



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2019-0102065  
(43) 공개일자 2019년09월02일

- |  |  |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/>C07K 14/005 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)<br/>A61K 39/29 (2006.01) A61P 31/20 (2006.01)<br/>C07K 14/705 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/>C07K 14/005 (2013.01)<br/>A61K 39/292 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2019-7022977</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2018년02월05일<br/>심사청구일자 2019년08월05일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2019년08월05일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/CN2018/075199</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2018/149315<br/>국제공개일자 2018년08월23일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>201710085194.3 2017년02월17일 중국(CN)</p> | <p>(71) 출원인<br/>시아먼 유니버시티<br/>중국 361005 시아먼 후지안 시밍 디스트릭트 시밍<br/>난 로드 넘버 422</p> <p>양생탕 컴퍼니 리미티드<br/>중국, 저지양 항저우시 시후 디스트릭트, 슈양푸<br/>타운, 린두 로드 17, 205호</p> <p>(72) 발명자<br/>장, 티아닝<br/>중국 후지안 361005 시아먼 시밍 디스트릭트 시밍<br/>난 로드 넘버 422</p> <p>위안, 환<br/>중국 후지안 361005 시아먼 시밍 디스트릭트 시밍<br/>난 로드 넘버 422<br/>(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/>특허법인 무한</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **타겟 폴리펩티드를 제시하는 펩티드 캐리어 및 이의 용도**

**(57) 요약**

타겟 폴리펩티드를 제시하는 캐리어 및 이의 용도가 제공된다. 특히, 박쥐로부터의 B형 간염 바이러스의 세 종의 코어 항원을 변형하여, 인간 T 세포 에피토프를 제시하는 단백질 캐리어로 이용되도록 한다. 캐리어를 암호화하는 핵산분자 및 이로써 발현되는 재조합 단백질이 또한 개시된다. 핵산분자 또는 재조합 단백질은 HBV 감염의 예방, 완화, 또는 치료를 위한 백신의 제조에 이용될 수 있다.

**대표도** - 도10



(52) CPC특허분류

*A61P 31/20* (2018.01)  
*C07K 14/705* (2013.01)  
*C07K 14/70532* (2013.01)  
*A61K 2039/5258* (2013.01)  
*C07K 2319/00* (2013.01)  
*C12N 2730/10134* (2013.01)  
*C12N 2740/16034* (2013.01)

(72) 발명자

**구오, 슈란**

중국 후지안 361005 시아먼 시핑 디스트릭트 시핑  
난 로드 넘버 422

**웨이, 민시**

중국 후지안 361005 시아먼 시핑 디스트릭트 시핑  
난 로드 넘버 422

**강, 시아오젠**

중국 후지안 361005 시아먼 시핑 디스트릭트 시핑  
난 로드 넘버 422

**장, 준**

중국 후지안 361005 시아먼 시핑 디스트릭트 시핑  
난 로드 넘버 422

**시아, 녕샤오**

중국 후지안 361005 시아먼 시핑 디스트릭트 시핑  
난 로드 넘버 422

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열, 또는 상기 뉴클레오티드 서열의 변이체를 포함하는 핵산분자로서, 상기 변이체는 상기 뉴클레오티드 서열과 적어도 90% (예, 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%)의 상동성을 갖거나, 또는 상기 뉴클레오티드 서열과 엄격한 조건(stringent condition) 또는 고도의 엄격한 조건(high stringent condition)하에서 혼성화할 수 있고, 상기 폴리펩티드 캐리어는 T 세포 에피토프(인간 T 세포 에피토프를 비롯함)를 운반하는 하기 폴리펩티드 캐리어들로부터 선택되며:

(1) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 라운드리프 박쥐(roundleaf bat) HBV로부터의 코어 항원 단백질(RBHcAg 단백질; 예, 이의 아미노산 서열이 서열번호 1에 제시됨)과 상이한, RBHcAg 캐리어:

(a) RBHcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기; 예, 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 또는 78-80 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나 또는 링커로 치환됨 [예, 가요성 링커 (flexible linker); 예, 서열번호 43에 제시된 링커 세트]; 및

(b) RBHcAg 단백질의 C-말단에서 1-40개의 아미노산 잔기(예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 또는 35-40개의 아미노산 잔기)가 결실되거나 또는 결실되지 않음;

(2) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 천막 박쥐(tent-making bat) HBV로부터의 코어 항원 단백질(TBHcAg 단백질; 예, 이의 아미노산 서열이 서열번호 2에 제시됨)과 상이한, TBHcAg 캐리어:

(a) TBHcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 잔기; 예, 80-84 위치의 아미노산 잔기, 80-83 위치의 아미노산 잔기, 또는 80-82 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나 또는 링커 (예, 가요성 링커; 예, 서열번호 43에 제시된 링커 세트)로 치환됨; 및

(b) TBHcAg의 단백질의 C-말단에서 1-35개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 또는 30-35개의 아미노산 잔기)가 결실되거나 또는 결실되지 않음; 및

(3) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 관 박쥐(horseshoe bat) HBV로부터의 코어 항원 단백질(HBHcAg 단백질; 예, 이의 아미노산 서열이 서열번호 3에 제시됨)과 상이한, HBHcAg 캐리어:

(a) HBHcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기; 예, 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 또는 78-80 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나 또는 링커 (예, 가요성 링커; 예, 서열번호 43에 제시된 링커 세트)로 치환됨; 및

(b) HBHcAg 단백질의 C-말단에서 1-40개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 또는 35-40개의 아미노산 잔기)가 결실되거나 결실되지 않음;

바람직하게는, 상기 T 세포 에피토프는 서열번호 87에 제시된 MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 (MHC I restricted human T cell epitope), 및 서열번호 88 또는 89에 제시된 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프 (MHC II restricted human T cell epitope)를 비롯한, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 핵산분자.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 폴리펩티드 캐리어는 하기 폴리펩티드 캐리어들로부터 선택되는 것인, 핵산분자:

(1) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 라운드리프 박쥐 HBV 코어 항원 단백질 (RBHcAg 단백질; 예, 이의 아미노

산 서열은 서열번호 1에 제시됨)과 상이한, RBHBcAg-T 캐리어:

(1a) RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기; 예, 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 또는 78-80 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나 또는 링커(예, 가요성 링커; 예, 서열번호 43에 제시된 링커)로 치환됨;

(1b) RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환됨; 및

(1c) 1-40개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 또는 35-40개의 아미노산 잔기)가 RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음;

(2) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 천막 박쥐 HBV 코어 항원 단백질 (TBHBcAg 단백질; 예, 이의 아미노산 서열이 서열번호 2에 제시됨)과 상이한, TBHBcAg-T 캐리어:

(2a) TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 잔기; 예, 80-84 위치의 아미노산 잔기, 80-83 위치의 아미노산 잔기, 또는 80-82 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나 또는 링커 (예, 가요성 링커; 예, 서열번호 43에 제시된 링커 세트)로 치환됨;

(2b) TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 54-73 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 124-144 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환됨; 및

(2c) 1-35개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 또는 30-35개의 아미노산 잔기)가 TBHBcAg의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음; 및

(3) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 관 박쥐 HBV 코어 항원 단백질 (HBHBcAg 단백질; 예, 이의 아미노산 서열이 서열번호 3에 제시됨)과 상이한, HBHBcAg-T 캐리어:

(3a) HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기; 예, 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 또는 78-80 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나 또는 링커 (예, 가요성 링커; 예, 서열번호 43에 제시된 링커 세트)로 치환됨;

(3b) HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환됨; 및

(3c) 1-40개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 또는 35-40개의 아미노산 잔기)가 HBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음.

### 청구항 3

제2항에 있어서,

상기 폴리펩티드 캐리어는 상기 RBHBcAg-T 캐리어이고,

바람직하게는, 상기 RBHBcAg-T 캐리어에서, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의 아미노산 잔기)가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프, 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환되고/되거나, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산 잔기)가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프, 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포

에피토프)로 치환되고/되거나, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21개의 아미노산 잔기)가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프, 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환되고,

바람직하게는, 상기 RBHBcAg-T 캐리어에서, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27, 50-69 및 120-140 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 87, 88 및 89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트로 각각 치환되는 것인, 핵산분자.

#### 청구항 4

제2항에 있어서,

상기 폴리펩티드 캐리어는 상기 TBHBcAg-T 캐리어이고,

바람직하게는, 상기 TBHBcAg-T 캐리어에서, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의 아미노산 잔기)가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프, 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환되고/되거나, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 54-73 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산 잔기)가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프, 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환되고/되거나, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 124-144 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21개의 아미노산 잔기)가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프, 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프)로 치환되고;

바람직하게는, 상기 TBHBcAg-T 캐리어에서, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27, 54-73 및 124-144 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 87, 88 및 89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트로 각각 치환되는 것인, 핵산분자.

#### 청구항 5

제2항에 있어서,

상기 폴리펩티드 캐리어는 상기 HBHBcAg-T 캐리어이고,

바람직하게는, 상기 HBHBcAg-T 캐리어에서, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의 아미노산 잔기)가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프, 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환되고/되거나, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산 잔기)가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프, 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환되고/되거나, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21개의 아미노산 잔기)가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프, 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환되고,

바람직하게는, 상기 HBHBcAg-T 캐리어에서, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27, 50-69 및 120-140 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 87, 88 및 89에 제시된 인간 T 세포 에피토프로 각각 치환되는 것인, 핵산분자.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

제한효소 절단 부위는 결실되는 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83

위치의 아미노산 잔기)를 암호화하는 뉴클레오티드의 위치에 도입되고;

바람직하게는, 제한효소 절단 부위는 링커를 암호화하는 뉴클레오티드 서열, 및/또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 도입되며;

바람직하게는, 상기 폴리펩티드 캐리어는 서열번호 75-80으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖고;

바람직하게는, 상기 핵산분자는 서열번호 81-86으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하며;

바람직하게는, 상기 핵산분자는 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 삽입에 이용되고, 예를 들어, 상기 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 상기 결실되는 하나 이상의 아미노산 잔기를 암호화하는 뉴클레오티드의 위치에 삽입되거나, 또는 상기 링커를 암호화하는 뉴클레오티드 서열 또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 삽입되고 (예, 제한효소 절단 부위에 의함);

바람직하게는, 상기 핵산분자는 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 더 포함하고, 상기 타겟 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드 캐리어에 대해 이종(heterologous)이며, 상기 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 상기 결실되는 하나 이상의 아미노산 잔기를 암호화하는 뉴클레오티드의 위치에 삽입거나, 또는 상기 링커를 암호화하는 뉴클레오티드 서열 또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 삽입되고 (예, 제한효소 절단 부위에 의함); 바람직하게는, 상기 타겟 폴리펩티드는 에피토프 펩티드, 예를 들어, HIV, PDL1 또는 HBV (특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이며; 바람직하게는, 상기 에피토프 펩티드는 인간 HBV (예, HBV 유전자형 A, B, C 또는 D)로부터의 HBsAg의 에피토프 (예, HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프), HIV GP120 단백질의 에피토프 (예, GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프), 또는 인간 PD-L1의 에피토프 (예, 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프)를 포함하고; 바람직하게는, 상기 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20-22 및 60-62로부터 선택된 아미노산 서열을 가지며; 바람직하게는, 상기 핵산분자는 서열번호 90-96로부터 선택된 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 것인, 핵산분자.

## 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 기재된 핵산분자를 포함하는, 벡터 (예, 클로닝 벡터 또는 발현 벡터).

## 청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 기재된 핵산분자 또는 제7항에 기재된 벡터를 포함하는, 숙주세포.

## 청구항 9

타겟 폴리펩티드를 제시하는 방법으로서, 상기 방법은 하기 단계를 포함하고:

(1) 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 기재된 핵산분자로 삽입하여, 재조합 단백질을 암호화하는 핵산분자를 획득하는 단계로서, 바람직하게는, 상기 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 결실되는 하나 이상의 아미노산 잔기를 암호화하는 뉴클레오티드의 위치에 삽입되거나, 또는 링커를 암호화하는 뉴클레오티드 서열 또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 삽입(예, 제한효소 절단 부위에 의함)되는, 단계; 및

(2) 상기 단계 (1)에서의 재조합 단백질을 암호화하는 핵산분자를 발현시켜 상기 재조합 단백질을 생산하는 단계;

바람직하게는, 상기 타겟 폴리펩티드는 에피토프 펩티드, 예를 들어, HIV, PDL1 또는 HBV (특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이고; 바람직하게는, 상기 에피토프 펩티드는 인간 HBV (예, HBV 유전자형 A, B, C 또는 D)로부터의 HBsAg의 에피토프 (예, HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프), HIV GP120 단백질의 에피토프 (예, GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프), 또는 인간 PD-L1의 에피토프 (예, 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프)를 포함하며; 바람직하게는, 상기 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20-22 및 60-62로부터 선택된 아미노산

서열을 갖고; 바람직하게는, 상기 재조합 단백질을 암호화하는 핵산분자는 서열번호 90-96으로부터 선택된 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 것인, 타겟 폴리펩티드를 제시하는 방법.

#### 청구항 10

폴리펩티드 캐리어 및 타겟 폴리펩티드를 포함하는, 재조합 단백질로서, 상기 폴리펩티드 캐리어는 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 정의된 것이고, 상기 타겟 폴리펩티드는 결실된 하나 이상의 아미노산 잔기의 위치에 삽입되거나, 또는 링커 또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 삽입되며;

바람직하게는, 상기 폴리펩티드 캐리어는 서열번호 75-80으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖고;

바람직하게는, 상기 타겟 폴리펩티드는 에피토프 펩티드, 예를 들어, HIV, PDL1 또는 HBV (특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이고, 바람직하게는, 상기 에피토프 펩티드는 인간 HBV(예, HBV 유전자형 A, B, C 또는 D)로부터의 HBsAg의 에피토프 (예, HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프), HIV GP120 단백질의 에피토프 (예, GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프), 또는 인간 PD-L1의 에피토프 (예, 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프)를 포함하며; 바람직하게는, 상기 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20-22 및 60-62로부터 선택된 아미노산 서열을 갖고;

바람직하게는, 상기 재조합 단백질은 서열번호 90-96으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 것인, 재조합 단백질.

#### 청구항 11

제10항에 기재된 재조합 단백질을 포함하거나 또는 이로 이루어진, 바이러스-유사 입자.

#### 청구항 12

제10항에 기재된 재조합 단백질 또는 제11항에 기재된 바이러스-유사 입자를 포함하고, 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 비히클 또는 부형제 (예, 보조제(adjuvants))를 포함하거나 포함하지 않는, 약제학적 조성물 (예, 백신).

#### 청구항 13

HBV 감염 또는 HBV와 관련된 질병 (예, B형 간염(hepatitis B))을 예방하거나 또는 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 이를 필요로 하는 환자에게 제10항에 기재된 재조합 단백질 또는 제11항에 기재된 바이러스-유사 입자 또는 제12항에 기재된 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 상기 타겟 폴리펩티드는 HBV (특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이며; 바람직하게는, 상기 에피토프 펩티드는 인간 HBV (예, HBV 유전자형 A, B, C 또는 D)로부터의 HBsAg의 에피토프 (예, HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프)를 포함하고; 바람직하게는, 상기 타겟 폴리펩티드는 서열번호 22 및 60-62로부터 선택된 아미노산 서열을 가지며; 바람직하게는, 상기 재조합 단백질은 서열번호 90-96으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 것인, HBV 감염 또는 HBV와 관련된 질병을 예방하거나 또는 치료하는 방법.

#### 청구항 14

HBV 감염 또는 HBV 감염과 관련된 질병 (예, B형 간염)의 예방 또는 치료를 위한 약제의 제조에 있어서, 제10항에 기재된 재조합 단백질 또는 제11항에 기재된 바이러스-유사 입자의 용도로서, 상기 타겟 폴리펩티드는 HBV (특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드고; 바람직하게는, 상기 에피토프 펩티

드는 인간 HBV (예, HBV 유전자형 A, B, C 또는 D)로부터의 HBsAg의 에피토프 (예, HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산을 비롯한, 선형 에피토프)를 포함하며; 바람직하게는, 상기 타겟 폴리펩티드는 서열번호 22 및 60-62로부터 선택된 아미노산 서열을 갖고; 바람직하게는, 상기 재조합 단백질은 서열번호 90-96으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 것인, 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자의 용도.

**청구항 15**

제10항에 기재된 재조합 단백질을 암호화하는, 폴리뉴클레오티드.

**청구항 16**

제15항에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 벡터 (예, 클로닝 벡터 또는 발현 벡터).

**청구항 17**

제15항에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 제16항에 기재된 벡터를 포함하는, 숙주세포.

**청구항 18**

제10항에 기재된 재조합 단백질의 제조방법으로서, 상기 방법은 재조합 단백질의 발현 및 재조합 단백질의 회수 (recovering)에 적합한 조건하에서, 제17항에 기재된 숙주세포를 배양하는 단계를 포함하는 것인, 재조합 단백질의 제조방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 유전공학 백신, 분자 바이러스학 및 면역학 분야에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 구체적으로 B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus, HBV) 감염의 치료 분야에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 폴리펩티드 캐리어 (펩티드 캐리어)를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 삽입에 사용되는 핵산분자에 관한 것이다. 특히, 본 발명의 핵산분자가 이에 삽입된 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 가지며, 재조합 단백질로서 발현된 후에, 폴리펩티드 캐리어가 타겟 폴리펩티드(예를 들어, 타겟 항원 또는 항원 내 타겟 에피토프)를 제시할 수 있고/있거나, 재조합 단백질이 바이러스-유사 입자(virus-like particle)를 형성하여 타겟 폴리펩티드를 제시할 수 있다. 이에 더하여, 본 발명은 또한 폴리펩티드 캐리어 및 타겟 폴리펩티드를 포함하는, 재조합 단백질에 관한 것이다. 더욱이, 본 발명은 또한 핵산분자 및 재조합 단백질의 용도에 관한 것이다. 이에 더하여, 본 발명은 구체적으로 HBV 감염 또는 HBV 감염에 관련된 질병(예를 들어, B형 간염)의 예방, 경감 또는 치료에 유용하고, 본 발명의 폴리펩티드 캐리어 및 HBV로부터의 에피토프를 포함하는, 재조합 단백질을 포함하는 백신 또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 백신은 전염병의 퇴치에 효과적인 수단이다. 적용되는 개체군(适用人群)에 따라, 백신은 예방 백신 (prophylactic vaccine)과 치료 백신(therapeutic vaccine)으로 나뉠 수 있다. 약독 백신(attenuated vaccine), 불활화 백신(inactivated vaccine) 및 유전공학 백신(genetically engineering vaccine)을 비롯한, 예방 백신은 바이러스 감염의 예방에 주로 사용되는데, 주로 유기체에서 중화 항체를 유도하여 바이러스 감염으로부터 유기체를 보호한다. 치료 백신은 주로 종양과 같은 지속적인 바이러스 감염 및 질병의 치료에 이용된다. 이러한 질병에서, 환자는 일반적으로 타겟 항원에 면역 내성이 있으므로, 연구자들은 유기체에서 타겟 항원에 대한 효과적인 면역 반응의 발생을 유도하기 위해 몇 가지 형태의 백신을 시도해오고 있다. 치료 백신은 주로 핵산 백신, 바이러스 벡터 백신, 유전공학 백신 등을 포함한다. 그 중에서도, 유전공학 백신은 상당한 이점을 가지고 있다.

[0003] 시판되고 있는 유전공학 백신은 B형 간염 바이러스(hepatitis B virus, HBV) 백신, 인간 유두종 바이러스(Human Papillomavirus, HPV) 백신, 및 E형 간염 바이러스(Hepatitis E virus, HEV) 백신을 포함하며, 이들 모두는 바이러스-유사 입자(virus-like particle, VLP)의 형태이다. 바이러스-유사 입자는 바이러스 핵산을 포함하지 않는 특정 바이러스의 하나 이상의 구조 단백질에 의해 형성된 중공 입자(hollow particle)를 말하며, 자가 복제될 수 없지만, 형태학(morphology) 및 구조적 관점에서 실제 비리온(virion)과 동일하거나 유사하다. 바이러스-유사 입자는 강한 면역원성, 높은 안정성, 쉽게 불활성화 되지 않음, 및 외인성 펩티드 단편을 제시하여 유기체 내에서 외인성 펩티드 단편에 특이적인 면역 반응을 유도할 수 있음을 비롯한 이점을 지니므로, 백신 분야에서 중요한 응용 가치를 가진다.

[0004] 현재, 전 세계적으로 약 20억 명이 HBV에 감염되어 있고, 이들 중 약 3억 5천만 명이 만성 HBV에 감염되었으며, 이러한 감염된 사람들이 결국 HBV 감염과 관련된 간 질병으로 사망할 위험은 15~25%에 달할 수 있다. 매년 전 세계적으로 백만 명이 넘는 사람들이 B형 간염으로 인해 야기된 말기 간 질병으로 사망했다. 중국은 HBV 감염에 의해 심각한 피해를 입고 있는 지역으로, 현재 약 9천 3백만 명이 B형 간염을 보유하고 있다. 최근, 사례보고 시스템(case reporting system)의 지속적인 개선으로, B형 간염 관련 질병의 발병률 및 사망률이 감소하는 대신 증가하고 있다.

[0005] 현재, 만성 HBV 감염을 치료하기 위한 약물은 주로 두 부류, 즉, 인터페론 및 뉴클레오시드/뉴클레오티드 유사체(nucleoside/nucleotide analogue, NA)로 나뉠 수 있다. 만성 HBV 감염 치료의 최종 목표는 심각한 간염 [간부전(hepatic failure)], 간경화(hepatic cirrhosis) 및 간암과 같은 말기 간 질병의 발생을 예방하는 것으로, 최적의 임상 종료점(best clinical endpoint)은 환자가 B형 간염 표면 항원(surface antigen)의 혈청학적 음성 전환(serological negative conversion) 또는 혈청학적 전환을 달성할 수 있게 하는 것, 즉, HBV를 완전히 제거(cleaning)하는 것이다. 그러나, 이 목표를 달성할 수 있는 기존의 약물은 매우 한정되어 있다. 그러므로, 바이러스를 보다 효과적으로 제거할 수 있는, 특히, 만성 HBV에 감염된 환자에 대해서, HBsAg를 효과적으로 제거할 수 있거나 또는 HBsAg 수준을 크게 감소시킬 수 있는, 신규하고 독창적인 치료 약물 및 치료 방법의 개발이 시급하며 필요하고, 치료 백신을 개발하는 것이 잠재적인 전략이다.

**발명의 내용**

[0006] 본 출원의 발명자들은, 3가지 박쥐-유래 B형 간염 바이러스 코어 항원 [즉, 라운드리프 박쥐 HBV (roundleaf bat HBV, RBHBV) 코어 항원(RBHBcAg); 천막 박쥐 HBV (tent-making bat HBV, TBHBV) 코어 항원 (TBHBcAg); 및 관 박쥐 HBV (horseshoe bat HBV, HBHBV) 코어 항원(HBHBcAg)]에 기초하여, 타겟 폴리펩티드를 제시하는 새로운 폴리펩티드 캐리어(펩티드 캐리어)의 한 부류를 개발했다. 따라서, 본 발명은 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 핵산분자를 제공한다. 이러한 핵산분자는 이에 삽입된 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 가질 수 있고, 폴리펩티드 캐리어와 타겟 폴리펩티드(예를 들어, 타겟 항원 또는 항원 내 타겟 에피토프)를 포함하는, 재조합 단백질로서 발현될 수 있다. 또한, 타겟 폴리펩티드가 유기체의 면역계에 의해 효과적으로 인식됨으로써, 유기체에서 타겟 폴리펩티드에 대한 특이적인 면역 반응의 생성을 유도할 수 있도록, 생성된 재조합 단백질은 VLP를 효과적으로 형성할 수 있고, VLP 표면에 핵산분자에 삽입된 타겟 폴리펩티드를 제시할 수 있다. 그러므로, 본 발명의 폴리펩티드 캐리어는 백신용 캐리어로 이용되어 타겟 폴리펩티드, 예를 들어, 타겟 항원으로부터의 펩티드 단편(예를 들어, 에피토프)을 제시할 수 있고, 본 발명의 폴리펩티드 캐리어 및 타겟 폴리펩티드를 포함하는, 재조합 단백질은 백신으로 사용되어, 유기체에서 타겟 폴리펩티드에 대한 특이적인 면역 반응을 유도할 수 있다.

[0007] 또한, 본 출원의 발명자들은 RBHBcAg 단백질, TBHBcAg 단백질 및 HBHBcAg 단백질의 C-말단이 리신이 풍부한 영역(lysine-rich region)이고, VLP의 조립(assembly)에 필요하지 않음을 발견했다. 그러므로, 본 발명의 폴리펩티드 캐리어는 RBHBcAg 단백질, TBHBcAg 단백질 및 HBHBcAg 단백질의 C-말단을 포함하지 않을 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 RBHBcAg 캐리어는 RBHBcAg 단백질의 145-189 위치의 아미노산이 부분적으로 또는 완전히 결실되도록 할 수 있고 (예를 들어, RBHBcAg 단백질의 150-189 위치의 아미노산이 결실될 수 있음); 본 발명의 TBHBcAg 캐리어는 TBHBcAg 단백질의 149-188 위치의 아미노산이 부분적으로 또는 완전히 결실되도록 할 수 있으며 (예를 들어, TBHBcAg 단백질의 154-188 위치의 아미노산이 결실될 수 있음); 본 발명의 HBHBcAg 캐리어는 HBHBcAg 단백질의 145-189 위치의 아미노산이 부분적으로 또는 완전히 결실되도록 할 수 있다 (예를 들어, HBHBcAg 단백질의 150-189 위치의 아미노산이 결실될 수 있음).

[0008] 더욱이, 본 출원의 발명자들은 또한 VLP의 조립(assembly)에 영향을 미치지 않고, RBHBcAg 단백질, TBHBcAg 단백질 및 HBHBcAg 단백질의 아미노산 서열의 일부를 인간 T 세포 에피토프로 치환할 수 있음을 발견했다. 그러

므로, 본 발명의 폴리펩티드 캐리어 및 타겟 폴리펩티드를 포함하는, 재조합 단백질에 대한 인체의 면역 반응을 강화하기 위해, 본 출원의 발명자들은 본 발명의 폴리펩티드 캐리어를 더 변형시켜서, 즉, 인간 T 세포 에피토프로 폴리펩티드 캐리어의 아미노산 서열의 일부를 치환시킴으로써, 최적화된 폴리펩티드 캐리어 (즉, 인간 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어)를 수득했다. 예를 들어, 본 출원의 발명자들은 RBHBcAg 단백질의 18-27, 50-69, 및/또는 120-140 위치의 아미노산 잔기가 인간 T 세포 에피토프(예, MHC I 제한 에피토프 및/또는 MHC II 제한 에피토프)로 VLP의 조립에 영향을 끼치지 않고 치환될 수 있다는 것을 발견했다. TBHBcAg 단백질 및 HBHBcAg 단백질은 유사한 특성을 가진다. 그러므로, 폴리펩티드 캐리어인 RBHBcAg, TBHBcAg 및 HBHBcAg를 대응하게 변형시켜서 인간 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어인 RBHBcAg-T, TBHBcAg-T 및 HBHBcAg-T를 수득할 수 있다.

[0009] 또한, 본 출원의 발명자들은 놀랍게도, 본 발명의 폴리펩티드 캐리어가 인간 B형 간염 바이러스(예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프)로부터의 항원 에피토프 (antigen epitope)의 제시에 특히 적합하고, 기존의 B형 간염 백신(예를 들어, 동일한 에피토프를 포함하고, 인간 HBV의 HbcAg를 폴리펩티드 캐리어로 사용하여 제작된 백신)의 효능보다 훨씬 우수한 효능으로, 환자에서 HBsAg를 제거하는 매우 강력하고 특이적인 면역 반응을 유도할 수 있다는 것을 또한 발견했다. 따라서, 본 발명은 인간 B형 간염 바이러스로부터의 항원 에피토프의 제시에 특히 적합한 폴리펩티드 캐리어를 또한 제공한다.

[0010] 그러므로, 한 측면에서, 본 발명은 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열, 또는 상기 뉴클레오티드 서열의 변이체를 포함하는, 핵산분자를 제공하며, 상기 변이체는 상기 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 90% (예를 들어, 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%)의 상동성을 가지거나, 또는 엄격한 조건(stringent condition) 또는 고도의 엄격한 조건(high stringent condition)하에서 상기 뉴클레오티드 서열에 혼성화할 수 있고, 상기 폴리펩티드 캐리어는 하기로부터 선택된다:

[0011] (1) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 라운드리프 박쥐 HBV 코어 항원 단백질(RBHBcAg 단백질; 예를 들어, 이의 아미노산 서열은 서열번호 1에 제시됨)과 상이한, RBHBcAg 캐리어:

[0012] (a) RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기; 예를 들어, 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 또는 78-80 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커 (예를 들어, 가요성 링커(flexible linker); 예를 들어, 서열번호 43에 제시된 링커)로 치환됨; 및

[0013] (b) 1-40개의 아미노산 잔기 (예를 들어, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 또는 35-40개의 아미노산 잔기)가 RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음;

[0014] (2) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 천막 박쥐 HBV 코어 항원 단백질(TBHBcAg 단백질; 예를 들어, 이의 아미노산 서열은 서열번호 2에 제시됨)과 상이한, TBHBcAg 캐리어:

[0015] (a) TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 잔기; 예를 들어, 80-84 위치의 아미노산 잔기, 80-83 위치의 아미노산 잔기, 또는 80-82 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커(예를 들어, 가요성 링커(flexible linker); 예를 들어, 서열번호 43에 기재된 링커)로 치환됨; 및

[0016] (b) 1-35개의 아미노산 잔기 (예를 들어, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 또는 30-35개의 아미노산 잔기)가 TBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음; 및

[0017] (3) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 판 박쥐 HBV 코어 항원 단백질(HBHBcAg 단백질; 예를 들어, 이의 아미노산 서열은 서열번호 3에 제시됨)과 상이한, HBHBcAg 캐리어:

[0018] (a) HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기; 예를 들어, 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 또는 78-80 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커(예를 들어, 가요성 링커(flexible linker); 예를 들어, 서열번호 43에 기재된 링커)로 치환됨; 및

[0019] (b) 1-40개의 아미노산 잔기(예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 또는 35-40개의 아미노산 잔기)가 HBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음.

[0020] **RBHBcAg 캐리어**

- [0021] 바람직한 양태에서, RBHBcAg 단백질은 야생형 RBHBcAg이다. 바람직한 양태에서, RBHBcAg 단백질의 아미노산 서열은 서열번호 1에 제시되어 있다.
- [0022] 바람직한 양태에서, RBHBcAg 캐리어와 RBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 인접 아미노산 잔기 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 인접 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커로 치환됨. 예를 들어, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 78-80 위치의 아미노산 잔기, 78-79 위치의 아미노산 잔기, 79-83 위치의 아미노산 잔기, 79-82 위치의 아미노산 잔기, 79-81 위치의 아미노산 잔기, 79-80 위치의 아미노산 잔기, 80-83 위치의 아미노산 잔기, 80-82 위치의 아미노산 잔기, 80-81 위치의 아미노산 잔기, 81-83 위치의 아미노산 잔기, 81-82 위치의 아미노산 잔기, 82-83 위치의 아미노산 잔기, 78 위치의 아미노산 잔기, 79 위치의 아미노산 잔기, 80 위치의 아미노산 잔기, 81 위치의 아미노산 잔기, 82 위치의 아미노산 잔기, 또는 83 위치의 아미노산 잔기가 결실될 수 있거나, 또는 링커로 치환될 수 있다. 바람직한 양태에서, 링커는, 예를 들어, 가요성 링커이다. 이러한 가요성 링커는 당업자에게 주지되어 있으며, 그 예로는 GGGGSGGGGTGSEFGGGSGGGGS (서열번호 43)가 있다.
- [0023] 바람직한 양태에서, RBHBcAg 캐리어와 RBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (1) 앞서 정의한 바와 같이, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 인접 아미노산 잔기 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 인접 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커로 치환됨; 및 (2) RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 1-40개의 아미노산 잔기가 결실됨. 바람직한 양태에서, RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 또는 35-40개의 아미노산 잔기가 결실됨; 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 또는 40개의 아미노산 잔기가 결실됨.
- [0024] **TBHBcAg 캐리어**
- [0025] 바람직한 양태에서, TBHBcAg 단백질은 야생형 TBHBcAg이다. 바람직한 양태에서, TBHBcAg 단백질의 아미노산 서열은 서열번호 2에 제시되어 있다.
- [0026] 바람직한 양태에서, TBHBcAg 캐리어와 TBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 인접 아미노산 잔기(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 인접 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커로 치환됨. 예를 들어, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기, 80-83 위치의 아미노산 잔기, 80-82 위치의 아미노산 잔기, 80-81 위치의 아미노산 잔기, 81-84 위치의 아미노산 잔기, 81-83 위치의 아미노산 잔기, 81-82 위치의 아미노산 잔기, 82-84 위치의 아미노산 잔기, 82-83 위치의 아미노산 잔기, 83-84 위치의 아미노산 잔기, 80 위치의 아미노산 잔기, 81 위치의 아미노산 잔기, 82 위치의 아미노산 잔기, 83 위치의 아미노산 잔기, 또는 84 위치의 아미노산 잔기가 결실될 수 있거나, 또는 링커로 치환될 수 있다. 바람직한 양태에서, 링커는, 예를 들어, 가요성 링커이다. 이러한 가요성 링커는 당업자에게 주지되어 있으며, 그 예로는 GGGGSGGGGTGSEFGGGSGGGGS (서열번호 43)가 있다.
- [0027] 바람직한 양태에서, TBHBcAg 캐리어와 TBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (1) 앞서 정의한 바와 같이, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 인접 아미노산 잔기 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 인접 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커로 치환됨; 및 (2) TBHBcAg 단백질의 C-말단에서 1-35개의 아미노산 잔기가 결실됨. 바람직한 양태에서, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 또는 30-35개의 아미노산 잔기가 TBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되는데, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 또는 35개의 아미노산 잔기가 결실된다.
- [0028] **HBHBcAg 캐리어**
- [0029] 바람직한 양태에서, HBHBcAg 단백질은 야생형 HBHBcAg이다. 바람직한 양태에서, HBHBcAg의 아미노산 서열은 서열번호 3에 제시되어 있다.
- [0030] 바람직한 양태에서, HBHBcAg 캐리어와 HBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 인접 아미노산 잔기 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 인접 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커로 치환됨. 예를 들어, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 78-80 위치의 아미노산 잔기, 78-79 위치의 아미노산 잔기, 79-83 위치의 아미노산 잔기, 79-82 위치의 아미노산 잔기, 79-81 위치의

아미노산 잔기, 79-80 위치의 아미노산 잔기, 80-83 위치의 아미노산 잔기, 80-82 위치의 아미노산 잔기, 80-81 위치의 아미노산 잔기, 81-83 위치의 아미노산 잔기, 81-82 위치의 아미노산 잔기, 82-83 위치의 아미노산 잔기, 78 위치의 아미노산 잔기, 79 위치의 아미노산 잔기, 80 위치의 아미노산 잔기, 81 위치의 아미노산 잔기, 82 위치의 아미노산 잔기, 또는 83 위치의 아미노산 잔기가 결실될 수 있거나, 또는 링커로 치환될 수 있다. 바람직한 양태에서, 링커는, 예를 들어, 가요성 링커이다. 이러한 가요성 링커는 당업자에게 주지되어 있으며, 그 예로는 GGGGGSGGGGTGSEFGGGGSGGGGS (서열번호 43)가 있다.

- [0031] 바람직한 양태에서, HBHBcAg 캐리어와 HBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (1) 앞서 정의한 바와 같이, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 인접 아미노산 잔기(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 인접 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커로 치환됨; 및 (2) HBHBcAg 단백질의 C-말단에서 1-40개의 아미노산 잔기가 결실됨. 바람직한 양태에서, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 또는 35-40개의 아미노산 잔기가 HBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되는데, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 또는 40개의 아미노산 잔기가 결실된다.
- [0032] 어떤 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 또한 T 세포 에피토프를 운반한다. 어떤 바람직한 양태에서, T 세포 에피토프는 인간 T 세포 에피토프이다. 어떤 바람직한 양태에서, T 세포 에피토프는 MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프로부터 선택된다. 어떤 바람직한 양태에서, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프는 서열번호 87에 제시되어 있다. 어떤 바람직한 양태에서, MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프는 서열번호 88 또는 89에 제시되어 있다.
- [0033] 어떤 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 인간 T 세포 에피토프를 운반하며, 다음으로부터 선택된다:
- [0034] (1) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 라운드리프 박쥐 HBV 코어 항원 단백질 (RBHBcAg 단백질; 예, 이의 아미노산 서열은 서열번호 1에 제시됨)과 상이한, RBHBcAg-T 캐리어:
- [0035] (1a) RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기; 예, 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 또는 78-80 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커(예, 가요성 링커; 예, 서열번호 43에 제시된 링커)로 치환됨;
- [0036] (1b) RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및/또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환됨; 및
- [0037] (1c) 1-40개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 또는 35-40개의 아미노산 잔기)가 RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음;
- [0038] (2) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 천막 박쥐 HBV 코어 항원 단백질 (TBHBcAg 단백질; 예, 이의 아미노산 서열이 서열번호 2에 제시됨)과 상이한, TBHBcAg-T 캐리어:
- [0039] (2a) TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 잔기 (예, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 잔기; 예, 80-84 위치의 아미노산 잔기, 80-83 위치의 아미노산 잔기, 또는 80-82 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커 (예, 가요성 링커; 예, 서열번호 43에 제시된 링커 세트)로 치환됨;
- [0040] (2b) TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 54-73 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 124-144 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및/또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환됨; 및
- [0041] (2c) TBHBcAg의 C-말단에서 1-35개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 또는 30-35개의 아미노산 잔기)가 결실되거나 또는 결실되지 않음; 및
- [0042] (3) 다음을 포함하는 차이점에 의해, 판 박쥐 HBV 코어 항원 단백질 (HBHBcAg 단백질; 예, 이의 아미노산 서열이 서열번호 3에 제시됨)과 상이한, HBHBcAg-T 캐리어:
- [0043] (3a) HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3,

4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기; 예, 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 또는 78-80 위치의 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커 (예, 가요성 링커; 예, 서열번호 43에 제시된 링커 세트)로 치환됨;

[0044] (3b) HBHcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및/또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환됨; 및

[0045] (3c) 1-40개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 또는 35-40개의 아미노산 잔기)가 HBHcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음.

