



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 37 986 T2** 2008.04.30

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 837 129 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 37 986.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/JP97/01414**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **97 919 664.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1997/040158**

(86) PCT-Anmeldetag: **24.04.1997**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **30.10.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **22.04.1998**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **08.08.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **30.04.2008**

(51) Int Cl.⁸: **C12N 15/16** (2006.01)

C07K 14/575 (2006.01)

A61K 38/22 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

10255396 **24.04.1996** **JP**

1014897 **23.01.1997** **JP**

(73) Patentinhaber:

Sumitomo Electric Industries, Ltd., Osaka, JP

(74) Vertreter:

HOFFMANN & EITLE, 81925 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

CH, DE, FR, GB, IT, LI, SE

(72) Erfinder:

KOSHIDA, Shogo, Yokohama-shi, Kanagawa 244, JP

(54) Bezeichnung: **EPIMORPHIN ANTAGONIST UND HERSTELLUNGSVERFAHREN DAFÜR**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Technisches Gebiet

[0001] Diese Erfindung betrifft Polypeptide, die die Wirkung der spezifischen Inhibition von Epimorphinen (hier im folgenden als Epimorphin antagonisierende Wirkung bezeichnet) aufweisen, Substanzen, die die Morphogenese von epithelialem Gewebe fördern, und die nützlich als aktiver Inhaltsstoff von Pharmazeutika sind.

Stand der Technik

[0002] Es wurde vorgeschlagen, dass die normale Morphogenese von epithelialem Gewebe durch Faktoren kontrolliert wird, die aus mesenchymalen Zellen, die um das epitheliale Gewebe herum vorliegen, stammen. Erkrankungen, die der abnormalen Morphogenese von epithelialem Gewebe zugeschrieben werden, sind weitgehend auf Anomalien bei den mesenchymalen Zellen zurückzuführen. Diese Ergebnisse haben ein Interesse an der Klärung des Mechanismus, durch den die mesenchymalen Zellen die Morphogenese von epithelialem Gewebe kontrollieren, geweckt. Die Substanzen, die in die Kontrolle der Morphogenese von epithelialem Gewebe involviert sind, werden jedoch unter zeitlicher und räumlicher Kontrolle in einem komplizierten System exprimiert. Es ist extrem schwer, diese Substanzen zu isolieren und ihre Funktionen zu analysieren. Es ist auch schwierig, ein experimentelles Modellsystem zu konstruieren, das die Morphogenese von epithelialem Gewebe vereinfacht. Aufgrund dieser und anderer Gründe wurde bei den Untersuchungen auf diesem Gebiet bis heute nicht viel Fortschritt gemacht. Daher wurde eine Analyse des Kontrollmechanismus für die Morphogenese von epithelialem Gewebe nachdrücklich gefordert, um den Mechanismus des Auftretens von Erkrankungen, die mit der Morphogenese von epithelialem Gewebe assoziiert sind, zu erhellen und Verfahren zur Behandlung dieser Erkrankungen zu etablieren.

[0003] Unter diesen Umständen wurde über einen Erfolg bei der Isolierung von Epimorphin, das an der Kontrolle der Morphogenese von epithelialem Gewebe teilnimmt, berichtet (Japanische Offengelegte Patentveröffentlichung Nr. 602529 oder Europäische Patentanmeldung Offengelegte Veröffentlichung Nr. 562123, hier im folgenden als EPA562123 bezeichnet). Von dieser Substanz wurde gezeigt, dass sie eine physiologisch aktive Substanz ist, die ein Protein von 277 bis 289 Aminosäuren als das Kernprotein enthält, und die hauptsächlich durch mesenchymale Zellen biosynthetisiert wird. Von Epimorphin wurde auch gezeigt, dass es die Wirkung der Förderung der Morphogenese von epithelialem Gewebe aufweist und es wurde angedeutet, dass wenn Epimorphin nicht funktionierte, eine normale Gewebebildung nicht stattfand.

[0004] Als eine Substanz, von der bekannt ist, dass sie die physiologische Wirkung von Epimorphin (Epithelialgewebe-Morphogenese-fördernde Wirkung) inhibiert, gibt es einen Antikörper (M-1), der spezifisch an Epimorphin bindet, wodurch dessen Wirkung inhibiert wird (Japanische Offengelegte Patentveröffentlichung Nr. 6025295 oder EPA562123; CELL, 69, Seiten 471-481, 1992). Dieser Antikörper ist nützlich zur Klärung des Mechanismus für die normale Morphogenese von Epithelialgewebe durch Epimorphin und es wird erwartet, dass er bei der Erhellung des Mechanismus des Auftretens von Erkrankungen, die der anormalen Expression (exzessiven Expression) von Epimorphin zugeschrieben werden, und bei der Verhinderung und Behandlung dieser Erkrankungen nützlich ist. Hirai et al. offenbaren, dass Epimorphin ein mesenchymales Protein ist, das für die epitheliale Morphogenese essenziell ist (Hirai Y. et al., Cell, 1992, Band 69, 471-481).

[0005] Koshida et al. offenbaren eine zelluläre Erkennungssequenz von Epimorphin und seine Rolle bei der Wechselwirkung bei der Lungenverzweigungsmorphogenese. Der zentrale Anteil dieses Moleküls (Aminosäuren 105-123) wird offenbart. (Koshida S. et al., Biochem Biophys Res Commun. 1997, Band 234, 522-525). Epimorphin wirkt auch, um die Morphogenese eines Haarfollikels zu fördern. So ist es wahrscheinlich, dass der oben erwähnte Antikörper, der die Aktivität von Epimorphin inhibiert, Alopezie induziert oder Haarwachstum inhibiert.

[0006] Dieser Antikörper warf jedoch das Problem auf, dass er instabil war und während der Herstellung leicht deaktiviert wurde, so dass es schwierig gemacht wurde, ihn als ein Pharmakon oder einen Haarwachstumsinhibitor zu entwickeln oder stabil bereitzustellen. Da sein Molekulargewicht groß ist (mehr als 150.000 Kd), war er darüber hinaus nicht in der Lage, einfach durch das Keratin der Haut zu passieren und es wurde nicht erwartet, dass er Haarwachstum ausreichend inhibiert. Aus diesen Gründen wurde gefordert, eine Substanz zu entwickeln, die die zuvor erwähnte Wirkung von Epimorphin inhibiert, und die stabil ist und ein niedriges Molekulargewicht von, sagen wir, weniger als mehreren tausend aufweist, was ihren Durchtritt durch die Haut erlaubt. Insbesondere wird von Epimorphin-Antagonist, einer Substanz, die an den Rezeptor auf einer epithelialen Zelle bindet, an den Epimorphin bindet, und die in der Lage ist, die Epithelialgewebe-morphogene Wirkung

von Epimorphin zu inhibieren, erwartet, dass sie eine deutliche Wirkung bei ihrer Nutzung als der aktive Inhaltsstoff eines Pharmakons oder eines Haarwachstumsinhibitors und bei der Erhellung des Mechanismus der Wirkung von Epimorphin erzielt.

[0007] Zusätzlich war es das gewöhnliche Vorgehen, bei der Entfernung von Haar an dem Arm oder Bein, es direkt mit Hilfe eines Klebestreifens oder einer Pinzette auszuzupfen oder auf den Ort eine Lösung aufzubringen, die einen Inhaltsstoff, wie eine Lauge für die Lyse des Haares enthielt. Das erstere Verfahren ruft Schmerz hervor, während das letztere Verfahren die Haut schädigt. Wenn es möglich wäre, eine Substanz bereitzustellen, die durch die Inhibition der Funktion von Epimorphin wirkt und ein Molekulargewicht aufweist, das für die perkutane Absorption niedrig genug ist, würde daher von einer solchen Substanz erwartet werden, dass sie als der aktive Inhaltsstoff eines Haarwachstumsinhibitors, der die obigen Probleme vermeidet, nützlich wäre. Das bedeutet, das Haarwachstum kann für eine lange Zeit durch Aufbringen einer Substanz mit solchen Charakteristiken nach dem Rasieren unterdrückt werden. Diese Substanz ist als ein Haarwachstumsinhibitor verwendbar, der die Nachteile eines konventionellen Haarentferners überwindet.

Offenbarung der Erfindung

[0008] Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine Substanz für die Inhibition der Wirkung von Epimorphin bereitzustellen. Genauer zielt die Erfindung darauf, eine Substanz bereitzustellen, die als ein Epimorphin-Antagonist nützlich ist, der spezifisch die morphogene Aktivität von Epimorphin an epitheliale Gewebe inhibiert. Weiter zielt die Erfindung darauf, einen Epimorphin-Antagonisten bereitzustellen, der eine solche charakteristische Wirkung, ein niedriges Molekulargewicht und Stabilität aufweist.

[0009] Eine andere Aufgabe der Erfindung ist es, ein Pharmakon bereitzustellen, das als den aktiven Inhaltsstoff einen Epimorphin-Antagonisten enthält, der die morphogene Wirkung von Epimorphin auf Epithelialgewebe inhibiert und der nützlich für die Prophylaxe und/oder Behandlung von Erkrankungen, die der exzessiven Expression von Epimorphin zuzuschreiben sind, nützlich ist.

[0010] Noch eine andere Aufgabe der Erfindung ist es, einen Haarwachstumsinhibitor bereitzustellen, der als den aktiven Inhaltsstoff den oben beschriebenen Epimorphin-Antagonisten enthält.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0011] [Fig. 1](#) ist eine Mikrofotografie der histologischen Form eines Maus-Pulmonalprimordiums zu Beginn der Kultur, wenn seine Organkultur in der Gegenwart des Epimorphin-Antagonisten der vorliegenden Erfindung durchgeführt wurde.

