의의 목적을 위해, 예컨대 보호성 면역 반응을 도출하기 위해 또는 그러한 대상체에서 항체의 생산을 도출하기 위해 치료될 수 있고, 항체는 연구 또는 진단 목적과 같은 다른 목적을 위해 또는 다른 대상체에게 투여하여 그 내에서 수동 면역 반응을 생성하기 위해서 등으로 수집 및 사용될 수 있다.
- [0111] 대상체는 신생아, 소아, 성숙 및 노령 대상체를 비롯하여 임의의 연령의 수컷 및/또는 암컷을 포함한다. 인간 대상체와 관련하여, 대표적인 실시양태에서, 대상체는 영아 (예를 들어, 약 12개월, 10개월, 9개월, 8개월, 7개월, 6개월 미만, 또는 그보다 어림), 유아 (예를 들어, 적어도 약 12, 18 또는 24개월 및/또는 약 36, 30 또는 24개월 미만), 또는 어린이 (예를 들어, 적어도 약 1, 2, 3, 4 또는 5세 연령 및/또는 약 14, 12, 10, 8, 7, 6, 5, 또는 4세 연령 미만)일 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 대상체는 약 0 내지 3, 4, 5, 6, 9, 12, 15, 18, 24, 30, 36, 48 또는 60개월 연령, 약 3 내지 6, 9, 12, 15, 18, 24, 30, 36, 48 또는 60개월 연령, 약 6 내지 9, 12, 15, 18, 24, 30, 36, 48 또는 60개월 연령, 약 9 내지 12, 15, 18, 24, 30, 36, 48 또는 60개월 연령, 약 12 내지 18, 24, 36, 48 또는 60개월 연령, 약 18 내지 24, 30, 36, 48 또는 60개월 연령, 또는 약 24 내지 30, 36, 48 또는 60개월 연령인 인간 대상체이다.
- [0112] 본 발명의 실시양태에서, 대상체는 땡기 바이러스에 대해 모체 항체를 갖는다.
- [0113] 본 발명의 방법을 "필요로 하는 대상체"는 땡기 바이러스에 감염된 것으로 또는 그에 감염될 위험이 있는 것으로 공지되어 있거나 의심되는 대상체일 수 있다.
- [0114] 본 발명의 땡기 바이러스 에피토프, 폴리펩티드, 키메라 플라비바이러스 VLP 또는 키메라 플라비바이러스 입자, 핵산, 벡터, 세포 또는 조성물 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 제제 (예를 들어, 면역원성 제제)가 또한 제공되고, 이는 공지된 기술에 따라 투여를 위해 제약 담체 중에서 제제화될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Remington, The Science And Practice of Pharmacy (최신판)]을 참조한다. 본 발명의 실시양태에 따른 제약 조성물의 제조에서, 본 발명의 조성물은 전형적으로, 특히 제약상 허용되는 담체와 혼합된다. "제약상 허용되는 담체"는 제약 조성물 중에서 다른 성분과 상용가능하고 대상체에 유해하거나 해롭지 않은 담체를 의미한다. 담체는 고체 또는 액체 또는 둘 다일 수 있고, 바람직하게는 본 발명의 조성물과 함께 단위-용량 제제, 예를 들어 조성물의 약 0.01 또는 0.5 중량% 내지 약 95 중량% 또는 99 중량% 함유할 수 있는 정제로서 제제화된다. 제약 조성물은 임의로 1종 이상의 보조 성분을 포함하는 성분의 혼합을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 널리 공지되어 있는 제약 기술에 의해 제조된다. 특정 실시양태에서, 제약상 허용되는 담체는 멸균성이고, 담체를 포함하는 제약 조성물에 대한 규제 가이드라인에 따라 인간 대상체에게 투여하는데 적합한 것으로 간주될 것이다.
- [0115] 또한, "제약상 허용되는" 성분, 예컨대 본 발명에 따른 조성물의 염, 담체, 부형제 또는 희석제는 (i) 조성물을 그의 의도되는 목적에 부적합하게 하지 않으면서 본 발명의 조성물과 조합될 수 있다는 점에서 조성물의 다른 성분과 상용가능하고, (ii) 과도한 유해 부작용 (예컨대 독성, 자극 및 알레르기 반응) 없이 본원에 제공된 바와 같은 대상체에 사용하기에 적합한 성분이다. 부작용은 그의 위험이 조성물에 의해 제공되는 이익을 능가하는 경우에 "과도"하다. 제약상 허용되는 성분의 비제한적 예는 임의의 표준 제약 담체, 예컨대 포스페이트 완

중 염수 용액, 물, 에멀전, 예컨대 오일/물 에멀전, 마이크로에멀전 및 다양한 유형의 습윤제를 포함한다.

[0116] 일부 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 1종 또는 1종 초과인 아주반트를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 아주반트는 아미노산 서열의 형태 및/또는 아주반트를 코딩하는 핵산의 형태일 수 있다. 핵산의 형태인 경우에, 아주반트는 폴리펩티드(들) 또는 단편(들) 또는 에피토프(들)를 코딩하는 핵산의 성분 및/또는 본 발명의 폴리펩티드(들) 또는 단편(들) 또는 에피토프(들)를 코딩하는 핵산을 포함하는 조성물의 개별 성분일 수 있다. 본 발명에 따르면, 아주반트는 또한 아주반트로서 기능하는 펩티드, 단백질 단편 또는 전체 단백질을 코딩하는 아미노산 서열일 수 있고/거나, 아주반트는 아주반트로서 기능하는 펩티드, 단백질 단편 또는 전체 단백질을 코딩하는 핵산일 수 있다. 본원에 사용된 "아주반트"는 대상체에서 면역 반응을 증진, 개선 또는 달리 조절하기 위해 본 발명의 조성물과 조합될 수 있는 임의의 면역조절 물질일 수 있는 물질을 기재한다.

[0117] 추가 실시양태에서, 아주반트는 면역자극 시토카인 (GM-CSF, 인터류킨-2, 인터류킨-12, 인터페론-감마, 인터류킨-4, 종양 괴사 인자-알파, 인터류킨-1, 조혈 인자 f1t3L, CD40L, B7.1 공동-자극 분자 및 B7.2 공동-자극 분자를 포함하나 이에 제한되지는 않음), 포스페이티드 완충 염수 중 5 퍼센트 (wt/vol) 스쿠알렌 (다스프(DASF), 뉴저지주 파시파니), 2.5 퍼센트 플루로닉, L121 중합체 (알드리치 케미칼(Aldrich Chemical), 밀워키) 및 0.2 퍼센트 폴리소르베이트 (트윈(Tween) 80, 시그마(Sigma))로 구성된 신텍스(SYNTEX) 아주반트 제제 1 (SAF-1)을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 적합한 아주반트는 또한 알루미늄 염, 예컨대 수산화알루미늄 겔 (명반), 인산알루미늄 또는 알간플린을 포함하지만, 또한 갈슘, 철 또는 아연의 염일 수 있거나, 또는 아실화 티로신 또는 아실화 당, 양이온 또는 음이온으로 유도체화된 폴리사카라이드 또는 폴리포스파젠의 불용성 현탁액일 수 있다.

[0118] 다른 아주반트가 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 제한 없이 MF 59, LT-K63, LT-R72 (Pal et al., Vaccine 24(6):766-75 (2005)), QS-21, 프로인트 아주반트 (완전 및 불완전), 수산화알루미늄, N-아세틸-뮤라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민 (thr-MDP), N-아세틸-노르뮤라밀-L-알라닐-D-이소글루타민 (CGP 11637, nor-MDP로 지칭됨), N-아세틸뮤라밀-L-알라닐-D-이소글루타미닐-L-알라닌-2-(1'-2'-디팔미토일-sn-글리세로-3-히드록시포스포릴옥시)-에틸아민 (CGP 19835A, MIP-PE로 지칭됨), 및 2% 스쿠알렌/트윈 80 에멀전 중 박테리아로부터 추출된 3종의 성분, 모노포스포릴 지질 A, 트레할로스 디미콜레이트 및 세포벽 골격 (MPL+TDM+CWS)을 함유하는 RIBI를 포함한다.

[0119] 추가의 아주반트는, 예를 들어 알루미늄 염과 함께 모노포스포릴 지질 A, 바람직하게는 3-탈-O-아실화 모노포스포릴 지질 A (3D-MPL)의 조합물을 포함할 수 있다. 증진된 아주반트 시스템은 모노포스포릴 지질 A 및 사포닌 유도체의 조합물, 특히 PCT 공개 번호 WO 94/00153에 개시된 바와 같은 QS21 및 3D-MPL의 조합물, 또는 PCT 공개 번호 WO 96/33739에 개시된 바와 같은 QS21이 콜레스테롤에 의해 쉼질된, 덜 반응원성인 조성물을 수반한다. 수중유 에멀전 중 QS21 3D-MPL & 토크페롤을 수반하는 특히 강력한 아주반트 제제가 PCT 공개 번호 WO 95/17210에 기재되어 있다. 또한, 본 발명의 핵산 조성물은 항원을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 아주반트 기능을 제공하는 뉴클레오티드 서열, 예컨대 CpG 서열을 포함하는 것에 의해 아주반트를 포함할 수 있다. 이러한 CpG 서열 또는 모티프는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다.

[0120] 본 발명과 함께 사용하기 위한 아주반트, 예컨대 예를 들어 면역자극 시토카인은 본 발명의 조성물을 대상체에게 투여하기 전에, 그와 공동으로, 및/또는 투여 전 및/또는 후의 단시간, 수시간 및/또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 및/또는 10일 내에 투여될 수 있다.

[0121] 또한, 아주반트, 예컨대 면역자극 시토카인의 임의의 조합물은 대상체에게 본 발명의 면역원성 조성물의 투여 전에, 후에, 및/또는 그와 공동으로 공-투여될 수 있다. 예를 들어, 면역자극 시토카인의 조합물은 2종 이상의 면역자극 시토카인, 예컨대 GM-CSF, 인터류킨-2, 인터류킨-12, 인터페론-감마, 인터류킨-4, 종양 괴사 인자-알파, 인터류킨-1, 조혈 인자 f1t3L, CD40L, B7.1 공동-자극 분자 및 B7.2 공동-자극 분자로 이루어질 수 있다. 아주반트 및 아주반트 조합물의 유효성은 아주반트 또는 아주반트 조합물의 존재 및 부재 하에 본 발명의 조성물의 대상체에 대한 투여에 반응하여 생성된 면역 반응을 본원에 기재된 바와 같이, 그리고 관련 기술분야에 공지되어 있는 바와 같이 표준 절차를 사용하여 측정함으로써 결정할 수 있다.

[0122] 본 발명의 실시양태에서, 아주반트는 예를 들어 U.S. 7,862,829에 기재된 바와 같은 알파바이러스 아주반트를 포함한다.

[0123] 부스팅 투여량이 수일, 수주, 수개월 또는 수년의 시간의 경과에 걸쳐 추가로 투여될 수 있다. 만성 감염에서, 초기의 고용량에 이은 부스팅 용량이 유리할 수 있다.

- [0124] 본 발명의 제약 제제는 다른 의약 작용제, 제약 작용제, 안정화제, 완충제, 담체, 희석제, 염, 장성 조절제, 습윤제 등, 예를 들어 아세트산나트륨, 락트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레이트 등을 임의로 포함할 수 있다.
- [0125] 주사의 경우에, 담체는 전형적으로 액체일 것이다. 다른 투여 방법의 경우에, 담체는 고체 또는 액체일 수 있다. 흡입 투여의 경우에, 담체는 호흡가능한 것일 것이고, 전형적으로 고체 또는 액체 미립자 형태이다.
- [0126] 본 발명의 조성물은 공지된 기술에 따라 투여를 위해 제약 담체 중에서 제제화될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Remington, The Science And Practice of Pharmacy (9th Ed. 1995)]을 참조한다. 본 발명에 따른 제약 조성물의 제조에서, VLP는 전형적으로, 특히 허용되는 담체와 혼합된다. 담체는 고체 또는 액체, 또는 둘 다일 수 있고, 임의로 화합물과 함께 단위-용량 제제, 예를 들어 정제로서 제제화된다. 다양한 제약상 허용되는 수성 담체, 예를 들어 물, 완충수, 0.9% 염수, 0.3% 글리신, 히알루론산, 발열원 무함유 물, 발열원 무함유 포스페이트-완충 염수 용액, 정박테리아수 또는 크레모포르 EL[R] (바스프(BASF), 뉴저지주 파시파니) 등이 사용될 수 있다. 이들 조성물은 통상의 기술에 의해 멸균될 수 있다. 본 발명의 제제는 임의의 널리 공지되어 있는 제약 기술에 의해 제조될 수 있다.
- [0127] 제약 제제는 사용을 위해 그 자체로 또는 동결건조되어 포장될 수 있으며, 동결건조된 제제는 일반적으로 투여 전에 멸균 수용액과 조합된다. 조성물은 추가로 단위/용량 또는 다중-용량 용기 내에, 예를 들어 실링된 앰플 및 바이알 내에 포장될 수 있다.
- [0128] 제약 제제는 통상의 제약 기술에 따라 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의한 투여를 위해 제제화될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 비강내로, 흡입 (예를 들어, 경구 흡입)에 의해, 경구로, 협측으로 (예를 들어, 설하로), 직장으로, 질로, 국소로, 척수강내로, 안내로, 경피로, 비경구 투여에 의해 (예를 들어, 근육내 [예를 들어, 골격근], 정맥내, 피하, 피내, 흉막내, 뇌내 및 동맥내, 척수강내), 또는 국소로 (예를 들어, 피부 및 기도 표면을 비롯한 점막 표면 둘 다에) 투여되도록 제제화될 수 있다.
- [0129] 비강내 또는 흡입 투여를 위해, 제약 제제는 에어로졸 (이 용어는 액체 및 건조 분말 에어로졸 둘 다를 포함함)로서 제제화될 수 있다. 예를 들어, 제약 제제는 계면활성제 및 추진제와 함께 미분된 형태로 제공될 수 있다. 전형적인 조성물의 백분율은 0.01-20 중량%, 바람직하게는 1-10 중량%이다. 계면활성제는 일반적으로 비독성이고 추진제 중에 가용성이다. 대표적인 이러한 작용제는 6 내지 22개의 탄소 원자를 함유하는 지방산의 에스테르 또는 부분 에스테르, 예컨대 지방족 다가 알콜 또는 그의 시클릭 무수물을 갖는 카프로산, 옥탄산, 라우르산, 팔미트산, 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 올레스테르산 및 올레산이다. 혼합 에스테르, 예컨대 혼합 또는 천연 글리세리드가 사용될 수 있다. 계면활성제는 조성물의 0.1-20 중량%, 바람직하게는 0.25-5 중량%를 구성할 수 있다. 조성물의 나머지는 통상적으로 추진제이다. 원하는 경우에, 비강내 전달을 위한 레시틴과 같은 담체가 또한 포함될 수 있다. 액체 입자 에어로졸은 임의의 적합한 수단에 의해, 예컨대 통상의 기술자에게 공지된 바와 같이 압력-가동 에어로졸 네블라이저 또는 초음파 네블라이저에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 4,501,729를 참조한다. 고체 입자 에어로졸도 마찬가지로 제약 기술분야에 공지되어 있는 기술에 의해, 임의의 고체 미립자 의약 에어로졸 발생기에 의해 생성될 수 있다. 비강내 투여는 또한 비강 표면의 액적 투여에 의할 수 있다.
- [0130] 주사가능한 제제는 액체 용액 또는 현탁액으로서, 주사 전에 액체 중의 용액 또는 현탁액으로 적합한 고체 형태로, 또는 에멀전으로서 통상의 형태로 제조될 수 있다. 대안적으로, 전신 방식보다는 국부에, 예를 들어 데포 또는 지속-방출 제제로 제약 제제를 투여할 수 있다.
- [0131] 즉석 주사 용액 및 현탁액은 이전에 기재된 종류의 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조될 수 있다. 예를 들어, 밀봉된 용기 내의 단위 투여 형태의 본 발명의 주사가능한, 안정한, 멸균 제제가 제공될 수 있다. 제제는 동결건조물 형태로 제공될 수 있고, 이는 적합한 제약상 허용되는 담체에 의해 재구성되어 대상체에게 주사하기에 적합한 액체 조성물을 형성할 수 있다. 단위 투여 형태는 제제의 약 1 µg 내지 약 10 그램일 수 있다. 제제가 실질적으로 수불용성인 경우에, 제약상 허용되는 충분한 양의 유효제가 수성 담체 중에 제제를 유효시키는 충분한 양으로 포함될 수 있다. 한 이러한 유용한 유효제는 포스포티딜 콜린이다.
- [0132] 경구 투여에 적합한 제약 제제는 이산 단위, 예컨대 캡슐, 카세트, 로젠지, 또는 정제로, 분말 또는 과립으로서; 수성 또는 비-수성 액체 중 용액 또는 현탁액으로서; 또는 수중유 또는 유중수 에멀전으로서 제공될 수 있다. 경구 전달은 본 발명의 화합물(들)을 동물의 장에서 소화 효소에 의한 분해를 견딜 수 있는 담체와 복합체화함으로써 수행될 수 있다. 이러한 담체의 예는 관련 기술분야에 공지되어 있는 바와 같은 플라스틱 캡슐 또는 정

제를 포함한다. 이러한 제제는 단백질(들) 및 적합한 담체 (이는 상기 나타난 바와 같이 1종 이상의 보조 성분을 함유할 수 있음)가 회합되게 하는 단계를 포함하는 임의의 적합한 제약 방법에 의해 제조된다. 일반적으로, 제약 제제는 화합물(들)을 액체 또는 미분된 고체 담체, 또는 둘 다와 함께 균일하고 친밀하게 혼합한 다음, 필요한 경우에 생성된 혼합물을 성형하는 것에 의해 제조된다. 예를 들어, 정제는 분말 또는 과립을 임의로 1종 이상의 보조 성분과 함께 압축 또는 몰딩하는 것에 의해 제조될 수 있다. 압축된 정제는 임의로 결합제, 윤활제, 불활성 희석제 및/또는 표면 활성/분산제(들)와 혼합된 자유-유동 형태의 제제, 예컨대 분말 또는 과립을 적합한 기계 내에서 압축하는 것에 의해 제조된다. 몰딩된 정제는 불활성 액체 결합제로 습윤시킨 분말화 단백질을 적합한 기계 내에서 몰딩하는 것에 의해 제조된다.