[0046] **RBHcAg-T 캐리어**

[0047] 바람직한 양태에서, RBHcAg 단백질은 야생형 RBHcAg이다. 바람직한 양태에서, RBHcAg 단백질의 아미노산 서열은 서열번호 1에 제시되어 있다.

[0048] 바람직한 양태에서, RBHcAg-T 캐리어와 RBHcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (i) RBHcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 인접 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 인접 아미노산 잔기)가 결실되거나, 또는 링커로 치환됨; (ii) RBHcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환됨; 및 (iii) RBHcAg 단백질의 C-말단에서 1-40개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 또는 35-40개의 아미노산 잔기)가 결실되거나 결실되지 않음.

[0049] 상기 차이점 (i)에 대하여

[0050] 어떤 바람직한 양태에서, RBHcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 78-80 위치의 아미노산 잔기, 78-79 위치의 아미노산 잔기, 79-83 위치의 아미노산 잔기, 79-82 위치의 아미노산 잔기, 79-81 위치의 아미노산 잔기, 79-80 위치의 아미노산 잔기, 80-83 위치의 아미노산 잔기, 80-82 위치의 아미노산 잔기, 80-81 위치의 아미노산 잔기, 81-83 위치의 아미노산 잔기, 81-82 위치의 아미노산 잔기, 82-83 위치의 아미노산 잔기, 78 위치의 아미노산 잔기, 79 위치의 아미노산 잔기, 80 위치의 아미노산 잔기, 81 위치의 아미노산 잔기, 82 위치의 아미노산 잔기, 또는 83 위치의 아미노산 잔기가 결실될 수 있거나, 또는 링커로 치환될 수 있다. 바람직한 양태에서, 상기 링커는, 예를 들어, 가요성 링커이다. 이러한 가요성 링커는 당업자에게 주지되어 있으며, 그 예로는 GGGGSGGGGTGSEFGGGSGGGGS (서열번호 43)가 있다.

[0051] 상기 차이점 (ii)에 대하여

[0052] 어떤 바람직한 양태에서, RBHcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의 아미노산 잔기)는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및/또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다. 어떤 바람직한 양태에서, RBHcAg 단백질의 N-말단에서 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 18-19, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23, 21-22, 22-27, 22-26, 22-25, 22-24, 22-23, 23-27, 23-26, 23-25, 23-24, 24-27, 24-26, 24-25, 25-27, 25-26, 26-27, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19 또는 18 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프; 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환된다.

[0053] 어떤 바람직한 양태에서, RBHcAg 단백질의 N-말단에서 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산 잔기)는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및/또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다. 어떤 바람직한 양태에서, RBHcAg 단백질의 N-말단에서 50-69, 50-68, 50-67, 50-66, 50-65, 50-64, 50-63, 50-62, 50-61, 50-60, 50-59, 50-58, 50-57, 50-56, 50-55, 50-54, 50-53, 50-52, 50-51, 51-69, 51-68, 51-67, 51-66, 51-65, 51-64, 51-63, 51-62, 51-61, 51-60, 51-59, 51-58, 51-57, 51-56, 51-55, 51-54, 51-53, 51-52, 52-69, 52-68, 52-67, 52-66, 52-65, 52-64, 52-63, 52-62, 52-61, 52-60, 52-

59, 52-58, 52-57, 52-56, 52-55, 52-54, 52-53, 53-69, 53-68, 53-67, 53-66, 53-65, 53-64, 53-63, 53-62, 53-61, 53-60, 53-59, 53-58, 53-57, 53-56, 53-55, 53-54, 54-69, 54-68, 54-67, 54-66, 54-65, 54-64, 54-63, 54-62, 54-61, 54-60, 54-59, 54-58, 54-57, 54-56, 54-57, 54-56, 54-55, 55-69, 55-68, 55-67, 55-66, 55-65, 55-64, 55-63, 55-62, 55-61, 55-60, 55-59, 55-58, 55-57, 55-56, 56-69, 56-68, 56-67, 56-66, 56-65, 56-64, 56-63, 56-62, 56-61, 56-60, 56-59, 56-58, 56-57, 57-69, 57-68, 57-67, 57-66, 57-65, 57-64, 57-63, 57-62, 57-61, 57-60, 57-59, 57-58, 58-69, 58-68, 58-67, 58-66, 58-65, 58-64, 58-63, 58-62, 58-61, 58-60, 58-59, 59-69, 59-68, 59-67, 59-66, 59-65, 59-64, 59-63, 59-62, 59-61, 59-60, 60-69, 60-68, 60-67, 60-66, 60-65, 60-64, 60-63, 60-62, 60-61, 61-69, 61-68, 61-67, 61-66, 61-65, 61-64, 61-63, 61-62, 62-69, 62-68, 62-67, 62-66, 62-65, 62-64, 62-63, 63-69, 63-68, 63-67, 63-66, 63-65, 63-64, 64-69, 64-68, 64-67, 64-66, 64-65, 65-69, 65-68, 65-67, 65-66, 66-69, 66-68, 66-67, 67-69, 67-68, 68-69, 69, 68, 67, 66, 65, 64, 63, 62, 61, 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51 또는 50 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프; 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다.

[0054] 어떤 바람직한 양태에서, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21개의 아미노산 잔기)는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및/또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다. 어떤 바람직한 양태에서, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 120-140, 120-139, 120-138, 120-137, 120-136, 120-135, 120-134, 120-133, 120-132, 120-131, 120-130, 120-129, 120-128, 120-127, 120-126, 120-125, 120-124, 120-123, 120-122, 120-121, 121-140, 121-139, 121-138, 121-137, 121-136, 121-135, 121-134, 121-133, 121-132, 121-131, 121-130, 121-129, 121-128, 121-127, 121-126, 121-125, 121-124, 121-123, 121-122, 122-140, 122-139, 122-138, 122-137, 122-136, 122-135, 122-134, 122-133, 122-132, 122-131, 122-130, 122-129, 122-128, 122-127, 122-126, 122-125, 122-124, 122-123, 123-140, 123-139, 123-138, 123-137, 123-136, 123-135, 123-134, 123-133, 123-132, 123-131, 123-130, 123-129, 123-128, 123-127, 123-126, 123-125, 123-124, 124-140, 124-139, 124-138, 124-137, 124-136, 124-135, 124-134, 124-133, 124-132, 124-131, 124-130, 124-129, 124-128, 124-127, 124-126, 124-125, 125-140, 125-139, 125-138, 125-137, 125-136, 125-135, 125-134, 125-133, 125-132, 125-131, 125-130, 125-129, 125-128, 125-127, 126-140, 126-139, 126-138, 126-137, 126-136, 126-135, 126-134, 126-133, 126-132, 126-131, 126-130, 126-129, 126-128, 126-127, 127-140, 127-139, 127-138, 127-137, 127-136, 127-135, 127-134, 127-133, 127-132, 127-131, 127-130, 127-129, 127-128, 128-140, 128-139, 128-138, 128-137, 128-136, 128-135, 128-134, 128-133, 128-132, 128-131, 128-130, 128-129, 129-140, 129-139, 129-138, 129-137, 129-136, 129-135, 129-134, 129-133, 129-132, 129-131, 129-130, 130-140, 130-139, 130-138, 130-137, 130-136, 130-135, 130-134, 130-133, 130-132, 130-131, 131-140, 131-139, 131-138, 131-137, 131-136, 131-135, 131-134, 131-133, 131-132, 132-140, 132-139, 132-138, 132-137, 132-136, 132-135, 132-134, 132-133, 133-140, 133-139, 133-138, 133-137, 133-136, 133-135, 133-134, 134-140, 134-139, 134-138, 134-137, 134-136, 134-135, 135-140, 135-139, 135-138, 135-137, 135-136, 136-140, 136-139, 136-138, 136-137, 137-140, 137-139, 137-138, 138-140, 138-139, 139-140, 140, 139, 138, 137, 136, 135, 134, 133, 132, 131, 130, 129, 128, 127, 126, 125, 124, 123, 122, 121 또는 120 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프; 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다.

[0055] 어떤 바람직한 양태에서, RBHBcAg-T 캐리어는 상기 기술된 세 치환들 중 임의의 하나 또는 둘을 포함한다. 어떤 바람직한 양태에서, RBHBcAg-T 캐리어는 상기 기술된 세 치환들을 포함한다 (이러한 폴리펩티드 캐리어는 아래에서 RBHBcAg-T3 캐리어로 또한 지칭됨). 예를 들어, 어떤 실시예에서, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치 및 50-69 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환된다. 어떤 실시예에서, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치 및 120-140 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환된다. 어떤 실시예에서, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 50-69 위치 및 120-140 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환된다. 어떤 실시예에서, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27, 50-69 및 120-140 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 모두 치환된다. 어떤 실시예에서, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27, 50-69 및 120-140 위치의 아미노산 잔기는 각각 서열번호 87, 88 및 89에 제시된 인

간 T 세포 에피토프 세트로 치환된다.

[0056]

상기 차이점 (iii)에 대하여

[0057]

차이점 (iii)은 필수적이지는 않다. 달리 말하면, RBHBcAg-T 캐리어에서, RBHBcAg 단백질의 C-말단 결실은 존재할 수도 있거나, 또는 존재하지 않을 수도 있다. 어떤 실시예에서, RBHBcAg-T 캐리어에서 RBHBcAg 단백질의 C-말단 결실은 존재하지 않는다. 어떤 실시예에서, 1-40개의 아미노산 잔기는 RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실된다. 어떤 실시예에서, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 또는 35-40개의 아미노산 잔기는 RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되는데, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 또는 40개의 아미노산 잔기가 결실된다.

[0058]

TBHBcAg-T 캐리어

[0059]

바람직한 양태에서, TBHBcAg 단백질은 야생형 TBHBcAg이다. 바람직한 양태에서, TBHBcAg 단백질의 아미노산 서열은 서열번호 2에 제시되어 있다.

[0060]

바람직한 양태에서, TBHBcAg-T 캐리어와 TBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (i) TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 인접 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 인접 아미노산 잔기)는 결실되거나, 또는 링커로 치환됨; (ii) TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 54-73 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 124-144 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환됨; 및 (iii) TBHBcAg 단백질의 C-말단에서 1-35개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 또는 30-35개의 아미노산 잔기)는 결실되거나 또는 결실되지 않음.

[0061]

상기 차이점 (i)에 대하여

[0062]

어떤 바람직한 양태에서, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기, 80-83 위치의 아미노산 잔기, 80-82 위치의 아미노산 잔기, 80-81 위치의 아미노산 잔기, 81-84 위치의 아미노산 잔기, 81-83 위치의 아미노산 잔기, 81-82 위치의 아미노산 잔기, 82-84 위치의 아미노산 잔기, 82-83 위치의 아미노산 잔기, 83-84 위치의 아미노산 잔기, 80 위치의 아미노산 잔기, 81 위치의 아미노산 잔기, 82 위치의 아미노산 잔기, 83 위치의 아미노산 잔기, 또는 84 위치의 아미노산 잔기는 결실될 수 있거나, 또는 링커로 치환될 수 있다. 바람직한 양태에서, 상기 링커는, 예를 들어, 가요성 링커이다. 이러한 가요성 링커는 당업자에게 주지되어 있으며, 그 예로는 GGGGGSGGGGTGSEFGGGGSGGGGS (서열번호 43)가 있다.

[0063]

상기 차이점 (ii)에 대하여

[0064]

어떤 바람직한 양태에서, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의 아미노산 잔기)는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다. 어떤 바람직한 양태에서, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 18-19, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23, 21-22, 22-27, 22-26, 22-25, 22-24, 22-23, 23-27, 23-26, 23-25, 23-24, 24-27, 24-26, 24-25, 25-27, 25-26, 26-27, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19 또는 18 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프; 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다.

[0065]

어떤 바람직한 양태에서, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 54-73 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산 잔기)는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다. 어떤 바람직한 양태에서, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 54-73, 54-72, 54-71, 54-70, 54-69, 54-68, 54-67, 54-66, 54-65, 54-64, 54-63, 54-62, 54-61, 54-60, 54-59, 54-58, 54-57, 54-56, 54-55, 55-73, 55-72, 55-71, 55-70, 55-69, 55-68, 55-67, 55-66, 55-65, 55-64, 55-63, 55-62, 55-61, 55-60, 55-59, 55-58, 55-57, 55-56, 56-73, 56-72, 56-71, 56-70, 56-69, 56-68, 56-67, 56-66, 56-65, 56-64, 56-63, 56-62, 56-61, 56-60, 56-59, 56-58, 56-57, 57-73, 57-72, 57-71, 57-70, 57-69, 57-68, 57-67, 57-66, 57-65, 57-64, 57-63, 57-62, 57-61, 57-60, 57-59, 57-58, 58-73, 58-72, 58-71, 58-70, 58-69, 58-68, 58-67, 58-66, 58-65, 58-64, 58-63, 58-62, 58-61, 58-60, 58-59, 59-73, 59-72, 59-71, 59-70, 59-69, 59-68, 59-67, 59-66, 59-65, 59-64, 59-63,

59-62, 59-61, 59-60, 60-73, 60-72, 60-71, 60-70, 60-69, 60-68, 60-67, 60-66, 60-65, 60-64, 60-63, 60-62, 60-61, 61-73, 61-72, 61-71, 61-70, 61-69, 61-68, 61-67, 61-66, 61-65, 61-64, 61-63, 61-62, 62-73, 62-72, 62-71, 62-70, 62-69, 62-68, 62-67, 62-66, 62-65, 62-64, 62-63, 63-73, 63-72, 63-71, 63-70, 63-69, 63-68, 63-67, 63-66, 63-65, 63-64, 64-73, 64-72, 64-71, 64-70, 64-69, 64-68, 64-67, 64-66, 64-65, 65-73, 65-72, 65-71, 65-70, 65-69, 65-68, 65-67, 65-66, 66-73, 66-72, 66-71, 66-70, 66-69, 66-68, 66-67, 67-73, 67-72, 67-71, 67-70, 67-69, 67-68, 68-73, 68-72, 68-71, 68-70, 68-69, 69-73, 69-72, 69-71, 69-70, 70-73, 70-72, 70-71, 71-73, 71-72, 72-73, 73, 72, 71, 70, 69, 68, 67, 66, 65, 64, 63, 62, 61, 60, 59, 58, 57, 56, 55 또는 54 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프; 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다.

[0066] 어떤 바람직한 양태에서, TBHBCAg 단백질의 N-말단에서 124-144 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21개의 아미노산 잔기)는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다. 어떤 바람직한 양태에서, TBHBCAg 단백질의 N-말단에서 124-144, 124-143, 124-142, 124-141, 124-140, 124-139, 124-138, 124-137, 124-136, 124-135, 124-134, 124-133, 124-132, 124-131, 124-130, 124-129, 124-128, 124-127, 124-126, 124-125, 125-144, 125-143, 125-142, 125-141, 125-140, 125-139, 125-138, 125-137, 125-136, 125-135, 125-134, 125-133, 125-132, 125-131, 125-130, 125-129, 125-128, 125-127, 125-126, 126-144, 126-143, 126-142, 126-141, 126-140, 126-139, 126-138, 126-137, 126-136, 126-135, 126-134, 126-133, 126-132, 126-131, 126-130, 126-129, 126-128, 126-127, 127-144, 127-143, 127-142, 127-141, 127-140, 127-139, 127-138, 127-137, 127-136, 127-135, 127-134, 127-133, 127-132, 127-131, 127-130, 127-129, 127-128, 128-144, 128-143, 128-142, 128-141, 128-140, 128-139, 128-138, 128-137, 128-136, 128-135, 128-134, 128-133, 128-132, 128-131, 128-130, 128-129, 129-144, 129-143, 129-142, 129-141, 129-140, 129-139, 129-138, 129-137, 129-136, 129-135, 129-134, 129-133, 129-132, 129-131, 129-130, 130-144, 130-143, 130-142, 130-141, 130-140, 130-139, 130-138, 130-137, 130-136, 130-135, 130-134, 130-133, 130-132, 130-131, 131-144, 131-143, 131-142, 131-141, 131-140, 131-139, 131-138, 131-137, 131-136, 131-135, 131-134, 131-133, 131-132, 132-144, 132-143, 132-142, 132-141, 132-140, 132-139, 132-138, 132-137, 132-136, 132-135, 132-134, 132-133, 133-144, 133-143, 133-142, 133-141, 133-140, 133-139, 133-138, 133-137, 133-136, 133-135, 133-134, 134-144, 134-143, 134-142, 134-141, 134-140, 134-139, 134-138, 134-137, 134-136, 134-135, 135-144, 135-143, 135-142, 135-141, 135-140, 135-139, 135-138, 135-137, 135-136, 136-144, 136-143, 136-142, 136-141, 136-140, 136-139, 136-138, 136-137, 137-144, 137-143, 137-142, 137-141, 137-140, 137-139, 137-138, 138-144, 138-143, 138-142, 138-141, 138-140, 138-139, 139-144, 139-143, 139-142, 139-141, 139-140, 140-144, 140-143, 140-142, 140-141, 141-144, 141-143, 141-142, 142-144, 142-143, 143-144, 144, 143, 142, 141, 140, 139, 138, 137, 136, 135, 134, 133, 132, 131, 130, 129, 128, 127, 126, 125 또는 124 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프; 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환된다.

[0067] 어떤 바람직한 양태에서, TBHBCAg-T 캐리어는 상기 기술된 세 치환들 중 임의의 하나 또는 둘을 포함한다. 어떤 바람직한 양태에서, TBHBCAg-T 캐리어는 상기 기술된 세 치환을 포함한다 (이러한 폴리펩티드 캐리어는 아래에서 TBHBCAg-T3 캐리어로 또한 지칭됨). 예를 들어, 어떤 실시예에서, TBHBCAg 단백질의 N-말단에서 18-27 및 54-73 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환된다. 어떤 실시예에서, TBHBCAg 단백질의 N-말단에서 18-27 및 124-144 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환된다. 어떤 실시예에서, TBHBCAg 단백질의 N-말단에서 54-73 및 124-144 위치의 아미노산 잔기는 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환된다. 어떤 실시예에서, TBHBCAg 단백질의 N-말단에서 18-27, 54-73 및 124-144 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 모두 치환된다. 어떤 실시예에서, TBHBCAg 단백질의 N-말단에서 18-27, 54-73 및 124-144 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 87, 88 및 89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트로 각각 치환된다.

[0068] 상기 차이점 (iii)에 대하여

[0069] 차이점 (iii)은 필수적이지는 않다. 달리 말하면, TBHBCAg-T 캐리어에서, TBHBCAg 단백질의 C-말단 결실은 존

재할 수도 있거나, 또는 존재하지 않을 수도 있다. 어떤 실시예에서, TBHbCag-T 캐리어 내 TBHbCag 단백질의 C-말단 결실이 존재하지 않는다. 어떤 실시예에서, 1-35개의 아미노산 잔기는 TBHbCag 단백질의 C-말단에서 결실된다. 어떤 실시예에서, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 또는 30-35개의 아미노산 잔기는 TBHbCag 단백질의 C-말단에서 결실되는데, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 또는 35개의 아미노산 잔기가 결실된다.

[0070] **HBHbCag-T 캐리어**

[0071] 바람직한 양태에서, HBHbCag 단백질은 야생형 HBHbCag이다. 바람직한 양태에서, HBHbCag 단백질의 아미노산 서열은 서열번호 3에 제시되어 있다.

[0072] 바람직한 양태에서, HBHbCag-T 캐리어와 HBHbCag 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (i) HBHbCag 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 인접 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 인접 아미노산 잔기)가 결실되었거나, 또는 링커로 치환됨; (ii) HBHbCag 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환됨; 및 (iii) 1-40개의 아미노산 잔기 (예, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 또는 35-40개의 아미노산 잔기)가 HBHbCag 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음.

[0073] 상기 차이점 (i)에 대하여

[0074] 어떤 바람직한 양태에서, HBHbCag 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기, 78-82 위치의 아미노산 잔기, 78-81 위치의 아미노산 잔기, 78-80 위치의 아미노산 잔기, 78-79 위치의 아미노산 잔기, 79-83 위치의 아미노산 잔기, 79-82 위치의 아미노산 잔기, 79-81 위치의 아미노산 잔기, 79-80 위치의 아미노산 잔기, 80-83 위치의 아미노산 잔기, 80-82 위치의 아미노산 잔기, 80-81 위치의 아미노산 잔기, 81-83 위치의 아미노산 잔기, 81-82 위치의 아미노산 잔기, 82-83 위치의 아미노산 잔기, 78 위치의 아미노산 잔기, 79 위치의 아미노산 잔기, 80 위치의 아미노산 잔기, 81 위치의 아미노산 잔기, 82 위치의 아미노산 잔기, 또는 83 위치의 아미노산 잔기는 결실될 수 있거나, 또는 링커로 치환될 수 있다. 바람직한 양태에서, 상기 링커는, 예를 들어, 가요성 링커이다. 이러한 가요성 링커는 당업자에게 주지되어 있으며, 그 예로는, GGGGGSGGGGTGSEFGGGGSGGGGS (서열번호 43)가 있다.

[0075] 상기 차이점 (ii)에 대하여

[0076] 어떤 바람직한 양태에서, HBHbCag 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의 아미노산 잔기)는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및/또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다. 어떤 바람직한 양태에서, HBHbCag 단백질의 N-말단에서 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 18-19, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23, 21-22, 22-27, 22-26, 22-25, 22-24, 22-23, 23-27, 23-26, 23-25, 23-24, 24-27, 24-26, 24-25, 25-27, 25-26, 26-27, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19 또는 18 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프; 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환된다.

[0077] 어떤 바람직한 양태에서, HBHbCag 단백질의 N-말단에서 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산 잔기)는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및/또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다. 어떤 바람직한 양태에서, HBHbCag 단백질의 N-말단에서 50-69, 50-68, 50-67, 50-66, 50-65, 50-64, 50-63, 50-62, 50-61, 50-60, 50-59, 50-58, 50-57, 50-56, 50-55, 50-54, 50-53, 50-52, 50-51, 51-69, 51-68, 51-67, 51-66, 51-65, 51-64, 51-63, 51-62, 51-61, 51-60, 51-59, 51-58, 51-57, 51-56, 51-55, 51-54, 51-53, 51-52, 52-69, 52-68, 52-67, 52-66, 52-65, 52-64, 52-63, 52-62, 52-61, 52-60, 52-59, 52-58, 52-57, 52-56, 52-55, 52-54, 52-53, 53-69, 53-68, 53-67, 53-66, 53-65, 53-64, 53-63, 53-62, 53-61, 53-60, 53-59, 53-58, 53-57, 53-56, 53-55, 53-54, 54-69, 54-68, 54-67, 54-66, 54-65, 54-64, 54-63, 54-62, 54-61, 54-60, 54-59, 54-58, 54-57, 54-56, 54-55, 55-69, 55-68, 55-67, 55-66, 55-65, 55-64, 55-63, 55-62, 55-61, 55-60, 55-59, 55-58, 55-57, 55-56, 56-69, 56-68, 56-67, 56-66, 56-

65, 56-64, 56-63, 56-62, 56-61, 56-60, 56-59, 56-58, 56-57, 57-69, 57-68, 57-67, 57-66, 57-65, 57-64, 57-63, 57-62, 57-61, 57-60, 57-59, 57-58, 58-69, 58-68, 58-67, 58-66, 58-65, 58-64, 58-63, 58-62, 58-61, 58-60, 58-59, 59-69, 59-68, 59-67, 59-66, 59-65, 59-64, 59-63, 59-62, 59-61, 59-60, 60-69, 60-68, 60-67, 60-66, 60-65, 60-64, 60-63, 60-62, 60-61, 61-69, 61-68, 61-67, 61-66, 61-65, 61-64, 61-63, 61-62, 62-69, 62-68, 62-67, 62-66, 62-65, 62-64, 62-63, 63-69, 63-68, 63-67, 63-66, 63-65, 63-64, 64-69, 64-68, 64-67, 64-66, 64-65, 65-69, 65-68, 65-67, 65-66, 66-69, 66-68, 66-67, 67-69, 67-68, 68-69, 69, 68, 67, 66, 65, 64, 63, 62, 61, 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51 또는 50 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프; 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환된다.

[0078] 어떤 바람직한 양태에서, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 (예, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21개의 아미노산 잔기)는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프 및/또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다. 어떤 바람직한 양태에서, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 120-140, 120-139, 120-138, 120-137, 120-136, 120-135, 120-134, 120-133, 120-132, 120-131, 120-130, 120-129, 120-128, 120-127, 120-126, 120-125, 120-124, 120-123, 120-122, 120-121, 121-140, 121-139, 121-138, 121-137, 121-136, 121-135, 121-134, 121-133, 121-132, 121-131, 121-130, 121-129, 121-128, 121-127, 121-126, 121-125, 121-124, 121-123, 121-122, 122-140, 122-139, 122-138, 122-137, 122-136, 122-135, 122-134, 122-133, 122-132, 122-131, 122-130, 122-129, 122-128, 122-127, 122-126, 122-125, 122-124, 122-123, 123-140, 123-139, 123-138, 123-137, 123-136, 123-135, 123-134, 123-133, 123-132, 123-131, 123-130, 123-129, 123-128, 123-127, 123-126, 123-125, 123-124, 124-140, 124-139, 124-138, 124-137, 124-136, 124-135, 124-134, 124-133, 124-132, 124-131, 124-130, 124-129, 124-128, 124-127, 124-126, 124-125, 125-140, 125-139, 125-138, 125-137, 125-136, 125-135, 125-134, 125-133, 125-132, 125-131, 125-130, 125-129, 125-128, 125-127, 126-140, 126-139, 126-138, 126-137, 126-136, 126-135, 126-134, 126-133, 126-132, 126-131, 126-130, 126-129, 126-128, 126-127, 127-140, 127-139, 127-138, 127-137, 127-136, 127-135, 127-134, 127-133, 127-132, 127-131, 127-130, 127-129, 127-128, 128-140, 128-139, 128-138, 128-137, 128-136, 128-135, 128-134, 128-133, 128-132, 128-131, 128-130, 128-129, 129-140, 129-139, 129-138, 129-137, 129-136, 129-135, 129-134, 129-133, 129-132, 129-131, 129-130, 130-140, 130-139, 130-138, 130-137, 130-136, 130-135, 130-134, 130-133, 130-132, 130-131, 131-140, 131-139, 131-138, 131-137, 131-136, 131-135, 131-134, 131-133, 131-132, 132-140, 132-139, 132-138, 132-137, 132-136, 132-135, 132-134, 132-133, 133-140, 133-139, 133-138, 133-137, 133-136, 133-135, 133-134, 134-140, 134-139, 134-138, 134-137, 134-136, 134-135, 135-140, 135-139, 135-138, 135-137, 135-136, 136-140, 136-139, 136-138, 136-137, 137-140, 137-139, 137-138, 138-140, 138-139, 139-140, 140, 139, 138, 137, 136, 135, 134, 133, 132, 131, 130, 129, 128, 127, 126, 125, 124, 123, 122, 121 또는 120 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프; 예, 서열번호 87-89에 제시된 인간 T 세포 에피토프 세트)로 치환된다.

[0079] 어떤 바람직한 양태에서, HBHBcAg-T 캐리어는 상기 기술된 세 치환들 중 임의의 하나 또는 둘을 포함한다. 어떤 바람직한 양태에서, HBHBcAg-T 캐리어는 상기 기술된 세 치환들을 포함한다 (이러한 폴리펩티드 캐리어는 아래에서 HBHBcAg-T3 캐리어로 또한 지칭됨). 예를 들어, 어떤 실시예에서, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 위치 18-27 및 50-69의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환된다. 어떤 실시예에서, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 및 120-140 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환된다. 어떤 실시예에서, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 50-69 및 120-140 위치의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 각각 독립적으로 치환된다. 어떤 실시예에서, HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27, 50-69 및 120-140 위치의 아미노산 잔기는 모두 인간 T 세포 에피토프 (예, MHC I 또는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프)로 치환된다. 어떤 실시예에서, HBHBcAg 단백질의 18-27, 50-69 및 120-140 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 87, 88 및 89에 기재된 인간 T 세포 에피토프로 각각 치환된다.

[0080] 상기 차이점 (iii)에 대하여

[0081] 차이점 (iii)은 필수적이지는 않다. 달리 말하면, HBHBcAg-T 캐리어에서, HBHBcAg 단백질의 C-말단 결실은 존

재할 수도 있거나 또는 존재하지 않을 수도 있다. 어떤 실시예에서, HBHBcAg-T 캐리어 내 HBHBcAg 단백질의 C-말단 결실이 존재하지 않는다. 어떤 실시예에서, 1-40개의 아미노산 잔기는 HBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실된다. 어떤 실시예에서, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 또는 35-40개의 아미노산 잔기는 HBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되는데, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 또는 40개의 아미노산 잔기가 결실된다.

- [0082] 당업자에게 공지된 바와 같이, 제한효소 절단 부위의 도입은 특히 유리하다. 그러므로, 바람직한 양태에서, 본 발명의 핵산분자에서, 제한효소 절단 부위는 결실되는 하나 이상의 아미노산 잔기(예, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기, 및 HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기)를 암호화하는 뉴클레오티드의 위치에 도입된다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 핵산분자에서, 제한효소 절단 부위는 링커를 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및/또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 도입된다. 바람직한 양태에서, 하나 이상의 제한효소 절단 부위는 본 발명의 핵산분자 및/또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 도입된다. 다양한 제한효소 절단 부위가 당업자에게 공지되어 있으며, EcoR I, BamH I, Hind II, Hind III, Hpa I, Hpa II, Mbo I, 및 Mbo II를 비롯한 제한효소에 의해 인식되는 효소절단 부위를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0083] 바람직한 양태에서, 변이체는 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열에 대해서 적어도 90%의 상동성, 예를 들어, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 상동성을 가진다.
- [0084] 바람직한 양태에서, 변이체는 엄격한 조건(stringent condition)하에서 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열에 혼성화할 수 있다. 바람직한 양태에서, 변이체는 고도의 엄격한 조건하에서 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열에 혼성화할 수 있다.
- [0085] 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 서열번호 4-9 및 75-80으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다.
- [0086] 바람직한 양태에서, 핵산분자는 서열번호 12-17 및 81-86으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0087] 바람직한 양태에서, 핵산분자는 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 삽입에 사용된다. 예를 들어, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 결실되는 하나 이상의 아미노산 잔기(예, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기, 및 HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기)를 암호화하는 뉴클레오티드의 위치에 삽입되거나, 또는 링커를 암호화하는 뉴클레오티드 서열 또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 삽입된다. 바람직한 양태에서, 인-프레임(in-frame) 방식으로, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열이 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열로 삽입된다. 바람직한 양태에서, 제한효소 절단 부위에 의해, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열에 삽입된다.
- [0088] 바람직한 양태에서, 핵산분자는 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 더 포함하는데, 타겟 폴리펩티드는 폴리펩티드 캐리어에 대해 이종(heterologous)이고, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 결실되는 하나 이상의 아미노산 잔기(예, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기, 및 HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기)를 암호화하는 뉴클레오티드 위치에 삽입되거나, 또는 링커를 암호화하는 뉴클레오티드 서열 또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 삽입된다. 바람직한 양태에서, 인-프레임(in-frame) 방식으로, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열에 삽입된다. 바람직한 양태에서, 제한효소 절단 부위에 의해, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열에 삽입된다.
- [0089] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 항원, 또는 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 또는 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 에피토프 펩티드이며, 예를 들어, HIV, PDL1 또는 HBV (특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다.
- [0090] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는, 인간 HBV의 HBsAg, 또는 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 RBHBcAg 캐리어 또는 RBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HIV, PDL1 또는 HBV (특히, 인간 HBV) [예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)]로부터의 항원성 에피토프이거나, 이들을 포함한다.

바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 TBHBcAg 캐리어 또는 TBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HIV, PDL1 또는 HBV(특히, 인간 HBV)[예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)]로부터의 항원성 에피토프이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 HBHBcAg 캐리어 또는 HBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HIV, PDL1 또는 HBV(특히, 인간 HBV) [예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)]로부터의 항원성 에피토프이거나, 이들을 포함한다.

[0091] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 HBV의 HBsAg 단백질, 또는 상기 HBsAg 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, HBV는 HBV 유전자형 A, B, C 및 D로부터 선택된다. 바람직한 양태에서, HBsAg 단백질의 에피토프는 HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산이다.

[0092] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HIV GP120 단백질, 또는 상기 GP120 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산이거나, 이를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질, 또는 인간 PD-L1 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산이거나, 이를 포함한다.

[0093] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20-22 및 60-62로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 핵산분자는 서열번호 23-40, 69-74 및 90-96으로부터 선택된 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 것이다.

[0094] 다른 측면에서, 본 발명은 상기 정의된 본 발명의 핵산분자를 포함하는 벡터에 관한 것이다.

[0095] 타겟 폴리뉴클레오티드(예를 들어, 본 발명의 핵산분자)의 삽입을 위한 벡터는 당업계에서 주지되어 있으며, 클로닝 벡터 및 발현 벡터를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 벡터는 진핵세포 발현벡터 또는 원핵세포 발현벡터일 수 있다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 벡터는, 예를 들어, 플라스미드, 코스미드(cosmid) 또는 파지(phage) 등이다.

[0096] 다른 측면에서, 본 발명은 또한 핵산분자 또는 벡터를 포함하는 숙주세포에 관한 것이다. 이러한 숙주세포는 대장균(*E. coli*) 세포와 같은 원핵세포, 효모세포, 곤충세포, 식물세포 및 동물세포(예를 들어, 마우스 세포, 인간세포 등을 비롯한 포유동물 세포)와 같은 진핵세포를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명의 숙주세포는 293T 세포와 같은 세포주일 수 있다.

[0097] 다른 측면에서, 본 발명은 타겟 폴리펩티드를 제시하는 방법에 관한 것으로, 다음의 단계를 포함한다:

[0098] (1) 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 본 발명의 핵산분자(특히, 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열)에 삽입하여, 재조합 단백질을 암호화하는 핵산분자를 수득하는 단계; 및

[0099] (2) 상기 단계 (1)의 재조합 단백질을 암호화하는 핵산분자를 발현시켜 재조합 단백질을 생산하는 단계.

[0100] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 폴리펩티드 캐리어에 대해 이중이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 결실되는 하나 이상의 아미노산 잔기(예, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기, 및 HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기)를 암호화하는 뉴클레오티드의 위치에 삽입되거나, 또는 링커를 암호화하는 뉴클레오티드 서열 또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 삽입된다. 바람직한 양태에서, 인-프레임 방식으로, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열에 삽입된다. 바람직한 양태에서, 제한효소 절단 부위에 의해, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열에 삽입된다.

[0101] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 항원, 또는 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 에피토프 펩티드, 예를 들어, HIV, PDL1 또는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다.

[0102] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는, 인간 HBV의 HBsAg, 또는 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 RBHBcAg 캐리어 또는 RBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HIV, PDL1 또는 HBV(특히, 인간 HBV), 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)로부터의 항원성 에피토프이거나, 이들을 포함한다.

바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 TBHBcAg 캐리어 또는 TBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HIV, PDL1 또는 HBV (특히, 인간 HBV), 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)로부터의 항원성 에피토프이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 HBHBcAg 캐리어 또는 HBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HIV, PDL1 또는 HBV (특히, 인간 HBV), 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)로부터의 항원성 에피토프이거나, 이들을 포함한다.

[0103] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 HBV의 HBsAg 단백질, 또는 상기 HBsAg 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, HBV는 HBV 유전자형 A, B, C 및 D로부터 선택된다. 바람직한 양태에서, HBsAg 단백질의 에피토프는 HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산이다.

[0104] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HIV GP120 단백질, 또는 상기 GP120 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산이거나, 이를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질, 또는 인간 PD-L1 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산이거나, 이를 포함한다.

[0105] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20-22 및 60-62로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질을 암호화하는 핵산분자는 서열번호 23-40, 69-74 및 90-96으로부터 선택된 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하거나, 이들로 이루어진 것이다.