[0012] [Fig. 2](#) ist eine Mikrofotografie der histologischen Form nach 3 Tagen der Kultivierung, wenn die Organkultur des Maus-Pulmonalprimordiums in der Gegenwart des Epimorphin-Antagonisten der vorliegenden Erfindung durchgeführt wird;

[0013] [Fig. 3](#) ist eine Mikrofotografie der histologischen Form eines Maus-Pulmonalprimordiums zu Beginn der Kultur, wenn seine Organkultur in der Abwesenheit des Epimorphin-Antagonisten der vorliegenden Erfindung durchgeführt wurde;

[0014] [Fig. 4](#) ist eine Mikrofotografie der histologischen Form nach 3 Tagen der Kultivierung, wenn die Organkultur des Maus-Pulmonalprimordiums in der Abwesenheit des Epimorphin-Antagonisten der vorliegenden Erfindung durchgeführt wurde;

[0015] [Fig. 5](#) ist eine Mikrofotografie der histologischen Form einer Maus-Maxillarhaut zu Beginn der Kultivierung, wenn ihre Organkultur in der Gegenwart des Epimorphin-Antagonisten der vorliegenden Erfindung durchgeführt wurde;

[0016] [Fig. 6](#) ist eine Mikrofotografie der histologischen Form nach 3 Tagen der Kultivierung, wenn die Organkultur der Maus-Maxillarhaut in der Gegenwart des Epimorphinantagonisten der vorliegenden Erfindung durchgeführt wurde;

[0017] [Fig. 7](#) ist eine Mikrofotografie der histologischen Form einer Maus-Maxillarhaut zu Beginn der Kultivierung, wenn ihre Organkultur in der Abwesenheit des Epimorphin-Antagonisten der vorliegenden Erfindung durchgeführt wurde und

[0018] [Fig. 8](#) ist eine Mikrofotografie der histologischen Form nach 3 Tagen der Kultivierung, wenn die Organkultur der Maus-Maxillarkhaut in der Abwesenheit des Epimorphin-Antagonisten der vorliegenden Erfindung durchgeführt wurde.

Bestes Verfahren zur Durchführung der Erfindung

[0019] Um die zuvor erwähnten Aufgaben zu erfüllen, haben die Erfinder ausgedehnte Studien durchgeführt, wobei sie herausfanden, dass ein partielles Sequenzpolypeptid, das in der funktionellen Domäne von Epimorphin enthalten ist, die Wirkung der deutlichen Inhibition der morphogenen Aktivität von Epimorphin auf Epithelialzellen aufweist und als ein Epimorphin-Antagonist wirkt. Die vorliegende Erfindung wurde basierend auf diesen Ergebnissen erreicht.

[0020] Ausführlicher stellt die Erfindung einen Epimorphin-Antagonisten bereit, der eine Epimorphin-antagonistische Wirkung der deutlichen Inhibition der morphogenen Wirkung von Epimorphin auf Epithelialzellen aufweist und als ein Epimorphin-Antagonist wirkt, und der ein Polypeptid ist, das die folgende Aminosäuresequenz umfasst:

H-X1-Gly-Asn-Arg-Thr-Ser-Val-Asp-Leu-Arg-Ile-Arg-Arg-Thr-Gln-His-Ser-Val-Leu-OH

wobei X1 Ser oder Asn darstellt.

[0021] Die Erfindung stellt auch einen Epimorphin-Antagonisten bereit, der eine Epimorphin-antagonistische Wirkung der deutlichen Inhibition der morphogenen Wirkung von Epimorphin auf Epithelialzellen aufweist und als ein Epimorphin-Antagonist wirkt, und der ein Polypeptid ist, das die folgende Aminosäuresequenz, die von der ersten Aminosäure bis zu der nten Aminosäure reicht (n bezeichnet eine ganze Zahl von 20 bis 83), aufweist:

1	5	10	15
H-Ser-Gly-Asn-Arg-Thr-Ser-Val-Asp-Leu-Arg-Ile-Arg-Arg-Thr-Gln-			
19	20	25	30
His-Ser-Val-Leu-Ser-Arg-Lys-Phe-Val-Glu-Ala-Met-Ala-Glu-Tyr-			
35	40	45	
Asn-Glu-Ala-Gln-Thr-Leu-Phe-Arg-Glu-Arg-Ser-Lys-Gly-Arg-Ile-			
50	55	60	
Gln-Arg-Gln-Leu-Glu-Ile-Thr-Gly-Arg-Thr-Thr-Thr-Asp-Asp-Glu-			
65	70	75	
Leu-Glu-Glu-Met-Leu-Glu-Ser-Gly-Lys-Pro-Ser-Ile-Phe-Thr-Ser-			
80	83		
Asp-Ile-Ile-Ser-Asp-Ser-Gln-Ile-OH			

[0022] Die Erfindung stellt auch einen Epimorphin-Antagonisten bereit, der eine Epimorphin-antagonistische Aktivität der deutlichen Inhibition der morphogenen Wirkung von Epimorphin auf Epithelialzellen aufweist und als ein Epimorphin-Antagonist wirkt, und der ein Polypeptid ist, das die folgende Aminosäuresequenz, die von der ersten Aminosäure bis zur der nten Aminosäure reicht (n bezeichnet eine ganze Zahl von 20 bis 83), aufweist:

1	5	10	15
Asn-Gly-Asn-Arg-Thr-Ser-Val-Asp-Leu-Arg-Ile-Arg-Arg-Thr-Gln-			
19	20	25	30
His-Ser-Val-Leu-Ser-Arg-Lys-Phe-Val-Asp-Val-Met-Thr-Glu-Tyr-			
35	40	45	
Asn-Glu-Ala-Gln-Ile-Leu-Phe-Arg-Glu-Arg-Ser-Lys-Gly-Arg-Ile-			
50	55	60	
Gln-Arg-Gln-Leu-Glu-Ile-Thr-Gly-Arg-Thr-Thr-Thr-Asp-Asp-Glu-			
65	70	75	
Leu-Glu-Glu-Met-Leu-Glu-Ser-Gly-Lys-Pro-Ser-Ile-Phe-Ile-Ser-			
80	83		
Asp-Ile-Ile-Ser-Asp-Ser-Gln-Ile			

[0023] Die Erfindung stellt auch einen Epimorphin-Antagonisten bereit, der die oben beschriebene Aminosäuresequenz umfasst, von der, in der oder zu der eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, ersetzt oder zugefügt wurden und die auch eine Epimorphin-antagonistische Wirkung der deutlichen Inhibition der morphogenen Wirkung von Epimorphin auf Epithelialzellen aufweist und als ein Epimorphin-Antagonist funktioniert.

[0024] Die Erfindung stellt auch einen Epimorphin-Antagonisten bereit, der ein Polypeptid umfasst, das die oben beschriebene Aminosäuresequenz als eine partielle Sequenz davon enthält und das im wesentlichen eine Epimorphin-antagonistische Wirkung der deutlichen Inhibition der morphogenen Wirkung von Epimorphin auf Epithelialzellen aufweist und als ein Epimorphin-Antagonist funktioniert.

[0025] Die Erfindung stellt auch einen Epimorphin-Antagonisten bereit, der die oben beschriebene Aminosäuresequenz umfasst, in der eine oder mehrere Aminosäuren mit Zuckern oder Lipiden modifiziert wurden und der auch die Epimorphinantagonistische Wirkung aufweist.

[0026] Die Erfindung stellt auch einen Epimorphin-Antagonisten bereit, der die oben beschriebene Aminosäuresequenz umfasst, in der eine oder mehrere Aminosäuren phosphoryliert wurden und die auch die Epimorphin-antagonistische Wirkung der deutlichen Inhibition der morphogenen Wirkung von Epimorphin auf Epithelialzellen aufweist und als ein Epimorphin-Antagonist funktioniert.

[0027] Die Erfindung stellt auch einen Epimorphin-Antagonisten bereit, dessen Epimorphin-antagonistische Wirkung die morphogene Aktivität von Epimorphinen auf einen Haarfollikel inhibiert.

[0028] Die Erfindung stellt auch eine pharmazeutische Zusammensetzung bereit, die den oben beschriebenen Epimorphin-Antagonisten als den aktiven Inhaltsstoff enthält.

[0029] Die Erfindung stellt auch die oben beschriebene pharmazeutische Zusammensetzung für die Verwendung bei der Behandlung und/oder Prävention von Erkrankung, die der exzessiven Expression von Epimorphin zugeschrieben wird, bereit.

[0030] Die Anmeldung beschreibt auch eine pharmazeutische Zusammensetzung, die als ein Haarwachstumsinhibitor verwendet wird.

[0031] Die Erfindung stellt auch ein Polynukleotid bereit, das das zuvor erwähnte Polypeptid codiert.

[0032] Die oben beschriebenen Polypeptide, die durch die Erfindung bereitgestellt werden, weisen die Wirkung der Inhibition der morphogenen Aktivität von Epimorphinen auf Epithelialzellen auf.

[0033] Bei der vorliegenden Patentschrift bezeichnet das Naturtyp-Epimorphin Epimorphin, das durch mes-

enchymale Zellen von, sagen wir, Säugetieren, biosynthetisiert wurde. Beispiele für das Naturtyp-Epimorphin beinhalten Epimorphin, das von Tieren stammt, z.B. vom Menschen, Affen, Rind, Pferd, Schaf, Hund, Katze, Kaninchen, Ratte und Maus, vorzugsweise vom Menschen stammendes Epimorphin. Unter dem Naturtyp-Epimorphin kann es eine Vielzahl von Isoformen geben, die durch genetisches Splicing hervorgerufen werden. Unter den menschlichen Epimorphinen gibt es z.B. menschliches Epimorphin, das aus 288 Aminosäuren besteht, und die Isoformen A und B von menschlichem Epimorphin, die aus 287 bzw. 277 Aminosäuren zusammengesetzt sind, wie in der Japanischen offengelegten Patentveröffentlichung Nr. 6025295 beschrieben wird. Das Maus-Epimorphin beinhaltet Maus-Epimorphin, das aus 289 Aminosäuren besteht und die Isoformen A und B von Maus-Epimorphin, die aus 288 bzw. 279 Aminosäuren bestehen. Der Begriff "Naturtyp-Epimorphin" wird in der vorliegenden Anmeldung verwendet, um ein Konzept auszudrücken, das all diese Isoformen beinhaltet.

[0034] Bei der vorliegenden Anmeldung wird ein Epimorphin als ein Polypeptid offenbart, das im wesentlichen dieselbe physiologische Wirkung wie das Naturtyp-Epimorphin aufweist (z.B. Zelladhäsion an Epithelialzellen und Morphogeneseförderung für Epithelialzellen) und das entweder eine partielle Polypeptidsequenz ist, die von der Polypeptidsequenz des Naturtyp-Epimorphins stammt (normalerweise ein Polypeptid, das 277 bis 289 Aminosäuren umfasst), oder als seine partielle Sequenz die partielle Polypeptidsequenz enthält, die von der Polypeptidsequenz des Naturtyp-Epimorphins stammt. Das Naturtyp-Epimorphin weist einen superspiralisierten alpha-Helixbereich (1) auf der N-terminalen Seite, eine funktionelle Domäne (2) in der Mitte, einen superspiralisierten alpha-Helixbereich (3) auf der C-terminalen Seite und einen hydrophoben Bereich an dem C-Ende auf und bindet an die Zellemembran an dem C-terminalen hydrophoben Bereich. Ein Verfahren zur Entfernung des C-terminalen hydrophoben Bereiches wurde mit Blick auf die Solubilisierung des Naturtyp-Epimorphins vorgeschlagen (Japanische Offengelegte Patentveröffentlichung Nr. 6025295). Ein Polypeptid, das durch solch ein Verfahren hergestellt wird, ist eine typische Verbindung, die in die Kategorie des modifizierten Epimorphins fällt, aber ist nicht Teil der Erfindung.