[0133] 협착 (설하) 투여에 적합한 제약 제제는 향미 베이스, 통상적으로 수크로스 및 아카시아 또는 트라가칸트 중 화합물(들)을 포함하는 로젠지; 및 불활성 기재, 예컨대 젤라틴 및 글리세린 또는 수크로스 및 아카시아 중 파스틸을 포함한다.

[0134] 비경구 투여에 적합한 제약 제제는 멸균 수성 및 비-수성 주사 용액을 포함할 수 있고, 제제는 바람직하게는 의도되는 수용자의 혈액과 등장성이다. 이들 제제는 조성물이 의도되는 수용자의 혈액과 등장성이 되게 하는 항산화제, 완충제, 정박테리아제 및 용질을 함유할 수 있다. 수성 및 비-수성 멸균 현탁액, 용액 및 에멀전은 현탁화제 및 증점제를 포함할 수 있다. 비수성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일 및 주사가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트이다. 수성 담체는 염수 및 완충 매질을 비롯하여, 물, 알콜성/수성 용액, 에멀전 또는 현탁액을 포함한다. 비경구 비히클은 염화나트륨 용액, 링거 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화나트륨, 락테이트화 링거, 또는 고정 오일을 포함한다. 정맥내 비히클은 유체 및 영양 보충물, 전해질 보충물 (예컨대 링거 텍스트로스를 기반으로 하는 것) 등을 포함한다. 보존제 및 다른 첨가제, 예컨대 예를 들어 향미생물제, 항산화제, 킬레이트화제 및 불활성 기체 등이 또한 존재할 수 있다.

[0135] 직장 투여에 적합한 제약 제제는 임의로 단위 용량 좌제로서 제공된다. 이들은 활성제를 1종 이상의 통상의 고체 담체, 예컨대 예를 들어 코코아 버터와 혼합한 다음, 생성된 혼합물을 성형하는 것에 의해 제조될 수 있다.

[0136] 피부에의 국소 적용에 적합한 제약 제제는 바람직하게는 연고, 크림, 로션, 페이스트, 젤, 스프레이, 에어로졸 또는 오일의 형태를 취한다. 사용될 수 있는 담체는 석유 젤리, 라놀린, 폴리에틸렌 글리콜, 알콜, 경피 증진제 및 그의 2종 이상의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 예를 들어 국소 전달은 본 발명의 제약 제제를 피부를 통과할 수 있는 친지성 시약 (예를 들어, DMSO)과 혼합하는 것에 의해 수행될 수 있다.

[0137] 경피 투여에 적합한 제약 제제는 장기간 동안 대상체의 표피와 친밀한 접촉을 유지하도록 적합화된 개별 패치의 형태일 수 있다. 경피 투여에 적합한 제제는 또한 이온영동에 의해 전달될 수 있고 (예를 들어, 문헌 [Pharmaceutical Research 3:318 (1986)] 참조), 전형적으로 화합물(들)의 완충 수용액의 형태를 취한다. 적합한 제제는 시트레이트 또는 비스/트리스 완충제 (pH 6) 또는 에탄올/물을 포함할 수 있고, 0.1 내지 0.2M의 활성 성분을 함유할 수 있다.

[0138] 본 발명의 실시양태에서, 본 발명의 바이러스 입자의 투여량은 약 10^4 내지 약 10^7 플라크 형성 단위 (PFU)의 범위 내일 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 본 발명의 VLP의 투여량은 약 500 마이크로그램 내지 약 5 밀리그램의 범위 내일 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 본 발명의 단백질의 투여량은 약 10^0 내지 약 10^4 마이크로그램 +/- 아주반트의 범위 내일 수 있다.

[0139] 또한, 조성물은 리포솜 제제로서 제제화될 수 있다. 사용되는 지질 층은 임의의 통상의 조성일 수 있고, 콜레스테롤을 함유할 수 있거나 또는 콜레스테롤-무함유일 수 있다. 생성된 리포솜은, 예를 들어 표준 초음파처리 및 균질화 기술의 사용을 통해 크기 면에서 감소될 수 있다.

[0140] 리포솜 제제는 동결건조되어 동결건조물로 생성될 수 있고, 이는 제약상 허용되는 담체, 예컨대 물에 의해 재구성되어 리포솜 현탁액을 재생성할 수 있다.

[0141] 본 발명의 면역원성 제제는 임의로 멸균성일 수 있고, 밀폐된 병원체-투과불가능한 용기 내에 추가로 제공될 수 있다.

[0142] 실시예

- [0143] 합성 생물학은 바이러스 계통의 계통 구조, 발현 및 편성에 대해 비할 바 없는 유전자 제어를 제공한다. 뎡기 바이러스 (DENV) 복합체는 DENV 혈청형 1-4로 지정되는 4종의 밀접하게 관련된 바이러스로 이루어지고, 이는 항원성 면에서 유사하지만 인간 집단에서 복잡한 패턴의 교차 반응성 중화 및 증진 항체 반응을 유도한다. DENV 혈청형 사이의 항원 관계를 연구하기 위해, 본 발명자들은 낮은 계대 임상 분리주를 기반으로 하여 한 패널의 안정적인 DENV1-4 분자 클론 및 재조합 바이러스의 구축 및 특성화를 기재하였다. 재조합 바이러스는 야생형 바이러스와 유사하게 복제하고 적절한 마커 돌연변이를 코딩하였다. DENV3에서 천연 변이의 역할을 평가하기 위해, 모 외피 (E) 당단백질 유전자를 4종의 유전적 및 지리적으로 구분되는 DENV-3 유전자형을 기반으로 한 E 유전자로 대체하여 4종의 합성적으로 설계된 동질유전자 구축물을 제조하였다. 재조합 바이러스는 생존가능하였고, 곤충 및 포유동물 숙주 상에서의 성장에 대해 평가되었고, 모노클로날 및 폴리클로날 중화 시험은 DEN3 중화 증에서 천연 미세변이가 교차 중화 감수성 패턴에 영향을 미침을 입증하였다. 규정된 에피토프를 맵핑하는데 재조합 DNA 기술의 용도를 평가하기 위해, 본 발명자들은 회피 돌연변이 및 에피토프 맵핑을 사용하여 여러 에피토프의 좌표를 맵핑하였다. 이어서, 본 발명자들은 균주 사이에서 이들 에피토프를 교환하였다. 재조합 바이러스는 생존가능하였고, 모노클로날 및 폴리클로날 혈청에 의한 기능 획득 및 상실 검정은 백신 설계에서 중요한 고려사항으로 밝혀진 항원 패턴을 밝혀내었다.
- [0144] 항-뎡기 바이러스 (DENV) 인간 모노클로날 항체 (mAb) 5J7은 DENV 혈청형 3 (DENV-3) 외피 (E) 당단백질 상의 에피토프에 결합함으로써 DENV-3을 강력하게 중화시켰다. 이러한 에피토프는 E 도메인 I-II (EDI-II) 힌지로 공지되어 있는 E 영역에 걸쳐있다. DENV 감염 클론 플랫폼을 사용하여, DENV-3 5J7 에피토프를 DENV 혈청형 1 (DENV-1) E 당단백질 내로 이식하였다. 이러한 이식은 재조합 DENV-1/3 바이러스가 mAb 5J7에 의한 중화에 감수성 있게 하였다. 유의하게는, 이식은 천연 DENV-1 항원 구조를 교란시키지 않고, 재조합 바이러스는 DENV-1 및 DENV-3 인간 폴리클로날 혈청 둘 다에 대해 감수성이다. 이러한 감수성은 DENV-1/3 키메라 E 당단백질이 2종의 바이러스 혈청형 - DENV-1 및 DENV-3에 대한 중화 항체를 유도할 수 있는 2가 백신으로서 기능할 수 있음을 나타낸다.
- [0145] 상기 내용은 본 발명의 예시이며, 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본 발명은 하기 청구범위에 의해 정의되며, 청구범위의 등가물은 본 발명에 포함된다.
- [0146] 본원에 인용된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 다른 참고문헌은 언급이 제공된 문장 및/또는 단락과 관련된 교시내용에 대해 그의 전문이 참조로 포함된다.

<표 1> DENV-1/3 및 DENV-3/1을 생성하기 위한 아미노산 치환

EAA#	46	50	52	53	138	141	155	156	157	160	163	169	171	173	174	176	177	180	272	275	277
3001	Q	A	Q	L	T	I	T	-	-	V	E	S	T	A	I	P	E	T	N	G	S
DENV-3/1	L	V	N	P	S	V	V	T	E	T	T	P	S	I	Q	T	D	A	T	T	T
EAA#	50	52	53	55	125	129	161	197	202	203	205	207	210	272	275	277					
WestPac ⁷⁴	V	N	P	V	L	I	T	V	E	K	W	L	K	T	T	T					
DENV-1/3 원자	A	Q	L	T	I	V	I	I	K	N	A	M	R	N	G	S					

[0147]

[0148]

<표 2> DENV 1-3 인지를 생성하기 위한 WestPac'74 (DENV-1) CDS에서의 뉴클레오티드 치환

뉴클레오티드 위치	1083	1087	1088	1090	1092	1093	1096	1097	1098	1102
WestPac'74	T	A	A	C	C	T	C	G	T	G
DENV-1/3 인지	C	C	C	A	T	G	G	A	C	A
뉴클레오티드 위치	1103	1105	1108	1111	1307	1309	1311	1318	1319	1321
WestPac'74	C	C	A	G	C	G	A	G	A	A
DENV-1/3 인지	A	G	G	A	A	A	G	A	G	G
뉴클레오티드 위치	1324	1416	1510	1513	1519	1523	1525	2528	2529	1531
WestPac'74	C	C	C	T	G	G	G	G	T	G
DENV-1/3 인지	G	T	T	C	A	A	C	A	C	A
뉴클레오티드 위치	1538	1543	1547	1553	1555	1558	1561	1563	1724	1729
WestPac'74	G	A	T	C	C	C	C	A	T	T
DENV-1/3 인지	A	C	G	A	G	A	T	G	C	A
뉴클레오티드 위치	1735	1749	1750	1753	1737	1758	1759	1764	1765	1774
WestPac'74	G	C	G	T	A	C	G	C	A	A
DENV-1/3 인지	C	A	C	A	G	G	C	G	C	G

[0149]

[0150]

RMID.	원산지 바이러스	바이러스혈증 (Log PFU/mL)										바이러스혈증 일수
		제 1 일	제 2 일	제 3 일	제 4 일	제 5 일	제 6 일	제 7 일	제 8 일	제 9 일	제 10 일	
BM05	-	2.0	-	-	2.1	1.7	2.4	-	1.4	-	-	5
BP34	rDENV1/3	-	-	1.7	-	2.1	2.4	1.9	-	-	-	4
BP73	-	1.7	-	-	2.0	1.9	2.6	1.4	-	-	-	5
BS69	-	2.3	1.9	1.9	2.0	2.4	-	2.1	-	-	-	5

△
▽

[0151]

[0152]

4> 4> 4>

RM ID, OL3 3J6 8K2 7L2	캘린저 바이러스 3001-F4E	바이러스혈증 (Log FFU/mL)										바이러스혈증 일수	
		제 1 일	제 2 일	제 3 일	제 4 일	제 5 일	제 6 일	제 7 일	제 8 일	제 9 일	제 10 일		
		-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	4
		-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	3
		-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1
		-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1

[0153]

[0154]

[0155]

△ 표 5

Mab	공여자	바이러스 결합	rE	단백질 결합				Neut50 (µg/ml)	
				ED1 II	DV1	DV2	DV3	DV4	
1B19	HD184	부함체	+	-	1.2	1.8	2.9	5.7	
1B22	HD184	부함체	-	-	>10	>10	>10	>10	
1B23	19	부함체	+	+	7.7	9.77	3.1	18.6	
1C6	헤리스	부함체	-	-	>10	>10	1.55	>10	
10000	HD184	부함체	+	+	1.1	1	3.4	4	
1F4	HD184	DENV-1	-	-	0.11	>10	>10	>10	
1F16.2	헤리스	부함체	+	+	3.93	5	12	20.9	
1G10	헤리스	부함체	+	-	>10	>10	0.093	>10	
1H10	HD184	부함체	-	-	>10	>10	0.37	4.3	
1H16	헤리스	부함체	-	-	>10	>10	>10	>10	
1H2	HD184	부함체	-	-	>10	>10	0.36	>10	
1L6	HD184	부함체	+	-	2.34	6.7	1.1	6.25	
1L13	백신	부함체	-	-	>10	>10	0.24	>10	
1M19	19	부함체	+	-	4.6	6.7	0.28	5.9	
1N5	헤리스	부함체	+	-	0.27	.04	0.98	0.85	
1N8	HD184	부함체	+	-	4.5	4.1	7.65	5.95	
2M11	HD184	부함체	+	-	1.72	2.62	3.61	4.36	
3B4	HD184	부함체	+	-	1.77	2.23	1.26	1.61	
5C8	HD184	부함체	+	-	1.07	1.65	0.95	3.31	
5J7	105	부함체	-	-	>10	>10	0.09	>10	
SK17	HD184	부함체	+	-	2.28	3.16	6.21	4.71	

[0156]

[0157]

[0158]

서열

UNC 3001 (DENV-3) 아미노산 서열

```

MRCVIGIGNRDFVEGLSGATWVDVVLEHGCCVPTMAKNKPTLDIELQKTEATQLATLRKLC
IEGKITNITTDSPROPTQGEAVLPPEEQDQNYVCKHTYVDRGWGNGCGLFGKGS LVTCAKFQ
CLEEIEGKYVQYENLKYTVIITVHTGDQHQVGNETQGVTAIIT--PQASTTEAILPEYGT
LGLECSPTGLDFNEMILLTMKNAWVHRQWFFDLPLPWTSGATTETPTWNRKELLVTF
KNAHAKKQEVVVLGSQEGAMHTALTGATEIONSGGTSIFAGHLKCR LKMDKLELKGMSYA
MCTNTFVLKKEVSETQHGTILIKVEYKGEDAPCKIPFSTEDGGQKAHNGRLITANPVVTK
KEEPPVNI EAEPFPGESNIVIGIGDNALKINWYKKG
    
```

[0159]

[0160] WestPac74 (DENV-1) 아미노산 서열

MRCVGI~~G~~NRDFVEGLSGATWVDVVLEHGSCVTTMAKDKPTLDIELLKTEV~~T~~NP~~AV~~LRKLC
IEAKISNTT~~T~~DSRCPTQGEATLV~~EE~~QDTNFVCRRTFVDRGWGNGCGLFGKGS~~LIT~~CAKFK
CVTK~~L~~EGK~~I~~VQYENLKYSVIVTVHTGDQH~~Q~~VGN~~ET~~TEHGT~~T~~ATITPQAPTSEIQ~~LT~~DYGA
LTLDCSPRTGLDFNEMVLLTME~~K~~K~~S~~WLVHKQWFLDLPLPWTSGASTSQETWNRQDLLVTF
KTAHAKKQEVVVLG~~S~~QEGAMHTALTGATEIQ~~T~~SG~~T~~TTI~~I~~FAGHLK~~C~~R~~L~~KMDK~~L~~TLK~~G~~MSYV
MCTGSFKLEKEVAETQHGTVLVQVKYEGTDAPCKIPFSSQDEKGV~~T~~QNGRLITANPIVTD
KEKPVNIEAEPFPGESYIVVGAGEKALKLSWFKKG

[0161]

[0162] WestPac74 힌지 (DENV 1/3) 아미노산 서열

MRCVGI~~G~~NRDFVEGLSGATWVDVVLEHGSCVTTMAKDKPTLDIELLKTEA~~T~~Q~~L~~A~~T~~LRKLC
IEAKISNTT~~T~~DSRCPTQGEATLV~~EE~~QDTNFVCRRTFVDRGWGNGCGLFGKGS~~LIT~~CAKFK
CVTK~~I~~EGK~~V~~VQYENLKYSVIVTVHTGDQH~~Q~~VGN~~ET~~TEHGT~~I~~A~~T~~ITPQAPTSEIQ~~LT~~DYGA
LTLDCSPRTGLDFNEMILLT~~M~~K~~N~~K~~A~~W~~M~~VHRQWFLDLPLPWTSGASTSQETWNRQDLLVTF
KTAHAKKQEVVVLG~~S~~QEGAMHTALTGATEIQ~~N~~SG~~G~~T~~S~~I~~F~~AGHLK~~C~~R~~L~~KMDK~~L~~TLK~~G~~MSYV
MCTGSFKLEKEVAETQHGTVLVQVKYEGTDAPCKIPFSSQDEKGV~~T~~QNGRLITANPIVTD
KEKPVNIEAEPFPGESYIVVGAGEKALKLSWFKKG

[0163]