[0106] 다른 측면에서, 본 발명은 폴리펩티드 캐리어 및 타겟 폴리펩티드를 포함하는, 재조합 단백질에 관한 것으로, 타겟 폴리펩티드 캐리어는 상기 정의된 바와 동일한 의미를 가지며, 타겟 폴리펩티드는 폴리펩티드 캐리어에 삽입된다.

[0107] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 결실되는 하나 이상의 아미노산 잔기(예, RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기, TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기, 및 HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기)의 위치에 삽입되거나, 또는 링커 또는 이의 말단들 중 한 말단 또는 양 말단에 삽입된다.

[0108] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 항원, 또는 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 에피토프 펩티드, 예를 들어, HIV, PDL1 또는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 HBV의 HBsAg, 또는 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다.

[0109] 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 RBHBcAg 캐리어 또는 RBHBcAg-T 캐리어고, 에피토프 펩티드는 HIV, PDL1 또는 HBV(특히, 인간 HBV), 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)로부터의 항원성 에피토프이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 TBHBcAg 캐리어 또는 TBHBcAg-T 캐리어고, 에피토프 펩티드는 HIV, PDL1 또는 HBV(특히, 인간 HBV), 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)로부터의 항원성 에피토프이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 HBHBcAg 캐리어 또는 HBHBcAg-T 캐리어고, 에피토프 펩티드는 HIV, PDL1 또는 HBV(특히, 인간 HBV), 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)로부터의 항원성 에피토프이거나, 이들을 포함한다.

[0110] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 HBV의 HBsAg 단백질, 또는 상기 HBsAg 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, HBV는 HBV 유전자형 A, B, C 및 D로부터 선택된다. 바람직한 양태에서, HBsAg 단백질의 에피토프는 HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산이다.

[0111] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HIV GP120 단백질, 또는 GP120 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산이거나, 이를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질, 또는 인간 PD-L1 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산이거나, 이

를 포함한다.

- [0112] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20-22 및 60-62로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 서열번호 4-9 및 75-80으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질은 서열번호 23-40, 69-74, 및 90-96으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 이루어진 것이다.
- [0113] 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 재조합 단백질로 이루어지거나, 이를 포함하는 바이러스-유사 입자에 관한 것이다.
- [0114] 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 재조합 단백질 또는 본 발명의 바이러스-유사 입자를 포함하고, 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 비히클(vehicle) 또는 부형제(excipient)[예를 들어, 보조제(adjuvant)]를 포함하거나 포함하지 않는, 약제학적 조성물 (예, 백신)에 관한 것이다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 재조합 단백질 또는 본 발명의 바이러스-유사 입자는 약제학적 조성물에 유효량으로 존재한다. 예를 들어, 본 발명의 약제학적 조성물은 HBV 감염 또는 HBV 감염에 관련된 질병(예: B형 간염)의 예방 또는 치료에 유효한 양으로 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자를 포함할 수 있다.
- [0115] 다른 측면에서, 본 발명은 HBV 감염 또는 HBV 감염에 관련된 질병(예: B형 간염)을 예방 또는 치료하는 방법에 관한 것으로, 이를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 타겟 폴리펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 HBV의 HBsAg, 또는 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다.
- [0116] 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 RBHBcAg 캐리어 또는 RBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프, 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 TBHBcAg 캐리어 또는 TBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프, 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프 (예, 선형 에피토프)거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 HBHBcAg 캐리어 또는 HBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프, 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)이거나, 이들을 포함한다.
- [0117] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 HBV의 HBsAg 단백질, 또는 상기 HBsAg 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, HBV는 HBV 유전자형 A, B, C 및 D로부터 선택된다. 바람직한 양태에서, HBsAg 단백질의 에피토프는 HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산이다.
- [0118] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 22 및 60-62로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질은 서열번호 35-40, 69-74, 및 90-96으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 이루어진 것이다.
- [0119] 바람직한 양태에서, 본 발명의 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자 또는 약제학적 조성물은 HBV 감염 또는 HBV 감염에 관련된 질병(예를 들어, B형 간염)의 예방 또는 치료에 효과적인 양으로 투여된다.
- [0120] 다른 측면에서, 본 발명은 HBV 감염 또는 HBV 감염에 관련된 질병(예를 들어, B형 간염)을 예방하거나 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서, 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자의 용도에 관한 것으로, 타겟 폴리펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 HBV의 HBsAg, 또는 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다.
- [0121] 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 RBHBcAg 캐리어 또는 RBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프, 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)이거나 또는 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 TBHBcAg 캐리어 또는 TBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프, 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 HBHBcAg 캐리어 또는 HBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원

성 에피토프, 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)이거나, 이들을 포함한다.

- [0122] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 HBV의 HBsAg 단백질, 또는 HBsAg 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, HBV는 HBV 유전자형 A, B, C 및 D로부터 선택된다. 바람직한 양태에서, HBsAg 단백질의 에피토프는 HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산이다.
- [0123] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 22 및 60-62로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질은 서열번호 35-40, 69-74, 및 90-96으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 이루어진 것이다.
- [0124] 다른 측면에서, 본 발명은 HBV 감염 또는 HBV 감염에 관련된 질병(예를 들어, B형 간염)의 예방 또는 치료를 위한, 본 발명의 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자 또는 약제학적 조성물에 관한 것으로, 타겟 폴리펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 HBV의 HBsAg, 또는 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다.
- [0125] 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 RBHBcAg 캐리어 또는 RBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프, 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 TBHBcAg 캐리어 또는 TBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원 펩티드, 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)이거나, 이를 포함한다. 바람직한 양태에서, 폴리펩티드 캐리어는 HBHBcAg 캐리어 또는 HBHBcAg-T 캐리어이고, 에피토프 펩티드는 HBV(특히, 인간 HBV)로부터의 항원성 에피토프, 예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)이거나, 이들을 포함한다.
- [0126] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 HBV의 HBsAg 단백질, 또는 HBsAg 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다. 바람직한 양태에서, HBV는 HBV 유전자형 A, B, C 및 D로부터 선택된다. 바람직한 양태에서, HBsAg 단백질의 에피토프는 HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산이다.
- [0127] 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 22 및 60-62로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질은 서열번호 35-40, 69-74 및 90-96으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이들로 이루어진 것이다.
- [0128] 다른 측면에서, 본 발명은 HIV 감염 또는 HIV 감염에 관련된 질병(예를 들어, AIDS)을 예방하거나 치료하는 방법에 관한 것으로, 이를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 타겟 폴리펩티드는 HIV의 항원성 에피토프를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HIV로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HIV GP120 단백질, 또는 GP120 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프이거나, 이들을 포함한다.
- [0129] 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산을 포함하거나, 이로 이루어진 것이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20으로 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질은 서열번호 23-28로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 것이다.
- [0130] 바람직한 양태에서, 본 발명의 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자 또는 약제학적 조성물은 HIV 감염 또는 HIV 감염에 관련된 질병(예를 들어, AIDS)의 예방 또는 치료에 효과적인 양으로 투여된다.
- [0131] 다른 측면에서, 본 발명은 HIV 감염 또는 HIV 감염에 관련된 질병(예를 들어, AIDS)을 예방하거나 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서, 본 발명의 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자의 용도에 관한 것으로, 타겟 폴리펩티드는 HIV로부터의 항원성 에피토프를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HIV로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HIV GP120 단백질, 또는 GP120 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드로부터 선택되거나, 이들을 포함한다.

- [0132] 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산을 포함하거나, 이로 이루어진 것이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20으로 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질은 서열번호 23-28로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 것이다.
- [0133] 다른 측면에서, 본 발명은 HIV 감염 또는 HIV 감염에 관련된 질병(예를 들어, AIDS)의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 본 발명의 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자 또는 약제학적 조성물에 관한 것으로, 타겟 폴리펩티드는 HIV로부터의 항원성 에피토프를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HIV로부터의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 HIV GP120 단백질, 또는 GP120 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다.
- [0134] 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산을 포함하거나, 이로 이루어진 것이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20으로 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질은 서열번호 23-28로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 것이다.
- [0135] 다른 측면에서, 본 발명은 암(예를 들어, 비-소세포 폐암(non-small cell lung cancer))을 예방하거나 치료하는 방법에 관한 것으로, 이를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1의 항원성 에피토프를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질, 또는 인간 PD-L1 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다.
- [0136] 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산을 포함하거나, 이로 이루어진 것이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 21로 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질은 서열번호 29-34로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 것이다.
- [0137] 바람직한 양태에서, 본 발명의 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자 또는 약제학적 조성물은 암(예를 들어, 비-소세포 폐암(non-small cell lung cancer))의 예방 또는 치료에 효과적인 양으로 투여된다.
- [0138] 다른 측면에서, 본 발명은 암(예를 들어, 비-소세포 폐암)을 예방 또는 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서, 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자의 용도에 관한 것으로, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 항원성 에피토프를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질, 또는 인간 PD-L1 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다.
- [0139] 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산이거나, 이를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 21로 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질은 서열번호 29-34로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 것이다.
- [0140] 다른 측면에서, 본 발명은 암(예를 들어, 비-소세포 폐암)의 예방 또는 치료에 이용하기 위한, 재조합 단백질 또는 바이러스-유사 입자 또는 약제학적 조성물에 관한 것으로, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 항원성 에피토프를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 항원성 에피토프를 포함하는 에피토프 펩티드이다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 인간 PD-L1 단백질, 또는 인간 PD-L1 단백질의 에피토프(예를 들어, 선형 에피토프)를 포함하는 에피토프 펩티드이거나, 이들을 포함한다.
- [0141] 바람직한 양태에서, 에피토프 펩티드는 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산이거나, 이를 포함한다. 바람직한 양태에서, 타겟 폴리펩티드는 서열번호 21로 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 바람직한 양태에서, 재조합 단백질은 서열번호 29-34로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 것이다.
- [0142] 다른 측면에서, 본 발명은 재조합 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 및 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터에 관한 것이다.
- [0143] 타겟 폴리뉴클레오티드의 삽입을 위한 벡터(예를 들어, 본 발명의 핵산분자)는 당업계에 주지되어 있으며, 클로닝 벡터 및 발현 벡터를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 벡터는 진핵세포 발현벡터 또는 원핵세포 발현벡터일 수 있다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 벡터는, 예를 들어, 플라스미드, 코스미드(cosmid) 또는 파지(phage) 등이다.
- [0144] 다른 측면에서, 본 발명은 또한 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 포함하는 숙주세포에 관한 것이다. 이러한 숙주

세포는 대장균 세포와 같은 원핵세포, 효모세포, 곤충세포, 식물세포 및 동물세포(예를 들어, 마우스세포, 인간 세포 등을 비롯한 포유동물 세포)와 같은 진핵세포를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명의 숙주세포는 293T 세포와 같은 세포주일 수 있다.

[0145] 다른 측면에서, 본 발명은 또한 재조합 단백질의 제조방법에 관한 것으로, 재조합 단백질의 발현 및 재조합 단백질의 회수에 적합한 조건하에 본 발명의 숙주세포를 배양하는 단계를 포함한다.

[0146] **본 발명의 관련 용어에 대한 정의 및 설명**

[0147] 본 발명에서, 달리 명시하지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 과학적 및 기술적 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 의미를 갖는다. 또한, 본원에서 사용된 세포배양, 분자 유전학, 핵산 화학 및 면역학의 실험실 운영 단계(laboratory operating step)는 해당 분야에서 널리 사용되는 통상적인 단계이다. 또한, 본 발명의 보다 나은 이해를 위해, 관련 용어의 정의 및 설명이 다음과 같이 제공된다.

[0148] 본 명세서에서 사용된, 용어 "라운드리프 박쥐 HBV 코어 항원(roundleaf bat HBV core antigen, RBHBcAg) 단백질" 및 "RBHBcAg 단백질"은 라운드리프 박쥐 HBV(roundleaf bat HBV, RBHBV)로부터의 코어 항원 단백질을 의미하며, 이는 당업자에게 주지되어 있다 (예를 들어, NCBI GENBANK 수탁번호: KC790373.1을 참조).

[0149] 본원에 이용된 바와 같이, RBHBcAg 단백질의 아미노산 서열이 언급되는 경우, 이는 서열번호 1로 제시된 서열을 참조하여 기술된다. 예를 들어, "RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기"라는 표현은, 서열번호 1에 제시된 폴리펩티드 세트의 78-83 위치의 아미노산 잔기를 의미한다. 그러나, 당업자는 돌연변이 또는 변이체[치환, 결실 및/또는 첨가, 예를 들어, 상이한 유전자형 또는 유전자 아형(subtype)의 RBHBcAg 단백질을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아님]가 이의 생물학적 특성에 영향을 주지 않으면서 RBHBcAg 단백질의 아미노산 서열에 자연적으로 발생할 수 있거나, 또는 인위적으로 도입될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 그러므로, 본 발명에서, 용어 "RBHBcAg 단백질"은 서열번호 1에 제시된 서열 및 이의 자연 또는 인공 변이체를 포함하는, 이러한 서열을 모두 포함하고자 한다. 또한, RBHBcAg 단백질의 서열 단편이 기술되는 경우에, 이들은 서열번호 1의 서열 단편 뿐만 아니라, 이의 자연 또는 인공 변이체의 대응하는 서열 단편도 또한 포함한다. 예를 들어, "RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기"라는 표현은 서열번호 1의 78-83 위치의 아미노산 잔기 및 이의 변이체 (자연 또는 인공 변이체)의 대응하는 단편을 포함한다. 본 발명에 따르면, "대응하는 서열 단편" 또는 "대응하는 단편"이라는 표현은 서열이 최적으로 정렬되는 경우, 즉, 서열이 정렬되어 가장 높은 백분율의 상동성을 획득하는 경우, 서열의 동일한 위치에 위치하는 단편을 의미한다.

[0150] 본 명세서에서 사용된 용어 "야생형 RBHBcAg"는 라운드리프 박쥐 HBV에서 자연적으로 발생한 코어 항원 단백질을 의미한다.

[0151] 본원에서 사용된, 용어 "RBHBcAg 캐리어" 및 "RBHBcAg-T 캐리어"는 RBHBcAg 단백질로부터 유래된 폴리펩티드 캐리어를 의미한다. 상기 상술된 바와 같이, RBHBcAg 캐리어와 RBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (a) RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실되거나 또는 링커로 치환됨; 및 (2) 1-40개의 아미노산 잔기가 RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실됨. RBHBcAg-T 캐리어와 RBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (a) RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실되거나 또는 링커로 치환됨; (b) RBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프로 각각 독립적으로 치환됨; 및 (c) 1-40개의 아미노산 잔기가 RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음.

[0152] 본원에서 이용된, 용어 "천막 박쥐 HBV 코어 항원(tent-making bat HBV core antigen, TBHBcAg)" 및 "TBHBcAg 단백질"은 천막 박쥐 HBV(tent-making bat HBV, TBHBV)로부터의 코어 항원 단백질을 의미하며, 이는 당업자에게 주지되어 있다(예를 들어, NCBI GENBANK 수탁번호: KC790378.1을 참조).

[0153] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, TBHBcAg 단백질의 아미노산 서열이 언급되는 경우에, 이는 서열번호 2에 제시된 서열을 참조하여 기술된다. 예를 들어, "TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기"라는 표현은, 서열번호 2에 제시된 폴리펩티드의 80-84 위치의 아미노산 잔기를 의미한다. 그러나, 당업자는 돌연변이 또는 변이체(치환, 결실 및/또는 첨가, 예를 들어, 상이한 유전자형 또는 유전자 아형의 TBHBcAg 단백질을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아님)가 이의 생물학적 특성에 영향을 주지 않으면서, TBHBcAg 단백질의 아미노산 서열에 자연적으로 발생할 수 있거나, 또는 인위적으로 도입될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 그러므로, 본 발

명에서, 용어 "TBHBcAg 단백질"은 서열번호 2에 제시된 서열 및 이의 자연 또는 인공 변이체를 포함하는, 이러한 서열을 모두 포함하고자 한다. 또한, TBHBcAg 단백질의 서열 단편이 기술되는 경우에, 서열번호 2의 서열 단편 뿐만 아니라, 이의 자연 또는 인공 변이체의 대응하는 서열 단편도 또한 포함한다. 예를 들어, "TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기"라는 표현은, 서열번호 2의 80-84 위치의 아미노산 잔기 및 이의 변이체(자연 또는 인공 변이체)의 대응하는 단편을 포함한다. 본 발명에 따르면, "대응하는 서열 단편" 또는 "대응하는 단편"이라는 표현은 서열이 최적으로 정렬되는 경우, 즉, 서열이 정렬되어 가장 높은 백분율의 상동성을 획득하는 경우에, 서열의 동일한 위치에 위치하는 단편을 의미한다.

[0154] 본 명세서에서 사용된 용어 "야생형 TBHBcAg"는 천막 박쥐 HBV에서 자연적으로 발생한 코어 항원 단백질을 의미한다.

[0155] 본 명세서에서 사용된, 용어 "TBHBcAg 캐리어" 및 "TBHBcAg-T 캐리어"는 TBHBcAg 단백질로부터 유래된 폴리펩티드 캐리어를 의미한다. 상기 상술한 바와 같이, TBHBcAg 캐리어와 TBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (a) TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실되거나 또는 링커로 치환됨; 및 (b) 1-35개의 아미노산 잔기가 TBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음. TBHBcAg-T 캐리어와 TBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (a) TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 80-84 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실되거나 또는 링커로 치환됨; (b) TBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 54-73 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 124-144 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프로 각각 독립적으로 치환됨; 및 (c) 1-35개의 아미노산 잔기가 TBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 결실되지 않음.

[0156] 본 명세서에서 사용된, 용어 "관 박쥐 HBV 코어 항원(horseshoe bat HBV core antigen, HBHBcAg)" 및 "HBHBcAg 단백질"은 관 박쥐 HBV (horseshoe bat HBV, HBHBV)로부터 유래된 코어 항원 단백질을 의미하며, 이는 당업자에게 주지되어 있다 (예를 들어, NCBI GENBANK 수탁번호: KC790377.1을 참조).

[0157] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, HBHBcAg 단백질의 아미노산 서열이 언급되는 경우에, 이는 서열번호 3에 제시된 서열을 참조하여 기술된다. 예를 들어, "HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기"라는 표현은, 서열번호 3에 제시된 폴리펩티드의 78-83 위치의 아미노산 잔기를 의미한다. 그러나, 당업자는 돌연변이 또는 변이체(치환, 결실 및/또는 첨가, 예를 들어, 상이한 유전자형 또는 유전자 아형의 HBHBcAg 단백질을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아님)가 이의 생물학적 특성에 영향을 주지 않으면서, HBHBcAg 단백질의 아미노산 서열에 자연적으로 발생할 수 있거나, 또는 인위적으로 도입될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 그러므로, 본 발명에서, 용어 "HBHBcAg 단백질"은 서열번호 3으로 제시된 서열 및 이의 자연 또는 인공 변이체를 포함하는, 이러한 서열을 모두 포함하고자 한다. 또한, HBHBcAg 단백질의 서열 단편이 기술되는 경우, 이들은 서열번호 3의 서열 단편 뿐만 아니라, 이의 자연 또는 인공 변이체의 대응하는 서열 단편도 또한 포함한다. 예를 들어, "HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기"라는 표현은 서열번호 3의 78-83 위치의 아미노산 잔기 및 이의 변이체(자연 또는 인공 변이체)의 대응하는 단편을 포함한다. 본 발명에 따르면, "대응하는 서열 단편" 또는 "대응하는 단편"이라는 표현은 서열이 최적으로 정렬되는 경우, 즉, 서열이 정렬되어 가장 높은 백분율의 상동성을 획득하는 경우에, 서열의 동일한 위치에 위치하는 단편을 의미한다.

[0158] 본 명세서에서 사용된, 용어 "야생형 HBHBcAg"는 관 박쥐 HBV에서 자연적으로 발생한 코어 항원 단백질을 의미한다.

[0159] 본 명세서에서 사용된, 용어 "HBHBcAg 캐리어" 및 "HBHBcAg-T 캐리어"는 HBHBcAg 단백질로부터 유래된 폴리펩티드 캐리어를 의미한다. 상기 상술한 바와 같이, HBHBcAg 캐리어와 HBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (a) HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실되거나 링커로 치환됨; 및 (b) 1-40개의 아미노산 잔기가 HBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음. HBHBcAg-T 캐리어와 HBHBcAg 단백질 사이의 차이점은 다음을 포함한다: (a) HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 78-83 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실되거나 또는 링커로 치환됨; (b) HBHBcAg 단백질의 N-말단에서 18-27 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기, 50-69 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기 및/또는 120-140 위치의 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 잔기는 인간 T 세포 에피토프로 각각 독립적으로 치환됨; 및 (c) 1-40개의 아미노산 잔기가 HBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실되거나 또는 결실되지 않음.

[0160] 본 명세서에서 사용된, 용어 "인간 HBV HBcAg" 및 "Hu-HBcAg"는 인간 B형 간염 바이러스의 코어 항원 단백질을

의미하며, 이는 당업자에게 주지되어 있다(예를 들어, NCBI GENBANK 수탁번호: AA063517.1 참조). 본원에서 이용된 바와 같이, 인간 HBV HBcAg의 아미노산 서열이 언급되는 경우에, 이는 NCBI GENBACK 수탁번호 AA063517.1에 제시된 서열에 의해 기술된다.

[0161] 본 명세서에서 사용된, 용어 "인간 HBV HBsAg" 및 "Hu-HBsAg"는 인간 B형 간염 바이러스의 표면 항원 단백질을 의미하며, 이는 당업자에게 주지되어 있다(예를 들어, NCBI GENBANK 수탁번호: AAF24729.1을 참조).

[0162] 본 명세서 사용된 바와 같이, 인간 HBV HBsAg의 아미노산 서열이 언급되는 경우에, 이는 서열번호 44(즉, NCBI GENBANK 수탁번호: AAF24729.1)에 제시된 서열 세트를 참조로 기술된다. 예를 들어, "HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산 잔기"라는 표현은, 서열번호 44에 제시된 폴리펩티드의 113-135 위치의 아미노산 잔기를 의미한다. 그러나, 당업자는 돌연변이 또는 변이체(치환, 결실 및/또는 첨가, 예를 들어, 상이한 유전자형 또는 유전자 아형의 HBsAg 단백질을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아님)가 이의 생물학적 특성에 영향을 주지 않으면서 HBsAg 단백질의 아미노산 서열에 자연적으로 발생하거나 또는 인위적으로 도입될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 그러므로, 본 발명에서, 용어 "HBsAg 단백질"은 서열번호 44에 제시된 서열 및 이의 자연 또는 인공 변이체를 포함하는 이러한 서열을 모두 포함하고자 한다. 또한, HBsAg 단백질의 서열 단편이 기술되는 경우에, 이들은 서열번호 44의 서열 단편 뿐만 아니라, 이의 자연 또는 인공 변이체의 대응하는 서열 단편도 또한 포함한다. 예를 들어, "HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산 잔기"라는 표현은, 서열번호 44의 113-135 위치의 아미노산 잔기 및 이의 변이체(자연 또는 인공 변이체)의 대응하는 단편을 포함한다. 본 발명에 따르면, "대응하는 서열 단편" 또는 "대응하는 단편"이라는 표현은 서열이 최적으로 정렬되는 경우, 즉, 서열이 정렬되어 가장 높은 백분율의 상동성을 획득하는 경우에, 서열의 동일한 위치에 위치하는 단편을 의미한다.

[0163] 본 명세서에서 사용된, "X 단백질의 C-말단에서 결실된 Y 아미노산 잔기"라는 표현은, X 단백질의 C-말단에서 마지막 Y 아미노산 잔기가 완전히 결실되었음을 의미한다. 예를 들어, "RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 결실된 1-40개의 아미노산 잔기"라는 표현은 RBHBcAg 단백질의 C-말단에서 마지막 1-40개의 아미노산 잔기가 완전히 결실되었음을 의미한다.

[0164] 본 명세서에서 사용된, 용어 "상동성(identity)"은, 두 폴리펩티드 사이 또는 두 핵산 사이의 일치 정도(match degree)를 의미한다. 비교 대상인 두 서열이 특정 부위(site)에서 동일한 염기 또는 아미노산 단량체 서브-유닛(amino acid monomer sub-unit)을 갖는 경우에(예를 들어, 두 DNA 분자 각각은 특정 부위에 아데닌을 갖거나, 두 폴리펩티드 각각은 특정 부위에 리신을 갖는다), 두 분자는 그 부위에서 동일한 것이다. 두 서열 사이의 퍼센트 상동성(percent identity)은 "(두 서열이 공유하는 동일한 부위의 수)/(비교 대상인 부위(site)의 전체 수) × 100"의 함수이다. 예를 들어, 두 서열의 10개 부위 중 6개가 일치한다면, 이들 두 서열은 60%의 상동성을 갖는다. 예를 들어, DNA 서열 CTGACT와 CAGGTT는 50%의 상동성을 공유한다(6개 부위 중 3개 부위가 일치함). 일반적으로, 두 서열 비교는 최대 상동성을 생성하는 방식으로 수행된다. 이러한 정렬은 Needleman 등의 방법(J. Mol. Biol. 48 : 443-453, 1970)에 기초한 정렬 프로그램(DNASTAR, Inc.)과 같은 컴퓨터 프로그램을 사용함으로써 수행될 수 있다. 두 아미노산 서열 사이의 퍼센트 상동성은 PAM 120 가중치 잔기 표(weight residue table), 갭 길이 페널티(gap length penalty) 12 및 갭 페널티(gap penalty) 4를 이용한, ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 통합된 E. Meyers 및 W. Miller의 알고리즘(Comput. Appl. Biosci., 4 : 11-17 (1988))을 이용하여 측정될 수 있다. 또한, 두 아미노산 서열 사이의 상동성의 백분율은 Blossum 62 행렬 또는 PAM250 행렬 중 하나와 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 이용한, GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램 (<http://www.gcg.com>에서 입수 가능함)에 통합된 Needleman과 Wunsch의 알고리즘(J. Mol. Biol. 48 : 444-453 (1970))에 의해 측정될 수 있다.

[0165] 본 명세서에서 사용된, 용어 "보존적 치환(conservative substitution)"은 아미노산 서열을 포함하는 단백질 또는 폴리펩티드의 생물학적 활성에 불리하게 영향을 주거나 이를 변화시키지 않는 아미노산 치환을 의미한다. 예를 들어, 보존적 치환은 부위-지정 돌연변이 유발(site-directed mutagenesis) 및 PCR-매개 돌연변이 유발(PCR-mediated mutagenesis)과 같은 당해 분야에 공지된 표준 기술에 의해 도입될 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄(side chain)를 갖는 다른 아미노산 잔기, 예를 들어, 대응하는 아미노산 잔기와 물리적 또는 기능적으로 유사한 잔기(유사한 크기, 형태, 전하, 공유 결합 또는 수소 결합을 형성하는 능력을 포함하는 화학적 특성 등을 갖는 잔기를 비롯함)로 치환되는, 치환을 포함한다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리가 당업계에 정의되어 있다. 이들 패밀리는 알칼리성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 리신, 아르기닌 및 히스티딘), 산성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 아스파르트산 및 글루탐산), 전하를 띠지 않는 극성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알

라닌, 메티오닌), β-분지 측쇄 (β-branched side chain)를 갖는 아미노산(예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)을 포함한다. 그러므로, 대응하는 아미노산 잔기는 바람직하게는 동일한 측쇄 패밀리의 다른 아미노산 잔기로 치환된다. 아미노산의 보존적 치환을 확인하는 방법은 당업계에 주지되어 있다(예를 들어, 본 명세서에 참고로 포함된, Brummell et al., *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al., *Protein Eng.* 12(10): 879-884 (1999); 및 Burks et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 412-417 (1997)을 참고).

[0166] 본 명세서에서 사용된, 용어 "혼성화"는 특정 조건(예를 들어, 적절한 온도, 이온 세기 등) 하에서 상보적인 염기가 쌍을 이루는 원리에 기초하여, 상보적인 서열을 갖는 2개의 단일 가닥 핵산분자를 어닐링함으로써 이중 가닥 핵산을 형성하는 공정을 의미한다. 핵산 혼성화는 DNA-DNA 사이뿐만 아니라, DNA-RNA 또는 RNA-RNA 사이 이들이 염기쌍 형성을 위한 상보적인 서열을 갖는 한 - 에서도 또한 발생할 수 있다. 핵산 혼성화의 보다 상세한 설명에 대해서는, 예를 들어, Henegariu O et al., (1999) "Custom fluorescent-nucleotide synthesis as an alternative method for nucleic acid labeling", *Nature Biotechnology* 18:345-348; Ezaki T et al., 1989. Fluorometric Deoxyribonucleic Acid-Deoxyribonucleic Acid Hybridization in Microdilution Wells as an Alternative to Membrane Filter Hybridization in which Radioisotopes Are Used to Determine Genetic Relatedness among Bacterial Strains. *Int. J. of Systemic Bacteriology* 29 (3): 224-229; 및 Herrington C et al., 1998. PCR 3: PCR in situ hybridization: a practical approach, Volume 3. Oxford: Oxford University Press를 참고하길 바란다.

[0167] 핵산 혼성화의 특이성(specificity)을 보장하기 위해, 엄격한 조건 또는 고도의 엄격한 조건이 일반적으로 사용된다. 엄격한 조건 및 고도의 엄격한 조건은 분자생물학 분야에서 주지되어 있다. 예를 들어, 엄격한 조건은 약 45°C에서, 6 × 염화나트륨/시트르산 나트륨 (SSC)에서 혼성화한 다음, 0.2 × SSC / 0.1 % SDS에서, 약 50-65 °C에서 1회 이상 세척하는 것을 의미할 수 있다. 고도의 엄격한 조건은 약 45°C에서, 6 × SSC에서 혼성화한 다음, 0.1×SSC / 0.2 % SDS에서, 약 68°C에서 1회 이상 세척하는 것을 의미할 수 있다. 당업자에게 공지된 다른 엄격한 조건 또는 고도의 엄격한 조건에 관하여, 예를 들어, Ausubel, F.M. et al. (ed.), 1989, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1, Green Publishing Associates, Inc., and John Wiley & Sons, Inc., New York, pages 6.3.1-6.3.6 and 2.10.3을 참고하기 바란다.

[0168] 본원에서 사용된, 용어 "링커"는 2개의 분자(예를 들어, 단백질)를 연결하기 위한 짧은 펩티드를 의미한다. 이러한 링커는 당업자에게 주지되어 있으며, (Gly)<sub>4</sub>, (Gly)<sub>4</sub>-Ser, 및 ((Gly)<sub>4</sub>-Ser)<sub>3</sub>과 같은 가요성 링커를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0169] 본 발명에서, 용어 "폴리펩티드" 및 "단백질"은 동일한 의미를 가지며, 상호 교환적으로 사용될 수 있다. 또한, 본 발명에서, 아미노산은 일반적으로 1-문자 코드(one-letter code) 및 3-문자 코드(three-letter code)로 표현된다. 예를 들어, 알라닌은 A 또는 Ala로 표현될 수 있다.

[0170] 본 명세서에서 사용된, 용어 "제한효소 절단 부위"는 제한효소에 의해 인식되는 효소 절단 부위를 의미한다. 이러한 제한효소 절단 부위는 당업자에게 주지되어 있고, EcoR I, BamH I, Hind II, Hind III, Hpa I, Hpa II, Mbo I, 및 Mbo II를 비롯한 제한효소에 의해 인식되는 효소 절단 부위를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0171] 본 명세서에서 사용된, 용어 "항원성 에피토프 (antigenic epitope)", "항원 에피토프(antigen epitope)" 및 "에피토프"는 면역 글로불린 또는 항체에 의해 특이적으로 결합되는 항원 상의 부분을 의미한다. "에피토프"는 당업계에서 "항원 결정기(antigenic determinant)"라고도 불린다. 에피토프 또는 항원 결정기는 일반적으로 아미노산, 탄수화물 또는 당류 측쇄와 같은 분자의 화학적 활성 표면 기(chemically active surface group)로 이루어지며, 일반적으로 특정한 3D 구조적 특징 및 특정한 전하 특징을 갖는다. 예를 들어, 에피토프는 일반적으로 이의 독특한 입체구조(conformation)에 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 인접 또는 비-인접 아미노산을 포함하는데, 이는 "선형" 또는 "입체구조적(conformational)"일 수 있다. 예를 들어, Epitope Mapping Protocols in *Methods in Molecular Biology*, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)를 참고한다. 선형 에피토프에서, 단백질과 상호작용 분자(예를 들어, 항체) 사이의 모든 상호작용 부위는 단백질의 1차 아미노산 서열을 따라 선형으로 존재한다. 입체구조 에피토프(conformational epitope)에서, 상호작용 부위는 단백질의 아미노산 잔기에 의해 서로 이격(spacing)되어 있다.

[0172] 본원에 이용된, 용어 "T 세포 에피토프"는 T 세포 수용체 (T cell receptor, TCR)가 인식하는 에피토프를 의미한다. 따라서, 인간 T 세포 에피토프는 인간 T 세포 수용체 (TCR)가 인식하는 에피토프를 의미한다. 당업자가 일반적으로 이해하는 대로, TCR은 일반적으로 입체구조 에피토프를 인식하지 못하나, 인접 아미노산 잔기로 이

루어진 선형 에피토프 (예, 약 10-20개의 아미노산으로 이루어진 소형 폴리펩티드)는 인식한다. 더욱이, 이러한 에피토프는 TCR이 이를 인식할 수 있도록, MHC 분자와의 결합이 필요하다. 따라서, MHC 분자 결합의 유형에 따라, 인간 T 세포 에피토프는 MHC 클래스 I 분자에 결합하는 MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프, 및 MHC 클래스 II 분자에 결합하는 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프로 분류될 수 있다. 본 내용에서, 예시적인 MHC I 제한 인간 T 세포 에피토프가 서열번호 87에 제시되어 있고 (Zhang H P, Yan H P, Zhang Y H, et al. Detection of antigen-epitope-specific cytotoxic T lymphocytes in patients with hepatitis B virus infection by enzyme linked immunospot assay[J]. Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine], 2009, 43(8): 690-694를 참고한다); 예시적 MHC II 제한 인간 T 세포 에피토프가 서열번호 88-89에 기재되어 있다 (J Immunol. 2000 Feb 1; 164(3):1625-33 and Proc. Nati. Acad. Sci. USA Vol. 85, pp. 1610-1614, March 1988을 참고한다). 그러나, 선형 에피토프가 공간적 구조(spatial structure), 배열(configuration) 및 입체구조(conformation)와 관계가 없기 때문에, 당업자가 다른 인간 T 세포 에피토프를 선택하여 본 발명을 또한 수행할 수 있다는 것을 용이하게 이해할 것이다. 본 발명은 특정한 인간 T 세포 에피토프에 한정되지 않는다.

[0173] 본 명세서에서 사용된, 용어 "HBsAg 에피토프"는 면역 글로불린 또는 항체에 의해 특이적으로 결합될 수 있는 HBsAg 상에 있는 부분을 의미한다. 인간 HBV의 HBsAg의 구조와 기능은 잘 연구되어 왔다. 또한, 많은 논문들이 인간 HBV의 HBsAg 상의 에피토프를 보고했다. 예를 들어, 국제특허공보 WO 제97/39029 A2호; 국제특허공보 WO 제85/04103 A1호; Xiaoxing Qiu 등의 The Journal of Immunology, 1996, Vol. 156, 3350-3356 페이지; 및 국제특허공보 WO 제2013/185558 A1호 등을 참고한다.

[0174] 본 명세서에서 사용된, 용어 "에피토프 펩티드"는 에피토프를 형성할 수 있거나, 또는 에피토프로서 작용할 수 있는 항원 상에 있는 펩티드 단편을 의미한다. 몇몇 조건들하에서, 에피토프 펩티드는 단독으로 에피토프에 대한 항체에 의해 특이적으로 인식/결합될 수 있다. 몇몇 다른 조건들하에서, 에피토프 펩티드는 폴리펩티드 캐리어에 용해되어, 에피토프 펩티드가 항체에 의해 특이적으로 인식되는 것을 용이하게 해야 한다. 에피토프 펩티드에 포함된 에피토프는 선형 에피토프 또는 입체구조 에피토프일 수 있다. 에피토프 펩티드가 선형 에피토프를 포함하는 경우에, 이는 항원 내 에피토프를 형성하는 인접 아미노산 분절(즉, 펩티드 단편)이거나, 또는 이를 포함할 수 있다. 에피토프 펩티드가 입체구조 에피토프를 포함하는 경우에, 이는 입체구조 에피토프에 포함된 모든 아미노산 잔기를 포함하는(covering) 인접 아미노산 분절(즉, 펩티드 단편)이거나, 또는 이를 포함할 수 있다. 본 발명의 일부 양태에서, 에피토프 펩티드는 바람직하게는, 길이가 500개 이하인 아미노산 잔기, 예를 들어, 길이가 400개 이하인 아미노산 잔기, 길이가 300개 이하인 아미노산 잔기, 길이가 200개 이하인 아미노산 잔기, 길이가 100개 이하인 아미노산 잔기, 길이가 90개 이하인 아미노산 잔기, 길이가 80개 이하인 아미노산 잔기, 길이가 70개 이하인 아미노산 잔기, 길이가 60개 이하인 아미노산 잔기, 길이가 50개 이하인 아미노산 잔기, 길이가 40개 이하인 아미노산 잔기, 길이가 30개 이하인 아미노산 잔기, 또는 길이가 25개 이하인 아미노산 잔기를 갖는다.