[0035] Bei der vorliegenden Beschreibung bezeichnet eine Aminosäurevariante des Naturtyp-Epimorphins oder des modifizierten Epimorphins ein Polypeptid, das im wesentlichen dieselbe physiologische Wirkung wie das Naturtyp-Epimorphin aufweist und bei dem ein oder mehrere der Aminosäuren, die die Polypeptidkette des Naturtyp-Epimorphins oder des modifizierten Epimorphins bilden, durch andere Aminosäuren ersetzt wurden oder bei dem ein oder mehrere dieser konstituierenden Aminosäuren deletiert wurden, und/oder bei dem ein oder mehrere willkürliche Aminosäuren in diese Polypeptidkette inseriert wurden, aber es ist nicht Teil der Erfindung.

[0036] Konkreter wird das Naturtyp-Epimorphin z.B. in der Japanischen Offengelegten Patentveröffentlichung Nr. 6025295 als ein vom Menschen oder von der Maus stammendes Epimorphin und Isoformen davon offenbart. Typische Beispiele für das modifizierte Epimorphin sind, zusätzlich zu dem oben erwähnten modifizierten Epimorphin (Japanische Offengelegte Patentveröffentlichung Nr. 6025292 oder EPA562123), modifiziertes Epimorphin, das durch Zugabe eines hydrophilen Polypeptids, das 5 bis 99 Aminosäuren umfasst, zu mindestens einem Ende eines Polypeptids, das die funktionelle Domäne von Epimorphin enthält, hergestellt wird (Japanische Offengelegte Patentveröffentlichung Nr. 8325293 oder Europäische Offengelegte Patentveröffentlichung Nr. 698666 (hier im folgenden als EPA698666 bezeichnet)), und modifiziertes Epimorphin, das ein Polypeptid mit der Struktur umfasst, bei der der hydrophobe Bereich an dem C-Ende von der gesamten Länge des Epimorphins mit dem superspiralisierten alpha-Helixbereich (1) auf der N-terminalen Seite, der funktionellen Domäne (2) in der Mitte, dem superspiralisierten alpha-Helixbereich (3) auf der C-terminalen Seite und dem hydrophoben Bereich an dem C-Ende deletiert wurde, und bei dem mindestens einige Aminosäuren von mindestens einer terminalen Seite der superspiralisierten alpha-Helixbereiche (1) und (3) deletiert wurden (Japanische Offengelegte Patentveröffentlichung Nr. 9065885 oder EPA698666), aber es ist nicht Teil der Erfindung.

[0037] Verfahren zur Herstellung der Aminosäurevariante des Naturtyp-Epimorphins oder des modifizierten Epimorphins werden konkret z.B. in der Japanischen Offengelegten Patentveröffentlichung Nr. 832529 und der Japanischen Offengelegten Patentveröffentlichung Nr. 9065885 oder EPA698666 erklärt, aber sie ist nicht Teil der Erfindung. Sie sind jedoch nicht auf diese Verfahren beschränkt und Aminosäurevarianten, die durch jedes beliebige Verfahren hergestellt werden, sind erhältlich. Die Testung der physiologischen Wirkung dieser modifizierten Epimorphine oder ihrer Aminosäurevarianten kann in Übereinstimmung mit dem Testverfahren für die physiologische Wirkung des Naturtyp-Epimorphins durchgeführt werden, das ausführlich in der Japanischen Offengelegten Patentveröffentlichung Nr. 25295 oder EPA562123 beschrieben wurde. Konkret reicht es aus, die morphogene Wirkung, wie die Verzweigungsmorphogenese einer fötalen Mauslunge oder eine fötale Maus-Hautmorphogenese zu bestätigen, die in den Beispielen der vorliegenden Patentschrift beschrieben wird.

[0038] Der Epimorphin-Antagonist der vorliegenden Erfindung weist die Eigenschaft der Inhibition der morphogenen Wirkung der oben beschriebenen Epimorphine auf Epithelialzellen auf (hier im folgenden kann diese Eigenschaft als "Epimorphinantagonistische Wirkung" bezeichnet werden). Als der Epimorphin-Antagonist der vorliegenden Erfindung wird ein Epimorphin-Antagonist bereitgestellt, der einen Teil der funktionellen Domäne von Epimorphin umfasst und im wesentlichen die Epimorphin-antagonistische Wirkung aufweist. Als eine Ausführungsart davon wird Polypeptid (I) bereitgestellt, welches durch die folgende Aminosäuresequenz spezifiziert wird:

H-Ser(Asn)-Gly-Asn-Arg-Thr-Ser-Val-Asp-Leu-Arg-Ile-Arg-Arg-Thr-Gln-His-Ser-Val-Leu-OH (wobei der Aminosäurerest an dem N-Ende durch den eingeschobenen Aminosäurerest ersetzt werden kann, jeder Aminosäurerest vorzugsweise einen L-Aminosäurerest darstellt; diese Sequenz wird als H-S(N)GNRTSVDLIRRT-QHSVL-OH gemäß der Ein-Buchstaben-Bezeichnung bezeichnet).

[0039] Das Polypeptid (I) ist eine partielle Sequenz der funktionellen Domäne von Epimorphin (eine Aminosäuresequenz, die von den 104ten bis zu den 187ten Aminosäuren reicht, gezählt von dem N-Ende im Falle von menschlichem Naturtyp-Epimorphin, eine Aminosäuresequenz, die von den 105ten bis zu den 188ten Aminosäuren reicht, gezählt von dem N-Ende in dem Fall von Maus-Naturtyp-Epimorphin; siehe Japanische Offengelegte Patentveröffentlichung Nr. 8325293 oder EPA698666), und korrespondiert zu einer Aminosäuresequenz, die von der ersten bis zu der 19ten Aminosäure der funktionellen Domäne reicht. Von dieser funktionellen Domäne wurde bisher gezeigt, dass sie Adhäsion an und Morphogeneseförderung für Epithelialzellen zeigt, aber es wurde nicht berichtet, dass sie Epimorphin-antagonistische Wirkung zeigt. Noch gibt es irgendeinen Bericht über die Produktion dieses Polypeptids.

[0040] Der Epimorphin-Antagonist der vorliegenden Erfindung beinhaltet das Polypeptid (I), aber beschreibt auch eine Aminosäurevariante des Polypeptids (I), bei der eine oder mehrere ihrer konstituierenden Aminosäuren durch andere Aminosäuren ersetzt wurden, oder bei der eine oder mehrere dieser konstituierenden Aminosäuren deletiert wurden, und/oder bei der eine oder mehrere willkürliche Aminosäuren in die Polypeptidkette davon inseriert wurden, und die ein Polypeptid ist, das im wesentlichen Epimorphinantagonistische Aktivität aufweist. Die Arten der einen oder mehreren Aminosäuren, die ersetzt und/oder inseriert werden sollen, sind nicht beschränkt, aber sie sind vorzugsweise L-Aminosäuren.

[0041] Der Epimorphin-Antagonist der vorliegenden Erfindung beinhaltet ein Polypeptid, das das Polypeptid (I) enthält. Das Polypeptid der vorliegenden Erfindung, das in jeder der Ausführungsarten beschrieben wurde, kann in freier Form vorliegen, aber es kann als ein Säureadditionssalz, wie als Hydrochlorid, Acetat oder p-Toluolsulfonat, oder als ein Basen-Additionssalz, wie Ammoniumsalz oder organisches Aminsatz, zur Verfügung gestellt werden. Daher sollte das Polypeptid bei der vorliegenden Patentschrift als das Polypeptid in der Form des Salzes einschließend interpretiert werden. Die Beispiele der vorliegenden Patentschrift beschreiben konkret die Testverfahren für typische Beispiele von Epimorphin-antagonistischer Aktivität, sprich die Aktivität der Inhibition der Morphogenese von dem Bronchus einer fötalen Mauslunge und die Wirkung der Inhibition der Morphogenese einer fötalen Maus-Maxillarahaut, in Bezug auf das Polypeptid (I) als eine bevorzugte Ausführungsart des Epimorphin-Antagonisten der vorliegenden Erfindung. Daher können Fachleute auf dem Gebiet einfach sicherstellen, indem sie auf diese Testbeispiele Bezug nehmen oder durch eine geeignete Änderung oder Modifikation dieser Verfahren, das jedes der Polypeptide, das oben definiert wird, die erwünschte Epimorphin-antagonistische Wirkung aufweist. Die Morphogenese-fördernde Wirkung von Epimorphin auf Epithelialgewebe wird detailliert z.B. in den Beispielen der Japanischen Offengelegten Patentveröffentlichung Nr. 6025295 oder EPA562123 beschrieben. Die Anwendung des dort beschriebenen Testsystems ermöglicht es, die Epimorphinantagonistische Wirkung zu bestätigen.

[0042] Die Beispiele in der vorliegenden Patentschrift demonstrieren, dass das Polypeptid (I), eine besonders bevorzugte Ausführungsart der vorliegenden Erfindung, Zelladhäsionseigenschaften aufweist, die denjenigen von Epimorphin ähnlich sind. Durch Bezugnahme auf diese Testbeispiele oder Zugabe einer geeigneten Änderung oder Modifizierung zu diesem Verfahren wird es möglich, einfach zu bestätigen, dass jedes dieser Polypeptide Zelladhäsionseigenschaften besitzt. Die Erfinder halten sich nicht an irgendeine bestimmte Theorie, aber der Epimorphin-Antagonist der Erfindung besitzt die Eigenschaft der Bindung an einen Epimorphin-Rezeptor, der auf der extrazellulären Oberfläche einer Epithelialzelle vorliegt. Dieser Antagonist zeigt die gleiche Zelladhäsion wie es Epimorphine tun, aber bei der Bindung an den Rezeptor zeigt er keine Morphogenesefördernde Wirkung, wie sie durch Epimorphine gezeigt wird, oder er kann diese Wirkung nicht vollständig zeigen. Daher kann der Epimorphin-Antagonist der Erfindung als ein kompetitiver Inhibitor für Epimorphine wirken.