[0164] 3001-1F4E (DENV 3/1) 아미노산 서열

MRCVGI~~G~~NRDFVEGLSGATWVDVVLEHGGCVTTMAKNKPTLDIE~~L~~FKTEV~~T~~NP~~AV~~LRKLCIEGK
ITNIT~~T~~DSRCPTQGEAVLPEEQDQNYVCKHTYVDRGWGNGCGLFGKGS~~LIT~~CAK~~F~~QCLEPIEGK
VVQYENLKYSVIVTVHTGDQH~~Q~~VGN~~ET~~TEHGT~~I~~A~~T~~ITPQAPTSEIQ~~LT~~DYCALGLECSPRTGLD
FNEMILLT~~M~~K~~N~~K~~A~~W~~M~~VHRQWFLDLPLPWTSGATTETPTWNRKELLVTFKNAHAKKQEVVVLG~~S~~Q
EGAMHTALTGATEIQ~~T~~SG~~T~~TTI~~I~~FAGHLK~~C~~R~~L~~KMDK~~L~~ELK~~G~~MSYAMCTNTFVLKKEVSETQHGTI
LIKVEYKGEDAPCKIPFSTEDGQGAHNGRLITANPVVTKKEE~~P~~VNIEAEPFPGESNIVIGIGD
NALKINWYKKG

[0165]

[0166]

ic랭기III UNC 3001

```

agttgttagt ctacgtggac cgacaagaac agtttcgact cggaaagctt cttaacgtag 60
tgctaacagt tttttattag agagcagatc tctgatgaac aaccaacggg agaagacggg 120
aaaaaccgtct atcaatatgc tgaaacgggt gagaaaccgt gtgtcaactg gaccocagtt 180
ggcgaagaga ttctcaaaag gactgctgaa cggccagggg ccaatgaaat tggttatggc 240
gttccatagct ttctcagat ttctagccat tcccccaaca gcaggagtct tggctagatg 300
gggaacccttc aagaagtctg ggyccattaa ggtcctgaaa ggtctcaaga aggagatctc 360
aaacatgctg agcataatca acaaacggaa aaagacatcg ctctgtctca tgatgatatt 420
gccagcagca ctgtcttcc acttgacttc acgagatgga gagccgcgca tgattgtggg 480
gaagaatgaa agaggaaat cctactttt laagacagcc tctggaatta acatgtgcac 540
actcatagcc atggacttgg gagagatgtg tgatgacacg gtcacttaca aatgccccca 600
cattaccgaa gtggaacctg aagacattga ctgctggctg aacctacat caacatgggt 660
gacttatgga acgtgcaatc aagctggaga gcatagacgc gacaaaagat cagtggcgtt 720
agctcctcat gtccgcatgg gactggacac aagcaaccaa acctggatgt cggctgaaag 780
agcttgagaa caagtccaga aggtagagac atgggccctc aggcaccag ggttcaacct 840
actagcccta tttcttgccc attacatagg cacttccctg acccagaagg tggttatttt 900
tataactact atgctgggtc ccccatccat gacaaatgaga tgtgtgggaa taggaaacag 960
agattttgtg gaaggtctat cgggagctac gtgggttgac gtggtgctcg agcaccgggg 1020
gtgtgtgact accttgctca agaacaagcc cacgctggat atagagcttc agaagaccga 1080
ggccaaccaa ctggcgacc taaggaaagct atgcatgag gggaaaatta ccaacatcac 1140
aactgactca agatgtccta cccaagggga agcggttttg cctgaggagc aggaccagaa 1200
ctacgtgtgt aagcatacat acgtagacag aggcctggggg aacggtttgt gctgttttgg 1260
caaggggaag ctggtaacct gtgcgaaatt tcaatgctcg gaaccaatag agggaaaagt 1320
gggtgcaaat gagaacctca aatacacctg catcattaca gtgcaccag gagaccaaca 1380
ccaggttaga aatgaaacgc agggagctcc ggctgagata acacctcagc catcaaccac 1440
tgaagccatc ttgctgaat atggaacctc lgggttagaa tgcctaccac ggcacagttt 1500
ggatttcaat gaaatgatct tactaacaat gaagaacaaa gcattggtg tactatgaca 1560
atggtttttt gacctacctc taccatggac atcaggagct acaaacagaaa cgcacaacctg 1620
gaacaggaag gagcttcttg tgacatbcaa aaacgcacat gcgaaaaaac aagaagtatg 1680
cgtccttggc tggcaagagg gagcaatgca taccgactg acaggagcca cagaatcca 1740
aaactcagga ggcacaagca tttttgctgg gcacttaaaa tgtagactta agatggacaa 1800
atttgaaact aaggggatga gctatgcaat gtgcaccgat acctttgtgt tgaagaaaga 1860
agtctcagaa acgcagcatg ggacaatact cattaaggct gagtacaagg gggaaagatc 1920
gccttgcagc atctcttctc ccacagagga tggacaaggg aaagctccca atggcagact 1980
gatcacagcc aaaaagtgg tgactaagaa gtagggagct gtcaatattg aggctgaacc 2040
tctctttggg gaaagtata tagtaattgg aattggagac aacgcttga aaatcaactg 2100
gtacaagaag ggaagctcta ttgggaagat gttcagggcc actgcccagag gtcacaaggg 2160
catggccctc ttgggagaca cagcttggga ctttggatca gtgggtggtg tctgaaactc 2220
attaggcaaa atggtgcacc aaatattcgg aagtgcctac acagccctat tcagtggagt 2280
ctcttgggtg atgaaaattg gaatagggt tctcttgact tggatagggt tgaattcaaa 2340
aaacacatcc atgtcaattt catgcattgc gataggaatc attacaactc atctgggagc 2400
tgtggtacaa gctgacatgg ggtgtgtcat aaactggaaa ggcacaagac tcaaatgtgg 2460
aagtggaaat ttctgcacca acgaggtcca taactggaca gagcaataca aattccaagc 2520
agactcccca aaaagatttg cgacagccat tgcaggcctt tgggagaatg gagtgtgcgg 2580
aattaggctc acaaccagaa tggagaatct cctgttggag caaatagcca atgaactgaa 2640
ctacatatta tgggaaaaca atatcaaat aacggtagtt gtgggcgata caattgggggt 2700
cttagagcaa ggaazaaagaa cactaacacc acaacccatg gagctaaaaat actcatggaa 2760
aaactgggga aagcacaanaa tagtgacagc tgaaaacaaa aattcctcct tcaataaga 2820
cgggccaaaac acaccggagt gtccaagtgc ctcaagagca tggaaatgtgt gggaggtgga 2880
agattacggg ttccgagctc tcacaaccaa catatggctg aaactccgag atgtgtacac 2940
ccaactatgt gacctatggc taatgtccgc agccgtcaag gatgagaggg ccgtcacacc 3000
cgacatgggc tatttggatag aaagccaaa gaaatggaag tggaaagctag aaaaagcctc 3060
cctcatagag gtgaaaaact gcacatggcc aaaaacacac actctttgga gcaatggctg 3120
gctagagagt gacatgatca tccccaaagg cctcgtctggc cctatttctg aacacaacta 3180
caggcctggg taccacaccc aaacagcagg acctggcac ttaggaaaaat tggagctgga 3240
cttcaactat tgtgaaggaa caacagttgt catcacagaa aactgtggga caagagcccc 3300
atcattgaga acaacaacag tctcagggaa gttgatcac gaattggtgt gccgctcgtg 3360
caacotctct cccctgagat acatgggaga agacggctgc tgglatggca tggaaatcag 3420
acccatcagt gagaagaag agaacatggt aaagtcttta gttctcagcgg gaagtggaaa 3480
gggtgcaaac ttcacaatgg gtgctctgtg tttggcaatc cctcttgaay aggtgatgag 3540

```

[0167]

aggaaaaattt gggaaagaaa acatgatgtgc aggggttctc ttcaocgtttg tgctcctctc 3600
 ctcaaggcmaa ataacatgga gagacatggc gcacacaacta ataattgatgg ggtccaaacgc 3660
 ctctgacagg atgggaatgg gogtcaacta octagcttta attgcaacat ttaaaatcca 3720
 gccattcttg gctttgggat ttttcoctaa aaaaactgaca tctagagaaa atttattgtt 3780
 aggggttggg ctggctatgg caaacaacgtt acaactgcca gaggacattg aacaaatggc 3840
 aaatgggaatc gctctggggc tcatggctct taaactgata acacaatttg aaacatacca 3900
 attatggagc gcattagctc ccttaacgtg ttcaaataca attccttaagt tgaotggtgc 3960
 ctggagaaca gccaccctga ttttggccgg agtttgcgtt ttaccaggtt gccagctctc 4020
 gagcatgagg aaaaacagact ggcttccaat gacagtgcca gctatgggag ttocaccctc 4080
 accacttttt attttttagct tgaagagac acccaaggg agaagctggc caotgaatga 4140
 aggggtgatg gctgttgggc ttgtgagcat tctggccagt tctctcctta gaaatgatgt 4200
 gcccatggct ggaccattag tggccggggg ctctgctgata gcgtgctacg tcataaactg 4260
 cacgtcagca gacctcaact tggaaaaagc agcagatgta acatggggag aagggctga 4320
 gcaaacggga gtgtcccaca acttaatgat cacagttgat gatgatggaa caatgagaat 4380
 aaaagatgat gagaotgaga acatcctaac agtgctttta aaaaacgcat tactaatagt 4440
 arcaggatc ttccatact ccatacccgc acaactgttg gctctggcata cttggcagaa 4500
 gcaaacccaa aggtccggcg ttctgtggga cgtaccacgc ccccacagga cacagaaaagc 4560
 agaactggaa gaagggttt ataggatcaa acagcaagga attcttggga aaacccaagt 4620
 aggggttggg gtacagaaag aaggagctct ccacaccatg tggcacctca caagaggggc 4680
 agtgctgaca cataatggga aaagactgga accaaactgg gctagcctga aaaaagatct 4740
 gatctcatal ggaggagat ggagattgag ccgcacatgg caaaaggggg agggaggtgca 4800
 ggttatggc ttggagcctg ggaagaaacc caaactctt caaacctggc caggcacttt 4860
 tcagactaca acaggggaaa taggagcaat tgcactggat tccaagcctg gaactcagg 4920
 atctcctatc ataaacagag agggaaaagt agtgggactg tatggcaatg gagtgtttac 4980
 aaagaatggc gctacgtca gccgaatagc gcaaaccaat gcagaaacag atggaccgac 5040
 accagagctg gaagaagaga tgttcaaaaa gcgaatcta accataatgg atctctatcc 5100
 tgggtcagga aagacacgga aatacctctc agctattgtt agagagggca tcaagagacg 5160
 tttaaagact ctaattttgg caccgacaag ggtggttgc gctgagatgg aagaagcatt 5220
 gaaagggctc ccaatagggt accaaaacac agcaacaaaa tctgaaacaca cagggaagaga 5280
 gatgtttgat ctaattgtcc acgcaacgtt cacaatgccc ttgctgtcac caqttaggg 5340
 tccaaatkat aacttgataa taatggatga ggccatttc acagaccag ccagcatagc 5400
 ggctagaggg tacaatcaaa ctctgttgg aatgggagag gcagccgcaa ttttcatgac 5460
 agcaaccgcc octggaacag ctgatgcctt tccctcagagc aaocctcaa tccaagatga 5520
 agaaagggac ataccagaac gctcatggaa ttcaggcaat gaatggatta ccgacttgc 5580
 tgggaaaaag gtgtggtttg tccccagcat taaagccgga aatgacatag caaactgct 5640
 gccgaaaaac ggaaaaaagg tcatccaact tagtaggaag acttttgaca cagaatatca 5700
 gaagactaaa ctgaatgat gggactctgt ggtgacaact gacatttcag aaatgggggc 5760
 caatttcaaa gcagatagag tgatcgaacc aagaagatgt ctcaaacceg tgcactgac 5820
 agatggacca gagcgggtga tcoctggctgg accaatgcca gtcaccggcg cgagtgtgc 5880
 gcaaaaggaga ggaaagattg gcaggaaccc acaaaaaaga aatgaccagt acatatctac 5940
 gggccagcct ctcaacaatg atgaagacca tgcctcactgg acagaaagcaa aaatgctgt 6000
 ggacaacatt aacacaccag aagggattat accagctctc tttgaaocag aagggagaa 6060
 gtcagccgcc atagacggtg agtatgcct gaagggtagc tocagggaaga ctttctgtga 6120
 actcatgagg aggggtgacc ttccagtttg gttagcccat aaagttagcat cagaagggat 6180
 caaatataca gatagaaat ggtgctttga tggacaacgc aataatcaaa ttttagagga 6240
 gaacatggat gtggaatct ccgacaaagga aggagaaaag aaaaaattga gacctaggtg 6300
 gcttgatgcc cgcacttatt cagatccctt agcactcaag gaatttaagg actttgccc 6360
 tggcagaaag tcaatcgccc ttgatcttgt gacagaaata ggaagagtgc cttcacacct 6420
 agcccacaga acgagaaaag ctctggacaa tctggctgat ctgcatacgt cagaacatgg 6480
 cggtagggcc tcacggcatg cggtaggaga actaccagaa acaatggaaa cactttact 6540
 cttgggactc atgatcttg tgaacggctg agcaatgctt tcttgatata caggaaaaag 6600
 gatrggaaag acttcaatag gactcaattg tgaattgcc tccagcggca tgttgtggat 6660
 ggcgaaatc ccaactcaag ggatcgcgtc ggctatagtc ctggagtttt ttatgatggt 6720
 gtrgctata ccgaaocag aaaaagcagag aacccccaa gacaaccaac tgcgatatgt 6780
 cgtgataggc atacttaaat tggctgcaat aatagcagcc aatgaaatgg gactgttgg 6840
 aactacaagg agagatttag gaatgtctaa ggagccaggt gttgtttctc caaccagcta 6900
 tttggatgtg gacttgcacc cagcatcagc ctggacattg tacgccgtgg ccaactacgt 6960
 aataacacca atgtlaagac ataccataga gaattctaca gcaatgtgt ccctggcagc 7020
 tatagccaac cagggagtg tcoctgatgg tttggacaaa ggatggcca tatcaaaaat 7080
 ggaacttagc gtaaccactac tggcartggg ttgctattca caagtgaaac cactgactct 7140
 aacagggcca gtaactttgc taatcacaca tttatgotatt ataggtccag gattgcaggc 7200

[0168]

aaaagccact cgtgaagctc agaaaaggac agctgctgga ataatagaaga atccaacggt 7260
 ggatgggata atgcaaatag accatagatcc tgytaatatat gattcaaaat ttgaaaagca 7320
 actgggacag gtttatgctcc tggttttgtg tgcagttcaa cttttgttaa tgagaacatc 7380
 atgggctctg tgtgaagctt taactotagc tacaggacca ataacaacac totgggaagg 7440
 atcacctgga aagttttgga acaccaagat agctgtttcc atggggaaca tttttagagg 7500
 gagctattta gcagygagctg ggcttgcttt ttctattatg aaatcagttg gaacagyaaa 7560
 aagaggaaca ggttcacaag gcgaaacttt agggaaaaaa tggaaaaaag aattaaatca 7620
 attatccogg aaagagtttg acctttacaa gaaatctggg atcactgaaq tggatagaac 7680
 agaagccaaa gaagggttga aaaggggaga aataacacat catgcccgtg ccagaggtag 7740
 cgcaaaactt caatggtttg tggagagaaa catggtcatt ccggaaggaa gagtcataga 7800
 cttgggctgt ggaagagagag gctggtcata ctactgtgca ggaactgaaa aagtoacaga 7860
 agtgcgagga tacacaaaag ggggtccagg acacgaagaa ccagtaccta tgtctacata 7920
 tggatggaac atagtttaagt taatgagtgq aaaggatgq tttttatctc cacctgaaa 7980
 gttgtatacc ctggtgtgtg acatcgyaga atcttcacca agcccaacag tggaaagaaq 8040
 cagaactata agagttttga agatggttga accatggcta aaaaacaacc agttttgcat 8100
 taaagratg aacctttaca tgcacaactg gatgagcacc ctagaagaac tacaaggaa 8160
 acatygagga atgcttgyga gaaatccact ttacgaaac ttccagcagc aaatgtactg 8220
 gatattcaat ggcacaggtg accttctctc ttcaagtcaac atgggtacta gattgctact 8280
 gaacaggttc acgatgacac acagggagacc taccatagag aaagatggtg atttaggagc 8340
 aggaactcga catgttaatg cggaaaccga aacaccacac atggatgtca ttggggaaag 8400
 aataaaaagg atcaagggag agcacaatc aacatggcac tatgatgagc aaaaccotta 8460
 caaaaagctg gcttaccacg gatcctatga agtcaaaagc acaggtcag cctcctccat 8520
 gataaaatgga gtcgtgaaac tectcactaa accatgggat gtggtgcca tgggtgacaca 8580
 gatggcaatg acagatacaa ctccatttgg ccagcagaga gtctttaaag gyaagtgga 8640
 caccaggaca cccagggcca tgcaggggac aagaaagggt atggggatca cagcggagtg 8700
 gctctggaga accctgggaa ggaacaaaag acccaggtta tgcaaaagg aagagttac 8760
 aaaaaaggtc agsaactaac cagccatggg cggcgttttc acaggggaga accaatggga 8820
 cagtgcgaaa gctgctgtg aggatgaaga attttggaaa ctgtggaca gagaactgga 8880
 actccacaaa ttgggcaagt gtggaaagtg tgtttacaac atgatgggca agagagaga 8940
 gaaacttyga agttttggca aagcaaaaag cagttagact atatggtaca tgtggttggg 9000
 agccaggtac cttgagttcg aagcccttgg atctcaaat gaagaccact ggttctcgcg 9060
 tgacaactct tacagtggag tagaaggaga aggactgcac aagctaggct acatattaaq 9120
 ggaacatttc aagataccgg gaggagctat gtatgctgat gacacagctg gttgggacac 9180
 aagaataaca gaagatgacc tgcacaatga ggaaaagatc acacagcaaa tggaccctga 9240
 acacagggag tttagcgaacg ctatatttaa gctcacatc caaaaacaag tggtaaaagt 9300
 tcaacgaccg actccaacgg gcacggtaat ggcacatcata tctaggaaaq accaaagagg 9360
 cagtggacag gtgggaactt atggtctgaa tacattcacc aacatggaag tccagttagt 9420
 cagacaaaat gaagggagag gtgtgctgtc aaagggcagac ctcgagaacc ctcatctgcc 9480
 agagaagaaa attacacaat ggtttgaaac caaaggagtg gagaggttaa aaqaatggc 9540
 cattagcggg gatgattgtg tagtgaaac aatcgalgac aggttcogta atgcccgtgt 9600
 tgctctgaa c yatatgggaa aggttcggaa agacataacc caatggcagc catcaaaagg 9660
 atygcatgat tggcaacagg ttccctttctg ctcccaccac ttctcatgaat tgatcatgaa 9720
 agatggaaga aagttagtgg ttccctgtag accccaggac gaaactaatg gaagagcaag 9780
 aatctctcaa ggagcgggat ggagccttag agagaccgca tgtctgggga aagcctacgc 9840
 tcaaatgtg agtctcatgt actttcacag aagagatctc agactagcat ccaacgccat 9900
 atgttcagca gtaccagtcc actgggtccc cacaagtaga aogacatggt ctattcatgc 9960
 tcaacatcag tggatgacta cagaagacat gcttactgtc tggaaacagg tgtggatcga 10020
 ggaacaatcca tggatggaag acaaaaactc agttacaacc tgggaaaaat ttccatattc 10080
 agggaaagaga gaagaccaat ggtgoggatc acttattggt ctcaacctca gagcaacctg 10140
 ggcacagaa ataccacag caatccaaca ggtgagaagt cttataggga atgaagagtt 10200
 tctggattac atgcccctcaa tgaagagatt caggaaaggag gagygctcgg aaggagccat 10260
 ttggtaaaag taggaagtga aaaaagggca aactgtcagg ccaccttaag ccacagtacg 10320
 gaagaagctg tgcctcctgt gagccocytc caaggaagtt aaaagyaagaa gtcagggccc 10380
 aaagccacgg tttgagcaaa ccgtgctgcc tgtagctccg togtggggac gtaaaaactg 10440
 ggaggtcga aactgtggaa gctgtacyca cgggtgtagca gactagcggg tagagggagc 10500
 ccccccactg acacaacgca gcagcggggc ccgagcactg agggaaagctg tacctccttg 10560
 caaaggacta gaggttagag gagaoccccc gcaaaocaaa acagcatatt gacgttgyga 10620
 gagaccagag atcctgctgt ctctcagca tcaatccagg cacagaacgc cagaaaaatgg 10680
 aatyggtcgt ttgaatcaac aggttcttaa aagagagc 10740

