

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0094233 (43) 공개일자 2012년08월24일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>A61K 38/16</i> (2006.01) <i>A61K 39/395</i> (2006.01) <i>A61P 25/28</i> (2006.01) <i>A61P 25/16</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2011-0013596 (22) 출원일자 2011년02월16일 심사청구일자 2012년05월31일		(71) 출원인 울산대학교 산학협력단 울산 남구 무거2동 산29 (72) 발명자 박정우 울산광역시 남구 신북로71번길 12, 101동 703호 (무거동, 무거현대아파트) 김효정 울산광역시 남구 삼산중로 110, 505동 1102호 (삼산동, 평창2차현대아파트) (뒷면에 계속) (74) 대리인 특허법인 충정

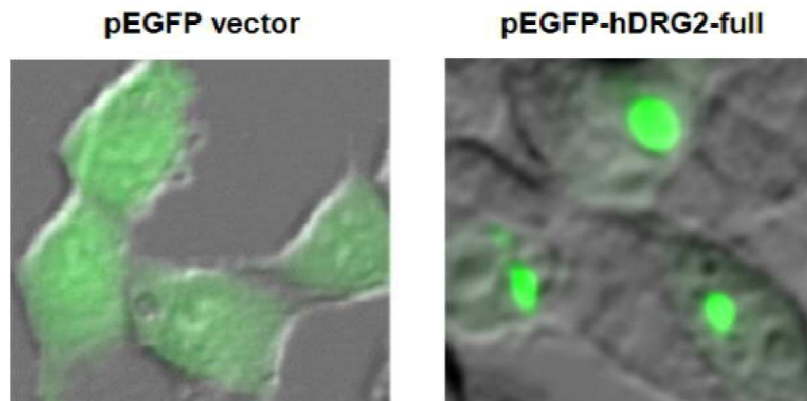
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 DRG 2 억제제를 유효성분으로 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 DRG2 억제제를 유효성분으로 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 치료용 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로, 본 발명은 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현 억제제 또는 DRG2 단백질의 활성 억제제를 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물, 상기 조성물을 유효성분으로 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물, 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 발병을 예측 또는 진단하는 방법, 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법 및 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

고명석

울산광역시 남구 대학로 93, 산29 19-211호 바이러스실험실 (무거동, 울산대학교)

김홍경

울산광역시 남구 삼호로 64, 103동 1004호 (무거동, 삼호아파트)

조화자

울산광역시 남구 무거동 아성홈토피아 805호

이언화

울산광역시 울주군 범서읍 대리2길 46, 구영1차 푸르지오 203동 1603호

김채원

울산광역시 남구 변영로107번길 5, 주공3차아파트 304동 409호 (달동)

이원혁

울산광역시 남구 대학로 93, 19동 208호 바이러스실험실 (무거동, 울산대학교)

이현희

울산광역시 남구 대학로 93, 19동 208호 (무거동, 울산대학교)

윤날애

울산광역시 북구 동해안로 1540 (정자동)

이지영

울산광역시 남구 야음본로22번길 4-6 (야음동)

이채영

울산광역시 동구 녹수12길 16, 2동 104호 (전하동, 현대3단지아파트)

정춘수

울산광역시 남구 신복로72번길 6-13, 101동 1503호 (무거동, 우주로얄맨션)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	C00249
부처명	한국연구재단
연구사업명	기초연구지원사업
연구과제명	DRG2에 의한 세포분화조절 연구
주관기관	울산대학교 산학협력단
연구기간	2008.07.01 ~ 2011.06.30

특허청구의 범위

청구항 1

DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현 억제제 또는 DRG2 단백질의 활성 억제제를 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자는 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 것을 특징으로 하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현 억제제는 서열번호 1로 표시되는 유전자에 대한 안티센스 올리고뉴클레오타이드, siRNA 또는 shRNA인 것을 특징으로 하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현 억제제는 바이러스의 성장 억제 활성 또는 뇌 질환 유발 단백질의 응집 억제 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 바이러스성 질환은 독감, 감기, 후천성 면역 결핍증(human immunodeficiency virus; HIV), 단순 포진, 대상 포진, 전염성 연쇄종, 수두, 사마귀 및 수족구병으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 뇌질환은 알츠하이머병 (Alzheimer' s disease; AD), 파킨슨병 (Parkinson' s disease; PD), 크로이츠펔트-야코프병 (Creutzfeldt-Jakob disease), 광우병 (Mad cow disease), 전두측두치매 (frontotemporal dementia; FTD), 루이치매(dementia with Lewy bodies; DLB), 근위축성측상경화증(amyotrophic lateral sclerosis; ALS), 피질기저퇴행증(corticobasal degeneration; CBD), 다계통위축병(multiple system atrophy; MSA), 진행성핵상마비(progressive supranuclear palsy; PSP) 및 헌팅톤병(Huntington' s disease; HD)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 7