[0175] 본 명세서에서 사용된, 용어 "폴리펩티드 캐리어"는 에피토프 펩티드가 제시될 수 있어서, 항체 또는 면역계에 의해 인식될 수 있도록, 에피토프 펩티드의 캐리어로서 작용할 수 있는, 즉, 캐리어 내 특정 위치(예를 들어, 단백질 내, 또는 단백질의 C-말단 또는 N-말단)에 삽입된 에피토프 펩티드를 가질 수 있는, 이러한 캐리어 단백질을 의미한다. 이러한 캐리어 단백질은, 예를 들어, HPV L1 단백질 [에피토프 펩티드가 이 단백질의 130 내지 131 위치의 아미노산 사이 또는 이 단백질의 426 내지 427 위치의 아미노산 사이에 삽입될 수 있음; Slupetzky, K. et al., Chimeric papillomavirus-like particles expressing a foreign epitope on capsid surface loops[J]. J Gen Virol, 2001, 82: 2799-2804; Varsani, A. et al., Chimeric human papillomavirus type 16 (HPV-16) L1 particles presenting the common neutralizing epitope for the L2 minor capsid protein of HPV-6 and HPV-16[J]. J Virol, 2003, 77: 8386-8393을 참고], CRM197 단백질(에피토프 펩티드는 이 단백질의 N-말단 또는 C-말단 또는 이의 단편에 연결될 수 있음) 등을 포함하여, 이전의 논문에서 보고되었다. 상기 언급된 대로, 본 발명은 인간 B형 간염 바이러스(예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프)로부터의 항원성 에피토프를 포함하는, 에피토프 펩티드의 제시에 특히 적합한 타겟 폴리펩티드를 제시하기 위한 새로운 부류의 폴리펩티드 캐리어를 제공한다. 본 발명의 양태에서, 링커 [예를 들어, 가요성 또는 강성 링커(rigid linker)]는 에피토프 펩티드와 폴리펩티드 캐리어 사이에서 이용되어 이들의 접힘(folding)을 각각 촉진할 수 있다.

[0176] 본 명세서에서 사용된, 용어 "재조합 단백질"은 단지, 기술된 단백질이 자연 발생 단백질이 아니라는 것을 의미하며, 단백질을 생산하거나 수득하는 수단을 제한하려는 것은 아니다. 본 발명의 재조합 단백질은 유전 공학 방법 및 인공 합성 방법을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아닌 임의의 공지된 방법에 의해 생성될 수 있다.

- [0177] 본 명세서에서 사용된, 용어 "바이러스-유사 입자"는 바이러스 핵산을 포함하지 않고, 자가-복제될 수 없으나, 형태학적 및 구조적 측면에서 실제 비리온(virion)과 동일하거나 유사한 특정 바이러스의 하나 이상의 구조 단백질에 의해 형성된 중공 입자를 의미한다.
- [0178] 본 명세서에서 사용된, 용어 "약제학적으로 허용가능한 캐리어 및/또는 부형제"는 환자 및 활성 성분에 약리학적으로(pharmacologically) 및/또는 생리학적으로 거부반응을 일으키지 않는(compatible) 캐리어 및/또는 부형제를 의미하며, 이는 당업계에 주지되어 있고 (예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, Edited by Gennaro AR, 19th ed. Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1995를 참고), pH 조절제, 계면활성제, 보조제 및 이온 강도 강화제(ionic strength enhancer)를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, pH 조절제는 인산 완충액을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니고; 계면 활성제는 양이온성 계면활성제, 음이온성 계면활성제, 비-이온성 계면활성제(예를 들어, Tween-80)를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니며; 이온 강도 강화제는 NaCl을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0179] 본 명세서에서 사용된, 용어 "보조제(adjuvant)"는 항원과 함께 유기체에 전달되거나 또는 미리 유기체에 전달되는 경우에, 유기체에서 항원에 대한 면역 반응을 강화시킬 수 있거나, 면역 반응의 유형을 변화시킬 수 있는 비특이적인 면역 강화제(immunopotentiator)를 지칭한다. 다양한 보조제가 존재하며, 알루미늄 보조제(예를 들어, 수산화 알루미늄), 프로인트 보조제(Freund's adjuvants)(예를 들어, 프로인트 완전 보조제 및 프로인트 불완전 보조제), 코리네 박테리움 파뮴(*Corynebacterium parvum*), 리포폴리사카라이드, 사이토카인 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 프로인트 보조제는 현재 동물 실험에서 가장 통상적으로 사용되는 보조제이다. 수산화 알루미늄 보조제는 임상시험에서 보다 통상적으로 사용된다.
- [0180] 본 명세서에서 사용된, 용어 "대장균(*E. coli*) 발현 시스템"은 대장균(균주) 및 벡터로 이루어진 발현 시스템을 의미하며, 대장균(균주)는 시판중인 GI698, ER2566, BL21 (DE3), B834 (DE3), 및 BLR (DE3)을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0181] 본 명세서에서 사용된, 용어 "벡터"는 이 안에 삽입된 폴리뉴클레오티드를 가질 수 있는 핵산 비히클을 의미한다. 벡터가 이에 삽입된 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되는 단백질의 발현을 허용하는 경우에, 이 벡터를 발현 벡터라고 한다. 벡터는 숙주세포 내로의 형질전환(transformation), 형질도입(transduction) 또는 형질주입(transfection)에 의해, 숙주세포에서 발현되는 운반된 유전 물질 요소(genetic material element)를 가질 수 있다. 벡터는 당업자에게 주지되어 있으며, 플라스미드, 파지, 코스미드, 효모 인공 염색체(yeast artificial chromosome, YAC), 박테리아 인공 염색체(bacterial artificial chromosome, BAC) 또는 P1-유래 인공 염색체(P1-derived artificial chromosome, PAC)와 같은 인공 염색체;  $\lambda$  파지 또는 M13 파지와 같은 파지, 및 동물 바이러스를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 벡터로 사용될 수 있는 동물 바이러스는 레트로 바이러스(렌티바이러스(lentivirus) 포함), 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스(adeno-associated virus), 헤르페스 바이러스(단순 포진 바이러스(herpes simplex virus)를 비롯함), 수두 바이러스, 바쿨로 바이러스(baculovirus), 유두종 바이러스(papillomavirus) 및 파포마 바이러스(SV40을 비롯함)를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 벡터는 프로모터 서열, 전사 개시 서열, 인핸서 서열(enhancer sequence), 선택 인자(selection element) 및 리포터 유전자를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아닌, 발현 조절을 위한 다수의 인자(multiple element)들을 포함할 수 있다. 또한, 벡터는 복제 개시점을 포함할 수 있다.
- [0182] 본 명세서에서 사용된, 용어 "숙주세포"는 벡터가 도입될 수 있는 세포를 의미하며, 대장균 또는 *바실러스 서브틸리스*(*Bacillus subtilis*)와 같은 원핵세포, 효모 세포 또는 *아스페르길루스*(*Aspergillus*)와 같은 곰팡이 세포, S2 초파리(*Drosophila*) 세포 또는 Sf9와 같은 곤충 세포, 및 섬유아세포, CHO 세포, COS 세포, NSO 세포, HeLa 세포, BHK 세포, HEK 293 세포 또는 인간 세포와 같은 동물 세포를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0183] 본 명세서에서 사용된, 용어 "환자"는 포유동물, 예를 들어, 인간과 같은 영장류 포유동물을 의미한다.
- [0184] 본 명세서에서 사용된, 용어 "유효량"은 목적하는 효과를 달성하거나 또는 적어도 부분적으로 달성하기에 충분한 양을 의미한다. 예를 들어, 질병을 예방하기 위한 유효량(예를 들어, HBV 감염 또는 HBV 감염에 관련된 질병)은 질병(예를 들어, HBV 감염, 또는 HBV 감염에 관련된 질병)의 진행의 발달을 예방, 억제 또는 지연시키기에 충분한 양을 의미하며; 치료학적 유효량은 질병을 앓는 환자에서 질병 및 이의 합병증의 치료 또는 적어도 부분적인 억제에 충분한 양을 의미한다. 이러한 유효량의 결정은 전적으로 당업자의 능력 내에 있다. 예를 들어, 치료 용도에 효과적인 양은 치료하고자 하는 질병의 중증도, 환자의 면역계의 일반적 상태, 나이, 체중 및

성별을 비롯한 환자의 일반적인 조건, 약물의 투여 경로, 동시에 사용되는 추가의 치료 등에 달려있다.

**[발명의 효과]**

본 발명의 기술적 해결안은 종래 기술에 비해 다음과 같은 유익한 효과를 갖는다:

(1) 본 발명은 광범위한 성이용 가능성을 지니고, 다양한 타겟 폴리펩티드(예를 들어, 항원성 에피토프/항원 펩티드 단편)의 효율적 제시에 이용될 수 있고, 숙주에서 타겟 폴리펩티드에 대한 특이적 면역 반응의 발생을 유도하는 새로운 폴리펩티드 캐리어를 제공한다. 이러한 타겟 폴리펩티드(예를 들어, 항원성 에피토프/항원 펩티드 단편)는 HIV로부터의 항원성 에피토프/항원 펩티드 단편(예를 들어, HIV GP120 단백질로부터의 항원성 에피토프/항원 펩티드 단편; 예를 들어, GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산을 포함하는 폴리펩티드), 인간 PD-L1 단백질로부터의 항원성 에피토프/항원 펩티드 단편(예를 들어, 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산을 포함하는 폴리펩티드), 및 인간 HBV로부터의 항원성 에피토프/항원 펩티드 단편(예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg 단백질의 항원성 에피토프/항원 펩티드 단편; 예를 들어, HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산을 포함하는 폴리펩티드)을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

(2) 본 발명의 폴리펩티드 캐리어는 인간 B형 간염 바이러스로부터의 항원 에피토프(예를 들어, 인간 HBV로부터의 HBsAg 내 에피토프)의 제시에 특히 적합하고, 기존의 B형 간염 백신(예를 들어, 동일한 에피토프를 포함하고, 인간 HBV의 HBcAg를 폴리펩티드 캐리어로 사용하여 제작된 백신)의 효능보다 현저하게 우수한 효능으로, 환자에서 HBsAg를 제거하는 매우 강력하고 특이적인 면역 반응을 유도할 수 있다.

(3) 본 발명에 따른 인간 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어는 인체에서 강화된 면역반응, 예를 들어, 인간 면역세포에 의한 IFN  $\gamma$  의 분비 촉진을 유도할 수 있으므로, 특히 이롭다.

본 발명의 양태는 다음의 도면 및 실시예를 참조하여 상세히 설명된다. 그러나, 당업자는 다음의 도면 및 실시예가 본 발명의 보호 범위를 제한하기보다, 본 발명을 설명하기 위한 목적으로만 사용된다는 것을 이해할 것이다. 다음의 도면 및 바람직한 양태의 상세한 설명에 따라, 본 발명의 다양한 목적 및 유리한 측면이 당업자에게 자명할 것이다.

**도면의 간단한 설명**

도 1은 재조합 단백질이 본 발명의 RBHBcAg 캐리어, TBHBcAg 캐리어 및 HBHBcAg 캐리어로 타겟 폴리펩티드 (타겟 폴리펩티드 단편)를 삽입함으로써 제작되는 클로닝 솔루션(cloning solution)의 도식을 나타낸다.

도 2는 실시예 2에서 제작된 18종의 재조합 단백질의 SDS-PAGE 결과와, 이 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자의 투과 전자현미경(Transmission Electron Microscope, TEM) 결과를 나타낸다.

도 3은 실시예 2에서 제작된 18종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자로 BALB/C 마우스를 면역화시킨(immunizing) 후에, 시간에 따른 마우스 혈청에서의 재조합 단백질 내 타겟 폴리펩티드에 대한 항체 역가(titer)의 변화를 나타낸다. 세로축: 항체 역가 (log10); 가로축: 시간 [주 (week)]. 도 3A: 사용된 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20이고, 항-GP120 항체의 역가가 측정되었다; 도 3B: 사용된 타겟 폴리펩티드는 서열번호 21이고, 항-PD-L1 항체의 역가가 측정되었다; 도 3C: 사용된 타겟 폴리펩티드는 서열번호 22이고, 항-HBsAg 항체의 역가가 측정되었다.

도 4는 동일한 에피토프 펩티드(서열번호 22)를 제시하는, 상이한 바이러스-유사 입자로 HBV 형질전환 수컷 마우스(도 4A) 및 암컷 마우스(도 4B)를 처리한 후에, 시간 경과에 따른 마우스 혈청에서의 HBsAg 수준의 변화를 나타낸다. 세로축: HBsAg 수준(IU/ml); 가로축: 시간 [주 (week)]. 화살표는 마우스에 바이러스-유사 입자를 투여한 시점을 나타낸다.

도 5는 동일한 에피토프 펩티드(서열번호 22)를 제시하는, 상이한 바이러스-유사 입자로 HBV 형질전환 수컷 마우스를 처리한 후에, 시간 경과에 따른 마우스 혈청에서의 HBV DNA 수준의 변화를 나타낸다. 세로축: HBV DNA 수준(Log10 IU/ml); 가로축: 시간 [주 (week)]. 화살표는 마우스에 바이러스-유사 입자를 투여한 시점을 나타낸다.

도 6은 동일한 에피토프 펩티드(서열번호 22)를 제시하는, 상이한 바이러스-유사 입자로 HBV 형질전환 수컷 마우스(도 6A) 및 암컷 마우스(도 6B)를 처리한 후에, 시간 경과에 따른 마우스 혈청에서의 항-HBsAg 항체 역가의 변화를 나타낸다. 세로축: 항-HBsAg 항체의 역가; 가로축: 시간 [주 (week)].

도 7은 실시예 5에서 제작된 6종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자의 TEM 결과를 나타낸다.

도 8은 8종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자로 BALB/C 마우스를 예방화시킨 후 3주 후에, 마우스 혈청에서의 대응하는 타겟 폴리펩티드(서열번호 60, 22, 61, 및 62)에 대한 항체 역가를 나타낸다. HBV 유전자형 A로부터의 HBsAg 단백질의 에피토프 펩티드 (서열번호 60)를 사용하여 RBHBcAg149-SEQ60 및 TBHBcAg153-SEQ60으로 면역화된 마우스의 혈청에서 항체 역가를 측정했고; HBV 유전자형 B로부터의 HBsAg 단백질의 에피토프 펩티드 (서열번호 22)를 사용하여 RBHBcAg149-SEQ22 및 TBHBcAg153-SEQ22로 면역화된 마우스의 혈청에서 항체 역가를 측정했으며; HBV 유전자형 C로부터의 HBsAg 단백질의 에피토프 펩티드 (서열번호 61)를 사용하여 RBHBcAg149-SEQ61 및 TBHBcAg153-SEQ61로 면역화된 마우스의 혈청에서 항체 역가를 측정하였고; HBV 유전자형 D로부터의 HBsAg 단백질의 에피토프 펩티드 (서열번호 62)를 사용하여 RBHBcAg149-SEQ62 및 TBHBcAg153-SEQ62로 면역화된 마우스의 혈청에서 항체 역가를 측정하였다. 결과는 8종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자 모두가 좋은 면역원성을 가지며, 마우스에서 타겟 항원에 특이적으로 결합하는 고-역가 항체(high-titer antibody)의 발생을 유도할 수 있음을 나타낸다.

도 9는 4종의 재조합 단백질(서열번호 36, 69, 70, 및 71)에 의해 형성된 바이러스-유사 입자로 HBV 형질전환 수컷 마우스 (도 9A) 및 암컷 마우스(도 9B)의 처리 후에, 마우스 혈청에서의 HBsAg 수준의 변화를 나타낸다. 세로축: HBsAg 수준(IU/ml); 가로축: 시간[주 (week)]이다.

도 10은 재조합 단백질이 타겟 폴리펩티드 (타겟 항원 펩티드 단편)를 본 발명의 RBHBcAg-T3 캐리어, TBHBcAg-T3 캐리어 및 HBHBcAg-T3 캐리어에 삽입함으로써 제작된 클로닝 솔루션의 도식을 나타낸다.

도 11은 실시예 7에서 제작된 2종의 재조합 단백질 (RBHBcAg189-T3-SEQ22 및 RBHBcAg149-T3-SEQ22)의 SDS-PAGE 결과, 및 상기 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자의 투과전자현미경 (TEM) 결과를 나타낸다.

도 12는 BALB/C 마우스를 실시예 7의 재조합 단백질 RBHBcAg189-T3-SEQ22 및 RBHBcAg149-T3-SEQ22에 의해 형성된 바이러스-유사 입자, 및 실시예 2의 재조합 단백질 RBHBcAg189-SEQ22 및 RBHBcAg149-SEQ22에 의해 형성된 바이러스-유사 입자로 각각 면역화시킨 후에, 시간에 따른 마우스 혈청에서의 재조합 단백질 내 타겟 폴리펩티드인 HBsAg에 대한 항체의 역가 변화를 나타낸다. 세로축: 항-HBsAg 항체 역가 (log10); 가로축: 시간[주 (week)]. 화살표들은 마우스에 바이러스-유사 입자를 투여하는 (백신접종) 시점을 나타낸다. 결과는 4종의 바이러스-유사 입자 모두가 좋은 면역원성을 가지며, 마우스에서 타겟 항원인 HBsAg에 특이적으로 결합하는 항체의 높은 역가를 유도할 수 있다는 것을 나타낸다.

도 13은 HBV 형질전환 수컷 마우스 (도 13A) 및 암컷 마우스 (도 13B)를 동일한 에피토프 펩티드 (서열번호 22)를 제시하는, 2종의 상이한 바이러스-유사 입자로 처리한 후에, 시간에 따른 마우스 혈청에서의 HBsAg 수준 변화를 나타낸다. 가로축: HBsAg 수준 (IU/ml); 가로축: 시간 [주 (week)]. 화살표들은 바이러스-유사 입자가 마우스로 투여된 (백신접종) 시점을 나타낸다. 결과는 HBV 형질전환 마우스에 투여 후에, 2종의 바이러스-유사 입자 모두가 마우스 혈청에서 HBsAg 수준의 감소를 야기시킬 수 있으며, 2종의 VLP가 비슷한 효과(comparable effect)를 보인 것을 나타낸다.

도 14는 HBV 형질전환 수컷 마우스 (도 14A) 및 암컷 마우스 (도 14B)가 동일한 에피토프 펩티드 (서열번호 22)를 제시하는, 2종의 바이러스-유사 입자로 처리된 후에, 시간에 따른 마우스 혈청에서의 HBV DNA 수준 변화를 나타낸다. 세로축: HBV DNA 수준 (Log10 IU/ml); 가로축: 시간 [주 (week)]. 화살표들은 바이러스-유사 입자가 마우스에게 투여된 (백신접종) 시점을 나타낸다. 결과는 HBV 형질전환 마우스에 투여 후에, 2종의 바이러스-유사 입자 모두가 마우스 혈청에서 HBV DNA의 수준의 감소를 야기할 수 있으며, 2종의 VLP가 비슷한 효과를 보인다는 것을 나타낸다.

도 15는 HBV 형질전환 수컷 마우스 (도 15A) 및 암컷 마우스 (도 15B)를 동일한 에피토프 펩티드 (서열번호 22)를 제시하는, 2종의 바이러스-유사 입자로 처리한 후에, 시간에 따른 마우스 혈청에서의 항-HBsAg 항체의 역가 변화를 나타낸다. 세로축: 항-HBsAg 항체의 역가; 가로축: 시간 [주 (week)]. 결과는 HBV 형질전환 마우스에 투여 후에, 2종의 바이러스-유사 입자 모두가 마우스에서 고-역가 항-HBsAg 항체를 유도할 수 있고, 2종의 VLP가 비슷한 효과를 보인다는 것을 나타냈다.

도 16은 B형 간염 환자로부터 수득된 전혈 샘플과 바이러스-유사 입자 RBHBcAg149-T3-SEQ22 또는 바이러스 유사-입자 RBHBcAg149-SEQ22를 함께 배양한 후에, 이 전혈 샘플에서 분비된 IFN  $\gamma$ 의 수준을 나타낸다. 이 결과는 RBHBcAg149-T3-SEQ22와 함께 배양된 전혈 샘플 내 IFN  $\gamma$ 의 수준이 RBHBcAg149-SEQ22와 함께 배양된 전혈 샘플 내 수준(p=0.0021) 또는 PBS와 함께 배양된 전혈 샘플 내 수준(p=0.0037)보다 현저히 높음을 나타냈다.

도 17은 정제된 재조합 단백질인 RBHBcAg149n-T3-SEQ22의 SDS-PAGE 결과, 및 상기 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자의 투과 전자현미경(TEM) 결과를 나타낸다.

[서열 정보]

본 발명에 포함된 서열 (서열번호 1-44 및 75-96)의 일부에 대한 정보가 하기 표 1에 제공된다.

[표 1: 서열번호 1-44 및 75-96의 서열정보]

서열번호	명칭	서열정보
1	RBHBcAg	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR SLLNCWGETVRLITWVRNSVEG <u>PLIQDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLT</u> FGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTLPEHTIV <u>RRRGGSRATRSRRRT</u> <u>SPRRRSQSPRRRSQSPASNC</u>
2	TBHBcAg	MENLERLDIYKEFGVSDVLSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQ <u>GLSPDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYH</u> LSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPPNAPILTLPETS <u>VIRRRPASRRSTP</u> <u>PRRRSQSPRRRSQSPASNC</u>
3	HBHBcAg	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHAAL RALLNCWEETVRLITWVRATVEG <u>QPVQDAIGYVQTTVGLRMRQIWFHLSCLT</u> FGQPTVIEFLVSFGTWIRTPAAYRPPNAPILSTLPEHTIV <u>RRRGNPRAPRSRRRT</u> <u>PSRRRSQSPRRRSQSPASNC</u>
4	RBHBcAg 189	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR SLLNCWGETVRLITWVRNSVEG <u>GGGGGGGGGTGSEFGGGGGGGGSQDAIVQQ</u> VQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTL PEHTIVRRRGGSRATRSRRRTSPRRRSQSPRRRSQSPASNC
5	RBHBcAg 149	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR SLLNCWGETVRLITWVRNSVEG <u>GGGGGGGGGTGSEFGGGGGGGGSQDAIVQQ</u> VQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTL PEHTIV
6	TBHBcAg 188	MENLERLDIYKEFGVSDVLSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQ <u>GGGGGGGGGTGSEFGGGGGGGGSQDAD</u> ALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPPN APILTLPETS <u>VIRRRPASRRSTPSRRRSQSPRRRSQSPASNC</u>
7	TBHBcAg 153	MENLERLDIYKEFGVSDVLSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQ <u>GGGGGGGGGTGSEFGGGGGGGGSQDAD</u> ALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPPN APILTLPETS
8	HBHBcAg 189	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHAAL RALLNCWEETVRLITWVRATVEG <u>GGGGGGGGGTGSEFGGGGGGGGSQDAIG</u> YVQTTVGLRMRQIWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPAAYRPPNAPILST LPEHTIVRRRGNPRAPRSRRRTSPRRRSQSPRRRSQSPASNC
9	HBHBcAg 149	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHAAL RALLNCWEETVRLITWVRATVEG <u>GGGGGGGGGTGSEFGGGGGGGGSQDAIG</u> YVQTTVGLRMRQIWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIRTPAAYRPPNAPILST LPEHTIV
10	HBcAg183	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFPFSIRDLLDTASALYREALSPEHCSPHHTALR QAILCWGELMNLATWVGSNLED <u>GGGGGGGGGTGSEFGGGGGGGGSREL</u> VVS YVNVNMGKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPPAYRPQNAPILSTL PETTVRRRGRSPRRRTSPRRRSQSPRRRSQSRRESQC
11	HBcAg149	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFPFSIRDLLDTASALYREALSPEHCSPHHTALR QAILCWGELMNLATWVGSNLED <u>GGGGGGGGGTGSEFGGGGGGGGSREL</u> VVS YVNVNMGKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPPAYRPQNAPILSTL PETTVV

12	RBHBcAg 189	ATGGACATTGATCCTTATAAAGAATTGGAGCTTCATCTCAACTGATCTCTTTC TTGCCTGAGGACTTTTTCCCAAACCTTGCAGAATTGGTCGAGACCACCACAG CTCTCTATGAAGAAGAATTAGTAGGTAAGGAGCATTGCTCCCTCACCATACT GCTTTACGATCCTTGCTAAATTGCTGGGGAGAGACTGTTAGATTAATAACTTG GGTCAGGAACCTCTGTGGAGGGAGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGGTAC TGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAAGGAGGAGGTGGTTCCCAAGATGCC ATTGTCCAGCAAGTTCAGGCCTCGGTGGCCCTGCGCATGAGACAGTTAATGT GGTTCATCTCTCATGCCAATTTGGACAGCCACTGTCATAGAATTTCTGG TCTCTTTTGGAAACATGGATCAGAACCCCGCAAGCTTACAGACCCCTAATGCA CCCATTCTCTCGACTCTCCGGAGCATAACAATCGTTAGGAGAAGAGGAGGTTCC ACGCGCTACTAGGTCCCCCGAAGGCGCACTCCCTCTCCTCGCCGACGCGAGA TCTCAATCGCCGCTCGCCGACAGATCTCAGTCTCCAGCTTCTCCAACCTGCTA A
13	RBHBcAg 149	ATGGACATTGATCCTTATAAAGAATTGGAGCTTCATCTCAACTGATCTCTTTC TTGCCTGAGGACTTTTTCCCAAACCTTGCAGAATTGGTCGAGACCACCACAG CTCTCTATGAAGAAGAATTAGTAGGTAAGGAGCATTGCTCCCTCACCATACT GCTTTACGATCCTTGCTAAATTGCTGGGGAGAGACTGTTAGATTAATAACTTG GGTCAGGAACCTCTGTGGAGGGAGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGGTAC TGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAAGGAGGAGGTGGTTCCCAAGATGCC ATTGTCCAGCAAGTTCAGGCCTCGGTGGCCCTGCGCATGAGACAGTTAATGT GGTTCATCTCTCATGCCAATTTGGACAGCCACTGTCATAGAATTTCTGG TCTCTTTTGGAAACATGGATCAGAACCCCGCAAGCTTACAGACCCCTAATGCA CCCATTCTCTCGACTCTCCGGAGCATAACAATCGTT
14	TBHBcAg 188	ATGGAAAACCTTGAAAGACTTGACATCTATAAAGAATTGGAGTCTCTGATGT CTTGGTGTCTTTCTTACCTGATGATTTCTTTCCAACCTTACAGCAACTTTTGGA ATCAGTGAATGCCCTATATGAGGATGAACTCACTGGGCCTAATCACTGTTCTC CCCATCATACTGCCTTAAGGCACTTGATTATGTGTGGGGTAGAATTAAGAGATT TTATTGATTGGATGCATGAACAGGGGGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGG TACTGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAAGGAGGAGGTGGTTCCGATGCA GACGCTCTTTGGCTGGTTACCTTCGATCCAAATATCTTAAACATATTACCAAG GCTATTTGGTATCATTAAAGCTGTTGACCTTTGGTAAGCAAACAGTGCATGAA TACCTGGTATCCTTTGGCACCTGGATCAGAACCCAGCTGCATATAGACCAGT GAATGCACCCATTCTCACCCTCTCCGGAAACTTCAGTTATCAGAAGAAGG CCTGCCTCCAGAAGATCTACTCCCTCTCCTCGCAGACGCGGATCTCAATCACC GCGCCGCGCCGCTCTCCATCTCCAAGACCAGCAAGCAATTGCTGA
15	TBHBcAg 153	ATGGAAAACCTTGAAAGACTTGACATCTATAAAGAATTGGAGTCTCTGATGT CTTGGTGTCTTTCTTACCTGATGATTTCTTTCCAACCTTACAGCAACTTTTGGA ATCAGTGAATGCCCTATATGAGGATGAACTCACTGGGCCTAATCACTGTTCTC CCCATCATACTGCCTTAAGGCACTTGATTATGTGTGGGGTAGAATTAAGAGATT TTATTGATTGGATGCATGAACAGGGGGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGG TACTGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAAGGAGGAGGTGGTTCCGATGCA GACGCTCTTTGGCTGGTTACCTTCGATCCAAATATCTTAAACATATTACCAAG GCTATTTGGTATCATTAAAGCTGTTGACCTTTGGTAAGCAAACAGTGCATGAA TACCTGGTATCCTTTGGCACCTGGATCAGAACCCAGCTGCATATAGACCAGT GAATGCACCCATTCTCACCCTCTCCGGAAACTTCAGTTATC

16	HBHBcAg 189	ATGGACATTGATCCTTATAAAGAGTTTCGGTGCTTCATCTCAACTTGTCCTTT TTGCCTGCTGACTTCTTTCCCGCCTTGAACGACCTGGTGAAACTTCGGTGCC CTTATATGAGGAAGACCTTGTAGGTAAGGAGCATTGCTCCCTCATCATGCAG CCTTAAGGGCCCTACTTAATTGCTGGGAGGAAACAGTCAGACTGATTACCTG GGTCCGTGCCACAGTAGAGGGAGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGTTAC TGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAAGGAGGAGGTGGTTCCAGGATGCC ATCATCGGTTATGTCCAGACTACGGTGGGCCTACGCATGAGACAACAGATCTG GTTCCATCTCTCATGCCTTACTTTTGGGCAGCAGACTGTGATAGAGTTCCTGG TCTCATTTGGGACATGGATGAGAACTCCAGCCGCCTATAGACCCCCAATGCA CCCATTTTATCAACTCTTCCAGAGCACACAGTCATTAGGAGAAGAGGAAATCC GGGTGCTCCTAGGTCCCCAGAAGGGCAGCTCCCTCTCCTCGCCGACGCAGA TCTCAATCTCCCGCTCGCCGGAGATCTCAATCTCCAGCTCCCTCCAAGTCTA A
17	HBHBcAg 149	ATGGACATTGATCCTTATAAAGAGTTTCGGTGCTTCATCTCAACTTGTCCTTT TTGCCTGCTGACTTCTTTCCCGCCTTGAACGACCTGGTGAAACTTCGGTGCC CTTATATGAGGAAGACCTTGTAGGTAAGGAGCATTGCTCCCTCATCATGCAG CCTTAAGGGCCCTACTTAATTGCTGGGAGGAAACAGTCAGACTGATTACCTG GGTCCGTGCCACAGTAGAGGGAGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGTTAC TGGATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAAGGAGGAGGTGGTTCCAGGATGCC ATCATCGGTTATGTCCAGACTACGGTGGGCCTACGCATGAGACAACAGATCTG GTTCCATCTCTCATGCCTTACTTTTGGGCAGCAGACTGTGATAGAGTTCCTGG TCTCATTTGGGACATGGATGAGAACTCCAGCCGCCTATAGACCCCCAATGCA CCCATTTTATCAACTCTTCCAGAGCACACAGTCATT
18	HBcAg183	ATGGACATTGATCCTTATAAAGAAATTTGGAGCTTCTGTGGAGTTACTCTCTTT TTGCCTCCGACTTCTTTCTTCTATCCGAGATCTCCTCGACACCGCCTCTGCT CTGTATCGGGAGGCCTTAGAGTCTCCGGAACATTGTTACCTCACCATACGGC ACTCAGGCAAGCTATTCTGTGTTGGGGTGAGTTGATGAATCAGCCACCTGGG TGGGAAGTAATTTGGAAGATGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGTTACTGG ATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAAGGAGGAGGTGGTTCCAGGAACTAGTA GTCAGCTATGTCAACGTTAATATGGGCCTAAAAATCAGACAACCTATTGTGGTT TCACATTTCTGTCTTACTTTTGGGAGAGAACTGTTCTTGAATATTGGTGTC TTTTGGAGTGTGGATTGCACTCCTCCTGCATATAGACCACAAAATGCCCTA TCTTATCAACTTCCGAAACTACTGTTGTTCTGTCGCCGAGGCCGTAGCCCG CGACGAGTACCCCGAGCCCGCTCGACGTCGCAGCCAGAGCCCGCGCCGT CGTCGCAGCCAGAGCCGTGAAAGCCAGTGCTAA
19	HBcAg149	ATGGACATTGATCCTTATAAAGAAATTTGGAGCTTCTGTGGAGTTACTCTCTTT TTGCCTCCGACTTCTTTCTTCTATCCGAGATCTCCTCGACACCGCCTCTGCT CTGTATCGGGAGGCCTTAGAGTCTCCGGAACATTGTTACCTCACCATACGGC ACTCAGGCAAGCTATTCTGTGTTGGGGTGAGTTGATGAATCAGCCACCTGGG TGGGAAGTAATTTGGAAGATGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGTGGTGTTACTGG ATCCGAATTCGGTGGTGGAGGTTCAAGGAGGAGGTGGTTCCAGGAACTAGTA GTCAGCTATGTCAACGTTAATATGGGCCTAAAAATCAGACAACCTATTGTGGTT TCACATTTCTGTCTTACTTTTGGGAGAGAACTGTTCTTGAATATTGGTGTC TTTTGGAGTGTGGATTGCACTCCTCCTGCATATAGACCACAAAATGCCCTA TCTTATCAACTTCCGAAACTACTGTTGTT

20	HIV-GP12 0-aa361-375	FKQSSGGDPEIVTHS
21	hPDL1-aa 147-160	TSEHELTCQAEGY
22	HBsAg-aa 113-135	SSTTSTGPKCTCTTPAQGTSMPF
23	RBHBcAg 189-SEQ2 0	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR SLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGGGGTGSFKQSSGGDPEIVTHSEFGG GGSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIR TPQAYRPPNAPILSTLPEHTIVRRRGGSRATRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSP ASSNC
24	RBHBcAg 149-SEQ2 0	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR SLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGGGGTGSFKQSSGGDPEIVTHSEFGG GGSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIR TPQAYRPPNAPILSTLPEHTIV
25	TBHBcAg 188-SEQ2 0	MENLERLDIYKEFGVSDVLSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGGGGTGSFKQSSGGDPEIVTHSEF GGGGGGGSADADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSF GTWIRTPAAYRPPNAPILTTLPETSVIRRRPASRRSTPSRRRRSQSPRRRRSPSPRP ASNC
26	TBHBcAg 153-SEQ2 0	MENLERLDIYKEFGVSDVLSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGGGGTGSFKQSSGGDPEIVTHSEF GGGGGGGSADADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSF GTWIRTPAAYRPPNAPILTTLPETSVI
27	HBHBcAg 189-SEQ2 0	MDIDPYKEFGASSQLISFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHAAL RALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGGGGTGSFKQSSGGDPEIVTHSEFGG GGSGGGGSQDAIIGYVQTTVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIR TPAAYRPPNAPILSTLPEHTIVRRRGNPRAPRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSP APSN
28	HBHBcAg 149-SEQ2 0	MDIDPYKEFGASSQLISFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHAAL RALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGGGGTGSFKQSSGGDPEIVTHSEFGG GGSGGGGSQDAIIGYVQTTVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIR TPAAYRPPNAPILSTLPEHTIV
29	RBHBcAg 189-SEQ2 1	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR SLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGGGGTGSTSEHELTCQAEGYPEFGGG GSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIR PQAYRPPNAPILSTLPEHTIVRRRGGSRATRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSPA SSNC
30	RBHBcAg 149-SEQ2 1	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR SLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGGGGTGSTSEHELTCQAEGYPEFGGG GSGGGGSQDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGTWIR PQAYRPPNAPILSTLPEHTIV