[0169]

[0170]

ic뎡기I WestPac'74

agttgttagt	ctacgtggac	cgacaagaac	agtttogaat	oggaagcttg	cttaacgtag	60
ttctaacagt	tttttattag	agagcagatc	tctgatgaac	aaccaacgga	aaaagacggg	120
tgcgacgtct	ttcaaatatgc	tgaaacggcg	ggaaaacccg	gtgtcaactg	tttcaacagtt	180
ggcgaagaga	ttctcaaaa	gatttgccttc	aggccaagga	cccatgaaat	tgggtatggc	240
ttttatagca	ttcctaagat	ttctagccat	acctccaaca	gcaggaattt	tggctagatg	300
gggctcattc	aagaagaatg	gagcgatcaa	agtgttaocg	ggtttcaaga	aagaatcttc	360
aaacatgttg	aacataatga	acaggaggaa	aagatctgtg	accatgctcc	tcattgctgct	420
gccccagacc	ctggcgcttc	atctgaccac	ccgaggggga	gagccgcaca	tgatagttag	480
caagcaggaa	agaggaatat	cacttttgrt	taagacctct	gcagggttca	acatgtgcac	540
ccttatttgc	atggatttgg	gagagttatg	tgaggacaca	atgacctaca	aatgcccccg	600
gatcaactgag	accgaacccag	atgacgttga	ctgttgggtg	aatgccaocg	agacatgggt	660
gacctatgga	acatgttctc	aaactggtga	acaccgacga	gacaaacgtt	ccgtcgcact	720
ggcaccacac	gtagggtctg	gtctagaaac	aagaaccgaa	acgtggatgt	cctctgaagg	780
cgcttggaaa	caaatcaaaa	aagtggagac	ctgggctctg	agacaccocg	gattcacggt	840
gatagccctt	ttcttagcac	atgocattag	aacatccatc	accagaaaag	ggatactttt	900
tattttgctg	atgctggtaa	ctccatccat	ggccatgocg	tgcgtgggaa	taggcaacag	960
agacttctgt	gaaggactgt	caggagctac	gtgggtggat	gtggtactgg	agcattggaag	1020
ttgctgcact	accatggcaa	aagacaaaac	aacactggac	attgaactct	tgaagacgga	1080
ggtcacaaac	ctgcccgtct	tggcacaact	gtgcattgaa	gctaaaatat	caaaacccac	1140
caaccgattg	agatgtccaa	cacaaggaga	agccacgctg	gtggaagaa	aggacacgaa	1200
ctttgtgtgt	cgacgaacgt	tctgggacag	aggctggggc	aatggttgtg	ggctattcgg	1260
aaaaggtagc	ttataaacgt	gtgctaaagt	taagtgtgtg	acaaaactgg	aaggaagatg	1320
agtcacaat	gaaaacttaa	aatatccaat	gatagtccac	gtcacacactg	gagaccagca	1380
ccaagtggga	aatgagacca	cagaacatgg	aaccaatgca	accataaacac	ctcaagctcc	1440
cacgtcggaa	atcacgctga	cagaactcgg	agctctaaca	ttggattggt	caactagaac	1500
agggctagac	tttaatgaga	tgggtgtggt	gacaaatgaa	aaaaaatcat	ggctcgtcca	1560
caaaaactgg	ttctatagat	taccactgcc	ttggacctcg	ggggcttcaa	catcccaga	1620
gacttggaa	agacaagact	tgctggtcac	atttaagaca	gctcatgcaa	aaaagcagga	1680
agtagtctga	ctaggatcac	aagaaggagc	aatgcacact	gcgttgactg	gagcgacaga	1740
aatccaaaac	cttggaacga	caacaatttt	tgcaggacac	ctgaaatgca	gactaaaaat	1800
ggataaaatg	actttaaaa	ggatgtcata	tgtaatgtgc	acagggctcat	ctcaagttaga	1860
gaaggaaagt	gctgagaccc	agcatggaa	tgttctagt	caggttaaat	accgaagaa	1920
agatgcacca	tgaagatcc	ccttctctgc	ccaagatgag	aagggagtta	cccagaatgg	1980
gagattgata	acagccaacc	ccatagtcc	tgaacaagaa	aaaccagtca	acattgaaag	2040
ggagccaact	tttggtaga	gctacattgt	ggtaggagca	ggtgaaaaag	ctttgaaact	2100
aagctggttc	aagaagggaa	gcagtatagg	gaaaaatggt	gaagcaactg	ccctgaggag	2160
acgaaggatg	gccatcctgg	gagacactgc	atgggaactc	ggttctatag	gaggggtggt	2220
ccctctctgt	gaaaaactga	tacaccagat	ttttgggact	gcgtatggag	ttttgttcaag	2280
cgggtgtttc	tggaccatga	agataggaat	agggattctg	ctgacatggc	taggattaaa	2340
ctcaaggagc	acgtcccttt	caatgacgtg	tatogcagtt	ggcatgggtca	cgctgtacct	2400
aggagtcatg	gttcagggcg	actcgggatg	tgtaatcaac	tggaaaaggca	gagaactcaa	2460
atgtggaagc	ggcatttttg	tcaccaatga	agtcacacac	tggacagagc	aatataaatt	2520
ccaggccgac	tccccataaga	gactatacag	ggccattggg	aaggcaatggg	aggaggggtg	2580
gtgtggaatt	cgatcagcca	ctcgtctcga	gaacatcatg	tggaaacaaa	tatcaaatga	2640
attaaaaccac	atcttacttg	aaaatgacat	gaaatttaca	gtggtcgtag	gagacgttag	2700
tggaaacttg	gccccaggaa	agaaaaatgat	tagggccacaa	cccattggaac	acaaatactc	2760
tgggaaaagc	tgggggaaa	ccaaaatcat	aggagcagat	gtacagaata	ccacctcat	2820
catcgacggc	ccaaacaccc	cagaatgccc	tgataaccac	agagcatgga	acatttggga	2880
agttgaaagc	tatggatttg	gaattttcac	gacaaacata	tgggtgaaat	tgcgtgactc	2940
ctacactcaa	gtgtgtgacc	accggctaat	gtcagctgcc	atcaaggata	gcaaaagcag	3000
ccatgctgac	atgggtattt	ggatgaaaag	tgaaaagaac	gagacttgya	agttggcaag	3060
agcctccttc	atagaagtta	agacatgcat	ctggccaaaa	tcccacactc	tatggagcaa	3120
tggagtccctg	gaaagtgaga	tgataatccc	aaagatatat	ggaggaccaa	tatctcagca	3180
caactacaga	ccaggtatatt	tcacacaaac	agcagggccg	tggcacttgg	gcaagttaga	3240
actagatttt	gattttatgtg	aaagtaccac	tgttgttgtg	gatgaaactg	gtggaactcg	3300
aggaccatct	cttagaaacca	caaacagtcc	aggaaagaca	atccatgaat	ggtgctgtag	3360
atcttgcacg	ttaccccccc	taoqtttcaa	aggagaagac	gggtgctggt	accgcatgga	3420
aatcagaacca	gtcaaggaga	aggaagagaa	cctagttaag	tcaatggctc	ctgcaagggtc	3480
aggagaagtg	gacagttttt	cactaggact	gctatgcata	tcaataatga	togaagaggt	3540

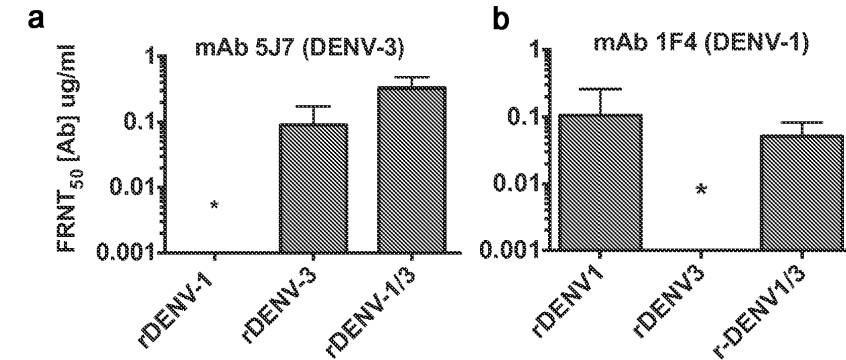
[0171]

aatgagatcc	agatggagca	gaaaaatgct	gatgactgga	acattggctg	tytctctcct	3600
tcttacaatt	ggacaattga	catggaatga	tctgatcagg	ctatgtalca	tggttggagc	3660
caacgcttca	gacaagatgg	ggatgggaa	aacgtacctc	gctttgatgg	ccaatttcag	3720
aatgagacca	atggttcgca	tcgggtactc	gtttcgocag	ttaacatcta	gagaagtctc	3780
tcttcttaca	gttgatttga	gtctggtggc	atctgtagaa	ctacaaaatt	ccttagagga	3840
getaggggat	ggacttgcac	tgggcatcat	gatggtgaaa	ttactgactg	attttcagtc	3900
acatcagcta	tgggctacct	tgctgtcttt	aacatbtgtc	aaaaacaact	tttcatttga	3960
ctatggatgg	aagacaatgg	ctatgatact	gtcaattgta	tctctctctc	ctttatgcct	4020
gtccaccgact	totcaaaaaa	caacatggct	tcgggtgttg	ctgggatctc	ttggatgcaa	4080
accactaacc	atggtttctt	taacagaaaa	caaaatctgg	ggaaggaaaa	gctggcctct	4140
caatgaagga	attatggctg	ttggaatagt	tagcattctt	ctaagttcac	ttctcaagaa	4200
tgatgtgcca	ctagctggcc	cactaatago	tggaaggcat	ctaatagcat	gttatgtcat	4260
atctggaagc	toggccgatt	tatcactgga	gaaaagcggc	gaggtctcct	gggaagaaga	4320
agcagaacac	tctggtgcct	cacacaacat	actagtggag	gtccaagatg	atggaaacct	4380
gaagataaag	gatgaagaga	gagatgacac	actcaacctt	ctcctcaaac	caactctctg	4440
agcaatctca	ggggtatacc	caatgtcaat	accggcgacc	ctctttgtgt	ggatattttg	4500
gcagaaaaag	aaecagagat	caggactgtc	atgggacaca	cccagccctc	cagaagtggg	4560
aaagacagtc	cttgatgatg	gcatttatag	aattctccaa	agaggattgt	tgggcaggtc	4620
tcagtaggga	gtaggagtct	ttcaagaaag	cggtttccac	acaatgtggc	acgtcacccg	4680
gggagctgtc	ctcatgtacc	aaagggaag	actggaacca	agttggggca	gtgtcaaaaa	4740
agacttgatc	tcataatggg	gaggttggag	gtttcaagga	tcctgggaac	cgggagaaag	4800
agtgcaggtg	attgctgttg	aacccgggaa	gaaccccaaa	aatgtacaga	cagcgcgggg	4860
taacctcaag	accctcgaag	gcgaagtctg	agccatagct	ctagacttta	aaacccggca	4920
atctggatct	cctatctgtg	acagagaggg	aaaaatagta	ggctttatg	gaaatggagt	4980
ggtgacaaca	agtggtacct	acgtcagtgc	catagctcaa	gctaaagcat	caacagaagg	5040
gcctctacca	gagattgagg	acgaggtgtt	taggaaaaag	aacttaacaa	taattggacct	5100
aatccagctg	ctgggaaaaa	caagaagata	ccttccagcc	atagtccctg	aggccataaa	5160
aaagaaagct	cgcaacgtag	tcttagctcc	cacaagaagt	gtcgttctct	aaatggcaga	5220
gcgcctcaag	ggaatgcaaa	taaggtatca	gacaacagca	gtgaagagtg	aacacacggg	5280
aaaggagata	tttgacctta	tgtgtcaagc	caacttcaact	atgogtctcc	tgtctctctg	5340
gagagttccc	aattataata	tgattatcat	ggatgaagca	calltcaacc	atccagccag	5400
catagcagcc	agaggggtata	tctcaaccgg	agtggttatg	ggtgaagcag	ctgctgattt	5460
catgacagcc	actcccoccg	gatcgggtga	ggcctttcca	cagagcaatg	cagttatcca	5520
agatgaggaa	agagacattc	ctgaaagatc	atggaactca	ggctatgact	ggatcaactg	5580
tttcccaggt	aaaaacgtct	ggtttgttcc	aagcatcaaa	tcaggaaatg	acattgcca	5640
ctggttaaga	aagaatggga	aacgggtggt	ccaattgagc	agaaaaactt	ttgacactga	5700
gtaccagaaa	acaaaaaata	acgactggga	ctaagtgtgc	acaaacagca	tatccgaaat	5760
gggagcaaac	ttccgagccg	acagggtaat	agacccgagg	cggtgcctga	aaccggtaat	5820
actaaaagat	ggcccagagc	gtgtcattct	agccggaccg	atgcccagtg	ctgtggctag	5880
cgccgcccag	aggagagggaa	gaaatggaag	gaacccaaa	aaggaaaggc	atcagtatat	5940
ttacatggga	cagcctctaa	acaatgatga	ggaccacgcc	cattggacag	aagcaaaaat	6000
gotccttgac	aacataaaca	caccagaagg	gatttatccca	gcccctcttg	agccggagag	6060
agaaaagagt	gcagcaatag	acggggaata	cagactacgg	ggtgaagcga	ggaaaaogtt	6120
cgtaggagct	atgagaagag	gagatttacc	tgtctggcta	tcctacaaag	ttgctcaga	6180
aggettccag	tactccgaca	gaaggtggtg	ctttgatggg	gaaaaggaca	accaggtgtt	6240
ggaggagaa	atggactggg	agatctggac	aaaagaagga	gaaagaaaag	aaactacgac	6300
ccgctggctg	gatgccaagaa	catactctga	cccactggct	ctgocgcaat	tcaagagatt	6360
ccgagcagga	agaagaagcg	tctcaggtga	cctaataatta	gaaataggga	aaacttccca	6420
acatttaacg	caaaagggcc	agaacgcctt	ggacaactct	gttatggtgc	acaactctga	6480
acaaggaggga	aaagccctata	gaocagccat	ggaagaacta	ccagacacca	tagagacgtt	6540
aatgctccta	gctttgatag	ctgtgtgtgac	tggtggagtg	acgttgttct	tctatcaagg	6600
aaagggctca	ggaaaaacat	ccatbtggct	actctgctgt	attgcctcaa	gtgcaactgt	6660
atggatggcc	agtggtgga	cccatttggat	agccggcctct	atcatactgg	agttctttct	6720
gatggtgttg	cttattccag	agccggacag	acagcgcact	ccacaagaca	accagctago	6780
atcgtggctg	ataggtctgt	tattcatgat	attgacagtg	gcagccaatg	agatgggatt	6840
actggaaaac	acaagaaggg	acctggggat	tggtcatgca	gctgctgaaa	accaccatca	6900
tgctgcaabg	ctggacgtag	acctacatcc	agcttcagcc	tggaactctc	atgcaagtggc	6960
cacaacaatt	atcaactcca	tgatgagaca	cacaattgaa	aacacaacgg	cgaatatttc	7020
cctgacagct	attgcaaac	agggagctat	attgatggga	cttgacaagg	gatggccaat	7080
atcaaaagat	gacataggag	ttccactctc	cgcttggggg	tgctattctc	aggtgaaacc	7140
gctgacgctg	acagcggcgg	tatttatgct	agtggtctcat	tatgccataa	ttggaccocg	7200