[0043] Die Epimorphin-antagonistische Wirkung des Epimorphin-Antagonisten der Erfindung ist von der Stärke seiner inhibitorischen Wirkung her gesehen nicht beschränkt, solange dieser Antagonist die morphogene-

tische Wirkung von Epimorphinen auf Epithelialgewebe substanziell inhibieren kann. Vorzugsweise sollte der Antagonist jedoch eine Epimorphin-antagonistische Wirkung aufweisen, die z.B. mit der des Polypeptids (I) vergleichbar ist. Die Beispiele in der vorliegenden Patentschrift beschreiben typische Beispiele für Epimorphin-antagonistische Aktivität. Die Epimorphinantagonistische Aktivität ist jedoch nicht auf diese Beispiele beschränkt, sondern sollte allgemeiner interpretiert werden. Jede Wirkung, die die Morphogenesefördernde Wirkung von Epimorphinen auf Epithelialzellen durch irgendeinen Mechanismus inhibiert, ist, unnötig zu sagen, in die Epimorphin-antagonistische Wirkung des Epimorphin-Antagonisten der vorliegenden Erfindung eingeschlossen.

[0044] Der Epimorphinantagonist der Erfindung kann durch eine chemische Technik in der üblichen Praxis für Peptidsynthese, wie das Festphasen- oder Flüssigphasenverfahren, synthetisiert werden. Die Schutzgruppe für eine Aminogruppe oder dergleichen und der Kondensationswirkstoff für eine Kondensationsreaktion beinhalten bei der Peptidsynthese z.B. diejenigen, die in Suzuki, K.: "Protein Engineering – Basis and Application" (1992, Maruzen Co., Ltd.); Pondanski et al.: "Peptide Synthesis" (1976, John Wiley & Sons, N.Y.); und Stewart et al.: "Solid Phase Peptide Synthesis" (1969, W.H. Freeman und Co., San Francisco) beschrieben werden. Bei dem Festphasenverfahren können verschiedene kommerziell erhältliche Peptidsynthetisierer verwendet werden. Die Beispiele bei der vorliegenden Patentschrift beschreiben ein konkretes Verfahren zur Herstellung des Polypeptids (I) mit Hilfe eines Peptidsynthetisierers.

[0045] Ein gewöhnliches biologisches Verfahren, wie ein Genexpressionsverfahren, ist auch erhältlich. In diesem Falle wird ein rekombinanter Vektor, der eine DNA-Sequenz enthält, die die Polypeptidkette des Epimorphin-Antagonisten der vorliegenden Erfindung codiert, verwendet, um einen Mikroorganismus, der mit diesem Vektor transformiert wurde (Transformante) herzustellen. Das erwünschte Polypeptid, der Epimorphin-Antagonist, kann aus einer Kultur der Transformante separiert und gereinigt werden. Natürlich ist das Herstellungsverfahren für den Epimorphin-Antagonisten der Erfindung nicht auf die oben beschriebenen Verfahren beschränkt.

[0046] DNA, die für das Verfahren der Herstellung durch Genexpression verwendbar ist, beinhaltet z.B. DNA, die durch das erste Nukleotid bis zu dem 57ten Nukleotid in der folgenden Basensequenz spezifiziert wird:

```
AGTGGGAACC GGACTTCAGT GGATCTTCGG ATACGAAGAA 40
CCCAGCATTG GGTGCTGTCT CGGAAGTTTG TGGAAGCCAT 80
GGCGGAGTAC AATGAGGCAC AGACTCTGTT TCGGGAGCGG 120
AGCAAAGGCC GCATCCAGCG CCAGCTGGAG ATAAGTGGGA 160
GAACCACCAC AGACGACGAG CTAGAAGAGA TGCTGGAGAG 200
CGGGAAGCCA TCCATCTTCA CTTCCGACAT TATATCAGAT 240
TCACAAATT (249)
```

oder DNA, die durch das erste Nukleotid bis zu dem $(3 \times k)$ -Nukleotid (k bezeichnet eine ganze Zahl von 20 bis 83) in der obigen Basensequenz spezifiziert wird (es wird nur der Sinnstrang gezeigt und die komplementäre Basensequenz ausgelassen). Diese DNA korrespondiert zu den ersten bis 249ten Nukleotiden der DNA, die die Basensequenz umfasst, die als SEQ ID NO: 6 in dem Sequenzprotokoll bezeichnet wird, die ein Polypeptid als die funktionelle Domäne des menschlichen Naturtyp-Epimorphins codiert.

[0047] Ähnlich kann von der DNA, die zu den 1ten bis 249ten Nukleotiden der DNA korrespondiert, die die Basensequenz umfasst, die als SEQ ID NO: 7 in dem Sequenzprotokoll bezeichnet wird, die ein Polypeptid als die funktionelle Domäne des Maus-Naturtyp-Epimorphins codiert, DNA verwendet werden, die durch das erste Nukleotid bis zu dem 57ten Nukleotid spezifiziert wird; oder DNA, die durch das erste Nukleotid bis zu dem $(3 \times m)$ -Nukleotid (m bezeichnet eine ganze Zahl von 20 bis 83) spezifiziert wird.

[0048] Unter Verwendung dieser DNAs können Aminosäurevarianten einfach durch das gebräuchliche Verfahren hergestellt werden. Als ein solches Verfahren verwendbar ist z.B. das rekombinante PCR-Verfahren, das auf den Seiten 155-160 von "PCR Experimental Manual" (1991, HJB Publishing Bureau) beschrieben wird, oder das PCR-basierte Verfahren zur Herstellung eines mutanten Gens, das auf den Seiten 63-67 von "Experimental Medicine, Special Issue, Band 8, Nr. 9" (1990, Shodo-sha) beschrieben wird. Um das erwünschte Po-

lypeptid herzustellen, kann das Verfahren zur Genexpression das Verfahren sein, dass detailliert in den Beispielen der Japanischen Offengelegten Patentveröffentlichung Nr. 9065885 oder EPA698666 beschrieben wird, aber es ist nicht darauf beschränkt.

[0049] Der Epimorphin-Antagonist der vorliegenden Erfindung ist gegen die exzessive Expression von verschiedenen morphogenetischen Faktoren, die durch Naturtyp-Epimorphin typisiert werden, nützlich und besonders nützlich als der aktive Inhaltsstoff eines Pharmakons für die Behandlung und/oder Verhinderung von Erkrankungen, die mit der exzessiven Expression von Naturtyp-Epimorphin assoziiert sind, oder als der aktive Inhaltsstoff eines Pharmakons für die Diagnose solcher Erkrankungen. Der Epimorphin-Antagonist der vorliegenden Erfindung ist auch nützlich als der aktive Inhaltsstoff eines Pharmakons für die Behandlung von Hyperepimorphinismus, der durch Epimorphine induziert wird, die für die Behandlung und/oder Prävention von Erkrankungen verabreicht werden, die mit der minimalen Expression von Naturtyp-Epimorphin assoziiert sind. Überdies ist der Epimorphin-Antagonist der vorliegenden Erfindung nützlich als der aktive Inhaltsstoff eines Pharmakons für die Verwendung als ein Haarwachstumsinhibitor. Der Begriff "Pharmakon" bei der vorliegenden Patentschrift wird in seinem weitesten Sinne verwendet, einschließlich in dem Sinn für die Verwendung bei der Prävention, Behandlung und Diagnose von Erkrankungen bei Säugetieren, einschließlich Menschen, wie auch als Haarwachstumsinhibitoren, die normalerweise als Quasimedikamente klassifiziert werden.

[0050] Es wird vorgeschlagen, dass als morphogenetische Faktoren verschiedene, einschließlich Naturtyp-Epimorphin, existieren. Erkrankungen, die durch die exzessive Expression von einem oder mehreren dieser Faktoren hervorgerufen werden, beinhalten z.B. Rheumatoide Arthritis, Karzinome, wie Nierenkarzinom oder Hautkrebs, Arteriosklerose, Kollagenose, hämatopoetische Erkrankung, Nierenerkrankung, Muskeldystrophie, Osteoporose, Neurofibromatose, Sturge-Weber-Syndrom, tuberöse Sklerose, gestörten Neuralrohrverschluss, segmentale Störung, vagale Störung, kallöse Agenesie, Porencephalie und Hydrocephalus. Von dem Pharmakon der Erfindung kann erwartet werden, dass es sich als nützlich für die Behandlung und/oder Prävention, wie auch für die Diagnose dieser Erkrankungen herausstellt. Jedoch sind die Aufgaben, auf die das Pharmakon der Erfindung angewendet wird, nicht auf diese Erkrankungen beschränkt. Es sollte verstanden werden, dass Erkrankungen, die mit der exzessiven Expression von einem oder mehreren morphogenetischen Faktoren, insbesondere Epimorphin, assoziiert sein können, alle in den Umfang der Ziele für die Anwendung dieses Pharmakons der Erfindung mit eingeschlossen sind. Die Verwendungen eines Haarwachstumsinhibitors, der den Epimorphin-Antagonist als den aktiven Inhaltsstoff enthält, eine Ausführungsart des Pharmakons der Erfindung, sollten in ihrem weitesten Sinne interpretiert werden, einschließlich denjenigen für Alopezie, Inhibition des Haarwachstums und Inhibition von Trichogenese.

[0051] Als das Pharmakon der Erfindung können eine oder mehrere Substanzen, die aus den Epimorphin-Antagonisten ausgewählt werden, die die zuvor erwähnten Polypeptide sind, als solche verwendet werden. Normalerweise wird es jedoch vorgezogen, dass ein oder mehrere pharmazeutisch akzeptable pharmazeutische Zusatzstoffe verwendet werden, um eine pharmazeutische Zusammensetzung herzustellen, die eine oder mehrere der obigen Substanzen als den aktiven Inhaltsstoff enthält, und diese Zusammensetzung für die Behandlung und/oder Prophylaxe der zuvor erwähnten Erkrankungen verwendet wird. Von den Standpunkten der Löslichkeit, der Pharmakokinetik wie Absorption und Exkretion und/oder des Herstellungsverfahrens können diese Polypeptide in der Form von pharmazeutisch akzeptablen Salzen vorliegen. Der Weg der Verabreichung der pharmazeutischen Zusammensetzung beinhaltet z.B. systemische Verabreichung, wie intravenöse, rektale oder orale Verabreichung, wie auch lokale Verabreichung, wie externe Anwendung, ophthalmische Instillierung, nasale Instillierung, Ohreninstillierung oder lokale Injektion.