(a) DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자 또는 DRG2 단백질을 포함하는 세포에 분식하고자 하는 시료를 접촉시키는 단계;

(b) 상기 DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 상기 (b) 단계의 측정 결과, DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성이 감소되는 경우에 상기 시료는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질로 판정하는 단계를 포함하는, 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 (b) 단계의 측정은 역전사 중합효소 연쇄반응 (reverse transcriptase-polymerase chain reaction), 실시간 중합효소 연쇄반응 (real time-polymerase chain reaction), 웨스턴 블롯, 노던 블롯, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석 (radioimmunoassay;RIA), 방사 면역 확산법 (radioimmunodiffusion), 면역침전분석법 (immunoprecipitation assay) 및 면역조직 화학적 분석 (immunohistochemical analysis)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법.

청구항 9

DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현 또는 DRG2 단백질의 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는 인간을 제외한 포유동물의 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 DRG2 억제제를 유효성분으로 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물, 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법 및 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 단백질이 비정상적으로 응집되면 여러 가지 질병이 발생하게 된다. 특히 단백질 응집은 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅톤병 등 다양한 뇌질환의 공통된 병리현상으로 알려져 있으며, 또한 바이러스 성장에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

[0003] 뇌질환 중 특히 퇴행성신경질환(neurodegenerative disease)은 현재까지 알려지지 않은 원인에 의해서 뇌와 척수의 특정 뇌세포 군이 서서히 그 기능을 잃고 뇌세포의 수가 감소하는 질환을 총칭한다. 뇌와 척수의 신경세포들은 그 위치에 따라 매우 다양한 기능을 하고 있기 때문에, 어느 부위의 신경세포들이 먼저 손상되고 기능을 잃어가는가에 따라, 또 이러한 기능장애가 어떤 형태로 진행되는 가에 따라 매우 다양한 임상 양상을 보이게 된다. 퇴행성신경질환은 신경세포의 기능 감소 또는 소실에 의해 우리 몸의 운동조절능력, 인지기능, 지각기능, 감각기능 등 우리가 느낄 수 있는 몸의 기능뿐만 아니라 우리가 지각하지 못하는 상태로 스스로 조절되고 있는 자율신경 기능을 포함한 매우 다양한 기능에 이상을 야기하게 된다.

[0004] 퇴행성신경질환들은 침범되는 부위가 모두 다르고 이로 인해 나타나는 증상이 매우 다양하지만, 공통적인 특징을 갖는다. 첫째, 정상적으로 유지하던 신경세포의 기능이 나이가 들면서 서서히 감소하여 증상을 나타내고 이러한 기능장애는 수년에서 수십 년에 걸쳐 서서히 계속 진행된다. 둘째, 일부 환자에게는 가족력이 나타나고, 관련된 유전자 이상이 발견된다. 셋째, 병리적 소견과 증상은 좌우 모두에 나타나나, 대칭적이거나 한 쪽이 더 심한 경우도 있다. 넷째, 현재까지 그 원인이 밝혀지지 않아 근본적인 치료는 불가능하고, 파킨슨병과 알츠하이머병과 같은 일부 질환에서만 증상의 호전을 가능케 하는 약물 치료가 가능하다. 다섯째, 병리소견 상 특정군의 뇌세포의 시냅스와 세포 자체의 기능 저하 및 손상, 소실이 관찰된다. 여섯째, 각 질환에 관련된 단백질 이상(misfolded protein aggregates)이 관찰된다.

[0005] 이렇듯 뇌질환 발생 기전에는 특정 단백질의 잘못꼬임(misfolding)과 응집(agggregation)이 관련되어 있으며, 뇌질환이 발생한 뇌 부위에서는 비정상적인 응집체(agggregates)가 종종 발견된다.