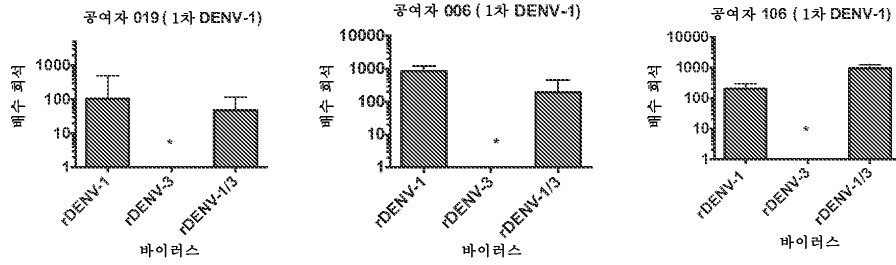
actgcaagca aaagctacta gagaagotca aaaaaggaca gcagccggaa taatgaaaaa 7260
 cccaactgtc gaccgggatcg ttgcaataga tttggaccct gtgggttacg atgcaaaatt 7320
 tgaaaaacag cttaggccaaa taagtgtgtt gatactttgc acatccacaga tccctcctgat 7380
 ggggaccaca tgggcccrtgt gtgaatccat cactactagcc actggacctc tgaotacogct 7440
 ttggggggga tctccaggaa aattcttgaa caccacogata gcgggtgtcca tggcaaacat 7500
 ttttagggga agttatctag caggagcagg tctggcccttt tcaatlaatga aatototagg 7560
 aggaggttagg agaggcaccg gagcccaagg ggaacacctg ggagaaaaat ggaaaaagaca 7620
 gctaaaccaa ttgagcaagt cagaattcaa cacttacaaa aggagtggga ttatagagggt 7680
 ggatagatct gaagccaaaag aggggttaaa aegaggagaa acgactaaaac acgcagtgtc 7740
 gagaggaacg gccaacactga ggtggtttgt ggagaggaaac cttgtgaaaac cagaagggaa 7800
 agtcatagac ctccggttgtg gaagaggtgg ctggtcatat tattgcccgtg ggctgaagaa 7860
 agtcacagaa gtgaaaggat acacgaaagg aggaacctgga catgaggaac caatcccaat 7920
 ggcaacctat ggtatgaaacc tagtaaaagt atactccggg aaagatgtat tctttacacc 7980
 acctgagaaa tgtgacacccc tcttgtgtga tattggtgag tctctccga acccaactat 8040
 agaagaagga agaactgtac gtgttctaaa gatggtggaa ccatggctca gaggaaacca 8100
 attttgcata aaaattctaa atccctatat gccaggtgtg gtgaaaaact tggagcaaat 8160
 gcaaaagaaa catggaggaa tgctagtgcg aaatccactc tcaagaaaat ccactcatga 8220
 aatgtactgg gtttcatgtg gaacaggaaa cattgtgtca gcaataaaaa tgcactctag 8280
 aatgtcgtca aatcgtatca caatggctca caggaagcca acatatgaaa gagacgtgga 8340
 cttagggccc gaagcaagac atgrggcagt agaaccagag gtggcccaaac tagatatac 8400
 tggccagagg atagagaata taaaaaatga acacaaaatca acatggcatt atgatagga 8460
 caatccatac aaaaactggg cctatcctgg atcatatgag gtoaaagccat caggatcagc 8520
 ctcatccatg gtcactgggt tggtagact gctaaccaaa ccatgggatg tcatcccat 8580
 ggtcacacaa atagccatga ctgacaccac accctttgga caacagaggy tgtttaaaga 8640
 gaaagtggac acgctgacac caaaaagcga acgagggaca gcacaaatta tggaggtgac 8700
 agccaggtgg ttatgggggt tctctctag aacaaaaaaa ccagaaatct gccaaagaga 8760
 ggagttcaca tgaaaaagtc ggtcaaacgc agctattgga gcagtgttcg tccatgaaaa 8820
 tcaatggaa ccaagcaaaa aggcagtgga agatgaaocg ttctgggacc ttgtgcacag 8880
 agagagggag cttaataaac aaggaanaatg tgccacgtgt gtctacaaca tgatgggaaa 8940
 gagagagaaa aaatltaggag agttoggaaa ggcbaaaagga agtcgcccga tatggtcat 9000
 gtggttggga ggcgctttt tagagtttga agcccttgggt ttcatgaatg aagatcactg 9060
 gttcagcaga gagaattcac tcaagtggat ggaaggagaa ggactccaca aacttgata 9120
 cactactcaga gacatataca agattccagg gggaaatag tatgcagatg acacagccgg 9180
 atgggacaca agaataacag aggatgatct tcagaatgag gccbaaatca ctgacatcat 9240
 gaaacctgaa catgcccctat tggccacgct aatctttaag ctacccatcc aaaaacaggt 9300
 agtaaggggtg cagagaccag cgaaaaatgy aacctgtatg gatgtcatal ccagacgtga 9360
 ccagagagga agtggacag tggaaaccta tggcttaaac accttcacca acatggaggo 9420
 ccaactaata agacaaatgg agtctgaggg aatcttttca cccagngaat tggaaacccc 9480
 aaatctagcc gaaagagctc tccactgggt gaaaaaacat ggccaccgaga ggcctgaaaag 9540
 attgccaatc agtggagatg actgtgtggt gaaaccaatt gatgacagat ttgcaacagc 9600
 cttaacagct ttgaatgaca tgggaaaggt aagaaaagac ataccgcaat gggaaacctc 9660
 aaaaaggtgg aatgattggc acaaggtgoc tttctgttca caccatttcc accagctgat 9720
 tatgaaggat ggggggggaga tagtgggtcc atgcccgaac caagatgaac ttgtaggtg 9780
 ggccagagta tcacaaggcg ccggatggag cttgagagaa actgcatgoc taggcaagtc 9840
 atatgcacaa atgtggcagc tcatgtactt ccaacagaga gacttgagat tagcggctaa 9900
 tgcctctgt tccagccgtc cagttgatg ggtcccaacc agccgtaoca cctggtcgt 9960
 ccatgcccac catcaatgga tcacaacaga agacatggt tcaagtgtgga ataggggtt 10020
 gatagaggaa aaccocatgga tggaggacaa gactcatgtg tccagtgtgg aagacgttcc 10080
 atacctagga aaaaagggaag atcaatggtg tggatcccta ataggottaa cagcaagagc 10140
 caccctgggccc acaacatac aagtggccat aacccaagt agaaaggtca ttgggaatga 10200
 gaattatctc gacttcatga catcaatgaa gagattcaaa aacgagagtg atcccgagg 10260
 ggcactctgg taagccaaact cattcaaaa ataaaggaat ataaaaaat aacaaaggca 10320
 agaagtcagg ccggattaaag ccatagcacg gtaagagcta tgcctgctgt gggcccctc 10380
 caaggacgta aaatggaagt agcccgaaag ccaoggttcc agcaagccgt gctgctgtg 10440
 gctccatcgt ggggatgtaa aaaccoggga ggcctgcaaac catggaagot gtacgcatg 10500
 ggtagcagac tagtgggttag aggagacccc tcccaagaca caacgcagca ggggggccc 10560
 acaccagggg aagctgtacc ctgggtggtaa ggactagagg tttagggaga cccccgcc 10620
 aacaacaaac agcatatgga cgtgggaga gaccagagat catgtgtctc ctacagcctc 10680
 atccagcca cagaacgcc aaaaatggaa tgggtgctgtt gaatcaacag gttotaaacg 10740
 aagagc

도면

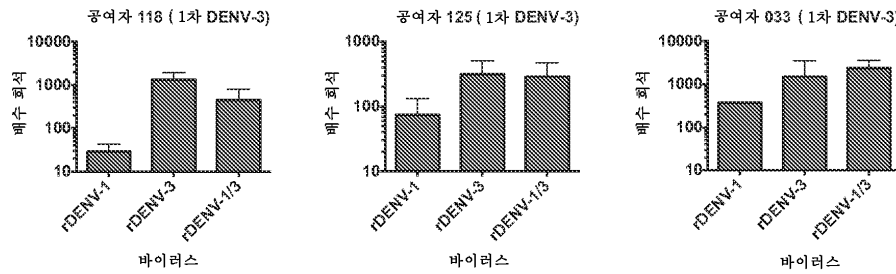
도면1



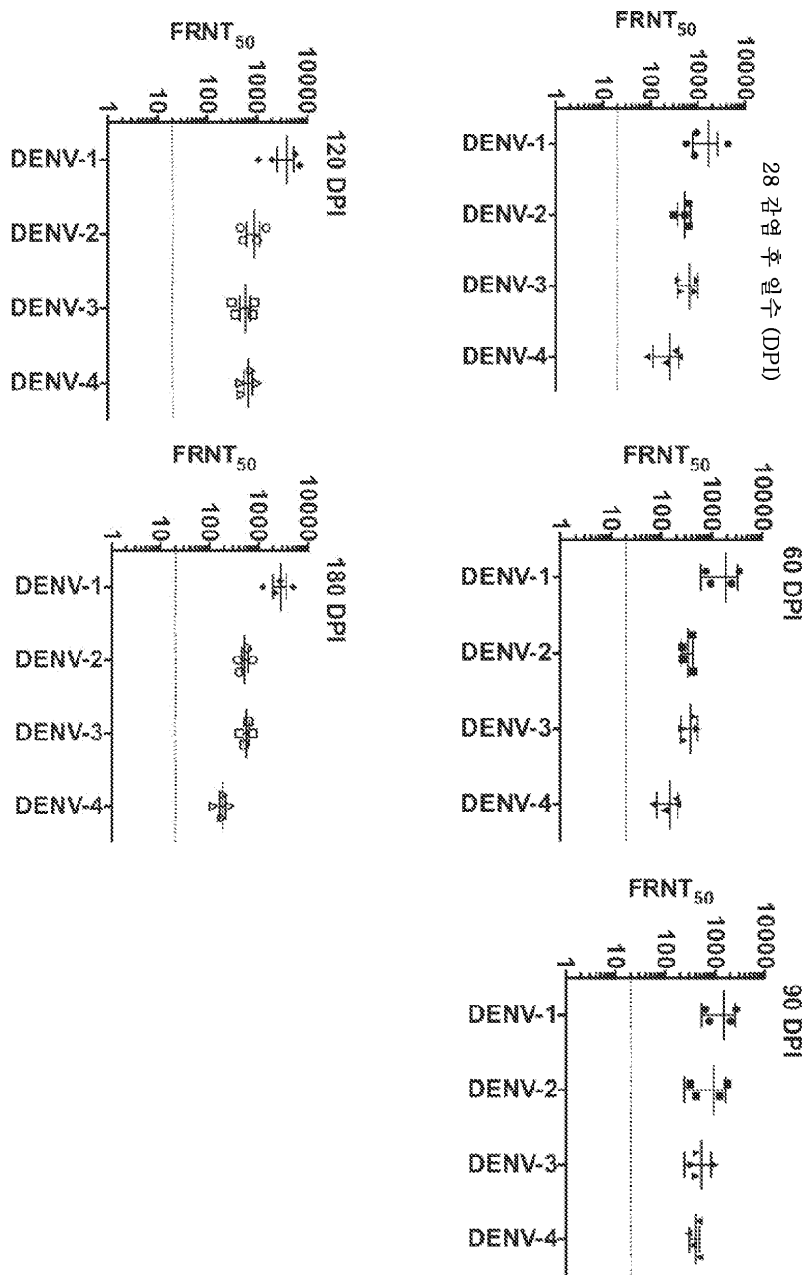
도면2a



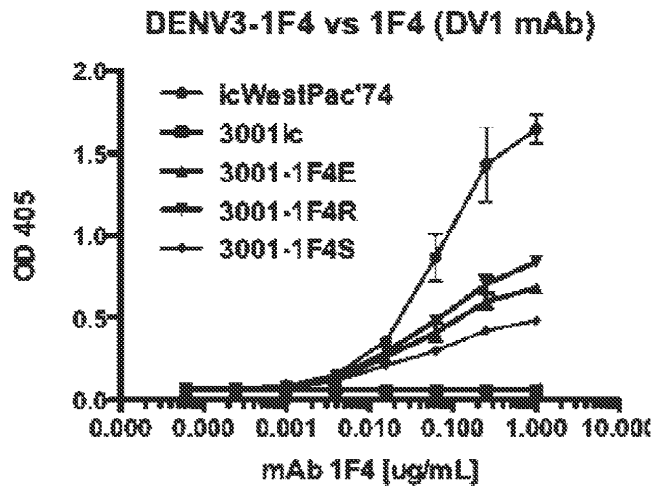
도면2b



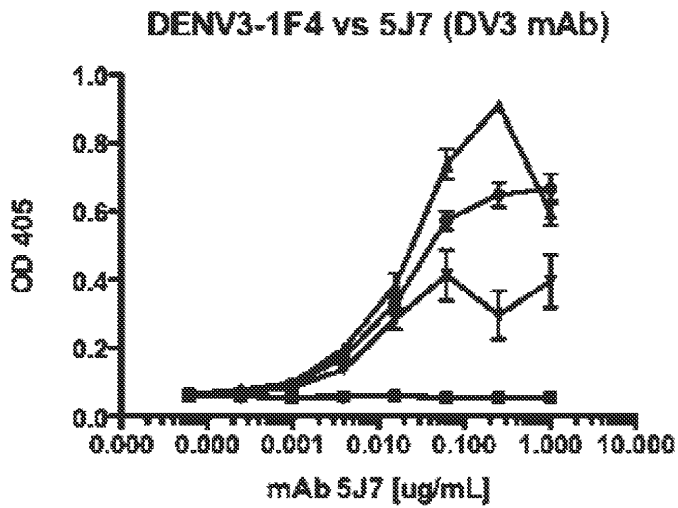
도면3



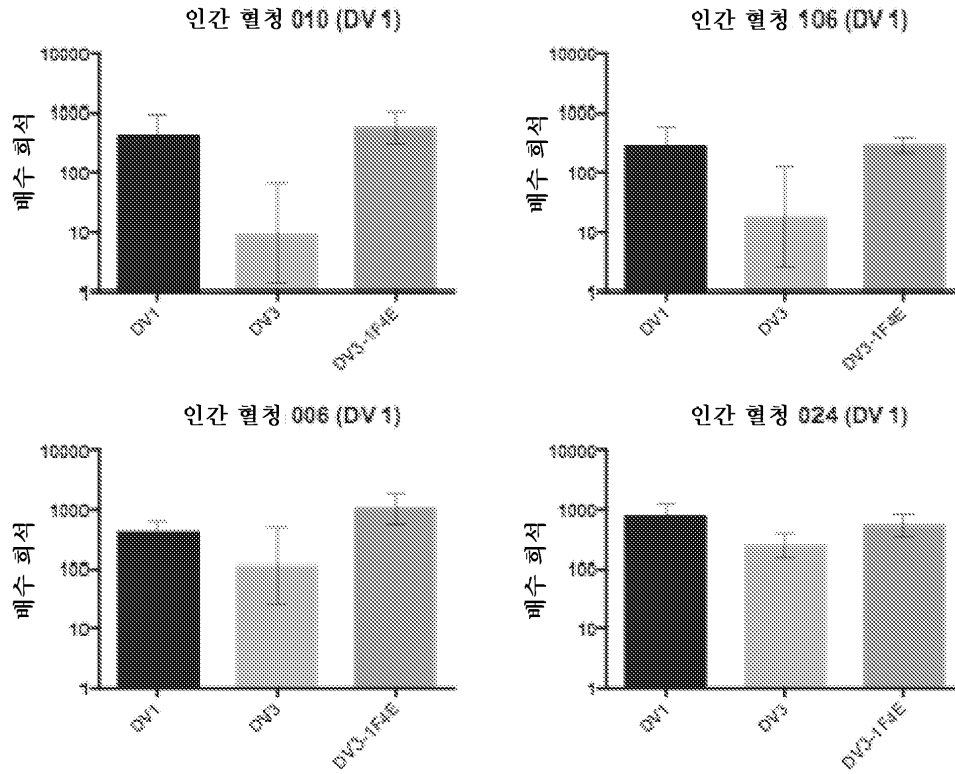
도면4a



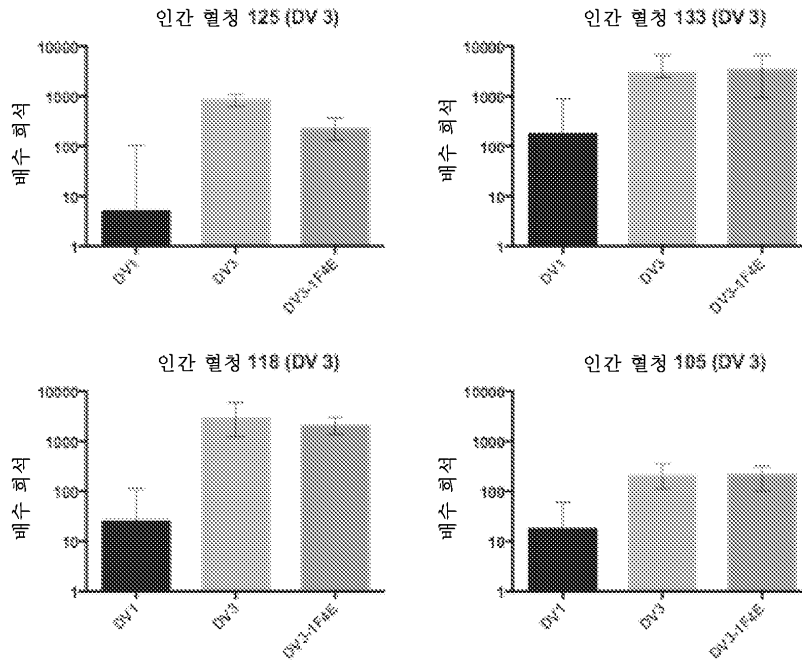
도면4b



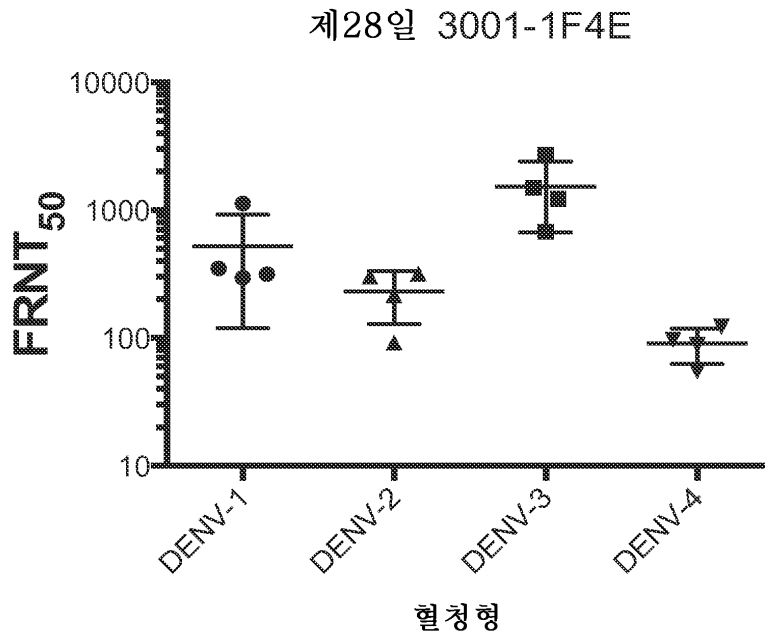
도면5a



도면5b



도면6



서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> The University of North Carolina at Chapel Hill
- Messer, William
- Baric, Ralph
- Desilva, Aravinda
- Yount, Boyd