31	TBHBcAg 188-SEQ2 1	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGGGGGTGSTSEHELTCQAEGYPEF GGGGGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSF GTWIRTPAAYRPNAPILTTLPETS VIRRRPASRRSTPSRRRRSQSPRRRRSPSPR ASNC
32	TBHBcAg 153-SEQ2 1	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGGGGGTGSTSEHELTCQAEGYPEF GGGGGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSF GTWIRTPAAYRPNAPILTTLPETS VI
33	HBHBcAg 189-SEQ2 1	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHAAL RALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGGGGGTGSTSEHELTCQAEGYPEFGG GGGGGGGSDAIIIGYVQTTVGLRMRQIWFHLSCLTFGQQTVEFLVSGTWMR TPAAYRPPNAPILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSP AFSNC
34	HBHBcAg 149-SEQ2 1	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHAAL RALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGGGGGTGSTSEHELTCQAEGYPEFGG GGGGGGGSDAIIIGYVQTTVGLRMRQIWFHLSCLTFGQQTVEFLVSGTWMR TPAAYRPPNAPILSTLPEHTVI
35	RBHBcAg 189-SEQ2 2	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR SLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGGGGGTGSSSTTSTGPKCTCTTPAQGTS MFPEFGGGGGGGGSDAIVQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQQTVEFL VSGTWMRTPAAYRPPNAPILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRPRRRTPSPRRRRSQSP RRRRSQSPASSNC
36	RBHBcAg 149-SEQ2 2	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR SLLNCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGGGGGTGSSSTTSTGPKCTCTTPAQGTS MFPEFGGGGGGGGSDAIVQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQQTVEFL VSGTWMRTPAAYRPPNAPILSTLPEHTIV
37	TBHBcAg 188-SEQ2 2	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGGGGGTGSSSTTSTGPKCTCTTPAQ GTSMFPEFGGGGGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQT VHEYLVSFGTWMRTPAAYRPNAPILTTLPETS VIRRRPASRRSTPSRRRRSQSPR RRRSPSPRPAASNC
38	TBHBcAg 153-SEQ2 2	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGGGGGTGSSSTTSTGPKCTCTTPAQ GTSMFPEFGGGGGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQT VHEYLVSFGTWMRTPAAYRPNAPILTTLPETS VI
39	HBHBcAg 189-SEQ2 2	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHAAL RALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGGGGGTGSSSTTSTGPKCTCTTPAQGT SMFPEFGGGGGGGGSDAIIIGYVQTTVGLRMRQIWFHLSCLTFGQQTVEFL VSGTWMRTPAAYRPPNAPILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRPRRRTPSPRRRRSQS PRRRSQSPASNC
40	HBHBcAg 149-SEQ2 2	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPADFFPALNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHAAL RALLNCWEETVRLITWVRATVEGGGGGGGGGTGSSSTTSTGPKCTCTTPAQGT SMFPEFGGGGGGGGSDAIIIGYVQTTVGLRMRQIWFHLSCLTFGQQTVEFL VSGTWMRTPAAYRPPNAPILSTLPEHTVI
41	HBcAg183 -SEQ22	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTASALYREALESPEHCSPHHTALR QAILCWGELMNLATWVGSNLEDGGGGGGGGGTGSSSTTSTGPKCTCTTPAQGT SMFPEFGGGGGGGGRELVS YVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRET VLEYL VSFGVWIRTPPAYRPNAPILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRPRRRTPSPRRRRSQSPRRRR SQSRESQC
42	HBcAg149 -SEQ22	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTASALYREALESPEHCSPHHTALR QAILCWGELMNLATWVGSNLEDGGGGGGGGGTGSSSTTSTGPKCTCTTPAQGT SMFPEFGGGGGGGGRELVS YVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRET VLEYL VSFGVWIRTPPAYRPNAPILSTLPEHTV
43	Linker	GGGGGGGGGTGSEFGGGGGGGGS
44	HBsAg	MENIASGLLGPLLVQAGFLLTKILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTPVCLGQNSQS QISSHSPTCCPPICPGYRWMCLRRFIFLCILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGS STTSTGPKCTCTTPAQGTSMFPSCCCTKPTDGNCTCIPSSWAFAYLWEWASV RFSWLSLLVPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWFVGPVSLYNYLSPFMPPLPIFFCL WVYI

75	RBHBcAg189-T3	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFPPSVAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR QAILCWGELMTLATWVRNSVEGGGGGGGGGGTGFEGGGGGGGGGSDAIVQ QVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILST LPEHTVIRRRGGSRATRSRRRTPSRRRRSQRPRRRSQRSPASSNC
76	TBHBcAg188-T3	MENLERLDIYKEFGVSDFLPSDFPPSVFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRQAILCWGELRDFIDWMHEQGGGGGGGGGGTGFEGGGGGGGGGSDAD ALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGVWIRTPPAYRPPN APILTTLPETSVIRRRPASRRSTPSRRRRSQRPRRRSQRSPRASPASC
77	HBHBcAg189-T3	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPSDFPPSVNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHTAL RQAILCWGELMTLATWVRATVEGGGGGGGGGGTGFEGGGGGGGGGSDAIG YVQTTVGLRMRQIWFHLSCLTFGQQTVEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILST LPEHTVIRRRGNPRAPRSRRRTPSRRRRSQRPRRRSQRSPASSNC
78	RBHBcAg149-T3	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFPPSVAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALR QAILCWGELMTLATWVRNSVEGGGGGGGGGGTGFEGGGGGGGGGSDAIVQ QVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILST LPEHTVI
79	TBHBcAg153-T3	MENLERLDIYKEFGVSDFLPSDFPPSVFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSPH HTALRQAILCWGELRDFIDWMHEQGGGGGGGGGGTGFEGGGGGGGGGSDAD ALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGVWIRTPPAYRPPN APILTTLPETSVI
80	HBHBcAg149-T3	MDIDPYKEFGASSQLVSFLPSDFPPSVNDLVETSVALYEEDLVGKEHCSPHHTAL RQAILCWGELMTLATWVRATVEGGGGGGGGGGTGFEGGGGGGGGGSDAIG YVQTTVGLRMRQIWFHLSCLTFGQQTVEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILST LPEHTVI
81	RBHBcAg189-T3	ATGGACATCGACCCGTACAAAGAATTCGGTGCTTCTTCTCAGCTGATCTCTT CCTGCCGTCTGACTTCTCCCGTCTGTGCTGAACTGGTTGAAACCACACCG CTCTGACGAAGAAGAACTGGTTGGTAAAGAACTGCTCTCCGACACAC CGCTCTGCGTCAGGCTATCCTGTGCTGGGGTGAAGTATGACCCCTGGCTACC TGGGTTCTGAACTCTGTGAAGGTGGTGGTGGTCTGGTGGTGGTGGTA CCGGTTCTGAAATTCGGTGGTGGTGGTCTGGTGGTGGTGGTCTCAGGACGC TATCGTTCAGCAGGTTTCAGGCTTCTGTTGGTCTGCGTATGCGTCAGCTGATGT GGTTCCACCTGTCTTGCTGACCTTCGGTCAGCCGACCGTTATCGAATTCCTG GTTCTTTCGGTGGTGGATCCGTACCCCGCGGCTTACCGTCCGCGGAACGC TCCGATCCTGTCTACCTGCCGGAACACACCGTTATCCGTCGTCGTTGTAAC CCGCGTCTCCGCTTCTCCGCGTCTGTCGTAACCCGCTCCTCCGCGTCTGTCG TTCTCAGTCTCCGCGTCTGTCGTTCTCAGTCTCCGCTCCGCTAACTGCT AA

82	TBHBcAg188-T3	<p>ATGGAACCTGGAACGCTCTGGACATCTACAAAGAATTCCGGTGTTCGACT  TCCTGCCGCTGACTTCTTCCCGTCTGTTTCCCGACCCCTGCAGCAGCTGCTG  GAATCTGTTAACGCTCTGTACGAAGACGAACTGACCGGTCGGAACCACTGCT  CTCCGACCCACACCGCTCTGCGTCAGGCTATCCTGTGCTGGGGTGAAGTGG  TGACTTCATCGACTGGATGCACGAACAGGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  GGTGGTACCAGTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  ACGCTGACGCTCTGCTGGCTGGTTACCTGCGTCTAAATACCTGAAACACAT  CACAAAGCTATCTGGTACCACCTGTCTTGCTGACCTTCGGTAAACAGACC  GTTACGAATACCTGGTTCTTTCGGTGGTGGATCCGTACCCCGCCGGCTTA  CCGTCGCGGAACGCTCCGATCCTGACCACCTGCCGGAACCTCTGTTATC  CGTCGTCGTCGGGCTTCTCGTGGTCTACCCCGTCTCCGCGTCGTCGTCGTT  TCAGTCTCCGCGTCGTCGTCGTTCTCCGCTCTCCGCGTCCGGCTTCTAACTGC</p>
83	HBHBcAg189-T3	<p>ATGGACATCGACCCGTACAAAGAATTCCGGTGTTCCTCTCAGCTGGTTCTTI  CCTGCCGCTGACTTCTTCCCGTCTGTTAACGACCTGGTTGAAACCTCTGTTG  CTCTGTACGAAGAAGACCTGGTTGGTAAAGAACACTGCTCTCCGCACCACAC  CGCTCTGCGTCAGGCTATCCTGTGCTGGGGTGAAGTATGACCTGGTACC  TGGGTTCGCTACCCTGAAGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  CCGGTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  TATCATCGGTTACGTTACAGACCACCGTGGTCTGCGTATGCGTCAGCAGATC  TGGTCCACCTGTCTTGCTGACCTTCGGTACGACAGACCGTTATCGAATTCCT  GGTTCTTTCGGTGGTGGATCCGTACCCCGCCGGCTTACCGTCCGCCGAACG  CTCCGATCCTGTCTACCCTGCCGGAACACACCGTTATCCGTCGTCGTTAA  CCGCGTGGTCCGCGTCTCCGCGTCTCCGCGTACCCCGTCTCCGCGTCTGTCG  GTTCTCAGTCTCCGCGTCTGTCGTTCTCAGTCTCCGGCTCCGCTTAACTGC</p>
84	RBHBcAg149-T3	<p>ATGGACATCGACCCGTACAAAGAATTCCGGTGTTCCTCTCAGCTGATCTTTI  CCTGCCGCTGACTTCTTCCCGTCTGTTGCTGAACTGGTTGAAACCACCACCG  CTCTGTACGAAGAAGAAGTGGTTGGTAAAGAACACTGCTCTCCGCACCACAC  CGCTCTGCGTCAGGCTATCCTGTGCTGGGGTGAAGTATGACCTGGTACC  TGGGTTCGTAACCTCTGTTGAAGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  CCGGTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  TATCGTTCAGCAGGTTACAGCTTCTGTTGGTCTGCGTATGCGTCAGCTGATG  GGTCCACCTGTCTTGCTGACCTTCGGTACGCCGACCGTTATCGAATTCCTG  GTTCTTTCGGTGGTGGATCCGTACCCCGCCGGCTTACCGTCCGCCGAACCG  TCCGATCCTGTCTACCCTGCCGGAACACACCGTTATCTAA</p>
85	TBHBcAg153-T3	<p>ATGGAACCTGGAACGCTCTGGACATCTACAAAGAATTCCGGTGTTCGACT  TCCTGCCGCTGACTTCTTCCCGTCTGTTTCCCGACCCCTGCAGCAGCTGCTG  GAATCTGTTAACGCTCTGTACGAAGACGAACTGACCGGTCGGAACCACTGCT  CTCCGACCCACACCGCTCTGCGTCAGGCTATCCTGTGCTGGGGTGAAGTGG  TGACTTCATCGACTGGATGCACGAACAGGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  GGTGGTACCAGTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  ACGCTGACGCTCTGCTGGCTGGTTACCTGCGTCTAAATACCTGAAACACAT  CACAAAGCTATCTGGTACCACCTGTCTTGCTGACCTTCGGTAAACAGACC  GTTACGAATACCTGGTTCTTTCGGTGGTGGATCCGTACCCCGCCGGCTTA  CCGTCGCGGAACGCTCCGATCCTGACCACCTGCCGGAACCTCTGTTATC</p>

86	HBHBcAg149-T3	ATGGACATCGACCCGTACAAAGAATTCGGTGCTTCTCTCAGCTGGTTTCTTCTCCTGCGCTGACTTCTCCCGTCTGTTAACGACCTGGTTGAAACCTCTGTTGCTCTGTACGAAGAAGACCTGGTTGGTAAAGAACACTGCTCTCCGCACCACACCGCTTCGCTCAGGCTATCCTGTGTGGGGTGAAGTATGACCTGGTCTACCTGGTACC TGGGTTCTGCTACCGTTGAAGGTGGTGGTGGTCTGTTCTGGTGGTGGTGGTACCGGTTCTGAATTCGGTGGTGGTGGTCTGTTCTCAGGACGC TATCATCGGTTACGTTACAGACCACCGTTGGTCTGCGTATGCGTCAGCAGATC TGGTTCCACCTGTCTTGCCTGACCTTGGTGCAGCAGACCGTTATCGAATTCCTGGTTCTTTCGGTGGTGGTACCGTACCGCCCGGCTTACCGTCCGCCGAACCTCCGATCCTGTCTACCTGCCGGAACACACCGTTATC
87	T cell epitope	FLPSDFFPSV
88	T cell epitope	PHHTALRQAILCWGELMTLA
89	T cell epitope	VSFGVWIRTPPAYRPPNAPIL
90	RBHBcAg189-T3-SEQ22	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFFPSVAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRNSVEGGGGGGGGTSSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGGGGGSDAIVQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRSPRRRTPSPRRRSQSPRRRSQSPAPSNC
91	RBHBcAg149-T3-SEQ22	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFFPSVAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRNSVEGGGGGGGGTSSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGGGGGSDAIVQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVI
92	TBHBcAg188-T3-SEQ22	MENLERLDIYKEFGVSDFLPSDFFPSVFPTLQQLLESVNALYEDEL TGNHCSPHHTALRQAILCWGELRDFIDWMHEQGGGGGGGGTSSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRSPRRRTPSPRRRSQSPRRRSQSPAPSNC
93	TBHBcAg153-T3-SEQ22	MENLERLDIYKEFGVSDFLPSDFFPSVFPTLQQLLESVNALYEDEL TGNHCSPHHTALRQAILCWGELRDFIDWMHEQGGGGGGGGTSSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFGKQTVHEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVI
94	HBHBcAg189-T3-SEQ22	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFFPSVNDLVETSVALYEEELVGKEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRATVEGGGGGGGGTSSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGGGGGSDAIGYVQTTVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVIRRRGNPRAPRSPRRRTPSPRRRSQSPRRRSQSPAPSNC
95	HBHBcAg149-T3-SEQ22	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFFPSVNDLVETSVALYEEELVGKEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRATVEGGGGGGGGTSSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPEFGGGGGGGGSDAIGYVQTTVGLRMRQQIWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVI
96	RBHBcAg149-n-T3-SEQ22	MDIDPYKEFGASSQLISFLPSDFFPSVAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVRNSVEGSSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPQDAIVQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVIEFLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPEHTVI

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0192] 본 발명은 하기 실시예(본 발명의 보호범위를 제한하기 보다는 본 발명을 설명하기 위한 것)를 참조하여 설명된다.
- [0193] 달리 명시되지 않는 한, 본 발명에서 사용되는 분자생물학적 실험방법 및 면역학적 검정은 실질적으로 Sambrook J et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Second Edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, 및 F. M. Ausubel et al., Short Protocols in Molecular Biology, 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc., 1995에 기술된 방법에 따라 수행하고, 제한 효소는 제품의 제조 업체가 권장하는 조건하에서 사용했다. 당업자는 본 발명을 설명하기 위해 실시예가 사용되었으나, 본 발명의 보호범위를 제한하고자 하는 것은 아님을 이해할 것이다.
- [0194] [실시예 1: 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 플라스미드의 제작]
- [0195] 본 실시예에서는, 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 플라스미드를 제작하였다.
- [0196] **1.1 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 제조**
- [0197] 3종의 박쥐-유래 HBV 코어 항원(즉, RBHBcAg 단백질, TBHBcAg 단백질, 및 HBHBcAg 단백질)에 기초하여, 다음의 폴리펩티드 캐리어를 설계했다:
- [0198] RBHBcAg189 캐리어, 이 캐리어는 RBHBcAg 단백질의 78-81 위치의 아미노산 잔기가 서열번호 43에 제시된 링커로 치환된 점에서 RBHBcAg 단백질(서열번호 1)과 상이하고, RBHBcAg189 캐리어의 아미노산 서열은 서열번호 4로 제시되며, RBHBcAg189 캐리어의 뉴클레오티드 서열은 서열번호 12에 기재되어 있음;
- [0199] TBHBcAg188 캐리어, 이 캐리어는 RBHBcAg 단백질의 80-83 위치의 아미노산 잔기가 서열번호 43에 제시된 링커로

치환된다는 점에서 TBHBcAg 단백질 (서열번호 2)과 상이하고, TBHBcAg188 캐리어의 아미노산 서열은 서열번호 6에 제시되며, TBHBcAg188 캐리어의 뉴클레오티드 서열은 서열번호 14에 제시됨; 및

[0200] HBHBcAg189 캐리어, 이 캐리어는 RBHBcAg 단백질의 78-81 위치의 아미노산 잔기가 서열번호 43에 기재된 링커로 치환된다는 점에서 HBHBcAg 단백질(서열번호 3)과 상이하고, HBHBcAg189 캐리어의 아미노산 서열은 서열번호 8에 제시되며, HBHBcAg189 캐리어의 뉴클레오티드 서열은 서열번호 16에 제시됨.

[0201] 또한, 인간 HBV의 HBcAg 단백질에 기초하여, HBcAg183 캐리어를 대조군으로 또한 설계했다. HBcAg183 캐리어는 인간 HBV의 HBcAg 단백질의 79-81 위치의 아미노산 잔기가 서열번호 43에 제시된 링커로 치환된다는 점에서 인간 HBV의 HBcAg 단백질과 상이하며; HBcAg183 캐리어의 아미노산 서열은 서열번호 10에 제시되어 있고, HBcAg183 캐리어의 뉴클레오티드 서열은 서열번호 18에 제시되어 있다.

[0202] 상기 4종의 캐리어의 뉴클레오티드 서열에 대해, 이들의 전장 유전자 합성은 Sangon Biotech (Shanghai) Co., Ltd가 수행하였다.

[0203] **1.2 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 플라스미드의 제조**

[0204] 합성된 뉴클레오티드 서열을 주형으로 사용하고, 표 2의 프라이머를 사용하여, 상기 4종의 캐리어의 전장 유전자(full-length gene) 및 절단체(truncate)[즉, C-말단에서 절단된(truncating) 유전자 단편]를 각각 PCR로 증폭시켰다. 8종의 PCR 산물, 즉 RBHBcAg189 캐리어를 암호화하는 유전자(서열번호 12; 이 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 4임), RBHBcAg149 캐리어를 암호화하는 유전자(서열번호 13; 이 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 5임), TBHBcAg188 캐리어를 암호화하는 유전자(서열번호 14; 이 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 6임), TBHBcAg153 캐리어를 암호화하는 유전자(서열번호 15; 이 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 7임), HBHBcAg189 캐리어를 암호화하는 유전자(서열번호 16; 이 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 8임), HBHBcAg149 캐리어를 암호화하는 유전자(서열번호 17; 이 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 9임), HBcAg183 캐리어를 암호화하는 유전자(서열번호 18; 이 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 10임), 및 HBcAg149 캐리어를 암호화하는 유전자 (서열번호 19; 이 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 11임)를 획득하였다.

[0205] pT0-T7 벡터(Luo Wenxin, Zhang Jun, Yang Haijie, et al., Construction and Application of an *Escherichia coli* High Effective Expression Vector with an Enhancer [J], Chinese Journal of Biotechnology, 2000, 16(5): 578-581)를 NdeI 및 HindIII에 의해 이중 효소 절단(to double enzyme digestion)하여 선형 벡터를 획득하였다. 깃슨 어셈블리 클로닝법(Gibson assembly cloning method) (New England Biolabs (UK) Ltd)에 의해, 획득된 8종의 PCR 산물을 선형 벡터에 라이게이션하고(ligating), DH5a 컴피턴트 박테리아(competent bacteria) 내로 형질전환 시켰다. 형질전환된 박테리아를 플레이트 상에 도말해서(spreading) 배양시킨 다음에, 단일클론 콜로니(monoclonal colony)를 선별하였고, 플라스미드를 추출해서 시퀀싱하였다. 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함한 8종의 플라스미드가 획득되었음을 시퀀싱에 의해 확인하였다.

[0206] PCR에 관련된 프라이머는 표 2에 제시된다.

[0207] **[표 2: 프라이머 서열]**

서열번호	프라이머 명칭	서열
45	RBHBcAg149/189F	ACTTTAAGAAGGAGATATACATATGATGGACATTGATCCTTATAAAG
46	RBHBcAg149R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAAACGATTGTATGCTCCGGA AGAGTCGA
47	RBHBcAg189R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAGCAGTTGGAGGAAGCTGG AGACTGAGATCTGCGGCGAC
48	TBHBcAg153/188F	ACTTTAAGAAGGAGATATACATATGATGAAAAACCTTGAAAGACTTG
49	TBHBcAg153R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAGATAACTGAAGTTCCGGA AGAGTG
50	TBHBcAg188R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAGCAATTGCTTGGTGTCTT G
51	HBHBcAg149/189F	ACTTTAAGAAGGAGATATACATATGATGGACATTGATCCTTATAAAG
52	HBHBcAg149R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAAATGACTGTGTGCTCTGGA AGAGTTGA
53	HBHBcAg189R	GTGGTGCTCGAGGCGGCCGCAAGCTTTTAGCAGTTGGAGGGAGCTGG AGATTGAGATCTCCGCGCAC

[0208]

[0209] **[실시예 2. 재조합 단백질의 제조]**

[0210] 본 실시예에서는, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 실시예 1에서 제작된 플라스미드에 삽입하였고, 타겟 폴리펩티드와 폴리펩티드 캐리어를 포함하는, 재조합 단백질을 획득하였다. 재조합 단백질이 본 발명의 RBHBcAg 캐리어, TBHBcAg 캐리어 및 HBHBcAg 캐리어에 타겟 폴리펩티드(타겟 항원 펩티드 단편)를 삽입하여 제작된 클로닝 솔루션의 도식을 도 1에 나타냈다.

[0211] **2.1 타겟 폴리펩티드와 폴리펩티드 캐리어를 포함하는, 재조합 단백질의 발현 플라스미드의 제작**

[0212] 본 실시예에서, 3종의 타겟 폴리펩티드를 사용하여 펩티드 단편을 제시하는 본 발명의 폴리펩티드 캐리어의 범용성(versatility)을 확인하였다. 상기 3종의 타겟 폴리펩티드는 다음과 같다: 폴리펩티드 HIV-GP120-aa361-375 (즉, HIV GP120 단백질의 361-375 위치의 아미노산, 이의 아미노산 서열은 서열번호 20에 제시됨); 폴리펩티드 hPDL1-aa147-160 (즉, 인간 PD-L1 단백질의 147-160 위치의 아미노산, 이의 아미노산 서열은 서열번호 21에 제시됨); 및 폴리펩티드 HBsAg-aa113-135 [즉, 인간 HBV로부터의 B형 간염 표면 항원(hepatitis B surface antigen, HBsAg)의 113-135 위치의 아미노산, 이의 아미노산 서열은 서열번호 22에 제시됨].

[0213] 상기 3종의 타겟 폴리펩티드(표 3에 나타냄)를 암호화하는 센스 및 안티센스 서열을 직접 합성하여, 어닐링해서 부착 말단(cohesive end)을 가지며, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 유전자 단편을 획득하였다.

[0214] **[표 3: 3종의 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 센스 및 안티센스 서열]**

서열번호	프라이머 명칭	서열
54	hPDL1-aa147-160F	GATCCACCTCTGAACATGAACTGACATGTCAGGCTGAGGGCTACCCCG
55	hPDL1-aa147-160R	AATTCGGGGTAGCCCTCAGCCTGACATGTCAGTTCATGTTTCAGAGGTG
56	HIV-GP120-aa361-375F	GATCCTTCAAACAGTCTTCTGGTGGTGACCCGGAAATCGTTACCCACTCTG
57	HIV-GP120-aa361-375R	AATTCAGAGTGGGTAACGATTTCCGGGTCACCACCAGAAGACTGTTTGAAG
58	HBsAg-aa113-135F	GATCCTCATCAACAACCAGCACCAGGACCATGCAAAAACCTGCACAACCTCTGCTCAAGGAACCTCTATGTTTCCCG
59	HBsAg-aa113-135R	AATTCGGGAAACATAGAGGTTCCCTTGAGCAGGAGTTGTGCAGGTTTTGCATGGTCCGGTGCTGGTTGTTGATGAG

[0215]

[0216] 실시예 1에서 획득된 6종의 플라스미드(RBHBcAg189, RBHBcAg149, TBHBcAg188, TBHBcAg153, HBHBcAg189 및 HBHBcAg149)를 BamHI 및 EcoRI으로 이중 효소 절단하여 6종의 선형 벡터를 획득했다. 그 다음, 상기에서 제조된 부착 말단을 가지며, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 3종의 유전자 단편을 선형 벡터에 라이게이션하여, 재조합 단백질을 암호화하는 발현 플라스미드를 획득하였다(총 18종: RBHBcAg189-SEQ20, RBHBcAg149-SEQ20, TBHBcAg188-SEQ20, TBHBcAg153-SEQ20, HBHBcAg189-SEQ20, HBHBcAg149-SEQ20, RBHBcAg189-SEQ21, RBHBcAg149-SEQ21, TBHBcAg188-SEQ21, TBHBcAg153-SEQ21, HBHBcAg189-SEQ21, HBHBcAg149-SEQ21, RBHBcAg189-SEQ22, RBHBcAg149-SEQ22, TBHBcAg188-SEQ22, TBHBcAg153-SEQ22, HBHBcAg189-SEQ22, 및 HBHBcAg149-SEQ22).

[0217] **2.2 재조합 단백질의 발현, 정제 및 조립**

[0218] 이전 단계에서 제작된 18종의 발현 플라스미드를 사용하여 발현 플라스미드에 의해 암호화된 재조합 단백질을 동일한 방법으로 발현 및 정제하였다. RBHBcAg149-SEQX (SEQX는 SEQ20, SEQ21 또는 SEQ22를 나타냄)를 재조합 단백질의 발현 및 정제를 기술하는 예시로서 사용하였다.

[0219] **(2.2.1) 재조합 단백질의 발현을 위한 박테리아 균주의 제조:** 2.1에서 획득된 발현 플라스미드 RBHBcAg149-SEQX를 대장균 균주인 ER2566으로 형질전환시켜, 발현 박테리아 균주(expression bacterial strain)를 획득하였다.

[0220] **(2.2.2) 재조합 단백질인 RBHBcAg149-SEQX의 발현:** 발현 박테리아 균주를 500mL 삼각 플라스크에 씨딩(seeding)하였고, OD가 약 1.0이 될 때까지, 37°C에서, 진탕 테이블(shaking table) 위에서 배양한 후에, 이소프로필-베타-D-티오갈락토시드(isopropyl-beta-D-thiogalactoside, IPTG)를 최종농도 0.5 mM로 추가하였고, 발현을 25 °C에서 6시간 동안 더 수행했다.

[0221] **(2.3.3) 재조합 단백질인 RBHBcAg149-SEQX의 정제:**

[0222] **(2.3.3.1) 박테리아의 초음파 파쇄:** 2.2.2의 박테리아를 원심 분리에 의해 수확하였고, 초음파 파쇄(ultrasonic

disruption)했다. 초음파 처리 완충액 (Sonication buffer): 20 mM 인산완충액(PH6.0) + 300 mM NaCl

[0223] **(2.2.3.2) 제조합 단백질의 1차 정제:** 초음파 파쇄 후 수득된 혼합물을 65°C의 수조에서 30분 동안 배양 (incubating)시킨 후, 상청액을 원심분리에 의해 수집하였으며; 포화 암모늄 설페이트를 1:1의 부피비로 이 상청액에 추가하였고, 침전물을 원심분리에 의해 수집하였으며; 적합한 부피의 완충액 (20 mM 인산염 완충액 (pH = 7.4) + 150 mM NaCl)을 추가하여 침전물을 재현탁시켜서, 1차 정제된 제조합 단백질인 RBHBcAg149-SEQX를 수득하였다.

[0224] **(2.2.3.3) 크로마토그래피에 의한 제조합 단백질의 정제:** 제조사의 설명서에 따라, 2.2.3.2에서 수득된 단백질을 세파로오스 4FF (GE) 분자체 컬럼 크로마토그래피 [Sepharose 4FF (GE) molecular sieve column chromatography]로 더 정제해서, 정제된 제조합 단백질을 수득하였다. 정제된 타겟 단백질을 SDS-PAGE로 검출하였고, 제조합 단백질에 의해 형성된 VLP를 투과 전자현미경(Transmission Electron Microscope, TEM)으로 관측하였다.

[0225] 도 2는 제작된 18종의 제조합 단백질의 SDS-PAGE 결과 및 제조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자의 TEM 결과를 나타낸다. 이 결과는 수득된 18종의 제조합 단백질 모두 85%가 넘는 순도를 갖고, 직경이 약 30nm 인 바이러스-유사 입자로 조립될 수 있음을 보여준다. 이들 결과는 본 발명에서 제작된 폴리펩티드 캐리어가 광범위한 범용성(broad versatility)을 가지며, 다양한 타겟 폴리펩티드의 제시에 사용될 수 있고, VLP를 형성할 수 있음을 보여준다.

[0226] **[실시예 3. 바이러스-유사 입자의 면역원성에 대한 평가]**

[0227] 본 실시예에서, 본 발명자들은 실시예 2에서 제조된 제조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자의 면역원성을 확인하였다. 이러한 바이러스-유사 입자 모두는 유기체 내에서 타겟 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 생성을 유도할 수 있다.

[0228] **3.1 마우스의 면역화**

[0229] 실시예 2에서 제조된 18종의 바이러스-유사 입자로 BALB/C 마우스를 각각 면역화시켰다. 면역화 과정은 다음과 같았다: 사용된 면역보강제(immunoadjuvant)는 수산화 알루미늄 보조제였고; 면역 용량(immunizing dose)은 3 $\mu$ g /투여(dose)였으며; 면역화는 뒷다리(hindlimb)의 외측 허벅지(lateral thigh)에서의 근육 내 주사에 의해 수행되었고; 면역 절차는 1차 면역 + 2주 후 부스터 면역(booster immunization) (즉, 총 2회)이었다.

[0230] **3.2 혈청에서 타겟 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 역가 검출**

[0231] **3.2.1 반응 플레이트(reaction plate)의 제조**

[0232] 코팅 반응 플레이트용 항원은 상기 3종의 타겟 폴리펩티드에 대응하는 타겟 항원, 즉, HIV-1 gp120 단백질(Sino Biological Inc.로부터 구입, 카탈로그 번호 11233-V08H), 인간 PD-L1 단백질(Sino Biological Inc.로부터 구입) 및 CHO 세포에서 재조합적으로 발현되는(recombinantly expressed) 인간 B형 간염 바이러스 표면 항원(HBsAg, Beijing Wantai Biological Pharmacy로부터 구입)이었다.

[0233] 3종의 제조합 단백질을 pH9.6 50mM CB 완충액(NaHCO<sub>3</sub>/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 완충액, 최종 농도 50mM, pH = 9.6)으로 각각, 최종 농도 2 $\mu$ g/mL으로 희석하여 코팅용액을 수득하였다. 96-웰 ELISA 플레이트의 각 웰에, 100  $\mu$ L의 코팅 용액을 추가하였고, 웰을 2-8°C에서 16-24 시간 동안 코팅한 다음, 37°C에서 2시간 동안 추가로 코팅하였다. 그 후, PBST 세척 용액(20 mM PB7.4, 150 mM NaCl, 0.1 % Tween20)을 사용하여 웰을 1회 세척한 다음에; 200  $\mu$ L의 블로킹 용액 [20% 우아 혈청(bovine calf serum)과 1% 카제인(pH = 7.4)을 함유한 20 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 완충용액]을 각 웰에 추가했고, 이 웰을 37°C에서 2시간 동안 블로킹시켰다. 블로킹 용액을 버렸다. 이 후, ELISA 플레이트를 건조시키고, 알루미늄 호일 백으로 포장하여, 나중에 사용하기 위해 2-8°C에 보관하였다.

[0234] **3.2.2 혈청 중 항-HBsAg 항체 역가의 ELISA 검출**

[0235] 혈청 샘플 수집: 0, 2, 4주차에서 마우스의 안와(eye orbit)로부터 혈액을 수집하였고, 혈청을 분리하여 검출할 전까지 -20 °C에서 저온보존(cryopreservation)하였다.

[0236] 샘플 희석: 마우스 혈청을 7단계의 희석 구배, 즉, 1:100, 1:500, 1:2500, 1:12500, 1:62500, 1:312500 및 1:1562500으로, 20% 신생 소 혈청(newborn bovine serum)을 함유하는 PBS 용액을 이용해 희석시켰다.

[0237] ELISA 검출: 코팅된 ELISA 플레이트의 각 웰에, 100 $\mu$ L의 희석된 혈청 샘플을 추가했고, 37°C에서 30분 동안 배

양시켰다. 이어서, ELISA 플레이트를 PBST 세척용액(20mM PB7.4, 150mM NaCl, 0.1 % Tween20)으로 5회 세척하였다. 세척 후, ELISA 플레이트의 각 웰에, 100 $\mu$ l의 GAM-HRP 반응 용액을 추가하여, 37° C에서 30분 동안 배양시켰다. 그 다음, ELISA 플레이트를 PBST 세척 용액 (20mM PB7.4, 150mM NaCl, 0.1%Tween20)으로 5회 세척하였다. 세척 후, ELISA 플레이트의 각 웰에 50 $\mu$ l의 TMB 발색제(Beijing Wantai Biological Pharmacy 제공)를 첨가하여, 37°C에서 15분 동안 배양시켰다. 배양 후, ELISA 플레이트의 각 웰에, 50  $\mu$ L의 정지 용액 (Beijing Wantai Biological Pharmacy에서 제공)을 추가하였고, 각 웰에 대한 OD450/630 값을 ELISA 장치로 판독하였다.

[0238] 항체 역가의 계산: 판독 값이 0.2-2.0 이내인 검체를 샘플을 분석하였고; 희귀 곡선을 희석 배수 및 판독 값을 이용해 플로팅했으며(plotting), 판독 값이 백그라운드 값(background value)의 2배인 샘플의 희석 배수를 계산했고; 샘플의 희석 배수를 혈청 중의 특정 항체의 역가로 사용하였다.

[0239] 도 3은 BALB/C 마우스를 18종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자로 각각 면역화시킨 후에, 시간 경과에 따른 마우스 혈청에서의 타겟 항원에 대한 항체의 역가 변화를 나타낸다. 도 3A: 사용된 타겟 폴리펩티드는 서열번호 20이었고, 항-GP120 항체의 역가를 측정했다; 도 3B: 사용된 타겟 폴리펩티드는 서열번호 21이었고, 항-PD-L1 항체의 역가가 측정되었다; 도 3C: 사용된 타겟 폴리펩티드는 서열번호 22였고, 항-HBsAg 항체의 역가가 측정되었다. 결과는, 18종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자 모두가 좋은 면역 원성을 가지며, 마우스에서 타겟 항원에 특이적으로 결합하는 고-역가 항체의 생성을 유도할 수 있음을 보여준다.

[0240] **[실시예 4. HBsAg 에피토프(서열번호 22)를 제시하는 바이러스-유사 입자의 항-HBV 치료 효과에 대한 평가]**

[0241] 본 실시예에서, 본 발명의 발명자들은 상이한 폴리펩티드 캐리어에 기초해 제작된, 동일한 에피토프 펩티드(서열번호 22)를 제시하는 바이러스-유사 입자의 항-HBV 치료 효과를 평가하였다.

[0242] **4.1 마우스의 면역화**

[0243] 실시예 1-2에서 기술된 방법에 따라, HBsAg 에피토프 (서열번호 22)를 제시하는, 인간 HBV의 HBcAg에 기초해 제작된 2종의 재조합 단백질 (즉, HBcAg183-SEQ22, 이의 아미노산 서열은 서열번호 41에 제시되어 있음; 및 HBcAg149-SEQ22, 이의 아미노산 서열은 서열번호 42에 제시되어 있음)을 제조했고, 2종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자를 제조하였다.

[0244] 이후, 실시예 2에서 제조된 HBsAg 에피토프(서열번호 22)를 제시하는 5종의 바이러스-유사 입자, 및 본 실시예에서 제조된 2종의 바이러스-유사 입자를 HBV 형질전환 마우스 모델에서의 항-HBV 치료 효과에 대해서 평가했다.

[0245] 면역화 방법은 다음과 같았다: 사용된 면역보강제는 수산화 알루미늄 보조제였고; 면역 용량은 12 $\mu$ g/투여였으며; 면역화는 뒷다리의 외측 허벅지에서 근육 내 주사에 의해 수행되었고; 면역 절차는 0, 2, 3, 4, 5 및 6주차(즉, 총 6회)의 면역화였다.

[0246] **4.2 혈청 중 항체 역가 및 바이러스학적 지표(virological index)의 검출**

[0247] 실시예 3.2에 기재된 방법에 따라, 혈청 중 항-HBsAg 항체 역가를 측정하였고, 마우스 혈청 중 바이러스학적 지표(즉, HBV DNA 및 HBsAg의 수준)를 측정하였다.

[0248] **4.3 재조합 단백질의 치료 효과의 분석**

[0249] 검출 결과는 도 4-6에 나타났다. 도 4는 동일한 에피토프 펩티드(서열번호 22)를 제시하는 상이한 바이러스-유사 입자로 HBV 형질전환 수컷 마우스(도 4A) 및 암컷 마우스(도 4B)를 처리한 후에, 시간 경과에 따른 마우스 혈청에서의 HBsAg 수준 변화를 나타낸다. 도 5는 동일한 에피토프 펩티드(서열번호 22)를 제시하는, 상이한 바이러스-유사 입자로 HBV 형질전환 수컷 마우스를 처리한 후에, 시간 경과에 따른 마우스 혈청에서의 HBV DNA 수준 변화를 나타낸다. 도 6은 동일한 에피토프 펩티드(서열번호 22)를 제시하는 상이한 바이러스-유사 입자로 HBV 형질전환 수컷 마우스(도 6A) 및 암컷 마우스(도 6B)를 처리한 후에, 시간 경과에 따른 마우스 혈청에서의 항-HBsAg 항체의 역가 변화를 나타낸다.

[0250] 결과는 VLP를 이용한 면역요법을 받은 그룹에서, 면역화 후에 마우스 혈청에서 항-HBsAg 항체가 검출되었고, 마우스 혈청에서 HBV DNA 및 HBsAg의 수준이 상이한 정도로 감소함을 보여준다. 그에 비해, 대조군 마우스 (VLP로 면역화되지 않음)의 혈청에서는 항-HBsAg 항체가 생성되지 않았으며, 혈청 내 HBV DNA 및 HBsAg 수준의 감소가 관찰되지 않았다.