[0052] Zum Beispiel sind Medikamente für die systemische Verabreichung, wie intravenöse Injektionen oder Tropfeninfusionen, oder Medikamente für die lokale Verabreichung, wie Salben, Cremes, Pflaster oder lokale Injektionen, bevorzugte Formen der pharmazeutischen Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung. Die Verwendung einer pharmazeutischen Zusammensetzung, die den aktiven Inhaltsstoff verkapselt in Liposom oder dergleichen enthält, oder einer pharmazeutischen Zusammensetzung mit Antikörpern oder dergleichen, die daran gebunden sind, kann in der Lage sein, ihre Affinität oder Selektivität für das Zielorgan zu verbessern. Natürlich kann der Verabreichungsweg passend zu dem Typ der Erkrankung, auf die abgezielt wird, dem Zweck der Behandlung oder Prävention, der Art der Läsion und dem Zustand des Patienten ausgewählt werden. Die Dosierungsform, die für den Verabreichungsweg vorgezogen wird, kann auch passend ausgewählt werden. Die Form der pharmazeutischen Zusammensetzung, wenn sie als ein diagnostisches Reagenz verwendet wird, ist nicht beschränkt und beinhaltet ihre in vivo-Verabreichung an den Patienten und ihre in vitro-Verwendung an Proben, die von dem Patienten genommen werden.

[0053] Ein Haarwachstumsinhibitor, der ein oder mehrere Substanzen enthält, die aus den Epimorphin-Anta-

gonisten der Erfindung als die zuvor erwähnten Polypeptide ausgewählt wird, wird vorzugsweise als ein Präparat in der Form zur Verfügung gestellt, die für den Zweck der Verwendung als ein Haarwachstumshemmer bevorzugt wird, wie eine Creme, ein Spray, eine Einstreichungslösung oder ein Pflaster. Das Polypeptid kann in der Form eines pharmazeutisch akzeptablen Salzes vorliegen. Es wird auch vorgezogen, dass ein geeigneter oberflächenaktiver Wirkstoff oder ein fettlösliches Material mit seiner Creme vermischt wird, um die effiziente perkutane Absorption des Epimorphin-Antagonisten, sprich des aktiven Inhaltsstoffes, durch die Keratinschicht der Haut zu ermöglichen.

Beispiele

[0054] Die vorliegende Erfindung wird weiter konkret durch die folgenden Beispiele beschrieben, aber der Umfang der Erfindung ist nicht darauf begrenzt:

Beispiel 1

[0055] Herstellung von Epimorphin-Antagonist der Erfindung Es wurde ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz von 19 Aminosäuren, reichend von der ersten (N-terminalen) Aminosäure zu der 19ten Aminosäure in der funktionellen Domäne (die Aminosäuresequenz, die als SEQ ID NO: 8 in dem Sequenzprotokoll beschrieben wird) in der Mitte des Maus-Naturtyp-Epimorphins, chemisch unter Verwendung eines Peptid-Synthetisierers (Advanced Chemtech 396 Synthetisierer) synthetisiert. Dieses Material wurde mit Hilfe von Umkehrphasen-HPLC unter den folgenden Bedingungen gereinigt, um Polypeptid A mit einer Reinheit von mehr als 90 % zu erhalten.

Säule:	Umkehrphasen-Perseptive Biosystems Poros R2
Adsorptionspuffer:	0,1 % wässrige Lösung von Trifluoressigsäure
Elutionspuffer:	Lösung A (0,1 % wässrige Lösung von Trifluoressigsäure)

Lösung B (Acrylnitril, das 0,1 % wässrige Lösung von Trifluoressigsäure inkorporiert)
Elution mit 76,2 % Lösung A + 23,8 % Lösung B in 2,015 Minuten.

[0056] Ähnlich wurde Polypeptid B mit einer Aminosäuresequenz von 39 Aminosäuren, reichend von der ersten (N-terminalen) Aminosäure bis zu der 39ten Aminosäure, und Polypeptid C mit einer Aminosäuresequenz von 41 Aminosäuren, reichend von der ersten (N-terminalen) Aminosäure bis zu der 41ten Aminosäure, in der funktionellen Domäne (die Aminosäuresequenz, die als SEQ ID NO: 8 in dem Sequenzprotokoll beschrieben wird) in der Mitte des Maus-Naturtyp-Epimorphins durch Synthese und Reinigung mit Hilfe der gleichen Umkehrphasen-HPLC erhalten. Jedes Polypeptid besaß eine Reinheit von mehr als 90 %.

Polypeptid B: Elution mit 93,7 % Lösung A + 6,3 % Lösung B in 9,27 Minuten

Polypeptid C: Elution mit 93,8 % Lösung A + 6,2 % Lösung B in 9,18 Minuten

Beispiel 2: Herstellung von modifiziertem Epimorphin

[0057] cDNAs, die ein Fragment von von Maus stammendem Epimorphin, dem der hydrophobe Bereich am dem C-Ende entzogen wurde, und die funktionelle Domäne in der Mitte des Epimorphins (Fragment (123) bzw. Fragment (2), beschrieben in dem Beispiel der Japanischen Offengelegten Patentveröffentlichung Nr. 9065885 oder EPA698666), codieren, wurden durch PCR in Übereinstimmung mit dem Verfahren, das in dem Beispiel der Japanischen Offengelegten Patentveröffentlichung Nr. 9065885 oder EPA698666 beschrieben wird, hergestellt. Dann wurden sie in die NdeI- und NheI-Orte von pET3C-Vektor, von dem der Bereich zwischen den zwei Eco RV-Orten deletiert wurde, integriert, um einen Expressionsvektor zu konstruieren. Dann wurde dieser Expressionsvektor in E. coli BL21-Stamm, der in kompetente Zellen durch das Hanahan-Verfahren ("Lab Manual Genetic Engineering", Maruzen Co., Ltd.) umgewandelt wurde, eingeführt. Die Einführung des Vektors wurde durch die Zugabe einer Expressionsvektorklösung (1 mg/ml Lösung, 1 µl) in eine Lösung (100 µl) der kompetenten Zellen auf Eis durchgeführt, wobei man die Mischung für 10 Minuten auf Eis stehen ließ, die Mischung in einem Inkubator für 2 Minuten bei 42°C stehen ließ und dann das System für 30 Minuten auf Eis stehen ließ.

[0058] Dann wurden die E. coli-Zellen auf einer LB-Platte (1 % Bacto Trypton, 0,5 % Bacto-Hefeextrakt, 1 % NaCl, 1,5 % Bacto-Agar), die 50 µg/ml Ampicillin enthielt, kultiviert und Kolonien, die wuchsen, wurden selektiert. Diese Transformanten wurden durch das PCR-Verfahren auf DNA, die das erwünschte modifizierte Epimorphin codiert, untersucht. Es wurde bestätigt, dass 9 von 10 Stämmen die erwünschten Transformanten, die

den Expressionsvektor bewahrten, waren. Die resultierenden Transformanten wurden durch 37°C Schüttelkultur in einem flüssigen LB-Kulturmedium (1 % Bacto Trypton, 0,5 % Bacto-Hefeextrakt, 1 % NaCl), das 50 µg/ml Ampicillin enthielt, massenkultiviert. Dann wurde IPTG, ein Material für die Induktion von Expression, zu dem Kulturmedium bis zu einer endgültigen Konzentration von 1 mM zugegeben. Die Schüttelkultur wurde für 2 Stunden bei 37°C weiter fortgesetzt, um die modifizierten Epimorphine (Fragment (123) und Fragment (2)) in den E. coli-Zellen zu exprimieren.

[0059] Die Analyse des Gesamtproteins in den E. coli-Zellen durch SDS-Polyacrylamidelektrophorese zeigte, dass die erwünschten modifizierten Epimorphine in nahezu gleichen Mengen produziert wurden. Die oben erwähnten Transformanten, die die modifizierten Epimorphine exprimierten, wurden in einem Lysepuffer [50 mM Tris-HCl (pH 8,0), 1 mM EDTA, 100 mM NaCl] suspendiert und gewaschen und zentrifugiert, um die Zellen auszufällen. Die Zellen wurden in dem Lysepuffer suspendiert und dann wurde ein Lysozym (SIGMA, L-6876) zu einer Konzentration von 1 mg/ml zugegeben. Es wurde dreimal Gefrier/Auftau wiederholt, um die E. coli zu lysieren. Nach Ultraschallbehandlung wurde der Überstand durch Zentrifugation entfernt. Das Präzipitat wurde 4mal mit 2M Harnstoff/Lysepuffer gewaschen. Dann wurde das Präzipitat erneut in 8M Harnstoff/Lysepuffer suspendiert und zentrifugiert, um eine Überstandsfraction zu erhalten (Reinheit: mehr als 90 %), die die erwünschten modifizierten Epimorphine enthielt.

Beispiel 3 Zelladhäsion

[0060] Die Polypeptide A, B und C der vorliegenden Erfindung, die in Beispiel 1 erhalten werden, und die modifizierten Epimorphine (Fragment (123) und Fragment (2), wovon jedes dieselbe Zelladhäsionskapazität aufweist, wie die von Naturtyp-Epimorphin) wurden auf Suspensions-Kulturmediumschalen geschichtet. Nach der Trocknung wurden die Schalen einmal mit 8M Harnstoff/Lysepuffer gewaschen. Dann wurden die Schalen 5mal mit PBS⁻ gewaschen und der Zellstamm C3H/10T1/2Klon8 (Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd., 08-226) wurde auf die Schalen unter Verwendung von D-MEM/F-12-Kulturmedium (GIBCO BRL, 12400-024; hier im folgenden "DH-Medium" genannt), das 20 mg/ml Rinderserumalbumin (SIGMA, A-7030) enthielt, gesprenkelt. Eine Stunde später wurden die Schalen 3mal mit PBS⁻ gewaschen und dann wurden die Zellen unter Verwendung von 0,5 N NaOH gesammelt. Es wurde die O.D. bei 260 nm gemessen, um die Anzahl der Zellen, die an die Schalen gebunden waren, zu bestimmen. Die Zellzählung wurde als ein Indikator für die Zelladhäsion von jeder Probe verwendet. Die gefundenen O.D.'s betrugen 1,5237 für Polypeptid A, 1,4251 für Polypeptid B, 1,4697 für Polypeptid C, 1,4959 für Fragment (123), 1,4478 für Fragment (2) und 0,0194 für die Kontrolle (unbehandelt). So wurde für alle Polypeptide A, B und C bestätigt, dass sie Zelladhäsion zeigten, die mit derjenigen der modifizierten Epimorphine vergleichbar war.