- <120> METHODS AND COMPOSITIONS FOR DENGUE VIRUS VACCINES
- <130> 5470-671WO
- <140> PCT/US2014/044410
- <141> 2014-06-26
- <150> US 61/839,687
- <151> 2013-06-26
- <160> 6
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 393
- <212> PRT
- <213> Dengue virus type 3

<400> 1

Met Arg Cys Val Gly Ile Gly Asn Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser

1 5 10 15
 Gly Ala Thr Trp Val Asp Val Val Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr

 20 25 30
 Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr Leu Asp Ile Glu Leu Gln Lys Thr

 35 40 45
 Glu Ala Thr Gln Leu Ala Thr Leu Arg Lys Leu Cys Ile Glu Gly Lys

 50 55 60
 Ile Thr Asn Ile Thr Thr Asp Ser Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala

65 70 75 80
 Val Leu Pro Glu Glu Gln Asp Gln Asn Tyr Val Cys Lys His Thr Tyr

 85 90 95
 Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser

 100 105 110
 Leu Val Thr Cys Ala Lys Phe Gln Cys Leu Glu Pro Ile Glu Gly Lys

 115 120 125
 Val Val Gln Tyr Glu Asn Leu Lys Tyr Thr Val Ile Ile Thr Val His

 130 135 140
 Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly Asn Glu Thr Gln Gly Val Thr Ala

145 150 155 160
 Ile Ile Thr Pro Gln Ala Ser Thr Thr Glu Ala Ile Leu Pro Glu Tyr

 165 170 175
 Gly Thr Leu Gly Leu Glu Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn

 180 185 190
 Glu Met Ile Leu Leu Thr Met Lys Asn Lys Ala Trp Met Val His Arg

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

 210 215 220
 Glu Thr Pro Thr Trp Asn Arg Lys Glu Leu Leu Val Thr Phe Lys Asn

225 230 235 240

Ala His Ala Lys Lys Gln Glu Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly
 245 250 255

Ala Met His Thr Ala Leu Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Asn Ser Gly
 260 265 270

Gly Thr Ser Ile Phe Ala Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp
 275 280 285

Lys Leu Glu Leu Lys Gly Met Ser Tyr Ala Met Cys Thr Asn Thr Phe
 290 295 300

Val Leu Lys Lys Glu Val Ser Glu Thr Gln His Gly Thr Ile Leu Ile
 305 310 315 320

Lys Val Glu Tyr Lys Gly Glu Asp Ala Pro Cys Lys Ile Pro Phe Ser
 325 330 335

Thr Glu Asp Gly Gln Gly Lys Ala His Asn Gly Arg Leu Ile Thr Ala
 340 345 350

Asn Pro Val Val Thr Lys Lys Glu Glu Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu
 355 360 365

Pro Pro Phe Gly Glu Ser Asn Ile Val Ile Gly Ile Gly Asp Asn Ala
 370 375 380

Leu Lys Ile Asn Trp Tyr Lys Lys Gly
 385 390

<210> 2

<211> 395

<212> PRT

<213> Dengue virus type 1

<400> 2

Met Arg Cys Val Gly Ile Gly Asn Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser
 1 5 10 15

Gly Ala Thr Trp Val Asp Val Val Leu Glu His Gly Ser Cys Val Thr
 20 25 30

Thr Met Ala Lys Asp Lys Pro Thr Leu Asp Ile Glu Leu Leu Lys Thr
 35 40 45

Glu Val Thr Asn Pro Ala Val Leu Arg Lys Leu Cys Ile Glu Ala Lys

50 55 60

Ile Ser Asn Thr Thr Thr Asp Ser Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala

65 70 75 80

Thr Leu Val Glu Glu Gln Asp Thr Asn Phe Val Cys Arg Arg Thr Phe

85 90 95

Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser

100 105 110

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

115 120 125

Ile Val Gln Tyr Glu Asn Leu Lys Tyr Ser Val Ile Val Thr Val His

130 135 140

Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly Asn Glu Thr Thr Glu His Gly Thr

145 150 155 160

Thr Ala Thr Ile Thr Pro Gln Ala Pro Thr Ser Glu Ile Gln Leu Thr

165 170 175

Asp Tyr Gly Ala Leu Thr Leu Asp Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp

180 185 190

Phe Asn Glu Met Val Leu Leu Thr Met Glu Lys Lys Ser Trp Leu Val

195 200 205

His Lys Gln Trp Phe Leu Asp Leu Pro Leu Pro Trp Thr Ser Gly Ala

210 215 220

Ser Thr Ser Gln Glu Thr Trp Asn Arg Gln Asp Leu Leu Val Thr Phe

225 230 235 240

Lys Thr Ala His Ala Lys Lys Gln Glu Val Val Val Leu Gly Ser Gln

245 250 255

Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Thr

260 265 270

Ser Gly Thr Thr Thr Ile Phe Ala Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys

275 280 285

Met Asp Lys Leu Thr Leu Lys Gly Met Ser Tyr Val Met Cys Thr Gly

290 295 300
Ser Phe Lys Leu Glu Lys Glu Val Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Val

305 310 315 320
Leu Val Gln Val Lys Tyr Glu Gly Thr Asp Ala Pro Cys Lys Ile Pro

 325 330 335
Phe Ser Ser Gln Asp Glu Lys Gly Val Thr Gln Asn Gly Arg Leu Ile

 340 345 350
Thr Ala Asn Pro Ile Val Thr Asp Lys Glu Lys Pro Val Asn Ile Glu

 355 360 365
Ala Glu Pro Pro Phe Gly Glu Ser Tyr Ile Val Val Gly Ala Gly Glu

370 375 380
Lys Ala Leu Lys Leu Ser Trp Phe Lys Lys Gly

385 390 395

<210> 3

<211> 395

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> WestPac74 hinge DENV 1/3 sequence

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (50)..(50)

<223> V to A substitution

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (52)..(52)

<223> N to Q substitution

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (53)..(53)

<223> P to L substitution

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (55)..(55)

<223> V to T substitution

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (125)..(125)

<223> L to I substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (129)..(129)
<223> I to V substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (161)..(161)
<223> T to I substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (197)..(197)
<223> V to I substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (202)..(202)
<223> E to K substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (203)..(203)
<223> K to N substitution

<220><221> MISC_FEATURE
<222> (205)..(205)
<223> W to A substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (207)..(207)
<223> L to M substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (210)..(210)
<223> K to R substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (272)..(272)
<223> T to N substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (275)..(275)
<223> T to G substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (277)..(277)
<223> T to S substitution

<400> 3

Met Arg Cys Val Gly Ile Gly Asn Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser

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

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

 130 135 140
 Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly Asn Glu Thr Thr Glu His Gly Thr
 145 150 155 160
 Ile Ala Thr Ile Thr Pro Gln Ala Pro Thr Ser Glu Ile Gln Leu Thr
 165 170 175
 Asp Tyr Gly Ala Leu Thr Leu Asp Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp
 180 185 190
 Phe Asn Glu Met Ile Leu Leu Thr Met Lys Asn Lys Ala Trp Met Val

 195 200 205
 His Arg Gln Trp Phe Leu Asp Leu Pro Leu Pro Trp Thr Ser Gly Ala
 210 215 220
 Ser Thr Ser Gln Glu Thr Trp Asn Arg Gln Asp Leu Leu Val Thr Phe
 225 230 235 240

Lys Thr Ala His Ala Lys Lys Gln Glu Val Val Val Leu Gly Ser Gln
 245 250 255
 Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Asn
 260 265 270
 Ser Gly Gly Thr Ser Ile Phe Ala Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys
 275 280 285
 Met Asp Lys Leu Thr Leu Lys Gly Met Ser Tyr Val Met Cys Thr Gly
 290 295 300
 Ser Phe Lys Leu Glu Lys Glu Val Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Val
 305 310 315 320
 Leu Val Gln Val Lys Tyr Glu Gly Thr Asp Ala Pro Cys Lys Ile Pro
 325 330 335
 Phe Ser Ser Gln Asp Glu Lys Gly Val Thr Gln Asn Gly Arg Leu Ile
 340 345 350
 Thr Ala Asn Pro Ile Val Thr Asp Lys Glu Lys Pro Val Asn Ile Glu
 355 360 365
 Ala Glu Pro Pro Phe Gly Glu Ser Tyr Ile Val Val Gly Ala Gly Glu
 370 375 380
 Lys Ala Leu Lys Leu Ser Trp Phe Lys Lys Gly
 385 390 395

<210> 4
 <211> 395
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> 3001-1F4E DENV 3/1 sequence
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (46)..(46)
 <223> Q to L substitution
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (50)..(50)
 <223> A to V substitution
 <220><221> MISC_FEATURE

<222> (52)..(52)
<223> Q to N substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (53)..(53)
<223> L to P substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (138)..(138)
<223> T to S substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222>
(141)..(141)
<223> I to V substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (155)..(155)
<223> T to V substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (156)..(157)
<223> TE insertion
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (160)..(160)
<223> V to T substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (163)..(163)
<223> E to T substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (169)..(169)
<223> S to P substitution
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (171)..(171)
<223> T to S substitution
<220><
221> MISC_FEATURE
<222> (173)..(173)
<223> A to I substitution
<220><221> MISC_FEATURE

<222> (174)..(174)
 <223> I to Q substitution
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (176)..(176)
 <223> P to T substitution
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (177)..(177)
 <223> E to D substitution
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (180)..(180)
 <223> T to A substitution
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (272)..(272)
 <223> N to T substitution
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (275)..(275)
 <223
 > G to T substitution
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (277)..(277)
 <223> S to T substitution
 <400> 4
 Met Arg Cys Val Gly Ile Gly Asn Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser
 1 5 10 15
 Gly Ala Thr Trp Val Asp Val Val Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr
 20 25 30
 Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr Leu Asp Ile Glu Leu Phe Lys Thr
 35 40 45
 Glu Val Thr Asn Pro Ala Val Leu Arg Lys Leu Cys Ile Glu Gly Lys
 50 55 60
 Ile Thr Asn Ile Thr Thr Asp Ser Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala
 65 70 75 80
 Val Leu Pro Glu Glu Gln Asp Gln Asn Tyr Val Cys Lys His Thr Tyr
 85 90 95

Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser
 100 105 110

Leu Val Thr Cys Ala Lys Phe Gln Cys Leu Glu Pro Ile Glu Gly Lys
 115 120 125

Val Val Gln Tyr Glu Asn Leu Lys Tyr Ser Val Ile Val Thr Val His
 130 135 140

Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly Asn Glu Thr Thr Glu His Gly Thr
 145 150 155 160

Ile Ala Thr Ile Thr Pro Gln Ala Pro Thr Ser Glu Ile Gln Leu Thr
 165 170 175

Asp Tyr Gly Ala Leu Gly Leu Glu Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp
 180 185 190

Phe Asn Glu Met Ile Leu Leu Thr Met Lys Asn Lys Ala Trp Met Val
 195 200 205

His Arg Gln Trp Phe Phe Asp Leu Pro Leu Pro Trp Thr Ser Gly Ala
 210 215 220

Thr Thr Glu Thr Pro Thr Trp Asn Arg Lys Glu Leu Leu Val Thr Phe
 225 230 235 240

Lys Asn Ala His Ala Lys Lys Gln Glu Val Val Val Leu Gly Ser Gln
 245 250 255

Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Thr
 260 265 270

Ser Gly Thr Thr Thr Ile Phe Ala Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys
 275 280 285

Met Asp Lys Leu Glu Leu Lys Gly Met Ser Tyr Ala Met Cys Thr Asn
 290 295 300

Thr Phe Val Leu Lys Lys Glu Val Ser Glu Thr Gln His Gly Thr Ile
 305 310 315 320

Leu Ile Lys Val Glu Tyr Lys Gly Glu Asp Ala Pro Cys Lys Ile Pro
 325 330 335

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

340	345	350	
Thr Ala Asn Pro Val Val Thr Lys Lys Glu Glu Pro Val Asn Ile Glu			
355	360	365	
Ala Glu Pro Pro Phe Gly Glu Ser Asn Ile Val Ile Gly Ile Gly Asp			
370	375	380	
Asn Ala Leu Lys Ile Asn Trp Tyr Lys Lys Gly			
385	390	395	
<210>	5		
<211>	10718		
<212>	DNA		
<213>	Dengue virus type 3		
<400>	5		
agttgttagt ctacgtggac cgacaagaac agtttcgact cggaagcttg cttaacgtag			60
tgctaacagt tttttattag agagcagatc tctgatgaac aaccaacgga agaagacggg			120
aaaaccgtct atcaatatgc tgaaacgcgt gagaaccgt gtgtcaactg gaccacagtt			180
ggcgaagaga ttcicaaaag gactgctgaa cggccaggga ccaatgaaat tggttatggc			240
gttcatagct ttcctcagat ttctagccat tccaccaaca gcaggagtct tggctagatg			300
gggaaccttc aagaagtcgg gagcattaa ggtcctgaaa ggcttcaaga aggagatctc			360
aaacatgctg agcataatca acaaacggaa aaagacatcg ctctgtctca tgatgatatt			420
gccagcagca cttgctttcc acttgacttc acgagatgga gagccgcgca tgattgtggg			480
gaagaatgaa agaggaaaat ccctactttt taagacagcc tctggaatta acatgtgcac			540
actcatagcc atggacttgg gagagatgtg tgatgacacg gtcacttaca aatgccccca			600
cattaccgaa gtggaacctg aagacattga ctgctgggtc aaccttcat caacatgggt			660
gacttatgga acgtgcaatc aagctggaga gcatagacgc gacaaaagat cagtggcgtt			720
agtcctcat gtcggcatgg gactggacac acgcacccaa acctggatgt cggctgaagg			780
agcttgagaa caagtcgaga aggtagagac atgggccctc aggcaccag ggttcacat			840
actagcceta tttcttggcc attacatagg cacttcttgg acccagaagg tggttatttt			900
tataactacta atgctgggtc ccccatccat gacaatgaga tgtgtgggaa taggaaacag			960
agattttgtg gaaggtctat caggagctac gtgggttgac gtggtgctcg agcacggggg			1020
gtgtgtgact accatggcta agaacaagcc cacgctgat atagagcttc agaagaccga			1080
ggccacccaa ctggcgaccc taaggaagct atgcattgag gggaaaatta ccaacataac			1140

aactgactca agatgtccta cccaagggga agcggttttg cctgaggagc aggaccagaa 1200
ctacgtgtgt aagcatacat acgtagacag aggctggggg aacggttgtg gcttgtttgg 1260
caagggaaagc ttggtaacgt gtgcgaaatt tcaatgcctg gaaccaatag agggaaaagt 1320
ggtgcaatat gagaacctca aatacacctg catcattaca gtgcacacag gagaccaaca 1380
ccaggtagga aatgaaacgc agggagtac ggctgagata acacctcagg catcaaccac 1440

tgaagccatc ttgctgaat atggaacct tgggctagaa tgctcaccac ggacaggttt 1500
ggatttcaat gaaatgatct tactaacaat gaagaacaaa gcatggatgg tacatagaca 1560
atggtttttt gacctacctc taccatggac atcaggagct acaacagaaa cgccaacctg 1620
gaacaggaag gagcttcttg tgacattcaa aaacgcacat gcgaaaaaac aagaagtagt 1680
cgtccttggg tgcgaagagg gagcaatgca taccgactg acaggagcca cagaaatcca 1740
aaactcagga ggcacaagca tttttgcggg gcaacttaaa tgtagactta agatggacaa 1800
attggaactc aaggggatga gctatgcaat gtgcacgaat accttttgt tgaagaaaga 1860