[0251] 이러한 결과는 박쥐 B형 간염 바이러스 코어 단백질에 기초하여 제작된, 6종의 폴리펩티드 캐리어 모두가 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프 펩티드 (예를 들어, HBsAg-aa113-135)를 효과적으로 제시하는 데 이용될 수 있고, VLP를 형성할 수 있으며, 유기체에서 고-역가 항-HBsAg 항체의 생성을 유도함으로써, 마우스에서 HBV DNA 및 HBsAg의 수준을 억제할 수 있다 (즉, HBV DNA 및 HBsAg가 현저하게 감소함)는 것을 제시한다. 이에 더하여, 도 4-6의 실험 데이터는 본 발명의 폴리펩티드 캐리어(예를 들어, RBHBcAg149 및 TBHBcAg153)에 기초한 바이러스-유사 입자가 인간 HBV의 HBcAg에 기초하여 제작된 바이러스-유사 입자보다 나은, 특히 현저한 항-HBV 치료 효과를 가진다는 것을 또한 제시한다.

[0252] 따라서, 실시예의 실험결과는 다음을 제시한다: (1) 본 발명의 폴리펩티드 캐리어가 VLP를 형성할 수 있고, 다양한 타겟 폴리펩티드의 제시에 적합하며, 유기체에서 타겟 폴리펩티드에 대한 고-역가 항체의 생성을 유도할 수 있다; (2) 본 발명의 폴리펩티드 캐리어는 인간 HBV의 에피토프(예를 들어, 인간 HBV의 HBsAg의 에피토프)의 제시에 특히 적합하고, 유기체에서 HBsAg에 대한 고-역가 항체의 생성을 유도할 수 있으며, 인간 HBV의 HBcAg에 기초하여 제작된 폴리펩티드 캐리어의 효능보다 좋은 효능으로, 생체 내 HBV DNA 및 HBsAg의 수준을 억제하거나 제거할 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 인간 HBV 에피토프를 제시하는 재조합 단백질은 HBV 감염을 치료할 잠재력이 있으며; 효과적이고, 특이적이며, 치료적인 항-HBV 면역화의 유도에 특히 적합하다.

[0253] **[실시예 5. 상이한 HBV 유전자형으로부터의 HBsAg의 에피토프를 제시하는 바이러스-유사 입자의 제조 및 평가]**

[0254] 실시예 2-4에서 사용된 HBsAg 에피토프(서열번호 22)는 HBV 유전자형 B로부터 유래된 것이다. 다양한 HBV 유전자형에 대한 본 발명의 폴리펩티드 캐리어의 광범위한 범용성을 확인하기 위해, 본 발명자들은 또한 RBHBcAg149 및 TBHBcAg153을 예시적 폴리펩티드 캐리어로 사용하여, 상이한 HBV 유전자형(유전자형 A, C 및 D)으로부터의 HBsAg의 에피토프를 제시하는 재조합 단백질을 제작하였고, 제작된 재조합 단백질의 바이러스-유사 입자로 조립되는 능력, 생성된 바이러스-유사 입자의 면역원성, 및 HBV 감염에 대한 이의 치료 효과를 평가하였다.

[0255] **5.1 타겟 폴리펩티드와 폴리펩티드 캐리어를 포함하는, 재조합 단백질을 암호화하는 발현 플라스미드의 제작**

[0256] 본 실시예에서, 실시예 2-4에서 사용된 HBsAg 에피토프(HBV 유전자형 B, 서열번호 22로부터) 이외에, 타겟 폴리펩티드는 HBV 유전자형 A, C 및 D로부터의 HBsAg 에피토프(113-135 위치의 아미노산)를 추가로 포함하였는데, 다음과 같이 표기하였고: HBsAg-aa113-135-A, HBsAg-aa113-135-C 및 HBsAg-aa113-135-D, 이들의 서열(서열번호 60 내지 62)을 표 4에 나타냈다.

[0257] **[표 4: HBV 유전자형 A, C 및 D로부터의 HBsAg 단백질의 113-135 위치의 아미노산의 서열]**

서열번호	명칭	서열 정보
60	HBsAg-aa113-135-A	STTTSTGPCKTCTTPAQGNSMFP
61	HBsAg-aa113-135-C	TSSTTSTGPCKTCTIPAQGTSMFP
62	HBsAg-aa113-135-D	SSTTSTGPCTCTTPAQGTSMYP

[0259] 상기 3종의 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 센스 및 안티센스 서열(표 5에 나타냄)을 직접 합성하여, 어닐링해서, 부착 말단을 지니며 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 유전자 단편을 수득하였다.

[0260] **[표 5: 3종의 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 센스 및 안티센스 서열]**

서열번호	프라이머 명칭	서열 정보
63	HBsAg-aa113-135-AF	GATCCTCTACCACCTCTACCGGTCCGTGCAAAACCTGCA CCACCCCGGCTCAGGGTAACTCTAIGTCCCGG
64	HBsAg-aa113-135-AR	AATTCGGGAACATAGAGTTACCCTGAGCCGGGGTGGTGAG GTTTTCACGACCGGTAGAGGTGGTGGTAGAG
65	HBsAg-aa113-135-CF	GATCCACCTCTACCACCTCTACCGGTCCGTGCAAAACCTGCA CCATCCCGGCTCAGGGTACCTCTAIGTCCCGG
66	HBsAg-aa113-135-CR	AATTCGGGAACATAGAGGTACCCTGAGCCGGGGTGGTGAG GTTTTCACGACCGGTAGAGGTGGTGGTAGAGGTG
67	HBsAg-aa113-135-DF	GATCCTCTTCTACCACCTCTACCGGTCCGTGCCGTACCTGCAC CACCCCGGCTCAGGGTACCTCTATGTACCCGG
68	HBsAg-aa113-135-DR	AATTCGGGTACATAGAGGTACCCTGAGCCGGGGTGGTGAG GTACGGCACGACCGGTAGAGGTGGTAGAAGAG

[0262] 실시예 2에서 기술한 바와 같이, 상기 제조한 타겟 폴리펩티드를 암호화하고, 부착 말단을 갖는 3종의 유전자

단편을 선형 벡터 RBHBcAg149 및 TBHBcAg153에 각각 라이게이션하여, 재조합 단백질을 암호화하는 발현 플라스미드(총 6종: RBHBcAg149-SEQ60, RBHBcAg149-SEQ61, RBHBcAg149-SEQ62, TBHBcAg153-SEQ60, TBHBcAg153-SEQ61, 및 TBHBcAg153-SEQ62)를 수득하였다. 발현 플라스미드에 의해 암호화된 재조합 단백질의 아미노산 서열을 표 6에 나타냈다.

[표 6: 6종의 재조합 단백질의 아미노산 서열]

서열번호	재조합 단백질	서열 정보
69	RBHBcAg149-SEQ60	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTAL RSLNLCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGGGGGGTGSSTTTSTGPKCTCTTPAQ GNSMFPEFGGGGGGGGSDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPT VIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTLPEHTIV
70	RBHBcAg149-SEQ61	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTAL RSLNLCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGGGGGGTGSSTTTSTGPKCTCTTPAQG TSMFPEFGGGGGGGGSDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPTVI EFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTLPEHTIV
71	RBHBcAg149-SEQ62	MDIDPYKEFGASSQLISFLPEDFFPNLAELVETTTALYEEELVGKEHCSPHHTAL RSLNLCWGETVRLITWVRNSVEGGGGGGGGGGTGSSTTTSTGPKCTCTTPAQ GTSMPYFEGGGGGGGGSDAIVQQVQASVGLRMRQLMWFHLSCLTFGQPT VIEFLVSFGTWIRTPQAYRPPNAPILSTLPEHTIV
72	TBHBcAg153-SEQ60	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSP HHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGGGGGGTGSSTTTSTGPKCTCTT PAQGNMFPFEGGGGGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTF GKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPNAPILTLPETSVI
73	TBHBcAg153-SEQ61	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSP HHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGGGGGGTGSSTTTSTGPKCTCTIP AQGTSMPFEGGGGGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTFG KQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPNAPILTLPETSVI
74	TBHBcAg153-SEQ62	MENLERLDIYKEFGVSDVLVSFLPDDFFPTLQQLLESVNALYEDELTPGNHCSP HHTALRHLIMCGVELRDFIDWMHEQGGGGGGGGGGTGSSTTTSTGPKCTCTT PAQGTSMPYFEGGGGGGGGSDADALLAGYLRSKYLKHITKAIWYHLSCLTF GKQTVHEYLVSFGTWIRTPAAYRPNAPILTLPETSVI

5.2 재조합 단백질의 발현, 정제 및 조립

실시예 2에 기술된 바와 같이, 이전 단계에서 제작된 6종의 발현 플라스미드를 사용하여, 발현 플라스미드에 의해 암호화된 재조합 단백질을 발현 및 정제하였다. 이후, 재조합 단백질에 의해 형성된 VLP를 투과 전자현미경(TEM)으로 관찰했다.

도 7은 제작된 6종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자의 TEM 결과를 나타낸다. 결과는 수득된 6종의 재조합 단백질 모두가 직경이 약 30nm인 바이러스-유사 입자로 조립될 수 있음을 보여준다. 이러한 결과는 본 발명에서 제작된 폴리펩티드 캐리어가 광범위한 범용성을 가지며, 다양한 HBV 유전자형으로부터의 에피토프 펩티드(예를 들어, HBsAg 단백질의 aa113-135)를 제시하는 데 사용될 수 있고, VLP를 잘 형성할 수 있음을 보여준다.

5.3 바이러스-유사 입자의 면역원성 평가

실시예 3에 기술된 방법을 사용하여, 상기 제작된 6종의 재조합 단백질 및 실시예 2의 재조합 단백질 RBHBcAg149-SEQ22 및 TBHBcAg153-SEQ22에 의해 형성된 바이러스-유사 입자를 이들의 면역원성에 대해서 평가했다. 실험 결과는 도 8에 나타냈다.

도 8은 8종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자로 BALB/C 마우스를 면역화시킨 후 3주 후에, 마우스의 혈청에서 대응하는 타겟 폴리펩티드(서열 번호 60, 22, 61 및 62)에 대한 항체의 역가를 나타내는데, HBV 유전자형 A로부터의 HBsAg 단백질의 에피토프 펩티드(서열 번호 60)를 사용하여 RBHBcAg149-SEQ60 및 TBHBcAg153-SEQ60으로 면역화된 마우스의 혈청에서 항체 역가를 측정했고; HBV 유전자형 B로부터의 HBsAg 단백질의 에피토프 펩티드(서열번호 22)를 사용하여 RBHBcAg149-SEQ22 및 TBHBcAg153-SEQ22로 면역화된 마우스의 혈청에서 항체 역가를 측정하였으며; HBV 유전자형 C로부터의 HBsAg 단백질의 에피토프 펩티드(서열 번호 61)를 사용하여 RBHBcAg149-SEQ61 및 TBHBcAg153-SEQ61로 면역화된 마우스의 혈청에서 항체 역가를 측정하였고; HBV 유전자형 D로부터의 HBsAg 단백질의 에피토프 펩티드(서열 번호 62)를 사용하여 RBHBcAg149-SEQ62 및

TBHBcAg153-SEQ62로 면역화된 마우스의 혈청에서 항체 역가를 측정했다. 결과는 8종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자가 좋은 면역원성을 가지며, 마우스의 타겟 에피토프에 특이적으로 결합하는 고-역가 항체의 생성을 유도할 수 있음을 보여준다.

[0271] **5.4 바이러스-유사 입자의 항-HBV 치료 효과에 대한 평가**

[0272] 실시예 4에 기재된 방법을 사용하여, 4종의 재조합 단백질 (서열번호 36, 69, 70 및 71)에 의해 형성된 바이러스-유사 입자를 항-HBV 치료 효과에 대해서 평가했다. 실험결과는 도 9에 나타났다.

[0273] 도 9는 상기 제작된 4종의 재조합 단백질(RBHBcAg149-SEQ22, RBHBcAg149-SEQ60, RBHBcAg149-SEQ61, 및 RBHBcAg149-SEQ62; 이들의 서열은 각각 서열번호 36, 69, 70, 및 71임)에 의해 형성된 바이러스-유사 입자로 HBV 형질전환 수컷 마우스(도 9A) 및 암컷 마우스(도 9B)를 처리한 후에, 시간에 따른 마우스 혈청 중 HBsAg 수준의 변화를 나타내며, 세로축: HBsAg 수준(IU/ml); 가로축: 시간[주 (week)]이다. 결과는 VLP를 이용한 면역 요법을 받은 마우스에서, 마우스 혈청의 HBsAg 수준이 면역화 후에 유의하게 감소했다는 것을 보여준다.

[0274] 이러한 실험 결과는, 본 발명의 폴리펩티드 캐리어 (예를 들어, RBHBcAg149 및 TBHBcAg153)가 상이한 유전자형의 인간 HBV(예를 들어, 유전자형 A, B, C 및 D)로부터의 HBsAg의 에피토프 펩티드(예를 들어, HBsAg-aa113-135)를 효과적으로 제시하는 데 사용될 수 있다는 것을 보여준다. 본 발명의 폴리펩티드 캐리어 및 HBsAg의 에피토프 펩티드에 기초하여 제작된, 재조합 단백질은 VLP를 형성할 수 있고, 유기체에서 고-역가 항-HBsAg 항체의 생성을 유도함으로써 마우스에서의 HBsAg 수준을 억제할 수 있다 (즉, HBsAg 수준이 현저하게 감소됨). 이는 본 발명의 폴리펩티드 캐리어 및 HBsAg의 에피토프 펩티드를 포함하는, 재조합 단백질이 다양한 HBV 유전자형에 의한 감염의 예방 및 치료에 사용될 수 있으므로, 새로운 항-HBV 백신 및 약제의 개발에 사용될 수 있음을 나타낸다.

[0275] **[실시예 6. T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 플라스미드의 제작]**

[0276] 이 실시예에서, T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 플라스미드를 제작한다.

[0277] **6.1 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 제조**

[0278] 3종의 박쥐-유래 HBV 코어 항원 (즉, RBHBcAg 단백질, TBHBcAg 단백질, 및 HBHBcAg 단백질)에 기초하여, 다음의 폴리펩티드 캐리어를 설계하였다:

[0279] RBHBcAg189-T3 캐리어, 이 캐리어는 다음의 차이점에 의해, RBHBcAg 단백질 (서열번호 1)과 상이하다: RBHBcAg 단백질의 78-81 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 43에 제시된 링커로 치환됨; RBHBcAg 단백질의 18-27 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 87에 제시된 서열 세트에 치환됨; RBHBcAg 단백질의 50-69 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 88에 제시된 서열 세트에 의해 치환됨; 및 RBHBcAg 단백질의 120-140 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 89에 제시된 서열로 치환됨. RBHBcAg189-T3 캐리어의 아미노산 서열은 서열번호 75에 기재되어 있고, 이의 뉴클레오티드 서열은 서열번호 81에 기재되어 있다.

[0280] TBHBcAg188-T3 캐리어, 이 캐리어는 다음의 차이점에 의해, TBHBcAg 단백질 (서열번호 2)과 상이하다: TBHBcAg 단백질의 80-83 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 43에 제시된 링커에 의해 치환됨; TBHBcAg 단백질의 18-27 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 87에 제시된 서열로 치환됨; TBHBcAg 단백질의 54-73 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 88에 제시된 서열 세트에 치환됨; TBHBcAg 단백질의 124-144 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 89에 제시된 서열 세트에 치환됨. TBHBcAg188-T3 캐리어의 아미노산 서열은 서열번호 76에 제시되어 있고, 이의 뉴클레오티드 서열은 서열번호 82에 제시되어 있다.

[0281] HBHBcAg189-T3 캐리어, 이 캐리어는 다음의 차이점에 의해, HBHBcAg 단백질 (서열번호 3)과 상이하다: HBHBcAg 단백질의 78-81 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 43에 제시된 링커 세트에 의해 치환됨; HBHBcAg 단백질의 18-27 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 87에 제시된 서열 세트에 치환됨; HBHBcAg 단백질의 50-69 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 88에 제시된 서열 세트에 치환됨; HBHBcAg 단백질의 120-140 위치의 아미노산 잔기는 서열번호 89에 제시된 서열로 치환됨. HBHBcAg189-T3 캐리어의 아미노산 서열은 서열번호 77에 제시되어 있고, 이의 뉴클레오티드 서열은 서열번호 83에 제시되어 있다.

[0282] 상기 3종의 캐리어의 뉴클레오티드 서열에 대해서, 이들의 전장 유전자 합성을 Sangon Biotech (Shanghai) Co., Ltd.가 수행했다.

[0283] **6.2 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 플라스미드의 제조**

- [0284] 합성된 뉴클레오티드 서열(예, RBHBcAg189-T3 캐리어)을 주형으로 이용하고, 서열번호 45-47에 제시된 프라이머 세트를 이용하여, RBHBcAg189-T3 캐리어의 전장 유전자와 이의 절단체 (즉, C-말단에서 절단된 유전자 단편)를 PCR로 증폭시켰다. 두 PCR 산물, 즉, RBHBcAg189-T3 캐리어를 암호화하는 유전자(서열번호 81; 이 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 75임), 및 RBHBcAg149-T3 캐리어를 암호화하는 유전자 (서열번호 84; 이 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 78임)를 수득하였다.
- [0285] 유사한 방법에 의해, 다음의 PCR 산물을 수득한다: TBHBcAg188-T3 캐리어를 암호화하는 유전자 (서열번호 82; 이 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 76임); HBHBcAg189-T3 캐리어를 암호화하는 유전자 (서열번호 83; 이 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 77임); TBHBcAg153-T3 캐리어를 암호화하는 유전자 (서열번호 85; 이 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 79임); 및 HBHBcAg149-T3 캐리어를 암호화하는 유전자 (서열번호 86; 이 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열은 서열번호 80임).
- [0286] pTO-T7 벡터 (Luo Wenxin, Zhang Jun, Yang Haijie, et al., Construction and Application of an Escherichia coli High Effective Expression Vector with an Enhancer [J], Chinese Journal of Biotechnology, 2000, 16(5): 578-581)를 NdeI 및 HindIII로 이중 효소 절단하여 선형 벡터를 수득하였다. 김슨 어셈블리 클로닝법 (New England Biolabs (UK) Ltd)을 이용하여, 수득된 PCR 산물을 선형 벡터로 라이게이션했고, DH5a 컴피턴트 박테리아로 형질전환했다. 형질전환된 박테리아를 플레이트 상에 도말하여 배양한 다음에, 단일클론 콜로니를 선별하였으며, 플라스미드를 추출 및 시퀀싱했다. 시퀀싱으로, 폴리펩티드 캐리어를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 6종의 플라스미드가 수득되었음을 확인하였다.
- [0287] **[실시에 7. 재조합 단백질의 제조]**
- [0288] 본 실시예에서, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 실시예 6에서 제작된 플라스미드로 삽입하였고, 타겟 폴리펩티드와 폴리펩티드 캐리어를 포함하는, 재조합 단백질을 수득하였다. 본 발명의 RBHBcAg-T3 캐리어, TBHBcAg-T3 캐리어 및 HBHBcAg-T3 캐리어로 타겟 폴리펩티드 (타겟 항원 펩티드 단편)를 삽입함으로써 재조합 단백질이 제작되는, 클로닝 솔루션의 도식을 도 10에 나타냈다.
- [0289] **7.1 타겟 폴리펩티드와 폴리펩티드 캐리어를 포함하는, 재조합 단백질을 암호화하는 발현 플라스미드의 제작**
- [0290] 본 실시예에서, 본 발명의 인간 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어가 타겟 폴리펩티드의 제시에 이용될 수 있다는 것을 확인하였다. 사용된 예시적 타겟 폴리펩티드는 HBsAg-aa113-135였다 [즉, 인간 HBV로부터의 B형 간염 표면 항원 (HBsAg)의 113-135 위치의 아미노산 잔기, 이의 아미노산 서열은 서열번호 22에 기재됨].
- [0291] 부착 말단을 가지며, 타겟 폴리펩티드 HBsAg-aa113-135를 암호화하는 유전자 단편을 실시예 2에 기재된 대로 제조하였다. 실시예 6에서 수득한 플라스미드인 RBHBcAg189-T3와 RBHBcAg149-T3를 BamHI과 EcoRI으로 이중 효소 절단하여, 2종의 선형 벡터를 수득하였다. 이어서, 상기 제조된, 부착 말단을 지니며, 타겟 폴리펩티드를 암호화하는 유전자 단편을 선형 벡터로 각각 라이게이션하여, 다음의 재조합 단백질을 암호화하는 발현 플라스미드를 수득하였다: RBHBcAg189-T3-SEQ22 (서열번호 90) 및 RBHBcAg149-T3-SEQ22 (서열번호 91).
- [0292] 유사한 방법으로, 다음의 재조합 단백질을 암호화하는 발현 벡터를 수득하였다: TBHBcAg188-T3-SEQ22 (서열번호 92), TBHBcAg153-T3-SEQ22 (서열번호 93), HBHBcAg189-T3-SEQ22 (서열번호 94) 및 HBHBcAg149-T3-SEQ22 (서열번호 95).
- [0293] **7.2 재조합 단백질의 발현, 정제 및 조립**
- [0294] 상기 제조한, 발현 플라스미드에 의해 암호화된 재조합 단백질을 실시예 2.2에 기술된 방법을 통해 발현 및 정제하였고, VLP의 조립에 이용하였다.
- [0295] 도 11은 제작된 2종의 재조합 단백질 (RBHBcAg189-T3-SEQ22 및 RBHBcAg149-T3-SEQ22)의 SDS-PAGE 결과와 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자의 투과 전자현미경 (TEM) 결과를 나타낸다. 이 결과들은 수득된 두 단백질 모두가 85%가 넘는 순도를 가졌고, 직경이 약 30nm인 바이러스-유사 입자로 조립될 수 있음을 제시하였다.
- [0296] 또한, 상기 방법에 의해, 재조합 단백질인 TBHBcAg188-T3-SEQ22, TBHBcAg153-T3-SEQ22, HBHBcAg189-T3-SEQ22, 및 HBHBcAg149-T3-SEQ22가 잘-형성된 바이러스-유사입자(well-formed virus-like particle)로 또한 조립될 수 있음을 확인할 수 있었다.

- [0297] 이들 결과는 본 발명에 의해 제작된 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어가 타겟 폴리펩티드의 제시에 이용될 수 있고, VLP를 형성할 수 있음을 나타낸다.
- [0298] **[실시예 8. 바이러스-유사 입자의 면역원성에 대한 평가]**
- [0299] 본 실시예에서, 본 발명의 발명자들은 실시예 7에서 제조한 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자의 면역원성을 확인했다. 이러한 바이러스-유사 입자 모두는 유기체에서 타겟 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 생성을 유도할 수 있다.
- [0300] **8.1 마우스의 면역화**
- [0301] BALB/C 마우스를 실시예 7에서 제조된 2종의 바이러스-유사 입자 (RBHBcAg189-T3-SEQ22 및 RBHBcAg149-T3-SEQ22) 및 실시예 2에서 제조된 2종의 바이러스-유사 입자 (RBHBcAg189-SEQ22 및 RBHBcAg149-SEQ22)로 각각 면역화시켰다. 면역화 과정은 다음과 같았다: 사용된 면역보강제(immunoadjuvant)는 수산화 알루미늄 보조제였고; 면역 용량(immunizing dose)은 3 $\mu$ g/투여였으며; 면역화는 뒷다리(hindlimb)의 외측 허벅지(lateral thigh)에서의 근육 내 주사에 의해 수행되었고; 면역 절차는 0, 2, 3, 4, 5 및 6주차에서 각각 일회, 총 6회의 면역화였다.
- [0302] **8.2 혈청에서 타겟 항원에 특이적으로 결합하는 항체 역가의 검출**
- [0303] **8.2.1 반응 플레이트의 제조**
- [0304] 반응 플레이트를 코팅하는 항원은 타겟 폴리펩티드 SEQ22에 대응하는 타겟 항원, 즉, CHO 세포에서 재조합적으로 발현된 인간 B형 간염 바이러스 표면 항원이었다 (HBsAg, Beijing Wantai Biological Pharmacy에서 구입함).
- [0305] HBsAg 단백질을 pH9.6의 50 mM CB 완충액 (NaHCO<sub>3</sub>/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 완충액, 50mM의 최종농도, pH=9.6)으로, 2  $\mu$ g/mL의 최종농도로 희석하여, 코팅 용액을 수득하였다. 96-웰 ELISA 플레이트의 각 웰에, 100  $\mu$ L의 코팅 용액을 추가하였고, 이 웰들을 2-8° C에서 16-24시간 동안 코팅시킨 다음에, 37° C에서 2시간 동안 더 코팅시켰다. 이후, PBST 세척 용액 (20 mM PB7.4, 150 mM NaCl, 0.1% Tween20)을 이용하여 웰들을 일회 세척한 다음에; 200  $\mu$ L의 블로킹 용액 (20% 우아 혈청 및 1% 카제인을 함유하는 20 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 완충 용액, pH=7.4)을 각 웰에 추가하였고, 이 웰들을 37° C에서 2시간 동안 블로킹시켰다. 블로킹 용액을 버렸다. 이 후에, ELISA 플레이트를 건조시켰고, 알루미늄 호일 백으로 포장했는데, 후의 사용에 대비하여 이를 2-8° C에 보관하였다.
- [0306] **8.2.2 혈청 내 항-HBsAg 항체 역가의 ELISA 검출**
- [0307] 혈청 샘플의 수집: 0, 2, 3, 4, 5, 6 및 7주차에서, 마우스의 안와로부터 혈액을 수집하였고, 혈청을 분리하여 검출 전까지 -20° C에서 저온보존하였다.
- [0308] 샘플 희석: 마우스 혈청을 20% 신생 소 혈청을 함유하는 PBS 용액을 이용하여 7단계의 희석 구배(dilution gradient), 즉, 1:100, 1:500, 1:2500, 1:12500, 1:62500, 1:312500, 및 1:1562500으로 희석하였다.
- [0309] ELISA 검출: 코팅된 ELISA 플레이트의 각 웰에, 100  $\mu$ L의 희석된 혈청 샘플을 추가하였고, 37° C에서 30분 동안 배양시켰다. 이어서, ELISA 플레이트를 PBST 세척 용액 (20mM PB7.4, 150mM NaCl, 0.1%Tween20)으로 5회 세척하였다. 세척 후, ELISA 플레이트의 각 웰에, 100  $\mu$ L의 GAM-HRP 반응 용액을 추가하였고, 37° C에서 30분 동안 배양시켰다. 이어서, ELISA 플레이트를 PBST 세척 용액(20mM PB7.4, 150mM NaCl, 0.1%Tween20)으로 5회 세척하였다. 세척 후, ELISA 플레이트의 각 웰에, 50  $\mu$ L의 TMB 발색제 (Beijing Wantai Biological Pharmacy가 제공)를 추가하여, 37° C에서 15분 동안 배양시켰다. 배양 후, ELISA 플레이트의 각 웰에, 50  $\mu$ L의 정지 용액 (Beijing Wantai Biological Pharmacy가 제공)을 추가하였고, 각 웰에 대해서 OD450/630 값을 ELISA 장치로 판독하였다.
- [0310] 항체 역가의 계산: 판독 값이 0.2-2.0 이내의 샘플을 분석하였고; 희귀 곡선을 희석 배수(dilution fold)와 판독 값(read value)을 이용하여 플로팅하였으며, 판독 값이 백그라운드 값의 2배인 샘플의 희석 배수를 계산하였고; 샘플의 희석 배수를 혈청 내 특정 항체의 역가로 이용했다.
- [0311] 도 12는 4종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자로 BALB/C 마우스를 각각 면역화시킨 후에, 시간에 따른 마우스 혈청 내 타겟 항원 HBsAg에 대한 항체 역가의 변화를 나타낸다. 이 결과들은 4종의 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자 모두가 좋은 면역원성을 가지며, 마우스에서 타겟 항원 HBsAg에 특이

적으로 결합하는 고-역가 항체의 생성을 유도할 수 있다는 것을 나타낸다. 또한, 이 결과들은 마우스에서, 실시예 7에서 제조된 바이러스-유사 입자인 RBHBcAg189-T3-SEQ22 및 RBHBcAg149-T3-SEQ22의 면역원성이 실시예 2에서 제조된 바이러스-유사 입자인 RBHBcAg189-SEQ22와 RBHBcAg149-SEQ22의 면역원성과 비슷하다는 것을 나타낸다.

[0312] 유사한 방법으로, 바이러스-유사 입자인 TBHBcAg188-T3-SEQ22, TBHBcAg153-T3-SEQ22, HBHBcAg189-T3-SEQ22, 및 HBHBcAg149-T3-SEQ22가 좋은 면역원성을 가진다는 것이 증명되었다.

[0313] 이 결과들은 본 발명의 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어가 타겟 폴리펩티드의 제시에 적합하고, VLP를 형성할 수 있으며; T 세포 에피토프와 타겟 폴리펩티드를 운반하는 폴리펩티드 캐리어를 포함하는, 재조합 단백질에 의해 형성된 바이러스-유사 입자가 유기체에서 타겟 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 고-역가의 항체의 형성을 유도할 수 있음을 나타낸다.

[0314] **[실시예 9. HBsAg 에피토프 (서열번호 22)를 제시하는 바이러스-유사 입자의 항-HBV 치료 효과에 대한 평가]**

[0315] 본 실시예에서, 본 발명의 발명자들은 상이한 폴리펩티드 캐리어에 기초하여 제작된, 동일한 펩티드(서열번호 22)를 제시하는 바이러스-유사 입자의 항-HBV 치료 효과를 평가했다.

[0316] **9.1 마우스의 면역화**

[0317] 실시예 4에 기술된 대로, 실시예 7에서 제조된 바이러스-유사 입자인 RBHBcAg149-T3-SEQ22와 실시예 2에서 제조된 바이러스-유사 입자 RBHBcAg149-SEQ22 [HBsAg의 에피토프(서열번호 22)를 제시하는 2종의 바이러스-유사 입자]를 HBV 형질전환 마우스 모델에서 항-HBV 치료 효과에 대해 평가하였다.

[0318] 면역화 방법은 다음과 같았다: 사용된 면역보강제(immunoadjuvant)는 수산화 알루미늄 보조제였고; 면역 용량은 12 µg/투여였으며; 면역화는 뒷다리(hindlimb)의 외측 허벅지(lateral thigh)에서의 근육 내 주사에 의해 수행되었고; 면역 절차는 0, 2, 3, 4, 5, 및 6주차에서의, 각 일회, 총 6회의 면역화였다.

[0319] **9.2 혈청에서 항체 역가 및 바이러스학적 지표의 검출**

[0320] 실시예 3.2에 기술된 방법에 따라, 혈청 중 항-HBsAg 항체 역가를 측정하였고, 마우스 혈청 중 바이러스학적 지표 (즉, BV DNA 및 HBsAg의 수준)를 측정하였다.

[0321] **9.3 재조합 단백질의 치료학적 효과의 분석**

[0322] 검출 결과는 도 13-15에 제시되어 있다. 도 13은 동일한 에피토프 펩티드 (서열번호 22)를 제시하는, 상이한 바이러스-유사 입자로 HBV 형질 전환 수컷 마우스 (도 13A) 및 암컷 마우스 (도 13B)를 처리한 후, 시간에 따른 마우스 혈청 중 HBsAg 수준의 변화를 나타낸다. 도 14는 HBV 형질전환 수컷 마우스 (도 14A) 및 암컷 마우스 (도 14B)를 동일한 에피토프 펩티드 (서열번호 22)를 제시하는 상이한 바이러스-유사 입자로 처리 후, 시간에 따른 마우스 혈청 중 HBV DNA 수준의 변화를 나타낸다. 도 15는 HBV 형질전환 수컷 마우스 (도 15A) 및 암컷 마우스 (도 15B)를 동일한 에피토프 펩티드(서열번호 22)를 제시하는, 상이한 바이러스-유사 입자로 처리한 후, 시간에 따른 마우스 혈청에서의 항-HBsAg 항체의 역가 변화를 나타낸다.

[0323] 이 결과들은 바이러스-유사 입자인 RBHBcAg149-T3-SEQ22 또는 바이러스-유사 입자인 RBHBcAg149-SEQ22를 이용한 면역요법을 받는 그룹에서, 면역화 후에 항-HBsAg 항체의 유의한 수준이 마우스 혈청에서 검출되었고, 마우스 혈청 중 HBV DNA 및 HBsAg의 수준이 유의하게 감소했으며, 두 종의 바이러스-유사 입자의 효능이 비슷했다는 것을 나타낸다. 이와 대조적으로, 대조군 마우스 (VLP으로 면역화되지 않음)의 혈청에서는 생성된 항-HBsAg 항체가 존재하지 않았고, 혈청 중 HBV DNA 및 HBsAg의 수준의 감소가 관찰되지 않았다.

[0324] 유사한 방법으로, 바이러스-유사 입자인, RBHBcAg189-T3-SEQ22, TBHBcAg188-T3-SEQ22, TBHBcAg153-T3-SEQ22, HBHBcAg189-T3-SEQ22, 및 HBHBcAg149-T3-SEQ22가 좋은 면역원성을 갖는다는 것을 확인했다.

[0325] 이들 결과는 박쥐 B형 간염 바이러스 코어 단백질에 기초하여 제작된, T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 모두가 인간 HBV로부터의 HBsAg의 에피토프(예, HBsAg-aa113-135)의 효과적인 제시에 이용될 수 있고, VLP를 형성할 수 있으며, 숙주에서 고-역가의 항-HBsAg 항체의 형성을 유도함으로써, 마우스에서 HBV DNA 및 HBsAg의 수준을 저해시킨다(즉, 유의하게 감소한 HBV DNA 및 HBsAg)는 것을 제시한다. 또한, 도 13-15에서의 실험 데이터는 바이러스-유사 입자인 RBHBcAg149-T3-SEQ22와 RBHBcAg149-SEQ22가 비슷한 항-HBV 치료 효과를 가졌다는 것을 또한 나타낸다. 실시예 4에서의 도 4-6의 실험 결과와 조합하면, 본 발명의 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어 (예, RBHBcAg149-T3)에 기초한 바이러스-유사 입자가 특히 현저한 항-HBV 치료 효과를 가진다

고 볼 수 있는데, 이는 인간 HBV의 HBcAg에 기초해 제작된 바이러스-유사 입자보다 뛰어난 것이다.

[0326] 그러므로, 실시예에서의 실험 결과는 다음을 나타낸다: (1) 본 발명의 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어는 VLP를 형성할 수 있고, 타겟 폴리펩티드의 제시에 적합하며, 유기체에서 타겟 폴리펩티드에 대한 고-역가의 항체의 형성을 유도할 수 있다; (2) 본 발명의 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어는 인간 HBV의 에피토프(예, 인간 HBV의 HBsAg의 에피토프)의 제시에 특히 적합하고, 유기체에서 HBsAg에 대한 고-역가의 항체의 형성을 유도할 수 있으며, 인간 HBV의 HBcAg에 기초해 제작된 폴리펩티드 캐리어의 효능보다 더 좋은 효능으로, *생체 내* HBV DNA 및 HBsAg의 수준을 제거하거나 또는 저해할 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 인간 HBV 에피토프를 제시하는 재조합 단백질은 HBV 감염의 치료에서 잠재력이 있고; 효과적이고, 특이적이며, 치료적인 항-HBV 면역화의 유도에 특히 적합하다.

[0327] **[실시예 10. 면역 세포를 자극해서 IFN  $\gamma$ 를 분비하도록 하는, T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어에 기초한 바이러스-유사 입자의 능력 평가]**

[0328] 본 실시예에서, 면역 세포를 자극해서 IFN  $\gamma$ 를 분비하도록 하는, T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어에 기초한 바이러스-유사 입자의 능력을 평가하였다. 간단히 말해서, 실시예 7에서 제조된 바이러스-유사 입자 RBHBcAg149-T3-SEQ22와 실시예 2에서 제조된 바이러스-유사 입자 RBHBcAg149-SEQ22 각각을 B형 간염으로부터 수득한 전혈 샘플과 함께 배양시킨 다음에, 전혈 샘플에서 IFN  $\gamma$ 를 검출하여, B형 간염 환자의 전혈 샘플에서 면역 세포를 자극해서 IFN  $\gamma$ 를 분비하도록 하는 바이러스-유사 입자의 능력을 평가했다.

[0329] **10.1 바이러스-유사 입자와 전혈 샘플의 공동-배양**

[0330] B형 간염 환자(26)로부터 전혈 샘플을 수집하였고, 3개의 1.5 mL EP 튜브 (튜브 당 500  $\mu$ L)로 분배하여, 바이러스-유사 입자인 RBHBcAg149-T3-SEQ22, RBHBcAg149-SEQ22 및 PBS [음성 대조군으로 이용됨, 독소이드(toxoid) 없음]와 함께 24시간 동안 37° C에서 각각 배양시켰다 (2  $\mu$ g/mL의 최종 단백질 농도). 배양 후에, 전혈 샘플을 4000 rpm에서 5분 동안 원심분리시켰고, 다음 단계를 준비하여 상청액을 수집하였다.