[0006] 또한, 단백질의 비이상적인 응집은 바이러스성 질환에서도 중요한 역할을 하는데, 일반적으로 바이러스의 증식단계는 크게 6가지로 나뉜다. 첫째, 숙주세포와 바이러스가 물리적인 충돌을 일으키면 숙주세포의 표면에 특수한 수용체 자리(receptor site)에 바이러스가 흡착(attachment)하고, 둘째, 종류에 따라 다르긴 하지만 대부분의 동물 바이러스는 세포의 식작용(食作用:phagocytosis)에 의하여 세포 내의 식포(食胞)에 침투(penetration)하며, 셋째, 탈외피(uncoating) 단계로 숙주세포 안에 들어온 바이러스는 외각단백을 벗어버리고 핵산이 세포질 내로, 또는 핵 내로 들어가는데, 외피가 있는 바이러스는 침입시 세포 표면에서 외피를 벗고 세포질로 들어가며, 탐식작용에 의하여 식포에 들어간 바이러스는 리소솜에 있는 효소의 작용으로 외각단

백을 벗고 세포질로 들어간다. 넷째, 세포질에 들어온 핵산의 일부는 숙주세포의 효소(DNA, RNA polymerase)에 의해 초기 메신저리보핵산(초기의 mRNA)을 생성하고 이 mRNA는 단위성분 합성에 필요한 효소를 만드는 생합성(biosynthesis of nucleic acid and protein)단계를 거치며, 다섯째, 생합성단계에서 생성된 새로운 핵산, 캡시드 등이 결합하여 새로운 바이러스 입자를 형성하는 조립(assembly)단계를 거치고, 여섯째, 새로운 바이러스들이 완성되면 바이러스 효소에 의하여 새로운 바이러스들이 방출(release)된다.

[0007] 이처럼 모든 바이러스들은 세포에 감염되면 그들의 게놈 및 구조단백질들을 합성한 후 조립(assembly) 과정을 거쳐 새로운 바이러스 입자를 만드는데, 이와 같은 조립과정이 일어나기 위해서는 새로이 생합성된 바이러스 구조 단백질들이 일정한 장소에 모여 존재해야 하는데, 이들을 봉입체(inclusion body)라고 한다. 봉입체의 형성은 바이러스 성장에 매우 중요한 단계로 바이러스 구조단백질들이 응집(aggregate)을 형성하지 못하면 바이러스는 세포 안에서 성장하지 못하게 된다.

[0008] 따라서 세포 내에서 단백질의 응집현상은 뇌질환뿐만 아니라 바이러스 감염에 의한 질환을 유발시키는 원인으로 알려져 있는 바, 이러한 단백질 응집 현상을 억제해 통해 각종 질병을 치료할 수 있는 치료제들의 개발이 진행되고 있으며, 그 예로 Hsp90 억제제들이 개발되었는데, 이들은 뇌질환을 유발시키는 단백질의 축적 및 응집을 억제하는 기작을 통해 치료 효과를 보인다고 알려져 있고, 벤조퓨란계 유도체 화합물은 베타아밀로이드 응집억제를 통해 인지기능 장애를 개선하는 작용이 있다고 알려져 있으며, 이소 인돌린 유도체의 경우도 베타아밀로이드 응집억제를 통해 뇌질환을 개선할 수 있는 작용이 있다고 알려져 있다.

[0009] 그러나 현재 개발되어 사용되고 있는 뇌질환 또는 바이러스성 질환 치료제의 경우, 완벽한 치료효과를 볼 수 없고, 체내에서 각종 부작용의 문제를 일으키고 있어 부작용이 없고 보다 근본적인 발병 기작의 조절을 통해 치료효과가 우수한 치료제의 개발이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 따라서 본 발명의 목적은 단백질의 응집으로 인해 유발하는 질환들, 즉, 뇌질환 또는 바이러스성 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있는 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현 억제제 또는 DRG2 단백질의 활성 억제제를 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 또한, 본 발명의 다른 목적은 생물학적 시료에 존재하는 DRG2 유전자의 발현양 또는 DRG2 단백질의 양을 측정하는 단계 및 측정결과를 대조군 시료의 DRG2 유전자의 발현양 또는 DRG2 단백질의 양과 비교하는 단계를 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 발병을 예측 또는 진단하는 방법을 제공하는 것이다.

[0012] 또한, 본 발명의 다른 목적은 DRG2 유전자 또는 DRG2 단백질을 포함하는 세포에 분석하고자 하는 시료를 접촉시키는 단계, 상기 DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성을 측정하는 단계 및 측정 결과 DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성이 감소되는 경우에 상기 시료는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질로 판정하는 단계를 포함하는, 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법을 제공하는 것이다.

[0013] 나아가 본 발명의 또 다른 목적은 DRG2 유전자의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는 인간을 제외한 포유동물의 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서, 본 발명은 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현 억제제 또는 DRG2 단백질의 활성 억제제를 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자는 서열 번호 1의 염기서열로 이루어진 것일 수 있다.