agtctcagaa acgcagcatg ggacaatact cattaaggtc gagtacaagg gggaagatgc 1920
gccttgaag attcctttct ccacagagga tggacaaggg aaagctcaca atggcagact 1980
gatcacagcc aaccctagg tgactaagaa ggaggagcct gtcaatatg aggctgaacc 2040
tccttttggg gaaagtaata tagtaattgg aattggagac aacgccttga aaatcaactg 2100
gtacaagaag ggaagctcta ttgggaagat gttcgaggcc actgccagag gtgcaaggcg 2160
catggccatc ttgggagaca cagcttggga ctttggatca gtgggtggtg ttctgaactc 2220
attaggcaaa atggtgcacc aaatattcgg aagtgcttac acagccctat tcagtggagt 2280

ctcttgggtg atgaaaatg gaataggtg tctcttgact tggatagggt tgaattcaaa 2340
aaacacatcc atgtcatttt catgcattgc gataggaatc attacactct atctgggagc 2400
tgtggtacaa gctgacatgg ggtgtgtcat aaactggaaa ggcaaaagaac tcaaatgtgg 2460
aagtggattt ttcgtacca acgaggtcca tacctggaca gagcaataca aattccaagc 2520
agactcccca aaaagattgg cgacagccat tgcaggcgtc tgggagaatg gagtgtgcgg 2580
aattaggtca acaaccagaa tggagaatct cctgtggaag caaatagcca atgaactgaa 2640
ctacatatata tgggaaaaca atatcaaatt aacggtagtt gtgggcgata caattgggt 2700

cttagagcaa ggaaaaagaa cactaacacc acaacctatg gagctaaaat actcatggaa 2760
aacatgggga aaggcaaaaa tagtgacagc tgaaacacaa aattcctcct tcataataga 2820
cgggccaac acaccggagt gtccaagtgc ctcaagagca tggaatgtgt gggaggtgga 2880
agattacggg ttcggagtct tcacaaccaa catatggctg aaactccgag atgtgtacac 2940
ccaactatgt gaccataggc taatgtcggc agccgtcaag gatgagaggg ccgtacacgc 3000

cgacatgggc tattggatag aaagccaaaa gaatggaagt tggaagctag aaaaagcatc 3060
 cctcatagag gtgaaaacct gcacatggcc aaaatcacac actctttgga gcaatggtgt 3120

gctagagagt gacatgatca tcccaaagag cctcgtggc cctatctcgc aacacaacta 3180
 caggcctggg taccacaccc aaacagcagg acctggcac ttaggaaaat tggagctgga 3240
 cttcaactat tgtgaaggaa caacagtgtg catcacagaa aactgtggga caagaggccc 3300
 atcattgaga acaacaacag tgtcagggaa gttgatacac gaatggtgtt gccgctcgtg 3360
 cacacttctt cccctcgcgat acatgggaga agacggctgc tggtatggca tggaaatcag 3420
 acccatcagt gagaagaag agaacatggt aaagtcttta gtctcagcgg gaagtggaaa 3480
 ggtggacaac ttcacaatgg gtgtcttgtg tttggcaatc ctctttgaag aggtgatgag 3540

aggaaaatct gggaagaac acatgattgc aggggttctc ttcacgttg tgctccttct 3600
 ctcagggcaa ataacatgga gagacatggc gcacacacta ataatgattg ggtccaacgc 3660
 ctctgacagg atgggaatgg gcgtcaccta cctagcttta attgcaacat ttaaaatcca 3720
 gccattcttg gctttgggat ttttctaag aaaactgaca tctagagaaa atttattgtt 3780
 aggagtggg ctggctatgg caacaacgtt acaactgcca gaggacattg aacaatggc 3840
 aaatggaatc gctctggggc tcatggctct taaactgata acacaattg aaacatacca 3900
 attatggacg gcattagtct ccttaacgtg ttcaaataca attcttacgt tgactgttgc 3960

ctggagaaca gccaccctga ttttggccgg agtttcgctt ttaccagtgt gccagtcttc 4020
 gagcatgagg aaaacagact ggcttccaat gacagtggca gctatgggag tccaccctt 4080
 accactttt attttagct tgaagacac actcaaaagg agaagctggc cactgaatga 4140
 aggggtgatg gctgttgggc ttgtgagcat tctggccagt tctctctta gaaatgatgt 4200
 gccatggct ggaccattag tggccggggg cttgctgata gcgtgctacg tcataactgg 4260
 cacgtcagca gacctactg tggaaaaagc agcagatgta acatgggagg aagaggctga 4320
 gcaaacagga gtgtcccaca acttaatgat cacagttgat gatgatggaa caatgagaat 4380

aaaagatgat gagactgaga acatcctaac agtgctttta aaaacagcat tactaatagt 4440
 atcaggcatc tttccatact ccataccgc aacattgttg gtctggcata cttggcagaa 4500
 gcaaacccaa aggtccggcg ttctgtggga cgtaccacgc cccccagaga cacagaaagc 4560
 agaactggaa gaaggggttt ataggatcaa acagcaagga attcttggga aaaccaagt 4620
 aggggttggg gtacagaaag aaggagtctt ccacacatg tggcacgtca caagaggggc 4680
 agtgttgaca cataatggga aaagactgga accaaactgg gctagcgtga aaaaagatct 4740

gatttcatac ggaggaggat ggagattgag cgcgcaatgg caaaaggggg aggaggtgca 4800

ggttattgcc gtggagcctg ggaagaaccc aaagaacttt caaacatgc caggcacttt 4860
tcagactaca acaggggaaa taggagcaat tgcaactggat ttcaagcctg gaacttcagg 4920
atctcctatc ataacagag agggaaaggt agtgggactg tatggcaatg gagtggttac 4980
aaagaatggt ggctacgtca gcggaatagc gcaaacaaat gcagaaccag atggaccgac 5040
accagagttg gaagaagaga tgttcaaaaa gcgaaatcta accataatgg atcttcatcc 5100
tgggtcagga aagacacgga aataccttcc agctattgtt agagaggcaa tcaagagacg 5160
tttaagaact ctaattttgg caccgacaag ggtggttgca gctgagatgg aagaagcatt 5220

gaaagggctc ccaataaggt accaacaac agcaacaaaa tctgaacaca caggaagaga 5280
gattgttgat ctaatgtgcc acgcaacgtt cacaatgcgc ttgctgtcac cagttagggt 5340
tccaaattat aacttgataa taatggatga ggccatttc acagaccag ccagcatagc 5400
ggctagaggg tacatatcaa ctctgttgg aatgggagag gcagccgcaa tttcatgac 5460
agcaacgccc cctggaacag ctgatgcctt tcctcagagc aacgtccaa ttcaagatga 5520
agaaagggac ataccagaac gctcatggaa ttcaggcaat gaatggatta ccgacttcgc 5580
tgggaaaacg gtgtggtttg tccccagcat taaagccgga aatgacatag caaactgctt 5640

gcgaaaaaac ggaaaaaagg tcattcaact tagtaggaag acttttgaca cagaatatca 5700
gaagactaaa ctgaatgatt gggacttctg ggtgacaact gacatttcag aaatgggggc 5760
caatttcaa gcagatagag tgatcgacc aagaagatgt ctcaaccag tgatcctgac 5820
agatggacca gagcgggtga tcctggctgg accaatgcca gtcaccgagg cgagtgtgc 5880
gcaaaggaga ggaagagtg gcaggaaccc acaaaaagaa aatgaccagt acatattcac 5940
gggccagcct ctcaacaatg atgaagacca tgctcactgg acagaagcaa aaatgctgct 6000
ggacaacatt aacacaccag aagggattat accagctctc tttgaaccag aaaggagaa 6060

gtcagccgcc atagacggtg agtatcgct gaagggtgag tccaggaaga ctttcgtgga 6120
actcatgagg aggggtgacc ttccagtttg gttagccat aaagtagcat cagaagggat 6180
caaatataca gatagaaat ggtgctttga tggacaacgc aataatcaa ttttagagga 6240
gaacatggtg gtggaatct ggacaaaagga aggagaaaag aaaaaattga gacctaggtg 6300
gcttgatgcc cgcacttatt cagatccctt agcactcaag gaatttaagg actttcggc 6360
tggcagaaag tcaatcgccc ttgatcttgt gacagaaata ggaagagtgc cttcacacct 6420
agcccacaga acgagaaacg ctctggacaa tctggtgatg ctgcatacgt cagaacatgg 6480

cggtagggcc tacaggcatg cggtggagga actaccagaa acaatggaaa cacttttact 6540
 cttgggactc atgatcttgt tgacaggagg agcaatgctt ttcttgatat caggaaaagg 6600
 gattggaaaag acttcaatag gactcatttg tgtaattgcc tccagcggca tgttgtggat 6660
 ggccgaaaac ccaactccagt ggatcgctgc ggctatagtc ctggagtttt ttatgatggt 6720
 gttgcttata ccagaaccag aaaagcagag aaccccccaa gacaaccaac tcgcatatgt 6780
 cgtgatagcc atacttacat tggctgcaat aatagcagcc aatgaaatgg gactgttggg 6840
 aactacaaag agagatttag gaatgtctaa ggagccaggt gttgtttctc caaccagcta 6900

 tttggatgtg gacttgcacc cagcatcagc ctggacattg tacgccgtgg ccactacagt 6960
 aataacacca atgtaagac ataccataga gaattctaca gcaaatgtgt ccctggcagc 7020
 tatagccaac caggcagtgg tcctgatggg tttggacaaa ggatggccaa tatcaaaaat 7080
 ggacttaggc gtaccactac tggcattggg ttgctattca caagtgaacc cactgactct 7140
 aacagcggca gtacttttgc taatcacaca ttatgctatt ataggtccag gattgcaggc 7200
 aaaagccact cgtgaagctc agaaaaggac agctgctgga ataatgaaga atccaacggt 7260
 ggatgggata atgacaatag acctagatcc tgtaatatat gattcaaaaat ttgaaaagca 7320

 actgggacag gttatgctcc tggttttgtg tgcagttcaa cttttgttaa tgagaacatc 7380
 atgggccttg tgtgaagctt taactctagc tacaggacca ataacaacac tctgggaagg 7440
 atcacctgga aagttttgga acaccacgat agctgtttcc atggcgaaca ttttagagg 7500
 gagctattta gcaggagctg ggcttgcttt ttctattatg aatcagttg gaacaggaaa 7560
 aagaggaaca ggttcacaag gcgaaacttt aggagaaaaa tggaaaaaga aattaaatca 7620
 attatcccgg aaagagtttg acctttacaa gaaatctgga atcaactgaag tggatagaac 7680
 agaagccaaa gaagggttga aaagaggaga aataacacat catgccgtgt ccagaggtag 7740

 cgcaaaactt caatggtttg tggagagaaa catggtcatt cccgaaggaa gactcataga 7800
 cttgggctgt ggaagaggag gctggtcata ctactgtgca ggactgaaaa aagtcacaga 7860
 agtgcgagga tacacaaaag gcggtccagg acacgaagaa ccagtaccta tgtctacata 7920
 tggatggaac atagttaagt taatgagtgg aaaggatgtg ttttatcttc cacctgaaaa 7980
 gtgtgatacc ctgttgtgtg acatcggaga atcttcacca agcccaacag tggagaag 8040
 cagaactata agagttttga agatggttga accatggcta aaaaacaacc agttttgcat 8100
 taaagtattg aacccttaca tgccaactgt gattgagcac ctagaaagac tacaaggaa 8160

 acatggagga atgcttgtga gaaatccact ttcacgaaac tccacgcacg aatgtactg 8220
 gatatactaat ggcacagta acattgtctc ttcagtcaac atggtatcta gattgctact 8280
 gaacaggttc acgatgacac acaggagacc taccatagag aaagatgtgg atttaggagc 8340

aggaactcga catgttaatg cggaaccaga aacacccaac atggatgtca ttggggaag 8400
 aataaaaagg atcaaggagg agcacaattc aacatggcac tatgatgacg aaaacccta 8460
 caaaacgtgg gcttaccacg gatcctatga agtcaaagcc acaggctcag cctcctccat 8520
 gataaatgga gtcgtgaaac tcctcactaa accatgggat gtggtgccca tggtgacaca 8580

 gatggcaatg acagatacaa ctccatttgg ccagcagaga gtctttaag agaaagtgga 8640
 caccaggaca cccaggccca tgccagggac aagaaaggtt atggggatca cagcggagtg 8700
 gctctggaga accctgggaa ggaacaaaag acccaggtta tgcacaaggg aagagtttac 8760
 aaaaaaggtc agaactaacg cagccatggg cgccgttttc acagaggaga accaatggga 8820
 cagtgcgaaa gctgctgttg aggatgaaga attttggaaa ctttgggaca gagaacgtga 8880
 actccacaaa ttgggcaagt gtggaagctg tgtttacaac atgatgggca agagagagaa 8940
 gaaacttggga gagtttggca aagcaaaagg cagttagagct atatggtaca tgtggttggg 9000

 agccaggtac cttgagttcg aagcccttgg attcctaata gaagaccact ggttctcgcg 9060
 tgacaactct tacagtggag tagaaggaga aggactgcac aagctaggct acatattaag 9120
 ggacatttcc aagatacccg gaggagctat gtatgctgat gacacagctg gttgggacac 9180
 aagaataaca gaagatgacc tgcacaatga ggaaaagatc acacagcaa tggaccctga 9240
 acacaggcag ttagcgaacg ctatatttaa gctcacatac caaaacaag tggtaaagt 9300
 tcaacgaccg actccaacgg gcacggtaat ggacatcata tctaggaaag accaaagagg 9360
 cagtggacag gtgggaactt atggtctgaa tacattcacc aacatggaag tccagttagt 9420

 cagacaaatg gaaggagaag gtgtgctgtc aaaggcagac ctcgagaacc ctcatctgcc 9480
 agagaagaaa attacacaat ggttggaaac caaaggagtg gagaggttaa aaagaatggc 9540
 cattagcggg gatgattgtg tagtgaaacc aatcgatgac aggttcgcta atgcctgct 9600
 tgctctgaac gatatgggaa aggttcggaa agacatact caatggcagc catcaaaggg 9660
 atggcatgat tggcaacagg ttcctttctg ctcccaccac tttcatgaat tgatcatgaa 9720
 agatggaaga aagttagtgg ttcctgttag accccaggac gaactaatag gaagagcaag 9780
 aatctctcaa ggagcgggat ggagccttag agagaccgca tgtctgggga aagcctacg 9840

 tcaaatgtgg agtctcatgt actttcacag aagagatctc agactagcat ccaacgccat 9900
 atgttcagca gtaccagtcc actgggtccc cacaagtaga acgacatggt ctattcatgc 9960
 tcaccatcag tggatgacta cagaagacat gcttactgtc tggaacaggg tgtggatcga 10020
 ggacaatcca tggatggaag acaaaactcc agttacaacc tgggaaaatg ttccatatct 10080
 agggaagaga gaagaccaat ggtgcggatc acttattggt ctcacctca gagcaacctg 10140
 ggcccagaac ataccacag caattcaaca ggtgagaagt cttatagga atgaagagtt 10200

tctggattac atgccttcaa tgaagagatt caggaaggag gaggagtcgg aaggagccat 10260

ttggtaaacg taggaagtga aaaagaggca aactgtcagg ccaccttaag ccacagtacg 10320

gaagaagctg tgctgcctgt gagccccgtc caaggacgtt aaaagaagaa gtcaggcccc 10380

aaagccacgg tttgagcaaa ccgtgctgcc tgtagctccg tcgtggggac gtaaacctg 10440

ggaggctgca aactgtggaa gctgtacgca cgggttagca gactagcggg tagaggagac 10500

ccctcccatg acacaacgca gcagcggggc ccgagcactg agggaagctg tacctccttg 10560

caaaggacta gaggttagag gagaccccc gcaaacaaaa acagcatatt gacgctggga 10620

gagaccagag atcctgctgt ctctcagca tcattccagg cacagaacgc cagaaaatgg 10680

aatggtgctg ttgaatcaac aggttcttaa aagagacg 10718

<210> 6

<211> 10746

<212> DNA

<213> Dengue virus type 1

<400> 6

agttgttagt ctactggac cgacaagaac agtttcgaat cggaagcttg cttaacgtag 60

ttctaacagt ttttattag agagcagatc tctgatgaac aaccaacgga aaaagacggg 120

tcgaccgtct ttcaatatgc tgaaacgcgc gagaaaccgc gtgtcaactg tttcacagtt 180

ggcgaagaga ttctcaaag gattgcttcc aggccaagga cccatgaaat tggatgatggc 240

ttttatagca ttcttaagat ttctagccat acctccaaca gcaggaattt tggctagatg 300

gggctcattc aagaagaatg gagcgatcaa agtgttacgg ggtttcaaga aagaaatctc 360

aaacatgttg aacataatga acaggaggaa aagatctgtg accatgctcc tcatgctgct 420

gcccacagcc ctggcgttcc atctgaccac ccgaggggga gagccgcaca tgatagttag 480

caagcaggaa agaggaaaat cacttttgtt taagacctct gcagggtgtca acatgtgcac 540

ccttattgca atggatttgg gagagttagt tgaggacaca atgacctaca aatgcccccg 600

gatcactgag acggaaccag atgacgttga ctgttgggtc aatgccacgg agacatgggt 660

gacctatgga acatgttctc aaactggtga acaccgacga gacaaacgtt ccgtcgact 720

ggcaccacac gtagggcttg gtctagaaac aagaaccgaa acgtggatgt cctctgaagg 780

cgcttgaaa caaatacaaa aagtggagac ctgggctctg agacaccag gattcacggt 840

gatagccctt tttctagcac atgcatagg aacatccatc acccagaaag ggatcatttt 900

tattttgctg atgctggtaa ctccatccat ggccatgcgg tgcgtgggaa taggcaacag 960

agacttcgtg gaaggactgt caggagctac gtgggtggat gtggtactgg agcatggaag 1020

ttgcgtcact accatggcaa aagacaaaacc aacctggac attgaactct tgaagacgga 1080
 ggtcacaaac cctgccgtcc tgcgcaaact gtgcattgaa gctaaaatat caaacaccac 1140