[0331] **10.2 IFN  $\gamma$ 의 검출**

[0332] 제조사의 설명서에 따라, Millipore로부터 구매한 인간 사이토카인 검정 키트인, MILLIPLEX MAP-인간 세포 신호 전달 포트폴리오(MILLIPLEX MAP-Human Cell Signaling Portfolio)를 이용하여 상청액 샘플 중 IFN  $\gamma$  수준을 검출하였다. 이 결과를 도 16에 나타냈다.

[0333] 도 16은 B형 간염 환자로부터 수득한 전혈 샘플과 바이러스-유사 입자인 RBHBcAg149-T3-SEQ22 또는 바이러스-유사 입자인 RBHBcAg149-SEQ22를 함께 배양시킨 후에, 전혈 샘플 중에 분비된 IFN  $\gamma$  수준을 나타낸다. 이 결과는 RBHBcAg149-T3-SEQ22와 함께 배양된 전혈 샘플 중 IFN  $\gamma$ 의 수준이 RBHBcAg149-SEQ22와 함께 배양된 전혈 샘플 ( $p=0.0021$ ) 또는 PBS와 함께 배양된 전혈 샘플( $p=0.0037$ )의 수준보다 유의하게 더 높았다는 것을 제시한다.

[0334] 유사한 방법으로, 바이러스-유사 입자인, RBHBcAg189-T3-SEQ22, TBHBcAg188-T3-SEQ22, TBHBcAg153-T3-SEQ22, HBHBcAg189-T3-SEQ22 및 HBHBcAg149-T3-SEQ22는 B형 간염으로부터 수득된 전혈 샘플에서 면역 세포에 의한 IFN  $\gamma$ 의 분비를 또한 자극할 수 있다는 것이 밝혀질 수 있었다.

[0335] 이들 결과는 본 발명의 인간 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어 및 이에 기초하여 제작된 재조합 단백질/바이러스-유사 입자가 인간 면역 세포에 의한 IFN  $\gamma$ 의 분비를 자극할 수 있으므로, 폴리펩티드 캐리어 및 타겟 폴리펩티드를 포함하는, 재조합 단백질/바이러스-유사 입자에 대한 인체의 면역 반응을 강화시킬 수 있다는 것을 나타낸다. 본 발명의 인간 T 세포 에피토프를 운반하는 폴리펩티드 캐리어는 인간 T 세포 반응의 강화에 대한 현저한 이점을 지닌다.

[0336] **[실시예 11. 링커를 지니지 않는 폴리펩티드 캐리어에 기초하여 제작된 재조합 단백질의 제조, 발현, 정제 및 조립]**

[0337] 본 실시예에서, 본 발명의 발명자들은 링커를 지니지 않는 폴리펩티드 캐리어를 이용해서 타겟 폴리펩티드를 제시하여, 타겟 폴리펩티드 및 링커가 없는 폴리펩티드 캐리어를 포함하는, 재조합 단백질을 수득하였다. 또한, 본 발명자들은 VLP로 조립하는, 수득된 재조합 단백질의 능력을 또한 연구했다.

[0338] 간단히 말해서, 실시예 7에서 수득된 재조합 단백질인, RBHBcAg149-T3-SEQ22를 암호화하는 발현 플라스미드에 기초하여, 재조합 단백질인 RBHBcAg149n-T3-SEQ22 (서열번호 96에 제시된 아미노산 서열 세트를 가짐)를 발현하는 발현 플라스미드를 제작했는데, 타겟 폴리펩티드인 SEQ22의 양 말단에 위치한 가요성 링커가 결실되었다는

점에서, 재조합 단백질인 RBHBcAg149n-T3-SEQ22는 재조합 단백질인 RBHBcAg149-T3-SEQ22와 상이하다. 재조합 단백질인 RBHBcAg149n-T3-SEQ22를 암호화하는 발현 플라스미드의 제작 방법은 다음과 같다:

[0339] 재조합 단백질인 RBHBcAg149-T3-SEQ22를 암호화하는 발현 플라스미드를 주형으로 이용하여, 제1 프라이머 쌍인, RBc149nF1 (서열번호 97)과 RBc149nR1 (서열번호 98)을 이용해서 PCR을 수행하여, 제1 증폭 산물을 획득하였고; 제2 프라이머 쌍인 RBc149nF2 (서열번호 99)와 RBc149nR2 (서열번호 100)를 이용해서 PCR을 수행하여, 제2 증폭 산물을 획득하였다. 후속적으로, 제1 증폭 산물과 제2 증폭 산물을 함께 주형으로 이용하여, 프라이머인 RBc149nF1 (서열번호 97)과 RBc149nR2 (서열번호 100)를 이용해서 PCR을 수행하여 제3 증폭 산물, 즉, 재조합 단백질인 RBHBcAg149n-T3-SEQ22를 암호화하는 핵산 단편을 획득하였다.

[0340] [표 7: 프라이머 서열]

서열번호	프라이머 명칭	서열
97	RBc149nF1	AACTTTAAGAAGGAGATATACATATGGACATCGACCCGTACAAAGAATTC
98	RBc149nR1	GAGTTGTGCAGTTTTGCATGGTCCGGTCTGGTTGTTGATGAACCTTCAACAGAGTTAC
99	RBc149nF2	CAAACCTGCACAACCTCTGCTCAAGGAACCTCTATGTTTCCCGAGGACGCTATCGTTCA
100	RBc149nR2	TGGTGCTCGAGTGCAGCGCCCAAGCTTAGATAACGGTGTGTTCCGGCAGGGTAG

[0341]

[0342] pTO-T7 벡터를 NdeI과 HindIII에 의해 이중 효소 절단하여, 선형 벡터를 획득하였다. 김슨 조립 클로닝법 (New England Biolabs (UK) Ltd)에 의해, 획득된 제3 증폭 산물을 이 선형 벡터에 라이게이션하여, ER2566 컴피턴트 박테리아로 형질전환하였다. 형질전환된 박테리아를 플레이트 상에 도말하여 배양시킨 다음에, 단일클론 콜로니를 선별하였고, 플라스미드를 추출하여 시퀀싱하였다. 재조합 단백질인 RBHBcAg149n-T3-SEQ22를 암호화하는 뉴클레오티드 단편을 지닌 발현 플라스미드가 획득되었다는 것을 시퀀싱으로 확인하였다.

[0343] 후속적으로, 실시예 2의 섹션 2.2에 기술된 방법에 따라서 재조합 단백질인 RBHBcAg149n-T3-SEQ22를 발현 및 정제하였고, 정제된 재조합 단백질을 SDS-PAGE로 검출하였으며, 이 재조합 단백질에 의해 형성된 VLP를 투과 전자현미경으로 관찰했다. 실험 결과는 도 17에 제시했다.

[0344] 도 17은 정제된 재조합 단백질인 RBHBcAg149n-T3-SEQ22의 SDS-PAGE 결과와 이 재조합 단백질로부터 형성된 바이러스-유사 입자의 투과 전자현미경 관찰결과를 나타낸다. 이 결과들은 획득된 재조합 단백질이 85%를 초과하는 순도를 가지며, 직경이 약 30nm인 바이러스-유사 입자로 조립될 수 있다는 것을 나타낸다. 이들 결과는 본 발명에 의해 제작된, 링커를 지니지 않는 폴리펩티드 캐리어가 타겟 폴리펩티드의 제시에 이용될 수 있으며, VLP를 형성할 수 있다는 것을 나타낸다.

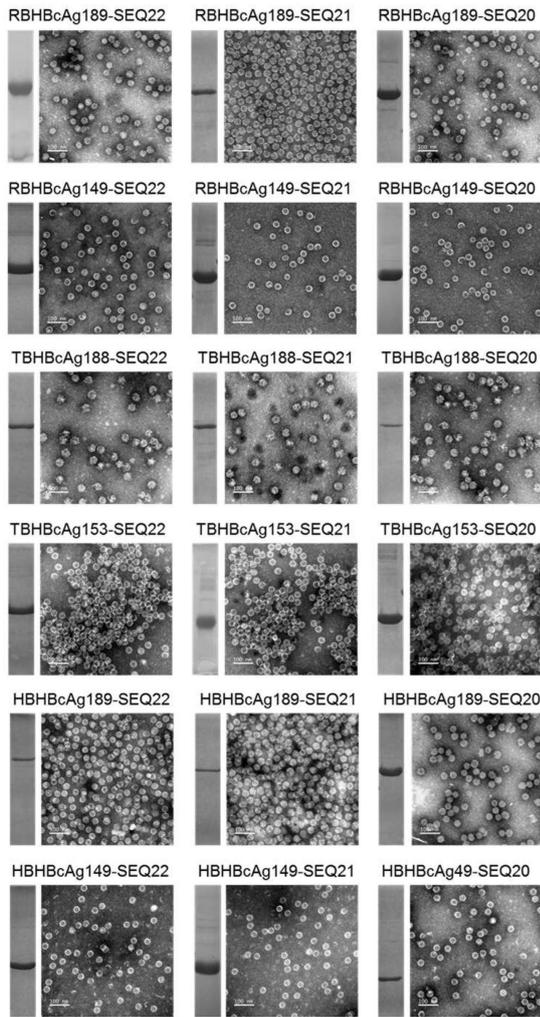
[0345] 본 발명의 실시예가 상술되었으나, 당업자는 모든 개시된 교시에 따라, 세부사항이 수정되거나 변경될 수 있으며, 이러한 변경은 모두 본 발명의 보호범위 내에 있다는 것을 이해할 것이다. 본 발명의 범위는 첨부된 청구 범위 및 이의 임의의 등가물에 의해 정의된다.

**도면**

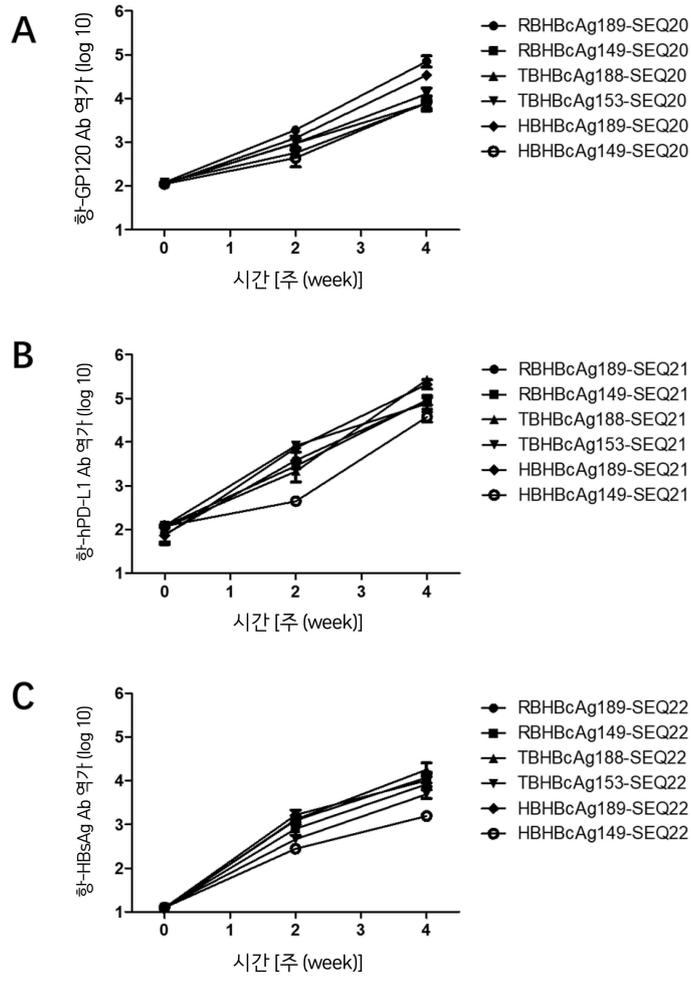
**도면1**



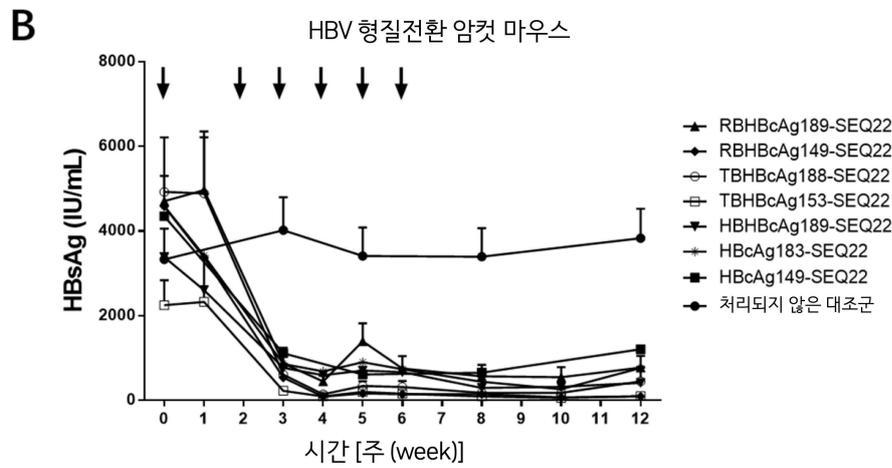
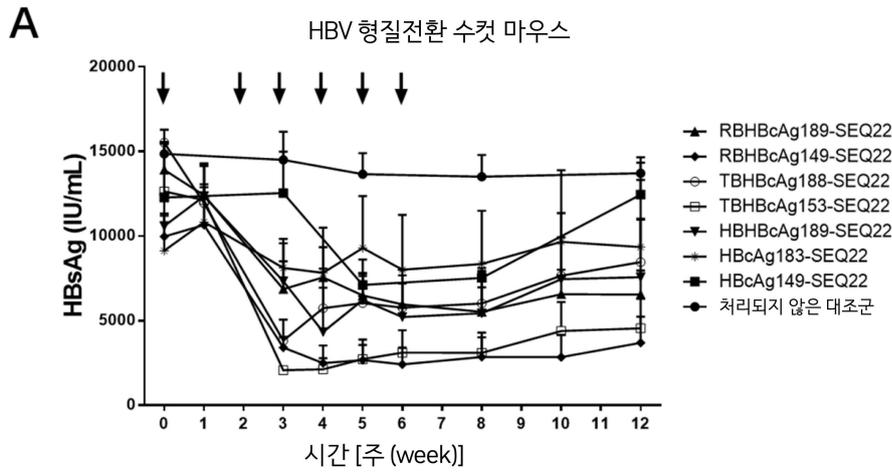
도면2



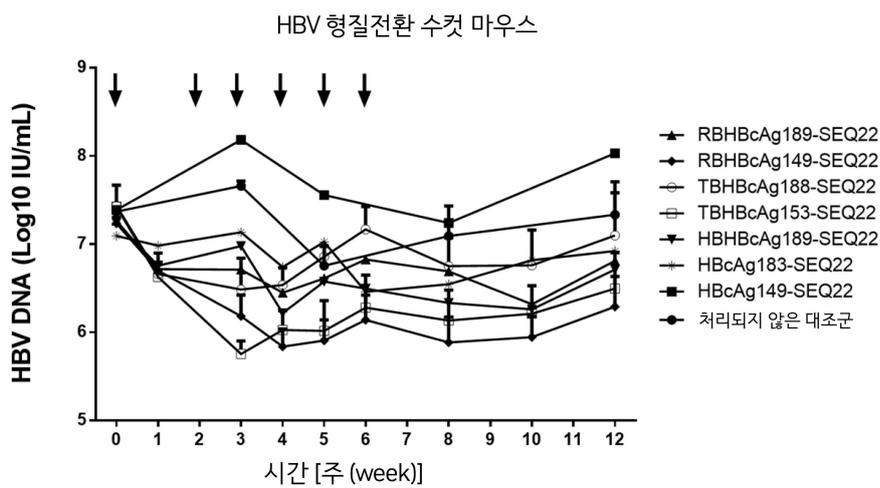
도면3



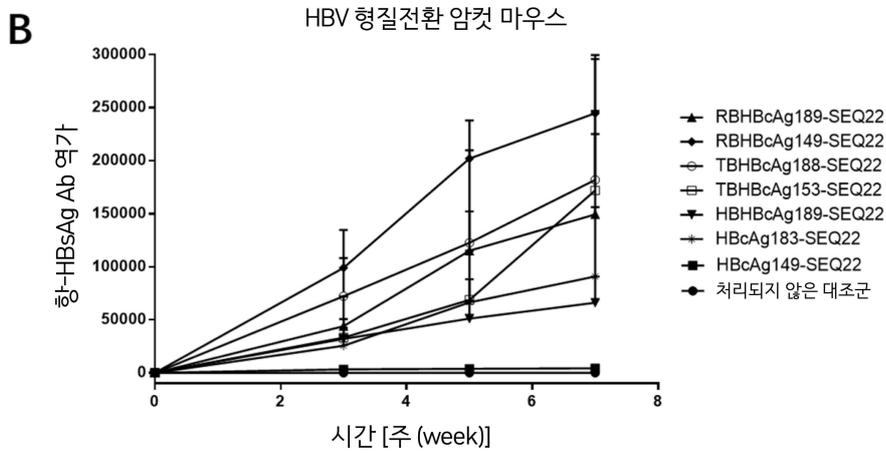
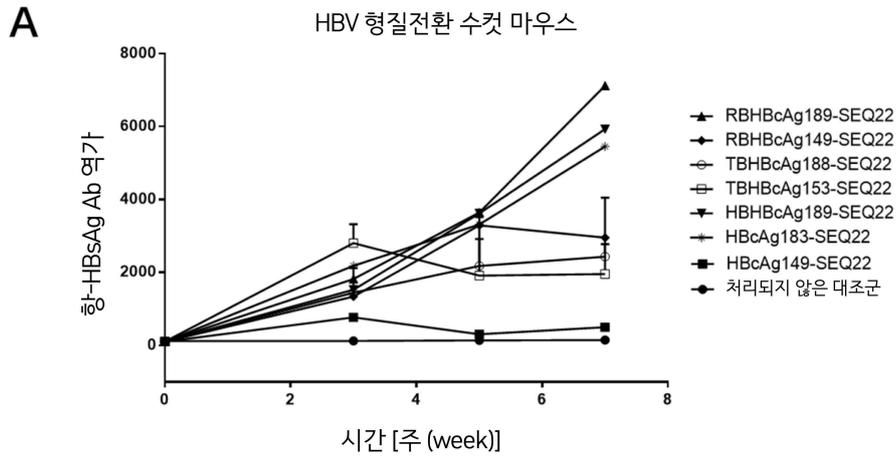
도면4



도면5

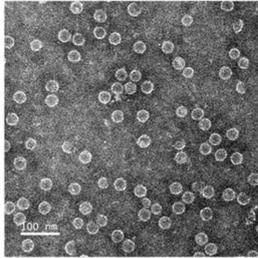


도면6

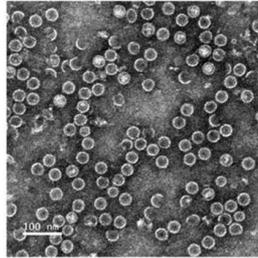


도면7

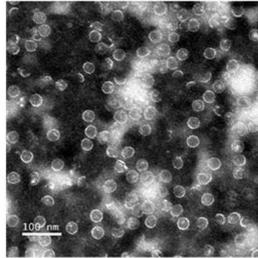
RBHBcAg149-SEQ60



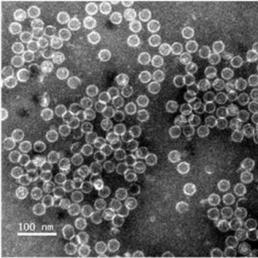
TBHBcAg153-SEQ60



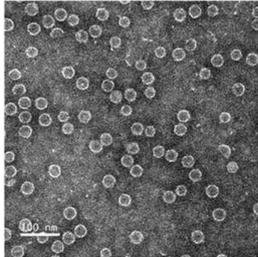
RBHBcAg149-SEQ61



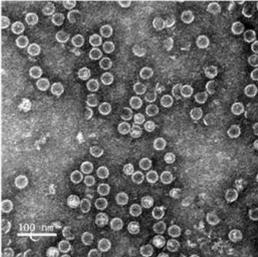
TBHBcAg153-SEQ61



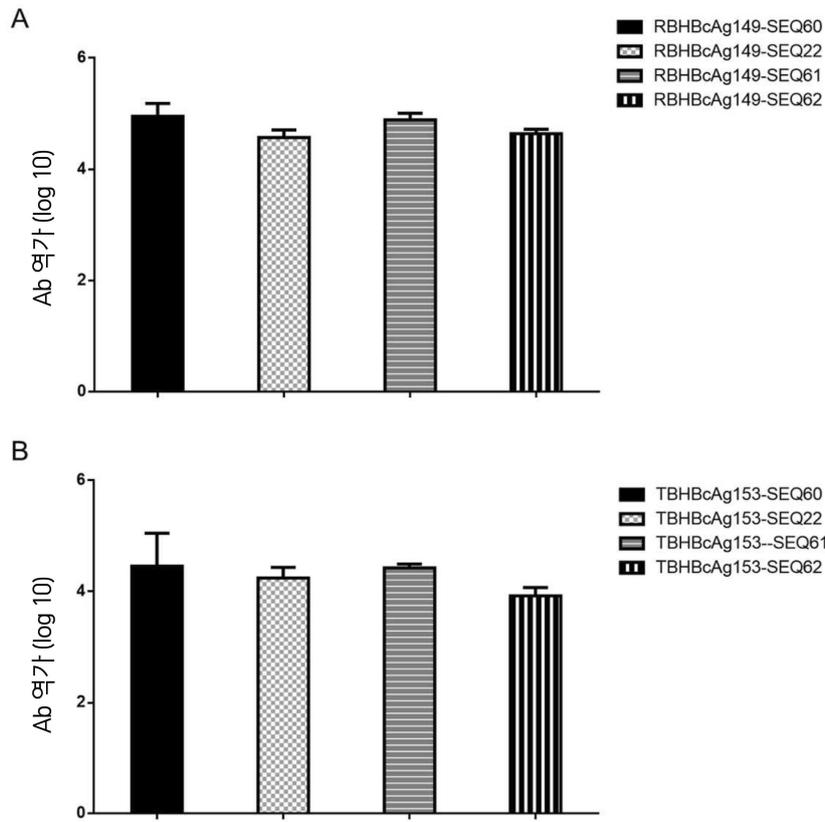
RBHBcAg149-SEQ62



TBHBcAg153-SEQ62

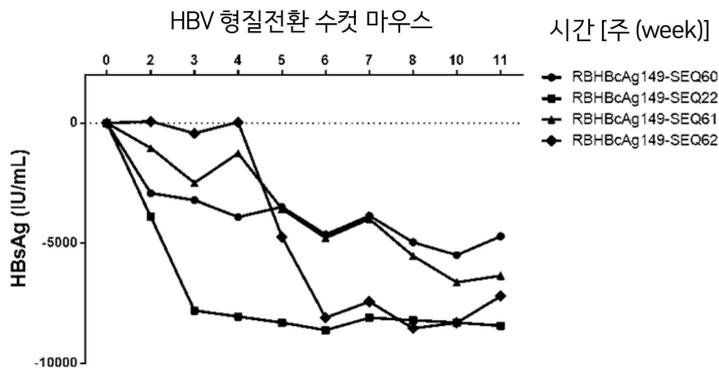


도면8

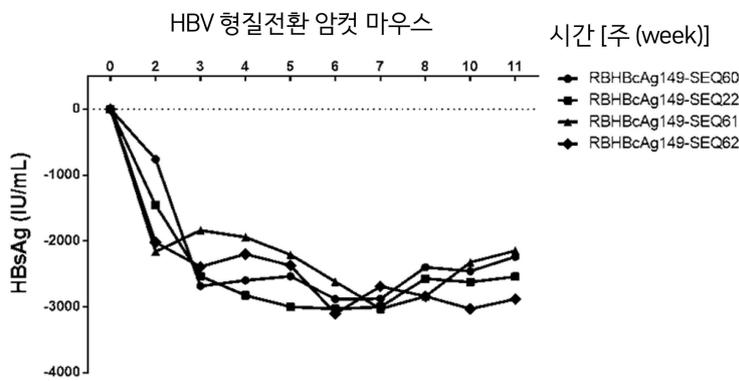


도면9

A

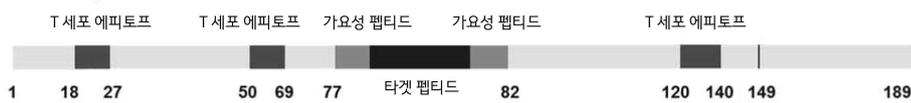


B

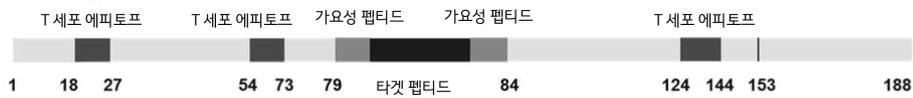


도면10

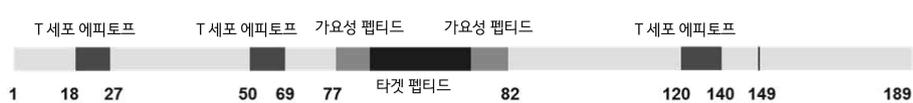
RBHBcAg-T3 캐리어



TBHBcAg-T3 캐리어

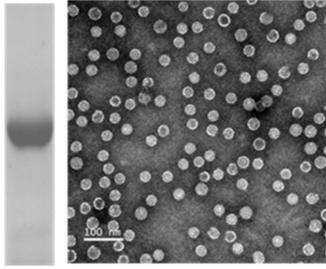


HBHBcAg-T3 캐리어

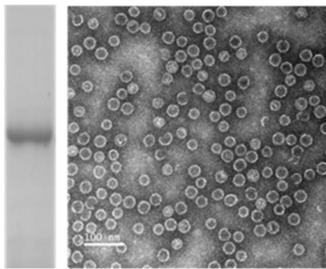


도면11

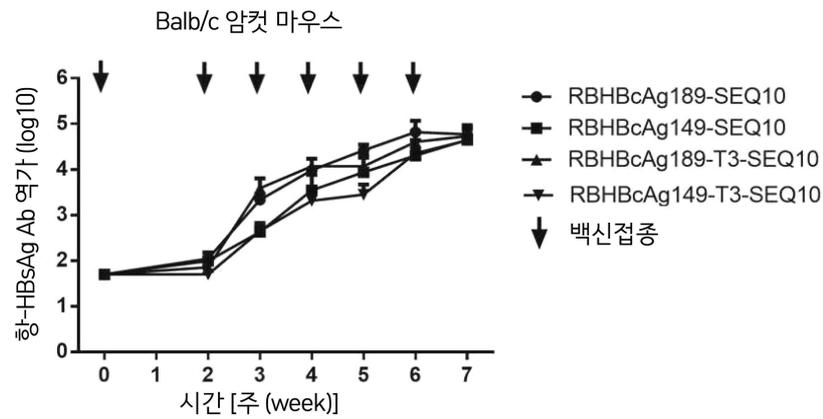
RBHBcAg189-T3-SEQ10



RBHBcAg149-T3-SEQ10

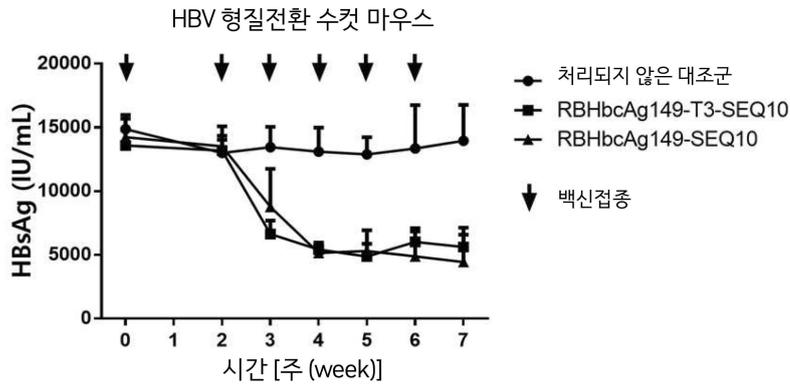


도면12

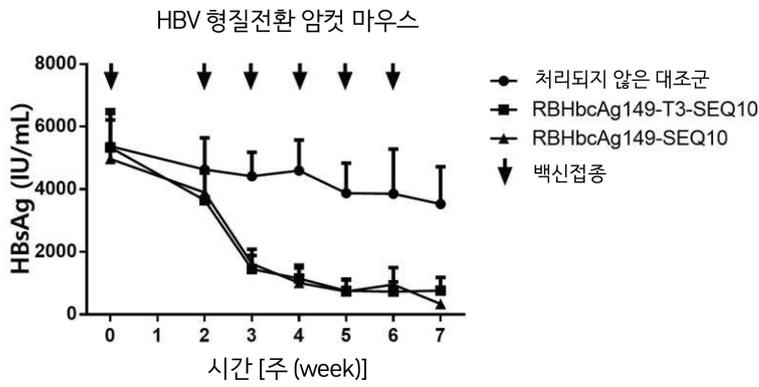


도면13

A

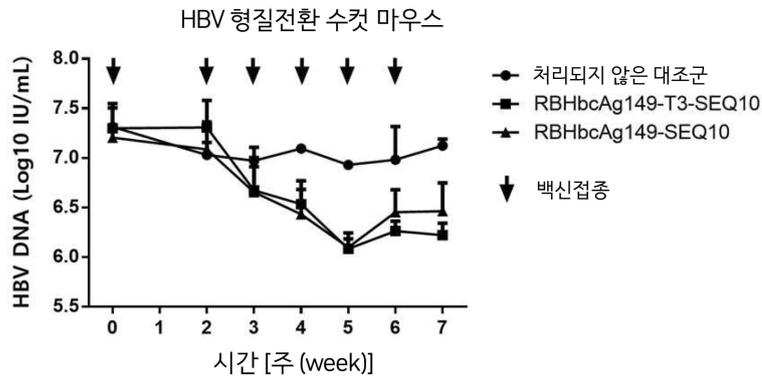


B

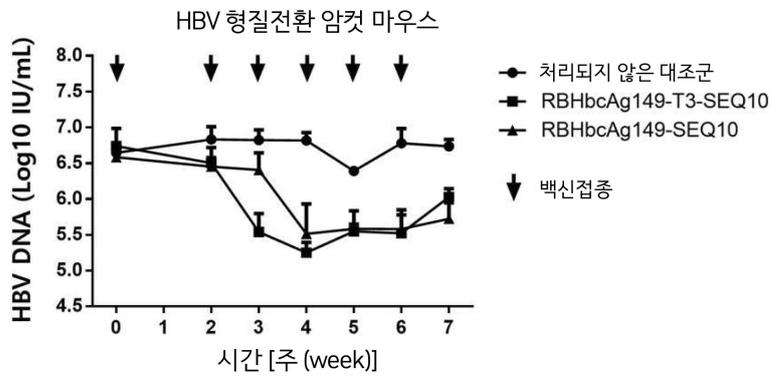


도면14

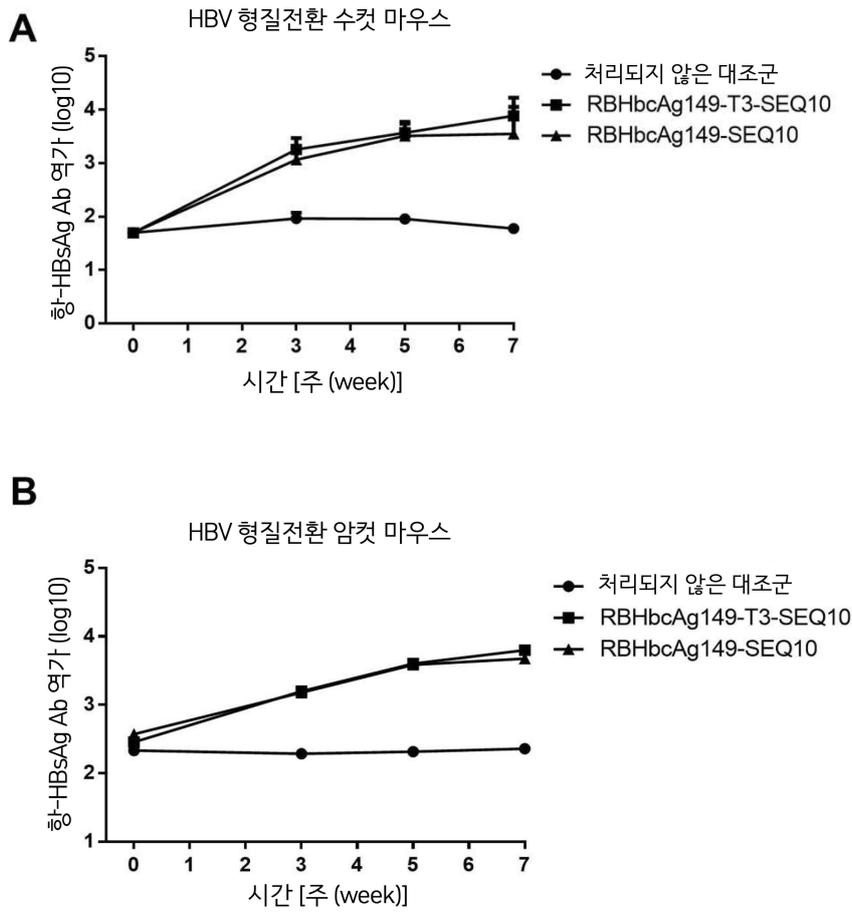
A



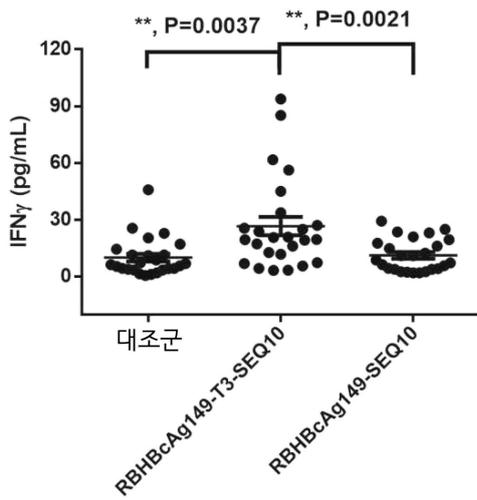
B



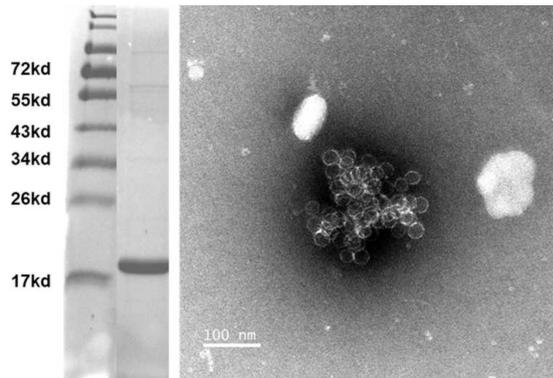
도면15



도면16



도면17



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Xiamen University; XIAMEN INNOVAX BIOTECH CO., Ltd.