[0016] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현 억제제는 서열번호 1로 표시되는 유전자에 대한 안티센스 올리고뉴클레오타이드, siRNA 또는 shRNA일 수 있다.

[0017] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현

억제제는 바이러스의 성장 억제 활성 또는 뇌 질환 유발 단백질의 응집 억제 활성을 갖는 것일 수 있다.

- [0018] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 바이러스성 질환은 독감, 감기, 후천성 면역 결핍증(human immunodeficiency virus; HIV), 단순 포진, 대상 포진, 전염성 연속종, 수두, 사마귀 및 수족구병으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 뇌질환은 알츠하이머병 (Alzheimer's disease; AD), 파킨슨병 (Parkinson's disease; PD), 크로이츠펠트-야코프병 (Creutzfeldt-Jakob disease), 광우병 (Mad cow disease), 전두측두치매 (frontotemporal dementia; FTD), 루이치매(dementia with Lewy bodies; DLB), 근위 축성측상경화증(amyotrophic lateral sclerosis; ALS), 피질기저퇴행증(corticobasal degeneration; CBD), 다 계통위축증(multiple system atrophy; MSA), 진행성핵상마비(progressive supranuclear palsy; PSP) 및 헌팅 톤병(Huntington's disease; HD)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0020] 또한, 본 발명은,
- [0021] (a) DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자 또는 DRG2 단백질을 포함하는 세포에 분석하고자 하는 시료를 접촉시키는 단계;
- [0022] (b) 상기 DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성을 측정하는 단계; 및
- [0023] (c) 상기 (b) 단계의 측정 결과, DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성이 감소되는 경우에 상기 시료는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질로 판정하는 단계를 포함하는, 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법을 제공한다.
- [0024] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 (b) 단계의 측정은 역전사 중합효소 연쇄반응 (reverse transcriptase-polymerase chain reaction), 실시간 중합효소 연쇄반응 (real time-polymerase chain reaction), 웨스턴 블롯, 노던 블롯, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석 (radioimmunoassay;RIA), 방사면역 확산법 (radioimmunodiffusion), 면역침전분석법 (immunoprecipitation assay) 및 면역조직 화학적 분석 (immunohistochemical analysis)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0025] 나아가 본 발명은 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현 또는 DRG2 단백질의 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는 인간을 제외한 포유동물의 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0026] 본 발명에 따른 DRG2의 발현 또는 활성을 억제하는 억제제는 바이러스성 질환 또는 뇌질환과 관련된 질환 세포에서 과발현되는 DRG2 유전자 또는 단백질의 발현 및 활성을 저해하여 바이러스성 질환 또는 뇌질환을 유도하는 단백질의 응집을 억제하는 효과가 있고, 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 증상을 감소시키는 효과가 있으므로, 단백질 응집으로 인해 유발될 수 있는 질환들을 예방 또는 치료할 수 있는 치료제로서 유용하게 사용될 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0027] 도 1은 DRG2의 세포내 분포를 나타낸 것으로서, EGFP를 이용하여 융합단백질을 제조한 뒤, transfection시키고 공초점 현미경으로 관찰한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 람도바이러스(rhabdovirus) 단백질들의 유전자들과 *drg2*를 cotransfection시킨 후 면역침전법을 이용하여 DRG2가 단백질 바이러스와 결합하는지 관찰한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 siRNA에 의해 DRG2가 억제되었을 때 람도바이러스의 성장에 미치는 영향을 나타낸 것으로서, (a)는 real-time PCR을 이용하여 DRG2의 발현수치를 측정한 것이며, (b)는 DRG2의 siRNA처리시 람도바이러스의 성장을 나타낸 것으로, 바이러스 역가(Virus titer) 검정은 용균반 검사 방법을 이용하여 측정하였다.
- 도 4는 *drg2*와 *uchl-1* 유전자를 cotransfection한 다음 면역침전법을 이용하여 DRG2와 UCHL-1이 결합하는지 관찰한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0028] 본 발명은 바이러스성 질환 또는 뇌질환을 억제하는 활성을 갖는 DRG2(Developmentally regulated GTP-

binding protein 2)의 억제제에 대한 것으로서, 보다 구체적으로는 DRG2 유전자의 염기서열에 상보적으로 결합하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드, siRNA(small interference RNA) 올리고뉴클레오타이드 및 shRNA(small hairpin RNA)를 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공함에 그 특징이 있다.