Beispiel 4 Inhibitorische Wirkung auf die Morphogenese von Bronchus

[0061] Ein pulmonales Primordium wurde aus dem Fötus der ICR-schwangeren Maus (Nippon Charles River, 12 Tage Gestation) unter einem stereoskopischen Mikroskop entfernt. Das entnommene pulmonale Primordium wurde auf einen Nuclepor-Membranfilter (SN 110419), der auf einem Kulturmedium (DH-Medium oder 0,35 mg/ml Polypeptid A-enthaltendes DH-Medium) schwamm, platziert. Die Organkultur wurde in 5 % CO₂ bei 37°C durchgeführt, um den Effekt des Polypeptids A auf die Morphogenese des Bronchus zu untersuchen. Wie in den [Fig. 3](#) und [Fig. 4](#) gezeigt wird, schritt, wenn die Organkultur DH-Medium verwendete, die Morphogenese des Bronchus normal fort und eine feinverzweigte Bronchusbildung wurde nach Beendigung der Kultur bestätigt. Als auf der anderen Seite das pulmonale Primordium in dem Kulturmedium, das Polypeptid A enthielt, kultiviert wurde, wurde die Morphogenese des Bronchus deutlich inhibiert ([Fig. 1](#) und [Fig. 2](#)). Diese Art der Inhibition der Morphogenese war genau die gleiche wie bei der Behandlung mit MC-1, sprich mit Antikörpern, die die Funktion von Epimorphin inhibieren. Daher ist es klar, dass das Polypeptid A der vorliegenden Erfindung die morphogene Wirkung von Epimorphin auf ein pulmonales Primordium inhibiert.

Beispiel 5 Inhibitorische Wirkung auf die Morphogenese von Maxillarahaut

[0062] Es wurde eine Maxillarahaut aus dem Fötus der ICR-schwangeren Maus (Nippon Charles River, 13 Tage Gestation) unter einem stereoskopischen Mikroskop entfernt. Die entnommene Maxillarahaut wurde auf einem Nuclepor-Membranfilter (SN 110419), der auf einem Kulturmedium (DH-Medium oder 0,35 mg/ml Polypeptid A-enthaltendes DH-Medium) schwamm, platziert. Die Organkultur wurde in 5 % CO₂ bei 37°C durchgeführt, um den Effekt von Polypeptid A auf die Morphogenese des Haarfollikels zu untersuchen. Wie in den [Fig. 7](#) und [Fig. 8](#) gezeigt wird, schritt, wenn die Organkultur DH-Medium verwendete, die Morphogenese von normalen Haarfollikeln aus der Maxillarahaut fort und die Bildung einer Vielzahl von Haarfollikeln wurde bestätigt. Als auf der anderen Seite die Maxillarahaut in dem Kulturmedium, das Polypeptid A enthielt, organkultiviert

wurde, wurde die Morphogenese der Haarfollikel deutlich inhibiert ([Fig. 5](#) und [Fig. 6](#)). Diese Art der Inhibition der Morphogenese war genau die gleiche wie bei der Behandlung mit MC-1, sprich mit Antikörpern, die die Funktion von Epimorphin inhibieren. Daher ist es klar, dass das Polypeptid A der vorliegenden Erfindung die Haarfollikel-morphogenetische Wirkung von Epimorphin auf eine Maxillarhaut inhibiert.

Gewerbliche Anwendbarkeit

[0063] Der Epimorphin-Antagonist der vorliegenden Erfindung weist die Wirkung der spezifischen Inhibition der morphogenen Wirkung von Epimorphinen auf Epithelialgewebe auf. Daher ist er als der aktive Inhaltsstoff eines Pharmazeutikums für die Behandlung und/oder Prävention von Erkrankungen, die der exzessiven Expression von Epimorphin zugeschrieben werden, oder als der aktive Inhaltsstoff eines Haarwachstumsinhibitors nützlich.

[Sequenzprotokoll]

SEQ ID NO: 1

Länge der Sequenz: 249

Morphologie der Sequenz: Nukleinsäure

Topologie: linear

Art der Sequenz: cDNA zu mRNA

Sequenz

AGT GGG AAC CGG ACT TCA GTG GAT CTT CGG ATA CGA AGA ACC CAG	45
CAT TCG GTG CTG TCT CGG AAG TTT GTG GAA GCC ATG GCG GAG TAC	90
AAT GAG GCA CAG ACT CTG TTT CGG GAG CGG AGC AAA GGC CGC ATC	135
CAG CGC CAG CTG GAG ATA ACT GGG AGA ACC ACC ACA GAC GAC GAG	180
CTA GAA GAG ATG CTG GAG AGC GGG AAG CCA TCC ATC TTC ACT TCC	225
GAC ATT ATA TCA GAT TCA CAA ATT	249

SEQ ID NO: 2

Länge der Sequenz: 19

Morphologie der Sequenz: Aminosäure

Topologie: linear

Art der Sequenz: Peptid

Sequenz

Ser Gly Asn Arg Thr Ser Val Asp Leu Arg Ile Arg Arg Thr Gln

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

His Ser Val Leu

19

SEQ ID NO: 3

Länge der Sequenz: 19

Morphologie der Sequenz: Aminosäure

Topologie: linear

Art der Sequenz: Peptid

Sequenz

Asn Gly Asn Arg Thr Ser Val Asp Leu Arg Ile Arg Arg Thr Gln
 1 5 10 15
 His Ser Val Leu
 19

SEQ ID NO: 4

Länge der Sequenz: 83

Morphologie der Sequenz: Aminosäure

Topologie: linear

Art der Sequenz: Peptid

Sequenz

Ser Gly Asn Arg Thr Ser Val Asp Leu Arg Ile Arg Arg Thr Gln
 5 10 15
 His Ser Val Leu Ser Arg Lys Phe Val Glu Ala Met Ala Glu Tyr
 20 25 30
 Asn Glu Ala Gln Thr Leu Phe Arg Glu Arg Ser Lys Gly Arg Ile
 35 40 45
 Gln Arg Gln Leu Glu Ile Thr Gly Arg Thr Thr Thr Asp Asp Glu
 50 55 60
 Leu Glu Glu Met Leu Glu Ser Gly Lys Pro Ser Ile Phe Thr Ser
 65 70 75
 Asp Ile Ile Ser Asp Ser Gln Ile
 80 83

SEQ ID NO: 5

Länge der Sequenz: 83

Morphologie der Sequenz: Aminosäure

Topologie: linear

Art der Sequenz: Peptid

Sequenz

Asn	Gly	Asn	Arg	Thr	Ser	Val	Asp	Leu	Arg	Ile	Arg	Arg	Thr	Gln
1					5				10					15
His	Ser	Val	Leu	Ser	Arg	Lys	Phe	Val	Asp	Val	Met	Ala	Glu	Tyr
				20					25					30
Asn	Glu	Ala	Gln	Ile	Leu	Phe	Arg	Glu	Arg	Ser	Lys	Gly	Arg	Ile
				35					40					45
Gln	Arg	Gln	Leu	Glu	Ile	Thr	Gly	Arg	Thr	Thr	Thr	Asp	Asp	Glu
				50					55					60
Leu	Glu	Glu	Met	Leu	Glu	Ser	Gly	Lys	Pro	Ser	Ile	Phe	Ile	Ser
				65					70					75
Asp	Ile	Ile	Ser	Asp	Ser	Gln	Ile							
				80					83					

SEQ ID NO: 6

Länge der Sequenz: 252

Morphologie der Sequenz: Nukleinsäure

Topologie: linear

Art der Sequenz: cDNA zu mRNA

Sequenz

AGT GGG AAC CGG ACT TCA GTG GAT CTT CGG ATA CGA AGA ACC CAG	45
CAT TCG GTG CTG TCT CGG AAG TTT GTG GAA GCC ATG GCG GAG TAC	90
AAT GAG GCA CAG ACT CTG TTT CGG GAG CGG AGC AAA GGC CGC ATC	135
CAG CGC CAG CTG GAG ATA ACT GGG AGA ACC ACC ACA GAC GAC GAG	180
CTA GAA GAG ATG CTG GAG AGC GGG AAG CCA TCC ATC TTC ACT TCC	225
GAC ATT ATA TCA GAT TCA CAA ATT ACT	252

SEQ ID NO: 7

Länge der Sequenz: 252

Morphologie der Sequenz: Nukleinsäure

Anzahl der Ketten: doppelsträngig

Topologie: linear

Art der Sequenz: cDNA zu mRNA

Sequenz

```

AAT GGG AAC CGA ACT TCA GTG GAT CTG CGG ATA CGA AGG ACC CAG 45
CAC TCG GTG CTG TCA CGG AAG TTT GTG GAC GTC ATG ACA GAA TAC 90
AAT GAA GCG CAG ATC CTG TTC CGG GAG CGA AGC AAA GGC CGC ATC 135
CAG CGC CAG CTG GAG ATC ACT GGG AGG ACC ACC ACT GAC GAC GAG 180
CTG GAA GAG ATG CTG GAG AGC GGG AAG CCG TCC ATC TTC ATC TCG 225
GAT ATT ATA TCA GAT TCA CAA ATC ACT 252

```

SEQ ID NO: 8

Länge der Sequenz: 84

Morphologie der Sequenz: Aminosäure

Topologie: linear

Art der Sequenz: Peptid

Sequenz

```

Asn Gly Asn Arg Thr Ser Val Asp Leu Arg Ile Arg Arg Thr Gln
 1              5              10              15
His Ser Val Leu Ser Arg Lys Phe Val Asp Val Met Ala Glu Tyr
              20              25              30
Asn Glu Ala Gln Ile Leu Phe Arg Glu Arg Ser Lys Gly Arg Ile
              35              40              45
Gln Arg Gln Leu Glu Ile Thr Gly Arg Thr Thr Thr Asp Asp Glu
              50              55              60
Leu Glu Glu Met Leu Glu Ser Gly Lys Pro Ser Ile Phe Ile Ser
              65              70              75
Asp Ile Ile Ser Asp Ser Gln Ile Thr
              80              84