<120> Polypeptide carrier for presenting target polypeptide and uses thereof

<130> IEC170123

<150> CN 201710085194.3

<151> 2017-02-17

<160> 100

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 189

<212> PRT

<213> roundleaf bat HBV

<400> 1

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile

1                    5                    10                    15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu

20                    25                    30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys

35                    40                    45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Ile Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg  
 85 90 95  
 Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln  
 100 105 110  
 Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr  
 115 120 125  
 Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro  
 130 135 140  
 Glu His Thr Ile Val Arg Arg Arg Gly Gly Ser Arg Ala Thr Arg Ser  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro  
 165 170 175  
 Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Ser Ser Asn Cys  
 180 185  
 <210> 2  
 <211> 188  
 <212> PRT  
 <213> tent-making bat HBV  
 <400> 2  
 Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser  
 1 5 10 15  
 Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln  
 20 25 30  
 Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly  
 35 40 45  
 Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met  
 50 55 60  
 Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly  
 65 70 75 80  
 Leu Ser Pro Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys  
 85 90 95

Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu  
                   100                                  105                                  110  
 Thr Phe Gly Lys Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Thr  
                   115                                  120                                  125  
 Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala Pro Ile Leu  
                   130                                  135                                  140  
  
 Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg Arg Pro Ala Ser Arg  
 145                                  150                                  155                                  160  
 Arg Ser Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg  
                                   165                                  170                                  175  
 Arg Arg Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn Cys  
                   180                                  185  
  
 <210> 3  
 <211> 189  
 <212> PRT  
 <213> horseshoe bat HBV  
 <400> 3  
  
 Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Val  
 1                  5                                  10                                  15  
  
 Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu  
                   20                                  25                                  30  
 Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys  
                   35                                  40                                  45  
 Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu  
                   50                                  55                                  60  
 Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gln Pro  
 65                                  70                                  75                                  80  
  
 Val Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val Gly Leu Arg  
                   85                                  90                                  95  
 Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln  
                   100                                  105                                  110  
 Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Met Arg Thr

115 120 125  
 Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro  
 130 135 140

Glu His Thr Val Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro Arg Ala Pro Arg Ser  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro  
 165 170 175  
 Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Asn Cys  
 180 185

<210> 4

<211> 210

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> RBHBcAg189 carrier

<400> 4

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile

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

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

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

130 135 140

Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile

145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile Val Arg Arg Arg Gly Gly Ser

165 170 175

Arg Ala Thr Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg

180 185 190

Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Ser Ser

195 200 205

Asn Cys

210

<210> 5

<211> 170

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> RBHBcAg149 carrier

<400> 5

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile

1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu

20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys

35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala



130 135 140  
 Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val  
 145 150 155 160  
 Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg  
 165 170 175  
 Arg Pro Ala Ser Arg Arg Ser Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser

180 185 190  
 Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn  
 195 200 205  
 Cys

<210> 7

<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TBHBcAg153 carrier

<400> 7

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser  
 1 5 10 15  
 Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln

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

85 90 95  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly  
 100 105 110  
 Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr





Leu Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly  
 130 135 140  
 Thr Trp Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile  
 145 150 155 160  
 Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile  
 165 170  
 <210> 10  
 <211> 204  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> HBcAg183 carrier  
 <400> 10  
 Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Val Glu Leu Leu  
  
 1 5 10 15  
 Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp  
 20 25 30  
 Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys  
 35 40 45  
 Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu  
 50 55 60  
 Leu Met Asn Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Gly Gly  
  
 65 70 75 80  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly  
 85 90 95  
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val  
 100 105 110  
 Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys  
 115 120 125  
 Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly  
  
 130 135 140  
 Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Gln Asn Ala Pro Ile  
 145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser  
 165 170 175  
 Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro  
 180 185 190  
 Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys

195 200  
 <210> 11  
 <211> 170  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> HBcAg149 carrier  
 <400> 11

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

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

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

Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val

165

170

<210> 12

<211> 633

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding RBHBcAg189 carrier

<400> 12

```

atggacattg atccttataa agaatttga gcttcatctc aactgatctc tttcttgccct      60
gaggactttt tcccaaacct tgcagaattg gtcgagacca ccacagctct ctatgaagaa      120
gaattagtag gtaaggagca ttgctcccct caccatactg ctttacgac cttgctaaat      180
tgctggggag agactgtagg attaataact tgggtcagga actctgtgga gggaggtgga      240
ggtggttctg gaggtggtgg tactggatcc gaattcgggt gtggaggttc aggaggaggt      300
ggttccaag atgccattgt ccagcaagtt caggcctcgg tgggcctgcg catgagacag      360

ttaatgtggt tccatctctc atgcctaaca tttggacagc ccactgtcat agaatttctg      420
gtctcttttg gaacatggat cagaaccccg caagcttaca gaccacctaa tgcaccatt      480
ctctcgactc ttccggagca tacaatcgtt aggagaagag gaggttcacg cgctactagg      540
tcccccgaa ggcgcactcc ctctctcgc cgacgcagat ctcaatcgcc gcgtcgccgc      600
agatctcagt ctccagcttc ctccaactgc taa                                     633

```

<210> 13

<211> 510

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding RBHBcAg149 carrier

<400> 13

```

atggacattg atccttataa agaatttga gcttcatctc aactgatctc tttcttgccct      60
gaggactttt tcccaaacct tgcagaattg gtcgagacca ccacagctct ctatgaagaa      120
gaattagtag gtaaggagca ttgctcccct caccatactg ctttacgac cttgctaaat      180
tgctggggag agactgtagg attaataact tgggtcagga actctgtgga gggaggtgga      240
ggtggttctg gaggtggtgg tactggatcc gaattcgggt gtggaggttc aggaggaggt      300
ggttccaag atgccattgt ccagcaagtt caggcctcgg tgggcctgcg catgagacag      360

```

ttaatgtggt tccatctctc atgcctaaca ttggacagc ccaactgtcat agaatttctg 420

gtctcttttg gaacatggat cagaaccccg caagcttaca gaccccctaa tgcaccatt 480

ctctcgactc ttccggagca tacaatcgtt 510

<210> 14

<211> 630

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding TBHBcAg188 carrier

<400> 14

atgaaaacc ttgaaagact tgacatctat aaagaatttg gagtctctga tgtcttgggtg 60

tctttcttac ctgatgattt ctttccaact ttacagcaac ttttggaatc agtgaatgcc 120

ctatatgagg atgaactcac tgggcctaat cactgttctc cccatcatac tgccttaagg 180

cacttgatta tgtgtggggt agaattaaga gatTTtattg attggatgca tgaacagggg 240

ggaggagggtg gtTctggagg tggTggTact ggatccgaat tcggTggTgg aggttcagga 300

ggaggTggtt ccgatgcaga cgctcttttg gctggTtacc ttcgatccaa atatcttaa 360

catattacca aggctatttg gtatcattta agctgtttga cctttggtaa gcaaacagtg 420

catgaatacc tggTatcctt tggcacctgg atcagaacce cagctgcata tagaccagtg 480

aatgcacca ttctcaccac tcttccgaa acttcagtta tcagaagaag gctgcctcc 540

agaagatcta ctcctctcc tcgcagagc cgatctcaat caccgcgccg ccgccctct 600

ccatctcaa gaccagcaag caattgctga 630

<210> 15

<211> 522

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding TBHBcAg153 carrier

<400> 15

atgaaaacc ttgaaagact tgacatctat aaagaatttg gagtctctga tgtcttgggtg 60

tctttcttac ctgatgattt ctttccaact ttacagcaac ttttggaatc agtgaatgcc 120

ctatatgagg atgaactcac tgggcctaat cactgttctc cccatcatac tgccttaagg 180

cacttgatta tgtgtggggt agaattaaga gatTTtattg attggatgca tgaacagggg 240

ggaggagggtg gtTctggagg tggTggTact ggatccgaat tcggTggTgg aggttcagga 300

ggagggtggtt ccgatgcaga cgctcttttg gctggttacc ttcgatccaa atatcttaaa 360  
 catattacca aggctatttg gtatcattta agctgtttga cctttggtaa gcaaacagtg 420  
 catgaatacc tggatcctt tggcacctgg atcagaaccc cagctgcata tagaccagtg 480  
 aatgcaccca ttctcaccac tcttccgga acttcagtta tc 522

<210> 16

<211> 633

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding HBHBcAg189 carrier

<400> 16

atggacattg atccttataa agagtccggt gcttcatctc aacttgtctc ctttttgct 60  
 gctgacttct ttcccgcctt gaacgacctg gtggaaactt cggtagcctt atatgaggaa 120  
 gacctttag gtaaggagca ttgctcccct catcatgcag ccttaagggc cctacttaat 180  
 tgctgggagg aaacagtcag actgattacc tgggtccgtg ccacagtaga gggaggtgga 240  
 ggtggttctg gaggtggtgg tactggatcc gaattcgggt gtggaggttc aggaggaggt 300  
 ggttcccagg atgccatcat cggttatgtc cagactacgg tgggcctacg catgagacaa 360  
 cagatctggt tccatctctc atgccttact tttgggcagc agactgtgat agagtctctg 420

gtctcatttg ggacatggat gagaactcca gccgcctata gacccccaa tgcaccatt 480  
 ttatcaactc ttccagagca cacagtcatt aggagaagag gaaatccgcg tgctcctagg 540  
 tccccagaa ggcgcaactc ctctctctgc cgacgcagat ctcaatctcc gcgtcgccgg 600  
 agatctcaat ctccagctcc ctccaactgc taa 633

<210> 17

<211> 510

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding HBHBcAg149 carrier

<400> 17

atggacattg atccttataa agagtccggt gcttcatctc aacttgtctc ctttttgct 60  
 gctgacttct ttcccgcctt gaacgacctg gtggaaactt cggtagcctt atatgaggaa 120  
 gacctttag gtaaggagca ttgctcccct catcatgcag ccttaagggc cctacttaat 180  
 tgctgggagg aaacagtcag actgattacc tgggtccgtg ccacagtaga gggaggtgga 240  
 ggtggttctg gaggtggtgg tactggatcc gaattcgggt gtggaggttc aggaggaggt 300

ggttcccagg atgcatcat cggttatgic cagactacgg tgggcctacg catgagacaa 360  
 cagatctggt tccatctctc atgccttact tttgggcagc agactgtgat agagttcctg 420  
 gtctcatttg ggacatggat gagaactcca gccgcctata gaccccccaa tgcaccatt 480

ttatcaactc ttccagagca cacagtcatt 510

<210> 18

<211> 615

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding HBcAg183 carrier

<400> 18

atggacattg atccatataa agaatttga gcttctgtgg agttactctc tttttgcct 60  
 tccgacttct ttcttctat ccgagatctc ctcgacaccg cctctgctct gtatcgggag 120  
 gccttagagt ctccgaaca ttgttcacct caccatacgg cactcaggca agctattctg 180  
 tgttgggggtg agttgatgaa tctagccacc tgggtgggaa gtaatttga agatggtgga 240

ggtggttctg gagtggtgg tactggatcc gaattcggtg gtggaggttc aggaggaggt 300  
 ggttccaggg aactagtagt cagctatgic aacgtaata tgggcctaaa aatcagacaa 360  
 ctatttgggt ttcacatttc ctgttact tttgggagag aaactgttct tgaatatttg 420  
 gtgtcttttg gagtgggat tcgactcct cctgcatata gaccacaaa tggccctatc 480  
 ttatcaacac ttccgaaac tactgttgtt cgtcgccgag gccgtagccc gcgacgacgt 540  
 accccgagcc cgcgtcgacg tcgacgccag agcccgcgcc gtcgtcgag ccagagccgt 600  
 gaaagccagt gctaa 615

<210> 19

<211> 510

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding HBcAg149 carrier

<400> 19

atggacattg atccatataa agaatttga gcttctgtgg agttactctc tttttgcct 60  
 tccgacttct ttcttctat ccgagatctc ctcgacaccg cctctgctct gtatcgggag 120  
 gccttagagt ctccgaaca ttgttcacct caccatacgg cactcaggca agctattctg 180  
 tgttgggggtg agttgatgaa tctagccacc tgggtgggaa gtaatttga agatggtgga 240

ggtggttctg gaggtgggtg tactggatcc gaattcgggtg gtggaggttc aggaggaggt 300

ggttcaggg aactagtagt cagctatgtc aacgtaata tgggcctaaa aatcagacaa 360

ctattgtggt ttcacatttc ctgtettact tttgggagag aaactgttct tgaatatttg 420

gtgtcttttg gagtgggat tcgactcct cctgcatata gaccacaaaa tgcccctatc 480

ttatcaacac ttccggaac tactgttgtt 510

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> HIV

<400> 20

Phe Lys Gln Ser Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Thr His Ser

1                    5                    10                    15

<210> 21

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro

1                    5                    10

<210> 22

<211> 23

<212> PRT

<213> HBV

<400> 22

Ser Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala

1                    5                    10                    15

Gln Gly Thr Ser Met Phe Pro

20

<210> 23

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein RBHBcAg189-SEQ20

<400> 23

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

225

<210> 24

<211> 185

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein RBHBcAg149-SEQ20

<400> 24

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile

1                    5                    10                    15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu

20                    25                    30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys

35                    40                    45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Phe Lys Gln Ser Ser Gly

85                    90                    95

Gly Asp Pro Glu Ile Val Thr His Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser

100                    105                    110

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser

115                    120                    125

Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu

130                    135                    140

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

145                    150                    155                    160

Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu

165                    170                    175

Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile Val

180                    185

<210> 25

<211> 224

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein TBHBcAg188-SEQ20

<400> 25

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser

1                    5                    10                    15  
 Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln

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

                  35                    40                    45  
 Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met

                  50                    55                    60  
 Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly

65                    70                    75                    80  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Phe Lys Gln Ser

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

                  100                    105                    110  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr

                  115                    120                    125  
 Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His

                  130                    135                    140  
 Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val

145                    150                    155                    160  
 Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn

                  165                    170                    175  
 Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg Arg

                  180                    185                    190  
 Pro Ala Ser Arg Arg Ser Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Ser Gln

                  195                    200                    205

Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn Cys  
 210 215 220

<210> 26  
 <211> 189  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> Recombinant protein TBHBcAg153-SEQ20  
 <400> 26

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

<210> 27

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein HBHBcAg189-SEQ20

<400> 27

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Val

1                    5                    10                    15

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu

20                    25                    30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys

35                    40                    45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Phe Lys Gln Ser Ser Gly

85                    90                    95

Gly Asp Pro Glu Ile Val Thr His Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser

100                    105                    110

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr

115                    120                    125

Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu

130                    135                    140

Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr

145                    150                    155                    160

Trp Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu

165                    170                    175

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

180                    185                    190

Ala Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg



Trp Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu  
 165 170 175

Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile  
 180 185

<210> 29  
 <211> 224  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> Recombinant protein RBHBcAg189-SEQ21  
 <400> 29

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile  
 1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu  
 20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys  
 35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu  
 50 55 60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly  
 65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His Glu Leu  
 85 90 95

Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val  
 115 120 125

Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr  
 130 135 140

Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp  
 145 150 155 160

Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser  
 165 170 175

Thr Leu Pro Glu His Thr Ile Val Arg Arg Arg Gly Gly Ser Arg Ala  
 180 185 190  
 Thr Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser  
 195 200 205  
 Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Ser Ser Asn Cys  
 210 215 220  
 <210> 30  
 <211> 184  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> Recombinant protein RBHBcAg149-SEQ21  
 <400> 30  
 Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile  
 1 5 10 15  
 Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu  
 20 25 30  
 Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys  
 35 40 45  
 Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu  
 50 55 60  
 Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly  
 65 70 75 80  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His Glu Leu  
 85 90 95  
 Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 100 105 110  
 Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val  
 115 120 125  
 Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr  
 130 135 140  
 Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp  
 145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Leu Pro Glu His Thr Ile Val

180

<210> 31

<211> 223

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein TBHBcAg188-SEQ21

<400> 31

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser

1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln

20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly

35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met

50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His

85 90 95

Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu

115 120 125

Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu

130 135 140

Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser

145 150 155 160

Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala

165 170 175  
 Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg Arg Pro  
 180 185 190  
 Ala Ser Arg Arg Ser Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser  
 195 200 205  
 Pro Arg Arg Arg Arg Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn Cys  
 210 215 220

<210> 32

<211> 188

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein TBHBcAg153-SEQ21

<400> 32

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

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu  
 115 120 125  
 Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu  
 130 135 140  
 Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser

145                    150                    155                    160  
Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala  
                          165                    170                    175

Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile  
                          180                    185

<210> 33

<211> 224

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein HBHBcAg189-SEQ21

<400> 33

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Val  
1                    5                    10                    15

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu  
                          20                    25                    30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys  
                          35                    40                    45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu  
50                    55                    60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly  
65                    70                    75                    80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His Glu Leu  
                          85                    90                    95

Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
                          100                    105                    110

Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val  
115                    120                    125

Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr  
130                    135                    140

Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp  
145                    150                    155                    160

Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser

195 200 205

Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Asn Cys

210 215 220

<210> 34

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein HBHBcAg149-SEQ21

<400> 34

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Val

1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ala Asp Phe Phe Pro Ala Leu Asn Asp Leu Val Glu

20 25 30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys

35 40 45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Thr Ser Glu His Glu Leu

85 90 95

Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val

115 120 125

Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr

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

<210> 35

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein RBHBcAg189-SEQ22

<400> 35

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

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

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala  
115 120 125  
Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu  
130 135 140  
Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile

145                    150                    155                    160  
 Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr  
                          165                    170                    175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile  
                          180                    185                    190

Val Arg Arg Arg Gly Gly Ser Arg Ala Thr Arg Ser Pro Arg Arg Arg  
                          195                    200                    205

Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg  
                          210                    215                    220

Ser Gln Ser Pro Ala Ser Ser Asn Cys  
 225                    230

<210> 36

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein RBHBcAg149-SEQ22

<400> 36

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile  
 1                    5                    10                    15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu  
                          20                    25                    30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys  
                          35                    40                    45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu

50                    55                    60

Thr Val Arg Leu Ile Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly  
 65                    70                    75                    80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr  
                          85                    90                    95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe  
                          100                    105                    110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala

115 120 125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu

130 135 140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile

145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr

165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile

180 185 190

Val

<210> 37

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein TBHBcAg188-SEQ22

<400> 37

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser

1 5 10 15

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln

20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly

35 40 45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met

50 55 60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr

85 90 95

Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser

100 105 110  
 Met Phe Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp  
 115 120 125  
 Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His  
 130 135 140  
 Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys  
 145 150 155 160  
 Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr

165 170 175  
 Pro Ala Ala Tyr Arg Pro Val Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro  
 180 185 190  
 Glu Thr Ser Val Ile Arg Arg Arg Pro Ala Ser Arg Arg Ser Thr Pro  
 195 200 205  
 Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Pro  
 210 215 220  
 Ser Pro Arg Pro Ala Ser Asn Cys  
 225 230

<210> 38

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein TBHBcAg153-SEQ22

<400> 38

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

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met  
 50 55 60  
 Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly





Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys

35 40 45

Ser Pro His His Ala Ala Leu Arg Ala Leu Leu Asn Cys Trp Glu Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr

85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe

100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala

115 120 125

Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln

130 135 140

Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile

145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Met Arg Thr Pro Ala Ala Tyr

165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val

180 185 190

Ile

<210> 41

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein HBcAg183-SEQ22

<400> 41

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Val Glu Leu Leu

1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp



<400> 42

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

<210> 43

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> linker

<400> 43

Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
                   20                    25

<210> 44

<211> 226

<212> PRT

<213> HBV

<400> 44

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

Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu

180 185 190

Ser Val Ile Trp Met Met Trp Phe Trp Gly Pro Ser Leu Tyr Asn Ile

195 200 205

Leu Ser Pro Phe Met Pro Leu Leu Pro Ile Phe Phe Cys Leu Trp Val

210 215 220

Tyr Ile

225

<210> 45

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> primer

<400> 45

actttaagaa ggagatatac atatgatgga cattgatcct tataaag 47

<210> 46

<211> 56

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> primer

<400> 46

gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttaa acgattgtat gtc ccggaag agtcga 56

<210> 47

<211> 67

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> primer

<400> 47

gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttag cagttggagg aagctggaga ctgagatctg 60

cggcgac 67

<210> 48

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 48  
 actttaagaa ggagatatac atatgatgga aaaccttgaa agacttg 47

<210> 49  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 49  
 gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttag ataactgaag tttccggaag agtg 54

<210> 50  
 <211> 49  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 50  
 gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttag caattgcttg ctggtcttg 49

<210> 51  
 <211> 47  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 51  
 actttaagaa ggagatatac atatgatgga cattgatcct tataaag 47

<210> 52  
 <211> 56  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 52  
 gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttaa atgactgtgt gctctggaag agttga 56

<210> 53

<211> 67  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 53  
 gtggtgctcg aggcggccgc aagcttttag cagttggagg gagctggaga ttgagatctc 60  
 cggcgcac 67  
 <210> 54  
 <211> 48  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 54  
 gatccacctc tgaacatgaa ctgacatgtc aggctgaggg ctaccccg 48  
  
 <210> 55  
 <211> 48  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 55  
 aattcggggt agccctcagc ctgacatgtc agttcatggt cagaggtg 48  
 <210> 56  
 <211> 51  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 56  
 gatccttcaa acagtcttct ggtggtgacc cggaaatcgt taccactct g 51  
 <210> 57  
 <211> 51  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 57

aattcagagt gggtaacgat ttccgggtca ccaccagaag actgtttgaa g 51

<210> 58

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> primer

<400> 58

gatcctcacc aacaaccagc accggaccat gcaaaacctg cacaactcct gctcaaggaa 60

cctctatggt tcccg 75

<210> 59

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> primer

<400> 59

aattcgggaa acatagaggt tccttgagca ggagttgtgc aggttttgca tgggccggtg 60

ctggttggtg atgag 75

<210> 60

<211> 23

<212> PRT

<213> HBV

<400> 60

Ser Thr Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala

1 5 10 15

Gln Gly Asn Ser Met Phe Pro

20

<210> 61

<211> 23

<212> PRT

<213> HBV

<400> 61

Thr Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Ile Pro Ala

1 5 10 15

Gln Gly Thr Ser Met Phe Pro

20

<210> 62

<211> 23

<212> PRT

<

213> HBV

<400> 62

Ser Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Arg Thr Cys Thr Thr Pro Ala

1

5

10

15

Gln Gly Thr Ser Met Tyr Pro

20

<210> 63

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> primer

<400> 63

gatcctctac caccacctct accggtccgt gcaaacctg caccacccg gctcaggta 60

actctatggt cccgg 75

<210> 64

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> primer

<400> 64

aattccggga acatagagtt accctgagcc ggggtggtgc aggttttgca cggaccgta 60

gaggtggtgg tagag 75

<210> 65

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> primer

<400> 65

gatccacctc taccacctct accggtccgt gcaaaacctg caccatcccg gctcaggta 60  
cctctatggt cccgg 75  
<210> 66  
<211> 75  
<212> DNA  
<213> Artificial  
<220><223> primer  
<400>  
> 66  
aattccggga acatagaggt accctgagcc gggatggtgc aggttttgca cggaccgta 60  
gagtggttag aggtg 75  
<210> 67  
<211> 75  
<212> DNA  
<213> Artificial  
<220><223> primer  
<400> 67  
gatcctcttc taccacctct accggtccgt gccgtacctg caccaccccg gctcaggta 60  
cctctatgta cccgg 75  
<210> 68  
<211> 75  
<212> DNA  
<213> Artificial  
<220><223> primer  
<400> 68  
aattccgggt acatagaggt accctgagcc ggggtggtgc aggtacggca cggaccgta 60  
gagtggttag aagag 75  
<210> 69  
<211> 193  
<212> PRT  
<213> Artificial  
<220><223> Recombinant protein RBHBcAg149-SEQ60  
<400> 69  
Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile

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

<210> 70

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein RBHBcAg149-SEQ61

<400> 70

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile

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

<210> 71

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein RBHBcAg149-SEQ62

<400> 71

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile

1                    5                    10                    15

Ser Phe Leu Pro Glu Asp Phe Phe Pro Asn Leu Ala Glu Leu Val Glu

20                    25                    30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys

35                    40                    45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Trp Gly Glu

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr

85                    90                    95

Gly Pro Cys Arg Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Tyr

100                    105                    110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala

115                    120                    125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu

130                    135                    140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile

145                    150                    155                    160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr Pro Gln Ala Tyr

165                    170                    175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Ile

180                    185                    190

Val

<210> 72

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein TBHBcAg153-SEQ60

<400> 72

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

195

<210> 73

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein TBHBcAg153-SEQ61

<400> 73

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

195

<210> 74

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein TBHBcAg153-SEQ62

<400> 74

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

Asp Val Leu Val Ser Phe Leu Pro Asp Asp Phe Phe Pro Thr Leu Gln

                  20                    25                    30  
 Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly  
                   35                    40                    45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg His Leu Ile Met  
                   50                    55                    60

Cys Gly Val Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly  
 65                    70                    75                    80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr

                  85                    90                    95  
 Ser Thr Gly Pro Cys Arg Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser  
                   100                    105                    110

Met Tyr Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp  
                   115                    120                    125

Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His  
                   130                    135                    140

Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys

145                    150                    155                    160  
 Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Thr Trp Ile Arg Thr  
                   165                    170                    175

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

Glu Thr Ser Val Ile  
                   195

<210> 75

<211> 210

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> RBHBcAg189-T3 carrier

<400> 75

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile

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

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

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

195                    200                    205  
 Asn Cys

210

<210> 76

<211> 209

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TBHBcAg188-T3 carrier

<400> 76

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

<210> 77

<211> 210

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HBHBcAg189-T3 carrier

<400> 77

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Val

1                    5                    10                    15  
Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Asn Asp Leu Val Glu

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

                  35                    40                    45  
Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu

                  50                    55                    60  
Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly

65                    70                    75                    80  
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly

                  85                    90                    95  
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr

                  100                    105                    110  
Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys

                  115                    120                    125  
Leu Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly

                  130                    135                    140  
Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile

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

                  165                    170                    175  
Arg Ala Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg

                  180                    185                    190  
Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser



<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> TBHBcAg153-T3 carrier

<400> 79

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser

1                    5                    10                    15

Asp Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Phe Pro Thr Leu Gln

                  20                    25                    30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly

                  35                    40                    45

Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu

                  50                    55                    60

Cys Trp Gly Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly

65                    70                    75                    80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly

                  85                    90                    95

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly

                  100                    105                    110

Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr

                  115                    120                    125

His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys Gln Thr Val His Glu Tyr Leu

                  130                    135                    140

Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro

145                    150                    155                    160

Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro Glu Thr Ser Val Ile

                  165                    170

<210> 80

<211> 170

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> HBHBcAg149-T3 carrier

<400> 80

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Val  
 1                    5                    10                    15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Asn Asp Leu Val Glu  
                   20                    25                    30

Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys  
                   35                    40                    45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu  
                   50                    55                    60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly  
 65                    70                    75                    80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Glu Phe Gly Gly Gly Gly  
                   85                    90                    95

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr  
                   100                    105                    110

Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln Ile Trp Phe His Leu Ser Cys  
                   115                    120                    125

Leu Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly  
                   130                    135                    140

Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile  
 145                    150                    155                    160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile  
                   165                    170

<210> 81

<211> 633

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding RBHBcAg189-T3 carrier

<400> 81

atggacatcg acccgtacaa agaattcggg gttcttctc agctgatctc tttcctgccg                    60

tctgacttct tccgctctgt tgctgaactg gttgaaacca ccaccgtctt gtacgaagaa                    120

gaactggttg gtaaagaaca ctgctctccg caccacaccg ctctgcgtca ggctatcctg                    180

tgctggggtg aactgatgac cctggctacc tgggttcgta actctgttga aggtggtggt 240  
 ggtggttctg gtggtggtg taccggttct gaattcggtg gtggtggttc tgggtggtg 300  
 ggttctcagg acgctatcgt tcagcaggtt caggcttctg ttggtctgcg tatgcgtcag 360  
 ctgatgtggt tccacctgct ttgcctgacc ttcggtcagc cgaccgttat cgaattcctg 420  
 gtttctttcg gtgtttggat ccgtaccccg ccggcttacc gtccgccgaa cgctccgatc 480

ctgtctacce tgcggaaca caccgttacc cgtcgtcgtg gtaaccgcg tgctccgct 540  
 tctccgcgtc gtcgtacccc gtctccgctg cgtcgtcgtt ctcagtctcc gcgtcgtcgt 600  
 cgttctcagt ctccgctcc gtctaactgc taa 633

<210> 82

<211> 627

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding TBHBcAg188-T3 carrier

<400> 82

atggaacc tggaactct ggacatctac aaagaattcg gtgtttctga cttcctgccg 60  
 tctgacttct tcccgtctgt tttcccgacc ctgcagcagc tgctggaatc tgtaaacgt 120

ctgtacgaag acgaactgac cggteccgac cactgctctc cgcaccacac cgctctgctg 180  
 caggctatcc tigtctgggg tgaactgctg gacttcatcg actggatgca cgaacagggt 240  
 ggtggtggtg gttctggtgg tgggtggtacc ggttctgaat tcgggtggtg tggttctggt 300  
 ggtggtggtt ctgacgctga cgctctgctg gctgggtacc tgcgttctaa atacctgaaa 360  
 cacatcacca aagctatctg gtaccacctg tcttgctga ccttcggtaa acagaccgtt 420  
 cacgaatacc tggtttcttt cgggttttgg atccgtaccc cgccggctta ccgtccgccg 480  
 aacgtccga tctgaccac cctgccgga acctctgtta tccgtcgtc tccggttct 540

cgtegttcta ccccgtctcc gcgtcgtcgt cgttctcagt ctccgctcgc tcgtcgttct 600  
 ccgtctccgc gtcggcttc taactgc 627

<210> 83

<211> 630

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding HBHBcAg189-T3 carrier

<400> 83

atggacatcg acccgtacaa agaattcggg gcttctctc agctggttcc tttcctgccg 60

tctgacttct tcccgtctgt taacgacctg gttgaaacct ctggtgctct gtacgaagaa 120  
gacctggttg gtaagaaca ctgctctccg caccacaccg ctctgctca ggctatcctg 180

tgctggggtg aactgatgac cctggctacc tgggttcgtg ctaccgttga aggtggtggt 240  
ggtggttctg gtggtggagg taccggttct gaattcgggtg gtggtggttc tgggtggtggt 300  
ggttctcagg acgctatcat cggttacgtt cagaccaccg ttggtctgcg tatgctcag 360  
cagatctggt tcacctgtc ttgctgacc ttcggtcagc agaccgttat cgaattcctg 420  
gtttctttcg gtgtttggat ccgtaccccg ccggcttacc gtccgccgaa cgctccgatc 480  
ctgtctacce tgcggaaca caccgttacc cgtcgtcgtg gtaaccgcg tgctccgct 540  
tctccgctc gtcgtacccc gtctccgctg cgtcgtcgtt ctcaagtctcc gcgtcgtcgt 600

cgttctcagt ctccgctcc gtctaactgc 630

<210> 84

<211> 513

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding RBHBcAg149-T3 carrier

<400> 84

atggacatcg acccgtacaa agaattcgggt gctttctctc agctgatctc tttcctgccc 60  
tctgacttct tcccgtctgt tgctgaactg gttgaaacca ccaccgtct gtacgaagaa 120  
gaactggttg gtaagaaca ctgctctccg caccacaccg ctctgctca ggctatcctg 180  
tgctggggtg aactgatgac cctggctacc tgggttcgta actctgttga aggtggtggt 240

ggtggttctg gtggtggagg taccggttct gaattcgggtg gtggtggttc tgggtggtggt 300  
ggttctcagg acgctatcgt tcagcagggtt caggcttctg ttggtctgcg tatgctcag 360  
ctgatgtggt tcacctgtc ttgctgacc ttcggtcagc cgaccgttat cgaattcctg 420  
gtttctttcg gtgtttggat ccgtaccccg ccggcttacc gtccgccgaa cgctccgatc 480  
ctgtctacce tgcggaaca caccgttacc taa 513

<210> 85

<211> 522

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding TBHBcAg153-T3 carrier

<400>

85

atggaaaacc tggaaactct ggacatctac aaagaattcg gtgtttctga cttcctgccg 60  
 tctgacttct tcccgtctgt tttcccgacc ctgcagcagc tgctggaatc tgtaacgct 120  
 ctgtacgaag acgaactgac cgggccgaac cactgctctc cgcaccacac cgctctgcgt 180  
 caggctatcc tggctgggg tgaactgcgt gacttcatcg actggatgca cgaacagggt 240  
 ggtggtgggt gtctgtggg tgggtgtacc ggttctgaat tcggtgggtg tggttctggt 300  
 ggtggtggtt ctgacgtga cgctctgctg gctggttacc tgcgttctaa atacctgaaa 360  
 cacatcacca aagctatctg gtaccacctg tcttgcctga ccttcggtaa acagaccgtt 420

cacgaatacc tggtttcttt cgggttttgg atccgtaccc cgccggctta cgtccgccg 480  
 aacgtccga tctgaccac cctgccgga acctctgtta tc 522

<210> 86

<211> 510

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> nucleotide sequence encoding HBHBcAg149-T3 carrier

<400> 86

atggacatcg acccgtacaa agaattcggg gcttcttctc agctggtttc tttcctgccg 60  
 tctgacttct tcccgtctgt taacgacctg gttgaaacct ctgttctctt gtacgaagaa 120  
 gacctggttg gtaaagaaca ctgctctccg caccacaccg ctctcgtca ggctatcctg 180

tgctggggtg aactgatgac cctggctacc tgggttctgt ctaccgttga aggtggtggt 240  
 ggtggttctg gtggtggtg taccggttct gaattcgggt gtggtggttc tgggtggtg 300  
 ggttctcagg acgctatcat cggttacctg cagaccaccg ttggtctgctg tatgcgtcag 360  
 cagatctggt tccacctgct ttgctgacc ttcggtcagc agaccgttat cgaattcctg 420  
 gtttctttcg gtgtttggat ccgtaccccg ccggttacc gtccgccgaa cgctccgatc 480  
 ctgtctacc tgcggaaca caccgttatc 510

<210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val

1                    5                    10

<210> 88

<211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 88  
 Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu Leu  
 1                   5                   10                   15  
 Met Thr Leu Ala  
                   20

<210> 89  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 89  
 Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro  
 1                   5                   10                   15

Asn Ala Pro Ile Leu  
                   20  
 <210> 90  
 <211> 233  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> Recombinant protein RBHBcAg189-T3-SEQ22  
 <400> 90

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

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu  
                   50                   55                   60  
 Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly  
 65                   70                   75                   80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr  
 85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe  
 100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala  
 115 120 125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu  
 130 135 140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile  
 145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr  
 165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val  
 180 185 190

Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro Arg Ala Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg  
 195 200 205

Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg  
 210 215 220

Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Asn Cys  
 225 230

<210> 91

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein RBHBcAg149-T3-SEQ22

<400> 91

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile  
 1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Ala Glu Leu Val Glu  
 20 25 30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys  
 35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu

50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr

85 90 95

Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe

100 105 110

Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala

115 120 125

Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu

130 135 140

Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Pro Thr Val Ile

145 150 155 160

Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr

165 170 175

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val

180 185 190

Ile

<210> 92

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein TBHBcAg188-T3-SEQ22

<400> 92

Met Glu Asn Leu Glu Arg Leu Asp Ile Tyr Lys Glu Phe Gly Val Ser

1 5 10 15

Asp Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Phe Pro Thr Leu Gln

20 25 30

Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly



1                    5                    10                    15  
 Asp Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Phe Pro Thr Leu Gln  
                          20                    25                    30  
 Gln Leu Leu Glu Ser Val Asn Ala Leu Tyr Glu Asp Glu Leu Thr Gly  
                          35                    40                    45  
  
 Pro Asn His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu  
                          50                    55                    60  
 Cys Trp Gly Glu Leu Arg Asp Phe Ile Asp Trp Met His Glu Gln Gly  
 65                    70                    75                    80  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr  
                          85                    90                    95  
 Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser  
                          100                    105                    110  
  
 Met Phe Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp  
                          115                    120                    125  
 Ala Asp Ala Leu Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Ser Lys Tyr Leu Lys His  
                          130                    135                    140  
 Ile Thr Lys Ala Ile Trp Tyr His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Lys  
 145                    150                    155                    160  
 Gln Thr Val His Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr  
                          165                    170                    175  
  
 Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Thr Thr Leu Pro  
                          180                    185                    190  
 Glu Thr Ser Val Ile  
                          195  
 <210> 94  
 <211> 233  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220><223> Recombinant protein HBHBcAg189-T3-SEQ22  
 <400> 94  
 Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Val

1                    5                    10                    15  
 Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Asn Asp Leu Val Glu  
                          20                    25                    30  
  
 Thr Ser Val Ala Leu Tyr Glu Glu Asp Leu Val Gly Lys Glu His Cys  
                          35                    40                    45  
 Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu  
                          50                    55                    60  
 Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Ala Thr Val Glu Gly Gly Gly  
 65                    70                    75                    80  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser Ser Ser Thr Thr Ser Thr  
                          85                    90                    95  
  
 Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Phe  
                          100                    105                    110  
 Pro Glu Phe Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ala  
                          115                    120                    125  
 Ile Ile Gly Tyr Val Gln Thr Thr Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Gln  
                          130                    135                    140  
 Ile Trp Phe His Leu Ser Cys Leu Thr Phe Gly Gln Gln Thr Val Ile  
 145                    150                    155                    160  
  
 Glu Phe Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr  
                          165                    170                    175  
 Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val  
                          180                    185                    190  
 Ile Arg Arg Arg Gly Asn Pro Arg Ala Pro Arg Ser Pro Arg Arg Arg  
                          195                    200                    205  
 Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg  
                          210                    215                    220  
  
 Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Asn Cys  
 225                    230  
 <210> 95  
 <211> 193

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein HBHBcAg149-T3-SEQ22

<400> 95

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

<210> 96

<211> 169

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Recombinant protein RBHBcAg149n-T3-SEQ22

<400> 96

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Ser Gln Leu Ile

1                    5                    10                    15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Ala Glu Leu Val Glu

20                    25                    30

Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Glu Glu Glu Leu Val Gly Lys Glu His Cys

35                    40                    45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu

50                    55                    60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Arg Asn Ser Val Glu Gly Ser Ser

65                    70                    75                    80

Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly

85                    90                    95

Thr Ser Met Phe Pro Gln Asp Ala Ile Val Gln Gln Val Gln Ala Ser

100                    105                    110

Val Gly Leu Arg Met Arg Gln Leu Met Trp Phe His Leu Ser Cys Leu

115                    120                    125

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

130                    135                    140

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

145                    150                    155                    160

Ser Thr Leu Pro Glu His Thr Val Ile

165

<210> 97

<211> 50

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> primer

<400> 97

aactttaaga aggagatata catatggaca tcgaccgta caaagaattc 50  
 <210> 98  
 <211> 60  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 98  
 gagttgtgca ggttttgcac ggtccggtgc tggttgttga tgaaccttca acagagttac 60  
 <210> 99  
 <211> 60  
 <212> DNA  
  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 99  
 caaaacctgc acaactcctg ctcaaggaac ctctatgttt ccccaggacg ctatcgttca 60  
 <210> 100  
 <211> 53  
 <212> DNA  
 <213> Artificial  
 <220><223> primer  
 <400> 100  
 tgggtgctga gtgcggccgc aagcttagat aacggtgtgt tccggcaggg tag 53