 caccgattcg agatgtccaa cacaaggaga agccacgctg gtggaagaac aggacacgaa 1200
 ctttgtgtgt cgacgaacgt tctgggacag aggctggggc aatggttgtg ggctattcgg 1260
 aaaaggtagc ttaataacgt gtgctaagtt taagtgtgtg acaaaactgg aaggaaagat 1320
 agtccaatat gaaaacttaa aatattcagt gatagtcacc gtacacactg gagaccagca 1380
 ccaagttgga aatgagacca cagaacatgg aacaattgca accataacac ctcaagctcc 1440
 cacgtcgga atacagctga cagactacgg agctctaaca ttggattgtt cacctagaac 1500
 agggctagac tttaatgaga tgggtgtgtt gacaatgaaa aaaaaatcat ggctcgtcca 1560

 caaacaatgg tttctagact taccactgcc ttggacctcg ggggcttcaa catccaaga 1620
 gacttggaaat agacaagact tgctgggtcac atttaagaca gctcatgcaa aaaagcagga 1680
 agtagtcgta ctaggatcac aagaaggagc aatgcacact gcgttgactg gagcgacaga 1740
 aatccaaacg tctggaacga caacaatfff tgcaggacac ctgaaatgca gactaaaaat 1800
 ggataaactg actttaaaag ggatgtcata tgtaatgtgc acagggtcat tcaagttaga 1860
 gaaggaagtg gctgagacc agcatggaac tgttctagtg caggttaaat acgaaggaac 1920
 agatgcacca tgcaagatcc cttctcgtc ccaagatgag aaggagtaa cccagaatgg 1980

 gagattgata acagccaacc ccatagtcac tgacaaagaa aaaccagtca acattgaagc 2040
 ggagccacct tttggtgaga gctacattgt ggtaggagca ggtgaaaaag ctttgaaact 2100
 aagctggttc aagaagggaa gcagtatagg gaaaatgttt gaagcaactg cccgtggagc 2160
 acgaaggatg gccatcctgg gagacactgc atgggacttc ggttctatag gaggggtgtt 2220
 cacgtctgtg ggaaaactga tacaccagat ttttgggact gcgtatggag ttttgttcag 2280
 cgggttttct tggaccatga agataggaat agggattctg ctgacatggc taggattaaa 2340
 ctcaaggagc acgtcccttt caatgacgtg tatcgagtt ggcatggtca cgctgtacct 2400

 aggagtcatg gttcaggcgg actcgggatg tgtaatcaac tggaaaggca gagaactcaa 2460
 atgtggaagc ggcatTTTTG tcaccaatga agtccacacc tggacagagc aatataaatt 2520
 ccaggccgac tcccctaaga gactatcagc ggccattggg aaggcatggg aggagggtgt 2580
 gtgtggaatt cgatcagcca ctctctcga gaacatcatg tggaaagcaa tatcaaatga 2640
 attaaaccac atcttacttg aaaatgacat gaaatttaca gtggtcgtag gagacgttag 2700
 tggaatcttg gcccaaggaa agaaaatgat taggccacaa cccatggaac acaatactc 2760

gtggaaaagc tggggaaaag ccaaatcat aggagcagat gtacagaata ccaccttcat 2820

catcgacggc ccaaacaccc cagaatgcc tgataaccaa agagcatgga acatttggga 2880

agttgaagac tatggatttg gaatttcac gacaaacata tggttgaaat tgcgtgactc 2940

ctacactcaa gtgtgtgacc accggctaata gtcagctgcc atcaaggata gcaaagcagt 3000

ccatgctgac atggggattt ggatagaaag tgaagaagac gagacttggga agttggcaag 3060

agcctccttc atagaagtta agacatgcat ctggccaaaa tcccacactc tatggagcaa 3120

tggagtcttg gaaagtgaga tgataatccc aaagatatat ggaggaccaa tatctcagca 3180

caactacaga ccaggatatt tcacacaaac agcagggccg tggcacttgg gcaagttaga 3240

actagatfff gatttatgtg aaggtaccac tgttgtgtg gatgaacatt gtggaaatcg 3300

aggaccatct cttagaacca caacagtac aggaaagaca atccatgaat ggtgctgtag 3360

atcttgacag ttaccccc tacgtttcaa aggagaagac ggggtgctggt acggcatgga 3420

aatcagacca gtcaaggaga aggaagagaa cctagttaag tcaatggtct ctgcagggtc 3480

aggagaagtg gacagtttt cactaggact gctatgcata tcaataatga tcgaagaggt 3540

aatgagatcc agatggagca gaaaaatgct gatgactgga acattggctg tgttctctct 3600

tcttacaatg ggacaattga catggaatga tctgatcagg ctatgtatca tggttggagc 3660

caacgcttca gacaagatgg ggatgggaac aacgtaccta gctttgatgg ccactttcag 3720

aatgagacca atgttcgcag tcgggctact gtttcgcaga ttaacatcta gagaagttct 3780

tcttcttaca gttggattga gtctgggtgc atctgtagaa ctaccaaatt ccttagagga 3840

gctaggggat ggacttgcaa tgggcatcat gatgtgaaa ttactgactg attttcagtc 3900

acatcagcta tgggtacct tgctgtcttt aacatttgc aaaacaactt tttcattgca 3960

ctatgcatgg aagacaatgg ctatgatact gteaattgta tctctcttcc ctttatgct 4020

gtccacgact tctcaaaaa caacatggct tccggtgttg ctgggatctc ttggatgcaa 4080

accactaacc atgtttctta taacagaaaa caaatctgg ggaaggaaaa gctggcctct 4140

caatgaagga attatggctg ttggaatagt tagcattctt ctaagttcac ttctcaagaa 4200

tgatgtgcca ctactggcc cactaatagc tggaggcatg ctaatagcat gttatgtcat 4260

atctggaagc tcggccgatt tactactgga gaaagcggct gaggtctcct gggaagaaga 4320

agcagaacac tctggtgct cacacaacat actagtgag gtecaagatg atggaacat 4380

gaagataaag gatgaagaga gagatgacac actcaccatt ctctcaaag caactctgct 4440

agcaatctca ggggtatacc caatgtcaat accggcgacc ctctttgtgt ggtatffffg 4500

gcagaaaaag aaacagagat caggagtgct atgggacaca cccagccctc cagaagtgga 4560
aagagcagtc cttgatgatg gcatttatag aattctccaa agaggattgt tgggcaggtc 4620
tcaagtagga gtaggagttt ttcaagaagg cgtgttcac acaatgtggc acgtcaccag 4680
gggagctgtc ctcatgtacc aagggaagag actggaacca agttgggcca gtgtcaaaaa 4740
agacttgatc tcatatggag gaggttgag gtttcaagga tcctggaacg cgggagaaga 4800
agtcaggtg attgctgtg aaccgggaa gaaccccaa aatgtacaga cagcgccggg 4860
taccttcaag acccctgaag gcgaagtgg agccatagct ctagacttta aaccggcac 4920

atctggatct cctatcgtga acagagaggg aaaaatagta ggtctttatg gaaatggagt 4980
ggtgacaaca agtggtaact acgtcagtc catagctcaa gctaaagcat cacaagaagg 5040
gccictacca gagattgagg acgaggtgtt taggaaaaga aacttaacaa taatggacct 5100
acatccagga tcgggaaaaa caagaagata ccttccagcc atagtccgtg aggccataaa 5160
aagaaagctg cgcacgctag tcttagctcc cacaagagtt gtcgcttctg aaatggcaga 5220
ggcgtcaag ggaatgcaa taaggtatca gacaacagca gtgaagagtg aacacacggg 5280
aaaggagata gttgacctta tgtgtcacgc cactttcact atgcgtctcc tgtctcctgt 5340

gagagttccc aattataata tgattatcat ggatgaagca catttcaccg atccagccag 5400
catagcagcc agagggtata tctcaaccg agtgggtatg ggtgaagcag ctgcgatttt 5460
catgacagcc actcccccg gatcgggtgga ggcctttcca cagagcaatg cagtatcca 5520
agatgaggaa agagacattc ctgaaagatc atggaactca ggctatgact ggatcactga 5580
tttcccaggt aaaacagtct ggtttgttcc aagcatcaaa tcaggaaatg acattgcaa 5640
ctgtttaaga aagaatggga aacgggtggt ccaattgagc agaaaaactt ttgacactga 5700
gtaccagaaa acaaaaaata acgactggga ctatgttgc acaacagaca tatccgaat 5760

gggagcaaac ttccgagccg acagggtaat agaccgagg cgggtgcctga aaccgtaat 5820
actaaaagat ggcccagagc gtgtcattct agccggaccg atgccagtga ctgtggctag 5880
cgcccccag aggagaggaa gaattggaag gaacaaaat aaggaaggcg atcagtatat 5940
ttacatggga cagcctctaa acaatgatga ggaccacgcc cattggacag aagcaaaaat 6000
gctccttgac aacataaaca caccagaagg gattatcca gccctctttg agccggagag 6060
agaaaagagt gcagcaatag acggggaata cagactacgg ggtgaagcga ggaaaactt 6120
cgtggagctc atgagaagag gagatttacc tgtctggcta tcctacaag ttgcctcaga 6180

aggcttcag tactccgaca gaagtggtg ctttgatggg gaaaggaaca accaggtgtt 6240
ggaggagaac atggactgg agatctggac aaaagaagga gaaagaaaga aactacgacc 6300
ccgctggctg gatgccagaa catactctga cccactggct ctgcgcaat tcaaagagtt 6360

cgcagcagga agaagaagcg tctcaggtga cctaataatta gaaatagga aacttcaca 6420
 acatttaacg caaagggccc agaacgcctt ggacaatctg gttatgttgc acaactctga 6480
 acaaggagga aaagcctata gacacgcat ggaagaacta ccagacacca tagagcgtt 6540
 aatgctccta gctttgatag ctgtgctgac tggaggagtg acgttgttct tcctatcagg 6600

 aaggggtcta ggaaaaacat ccattggcct actctgcgtg attgcctcaa gtgcactgtt 6660
 atggatggcc agtgtggaac ccattggat agcggcctct atcatactgg agttctttct 6720
 gatgggtgtg cttattccag agccggacag acagcgact ccacaagaca accagctagc 6780
 atacgtgtg ataggtctgt tattcatgat attgacagtg gcagccaatg agatgggatt 6840
 actggaaacc acaagaagg acctgggat tggcatgca gctgctgaaa accacatca 6900
 tgcgcaatg ctggacgtag acctacatcc agcttcagcc tggactctct atgcagtggc 6960
 cacaacaatt atcactcca tgatgagaca cacaattgaa aacacaacgg cgaatattc 7020

 cctgacagct attgcaaacc aggcagctat attgatggga cttgacaagg gatggccaat 7080
 atcaaagatg gacataggag ttccattct cgccttgggg tgctattctc agtgaaccc 7140
 gctgacgtg acagcggcgg tatttatgct agtggctcat tatgccataa ttggaccgg 7200
 actgcaagca aaagctacta gagaagctca aaaaaggaca gcagccggaa taatgaaaa 7260
 cccaactgtc gacgggatcg ttgcaataga tttggacct gtggtttacg atgcaaaatt 7320
 tgaaaaacag ctaggcaaaa taatgttgtt gatactttgc acatcacaga tcctcctgat 7380
 gcggaccaca tgggccttgt gtgaatccat cacactagcc actggacctc tgactacgt 7440

 ttgggagggga tctccaggaa aattctgaa caccacgata gcggtgtcca tggcaaacat 7500
 ttttagggga agttatctag caggagcagg tctggccttt tcattaatga aatctctagg 7560
 aggaggtagg agaggcacgg gagccaagg ggaaacactg ggagaaaaat ggaaaagaca 7620
 gctaaaccaa ttgagcaagt cagaattcaa cacttacaaa aggagtggga ttatagaggt 7680
 ggatagatct gaagccaag aggggttaaa aagaggagaa acgactaac acgcagtgtc 7740
 gagaggaacg gccaactga ggtggttgt ggagaggaac cttgtgaaac cagaaggga 7800
 agtcatagac ctcggttgtg gaagaggtgg ctggtcatat tattgctgctg ggctgaagaa 7860

 agtcacagaa gtgaaaggat acacgaaagg aggacctgga catgaggaac caatcccaat 7920
 ggcaacctat ggatggaacc tagtaagct atactccggg aaagatgtat tctttacacc 7980
 acctgagaaa tgtgacacc tcttgttga tattggtgag tcctctccga acccaactat 8040
 agaagaagga agaacgttac gtgttctaaa gatggtgga ccatggctca gaggaacca 8100
 attttgata aaaattctaa atccctatat gccgagtgtg gtagaaactt tggagcaaat 8160
 gcaagaaaa catggaggaa tgctagtgcg aaatccactc tcaagaaact ccaactcatga 8220

aatgtactgg gtttcatgtg gaacaggaaa catttgttca gcagtaaaca tgacatctag 8280

aatgctgcta aatcgattca caatggctca caggaagcca acatatgaaa gagacgtgga 8340
cttaggcgct ggaacaagac atgtggcagt agaaccagag gtggccaacc tagatatcat 8400
tggccagagg atagagaata taaaaatga acacaaatca acatggcatt atgatgagga 8460
caatccatac aaaacatggg cctatcatgg atcatatgag gtcaagccat caggatcagc 8520
ctcatccatg gtcaatgggt tggtagact gctaacaaa ccatgggatg tcattcccat 8580
ggtcacacaa atagccatga ctgacaccac accctttgga caacagaggg tgtttaaaga 8640
gaaagttagc acgcgtacac caaaagcga acgaggcaca gcacaaatta tggaggtgac 8700

agccaggtgg ttatggggtt ttctctctag aaacaaaaa cccagaatct gcacaagaga 8760
ggagttcaca agaaaagtca ggtcaaacgc agctattgga gcagtgttcg tcgatgaaaa 8820
tcaatggaac tcagcaaaag aggcagtgga agatgaacgg ttctgggacc ttgtgcacag 8880
agagagggag cttcataaac aaggaaaatg tgccacgtgt gtctacaaca tgatgggaaa 8940
gagagagaaa aaattaggag agttcggaaa ggcaaaaagga agtcgcgcaa tatggtacat 9000
gtggttggga gcgcgctttt tagagtttga agcccttggg ttcatgaatg aagatcactg 9060
gttcagcaga gagaattcac tcagtggagt ggaaggagaa ggactccaca aacttgata 9120

catactcaga gacatatcaa agattccagg gggaaatag tatgcagatg acacagccgg 9180
atgggacaca agaataacag aggatgatct tcagaatgag gccaaaatca ctgacatcat 9240
ggaacctgaa catgccctat tggccacgtc aatctttaag ctaacctacc aaaacaaggt 9300
agtaagggtg cagagaccag cgaaaaatgg aaccgtgatg gatgtcatat ccagacgtga 9360
ccagagagga agtggacagg ttggaaccta tggtttaaac accttcacca acatggaggc 9420
ccaactaata agacaaatgg agtctgaggg aatcttttca cccagcgaat tggaaacccc 9480
aaatctagcc gaaagagtcc tcgactggtt gaaaaaacat ggcaccgaga ggctgaaaag 9540

aatggcaatc agtggagatg actgtgtggt gaaaccaatt gatgacagat ttgcaacagc 9600
cttaacagct ttgaatgaca tgggaaaggt aagaaaagac ataccgcaat gggaaccttc 9660
aaaaggatgg aatgattggc aacaagtgcc tttctgttca caccatttcc accagctgat 9720
tatgaaggat gggaggggaga tagtggtgcc atgccgcaac caagatgaac ttgtaggtag 9780
ggccagagta tcacaaggcg ccggatggag cttgagagaa actgcatgcc taggcaagtc 9840
atatgcacaa atgtggcagc tgatgtactt ccacaggaga gacttgagat tagcggctaa 9900
tgctatctgt tcagccgttc cagttgattg ggtcccaacc agccgtacca cctggtcgat 9960

ccatgcccac catcaatgga tgacaacaga agacatgttg tcagtgtgga atagggtttg	10020
gatagaggaa aaccatgga tggaggacaa gactcatgtg tccagttggg aagacgttcc	10080
atacctagga aaaaggaag atcaatggtg tggatcccta ataggcttaa cagcacgagc	10140
cacctgggcc accaacatac aagtggccat aaaccaagtg agaaggctca ttgggaatga	10200
gaattatcta gacttcatga catcaatgaa gagattcaaa aacgagagtg atcccgaagg	10260
ggcactctgg taagccaact cattcacaaa ataagggaaa ataaaaatc aaacaaggca	10320
agaagtcagg ccgattaag ccatagcacg gtaagagcta tgctgcctgt gagccccgtc	10380
caaggacgta aatgaagtc aggccgaaag ccacggttcg agcaagccgt gctgcctgta	10440
gctccatcgt ggggatgtaa aaacccggga ggctgcaaac catggaagct gtacgcatgg	10500
ggtagcagac tagtggttag aggagacccc tccaagaca caacgcagca gcggggccca	10560
acaccagggg aagctgtacc ctggtggtaa ggactagagg ttagaggaga cccccgcac	10620
aacaacaac agcatattga cgctgggaga gaccagagat cctgctgtct ctacagcatc	10680
attccaggca cagaacgcca gaaaatggaa tggctgtgtt gaatcaacag gttctaaacg	10740
aagagc	10746