```

Sequenzprotokoll

Referenz: 72 835 m2

Datum: 08.04.1998

(1) ALLGEMEINE ANGABEN:

(i) ANMELDER:

- (A) NAME: Sumitomo Electric Industries, LTD.
- (B) STRASSE: 5-33, Kitahama 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi
- (C) STADT: Osaka 541
- (E) LAND: JP
- (F) POSTLEITZAHL: keine

(ii) TITEL DER ERFINDUNG: Epimorphin-Antagonist und
Herstellungsverfahren dafür

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 10

(iv) COMPUTERLESBARE FASSUNG:

- (A) DATENTRÄGER: Diskette
- (B) COMPUTER: IBM-PC-kompatibel
- (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Ausgabe #1.0, Version #1.25 (EPO)

(v) DATEN DER VORLIEGENDEN ANMELDUNG:

ANMELDUNG Nr.: EP 97919664.9

Sequenzprotokoll

(1) ALLGEMEINE ANGABEN:

- (i) ANMELDER:
 - (A) NAME: Sumitomo Electric Industries, LTD.
 - (B) STRASSE: 5-33, Kitahama 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi
 - (C) STADT: Osaka 541
 - (E) LAND: JP
 - (F) POSTLEITZAHL: keine
- (ii) TITEL DER ERFINDUNG: Epimorphin-Antagonist und
Herstellungsverfahren dafür
- (iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 10
- (iv) COMPUTERLESBARE FASSUNG:
 - (A) DATENTRÄGER: Diskette
 - (B) COMPUTER: IBM-PC-kompatibel
 - (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
 - (D) SOFTWARE: PatentIn Ausgabe #1.0, Version #1.25 (EPO)
- (v) DATEN DER VORLIEGENDEN ANMELDUNG:
ANMELDUNG Nr.: EP 97919664.9

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1

- (i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN:
 - (A) LÄNGE: 249 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: doppelt
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)
- (vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:
 - (A) ORGANISMUS: Mus
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

AGTGGGAACC GGACTTCAGT GGATCTTCGG ATACGAAGAA CCCAGCATTC GGTGCTGTCT	60
CGGAAGTTTG TGGAAGCCAT GCGGAGTAC AATGAGGCAC AGACTCTGTT TCGGGAGCGG	120
AGCAAAGGCC GCATCCAGCG CCAGCTGGAG ATAAGTGGGA GAACCACCAC AGACGACGAG	180
CTAGAAGAGA TGCTGGAGAG CGGGAAGCCA TCCATCTTCA CTTCCGACAT TATATCAGAT	240
TCACAAATT	249

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2

- (i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN:
(A) LÄNGE: 19 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM:
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Mus

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

Ser Gly Asn Arg Thr Ser Val Asp Leu Arg Ile Arg Arg Thr
1 5 10
Gln His Ser Val Leu
15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3

- (i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN:
(A) LÄNGE: 19 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM:
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Mus

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

Asn Gly Asn Arg Thr Ser Val Asp Leu Arg Ile Arg Arg Thr Gln His
1 5 10 15
Ser Val Leu

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4

- (i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN:
(A) LÄNGE: 83 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM:
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Mus

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

Ser Gly Asn Arg Thr Ser Val Asp Leu Arg Ile Arg Arg Thr Gln His
 1 5 10 15

Ser Val Leu Ser Arg Lys Phe Val Glu Ala Met Ala Glu Tyr Asn Glu
 20 25 30

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

Leu Glu Ile Thr Gly Arg Thr Thr Thr Asp Asp Glu Leu Glu Glu Met
 50 55 60

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

Ser Gln Ile

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5

- (i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN:
 - (A) LÄNGE: 83 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:
 - (A) ORGANISMUS: Mus

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

Asn Gly Asn Arg Thr Ser Val Asp Leu Arg Ile Arg Arg Thr Gln His
 1 5 10 15

Ser Val Leu Ser Arg Lys Phe Val Asp Val Met Ala Glu Tyr Asn Glu
 20 25 30

Ala Gln Ile Leu Phe Arg Glu Arg Ser Lys Gly Arg Ile Gln Arg Gln
 35 40 45

Leu Glu Ile Thr Gly Arg Thr Thr Thr Asp Asp Glu Leu Glu Glu Met
 50 55 60

Leu Glu Ser Gly Lys Pro Ser Ile Phe Ile Ser Asp Ile Ile Ser Asp
 65 70 75 80

Ser Gln Ile

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6

(i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN:

- (A) LÄNGE: 252 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: doppelt
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA zu mRNA

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

- (A) ORGANISMUS: Mus

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

AGTGGGAACC GGACTTCAGT GGATCTTCGG ATACGAAGAA CCCAGCATTC GGTGCTGTCT 60
 CGGAAGTTTG TGGAAGCCAT GCGGAGTAC AATGAGSCAC AGACTCTGTT TCGGGAGCGG 120
 AGCAAAGGCC GCATCCAGCG CCAGCTGGAG ATAAGTGGGA GAACCACCAC AGACGACGAG 180
 CTAGAAGAGA TGCTGGAGAG CGGGAAGCCA TCCATCTTCA CTTCCGACAT TATATCAGAT 240
 TCACAAATTA CT 252

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7

- (i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN:
 - (A) LÄNGE: 252 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: doppelt
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA zu mRNA
- (vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:
 - (A) ORGANISMUS: Mus
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

```

AATGGGAACC GAACTTCAGT GGATCTGCGG ATACGAAGGA CCCAGCACTC GGTGCTGTCA      60
CGGAAGTTTG TGGACGTCAT GACAGAATAC AATGAAGCGC AGATCCTGTT CCGGGAGCGA      120
AGCAAAGGCC GCATCCAGCG CCAGCTGGAG ATCACTGGGA GGACCACCAC TGACGACGAG      180
CTGGAAGAGA TGCTGGAGAG CGGGAAGCCG TCCATCTTCA TCTCGGATAT TATATCAGAT      240
TCACAAATCA CT                                                                252

```

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8

- (i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN:
 - (A) LÄNGE: 84 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM:
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:
 - (A) ORGANISMUS: Mus

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

Asn Gly Asn Arg Thr Ser Val Asp Leu Arg Ile Arg Arg Thr Gln His
1 5 10 15

Ser Val Leu Ser Arg Lys Phe Val Asp Val Met Ala Glu Tyr Asn Glu
20 25 30

Ala Gln Ile Leu Phe Arg Glu Arg Ser Lys Gly Arg Ile Gln Arg Gln
35 40 45

Leu Glu Ile Thr Gly Arg Thr Thr Thr Asp Asp Glu Leu Glu Glu Met
50 55 60

Leu Glu Ser Gly Lys Pro Ser Ile Phe Ile Ser Asp Ile Ile Ser Asp
65 70 75 80

Ser Gln Ile Thr

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 9

(i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN:

- (A) LÄNGE: 83 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

- (A) ORGANISMUS: Mus

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site
- (B) LAGE: 1
- (D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Ser oder Asn"

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site
- (B) LAGE: 25
- (D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Glu oder Asp"

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site
- (B) LAGE: 26
- (D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Ala oder Val"

(ix) MERKMAL:
 (A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site
 (B) LAGE: 28
 (D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Ala oder Thr"

(ix) MERKMAL:
 (A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site
 (B) LAGE: 35
 (D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Thr oder Ile"

(ix) MERKMAL:
 (A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site
 (B) LAGE: 74
 (D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Thr oder Ile"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

Xaa Gly Asn Arg Thr Ser Val Asp Leu Arg Ile Arg Arg Thr Gln His
 1 5 10 15

Ser Val Leu Ser Arg Lys Phe Val Xaa Xaa Met Xaa Glu Tyr Asn Glu
 20 25 30

Ala Gln Xaa Leu Phe Arg Glu Arg Ser Lys Gly Arg Ile Gln Arg Gln
 35 40 45

Leu Glu Ile Thr Gly Arg Thr Thr Thr Asp Asp Glu Leu Glu Glu Met
 50 55 60

Leu Glu Ser Gly Lys Pro Ser Ile Phe Xaa Ser Asp Ile Ile Ser Asp
 65 70 75 80

Ser Gln Ile

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 10

(i) SEQUENZEIGENSCHAFTEN:
 (A) LÄNGE: 65 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

(A) ORGANISMUS: Mus

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site

(B) LAGE: 6

(D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Glu oder Asp"

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site

(B) LAGE: 7

(D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Ala oder Val"

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site

(B) LAGE: 9

(D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Ala oder Thr"

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site

(B) LAGE: 16

(D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Thr oder Ile"

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Modified-site

(B) LAGE: 55

(D) SONSTIGE ANGABEN: /Produkt= "Xaa ist Thr oder Ile"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

Ser Arg Lys Phe Val Xaa Xaa Met Xaa Glu Tyr Asn Glu Ala Gln Xaa

1 5 10 15

Leu Phe Arg Glu Arg Ser Lys Gly Arg Ile Gln Arg Gln Leu Glu Ile

20 25 30

Thr Gly Arg Thr Thr Thr Asp Asp Glu Leu Glu Glu Met Leu Glu Ser

35 40 45

Gly Lys Pro Ser Ile Phe Xaa Ser Asp Ile Ile Ser Asp Ser Gln Ile

50 55 60

Thr

65

Patentansprüche

1. Epimorphin-Antagonist mit Epimorphine-antagonisierender Wirkung, wobei er ein Polypeptid ist, das aus der folgenden Aminosäuresequenz besteht:

H-X1-Gly-Asn-Arg-Thr-Ser-Val-Asp-Leu-Arg-Ile-Arg-Arg-Thr-Gln-His-Ser-Val-Leu-OH,

worin X1 Ser oder Asn darstellt, und wobei die Epimorphin-antagonisierende Wirkung die Inhibierung der mor-

phogenen Wirkung von Epimorphinen in einem Epithelgewebe ist.

2. Pharmazeutische Zusammensetzung enthaltend den in Anspruch 1 beschriebenen Epimorphin-Antagonisten als wirksamen Inhaltsstoff.

3. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 2 zur Verwendung in der Behandlung und/oder Prävention einer Erkrankung, die einer übermäßigen Expression von Epimorphin zugeschrieben wird.

4. Polynukleotid codierend das in Anspruch 1 beschriebene Polypeptid.

Es folgen 8 Blatt Zeichnungen

Fig.1

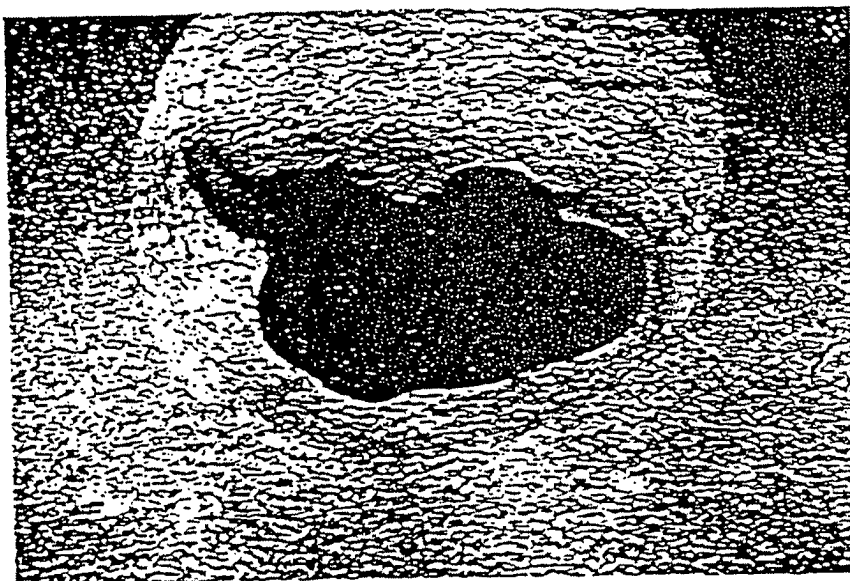


Fig.2

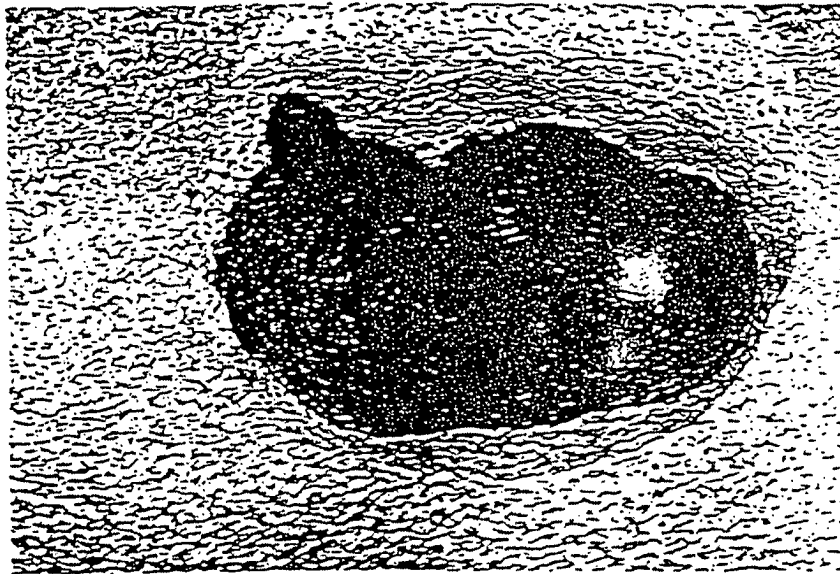


Fig.3

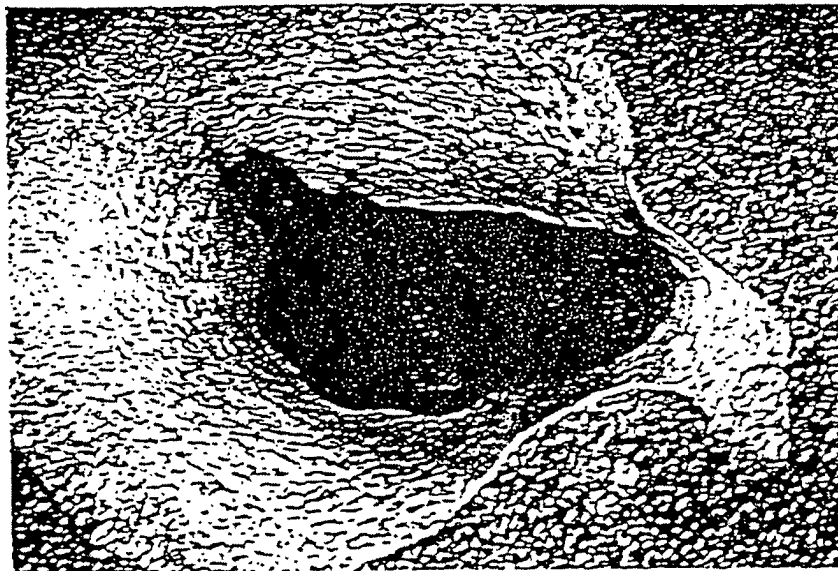


Fig.4

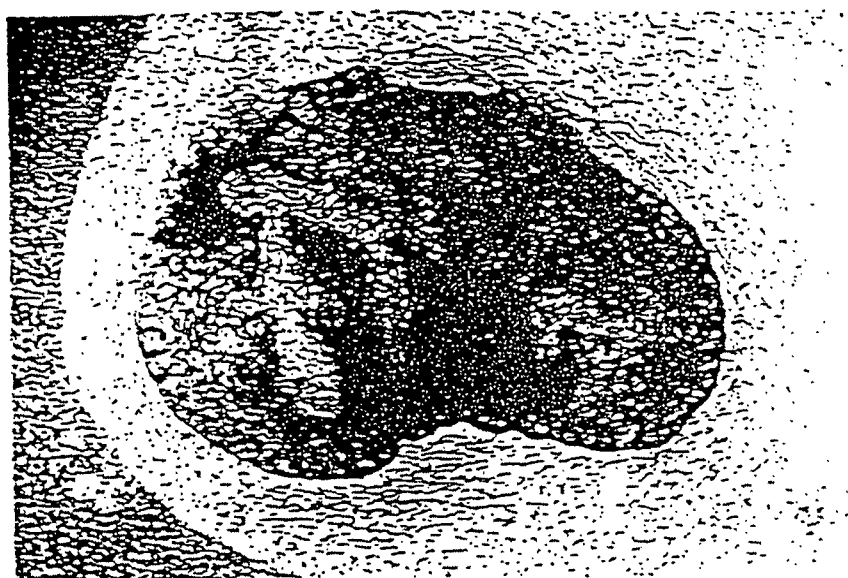


Fig.5

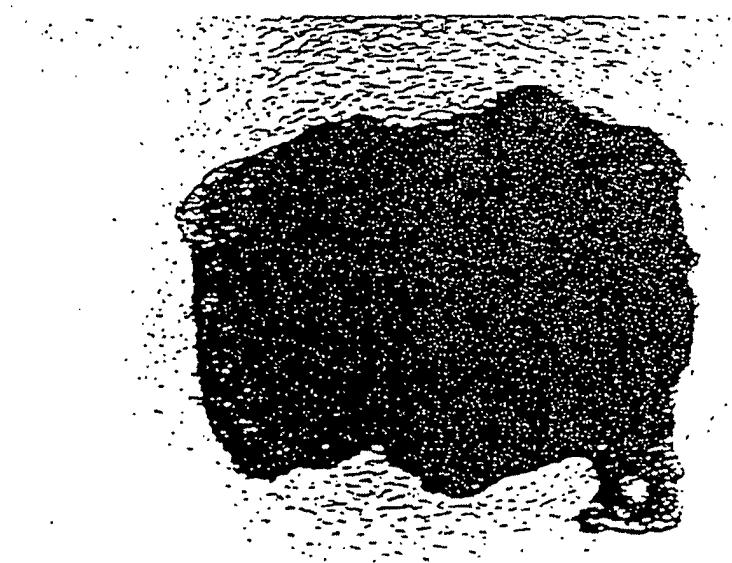


Fig.6

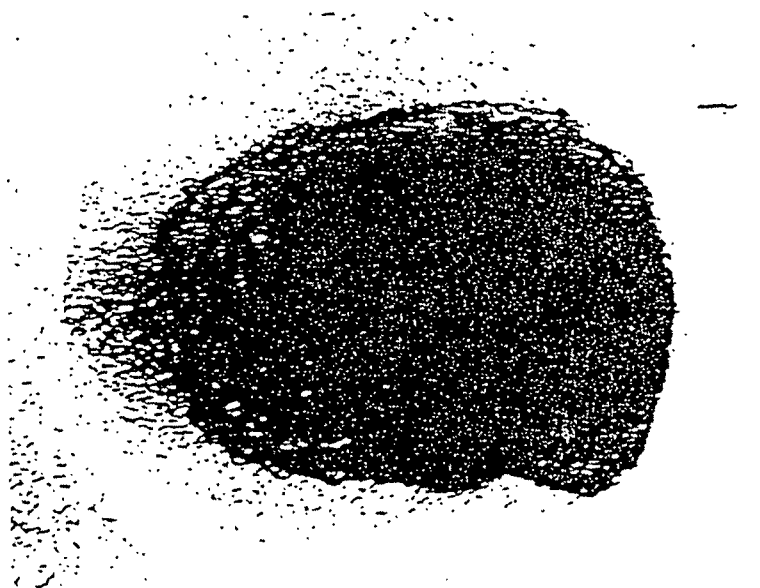


Fig.7

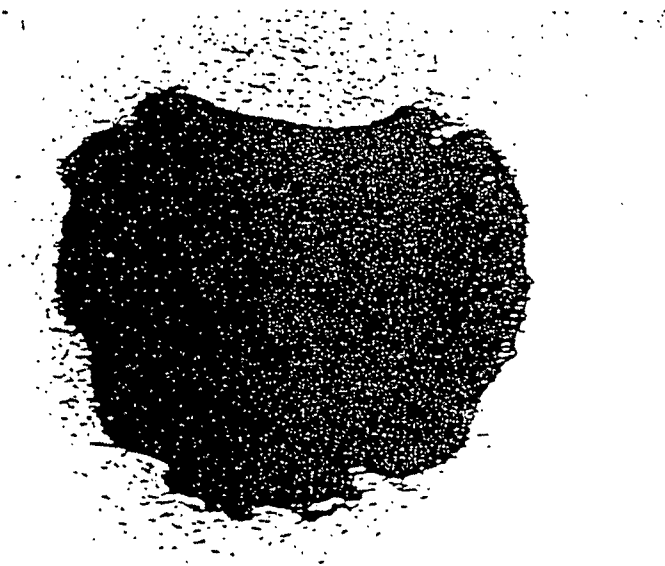


Fig.8