- [0029] 본 발명자들은 세포내에서 단백질의 축적 및 응집에 의해 유발되는 뇌질환 또는 바이러스성 질환의 치료방법을 찾기 위해 연구하던 중, DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자가 매우 중요한 역할을 한다는 사실을 본 발명에서 최초로 규명하였는데, 즉, DRG2 유전자는 세포 내에서 응집된 형태로 존재하고 있으며, 바이러스의 구조단백질과 함께 응집된 형태로 결합되어 있고, 단백질을 분해하는 기능을 갖는 UCHL-1(ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1)과 결합하여 UCHL-1 단백질 기능에 영향을 준다는 사실을 규명하였으며, 궁극적으로 뇌질환 및 바이러스성 질환을 유발시키는 단백질의 응축에 DRG2가 관여하고 있다는 사실을 최초로 규명하였다.
- [0030] 본 발명에서 관심을 가지게 된 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 단백질은 세포내의 여러 가지 조절에 관여하는 단백질로서 large superfamily를 이루고 있는 것으로 알려져 있는데, 이러한 superfamily에는 trimeric G protein(e.g. transducin), monomeric G protein(e.g. ras) 및 단백질 합성에 관여하는 GTPase(e.g. elongation factor Tu) 등과 같은 중요한 3개의 subfamily가 존재하는데(Bourne et al., 1991; Sprang, 1997), 최근 이들과 염기서열 및 기능이 다른 새로운 그룹의 G protein 들이 발견되었으며, DRG(developmentally regulated GTP-binding protein)는 GTP와 결합에 필요한 G1부터 G5까지의 5개 region을 모두 지니고 있고 크기는 trimeric G protein과 유사하다. 그러나 아미노산 서열이 trimeric G protein 뿐만 아니라 기존의 G protein subfamily들과 전혀 다른 특성을 지니고 있어 새로운 subfamily로 구분되고 있다.
- [0031] 또한 DRG에는 DRG1과 DRG2가 있는데 (Schenker & Trueb, 1997), 세균으로부터 사람에 이르기까지 거의 모든 종류의 세포에 존재한다. 예를 들면 *Halobacterium cutirubrum* (Shimmin & Dennis, 1989), *Thermoplasma acidophilum* (Tamura et al., 1996), *Methanococcus jannaschii* (Bult et al., 1996), *Caenorhabditis elegans* (Wilson et al., 1994), *Schizosaccharomyces pombe* (Hudson & Young, 1993), *Drosophila melanogaster* (Sommer et al., 1994), *Xenopus laevis* (Kumar et al., 1993), *Arabidopsis thaliana* (unpublished) 및 *Saccharomyces cerevisiae* (unpublished) 등에서 존재함이 확인되었다.
- [0032] 그러나 아직까지 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2)가 바이러스성 질환 및 뇌질환에서 어떤 역할을 하는 지에 대해서는 알려진 바가 없다.
- [0033] 따라서 본 발명의 일실시예에서는 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자가 뇌질환 및 바이러스성 질환 발병 기작에서 어떠한 역할을 하고 있는지 규명하기 위해, 세포 내에서 DRG2 단백질의 분포 위치를 분석하였는데, 본 발명의 일실시예에 따르면, DRG2의 세포 내 분포를 확인하기 위해, 형광단백질을 만들어 내는 EGFP(Enhanced Green Fluorescent Protein gene)와 DRG2를 융합한 EGFP-DRG2를 293 EBNA 세포에 형질도입시킨 결과, 대조구인 pEGFP 벡터만을 세포에 도입시킨 경우, 세포 전체에 걸쳐 형광이 퍼져 있는 것으로 확인된 반면, DRG2는 세포의 특정 부분에 응집(aggregate) 형태로 존재하고 있다는 것을 확인할 수 있었다(도 1 참조).
- [0034] 나아가 본 발명자들은 DRG2 단백질의 응집에 세포내 칼슘 변화에 의해 영향을 받는지 확인하기 위해, 세포에 50mM의 KCl을 처리한 후, 현미경을 통해 관찰한 결과, 응집되어 존재하던 DRG2 단백질이 풀어져 있는 것으로 확인되었다. 따라서 상기 결과를 통해 본 발명자들은 DRG2가 세포내에서 응집 형태로 존재한다는 것을 확인할 수 있었으며, 단백질의 축적 및 응집으로 인해 유발하는 질병과 관련성이 있다고 판단할 수 있었다.
- [0035] 또한, 본 발명에서는 DRG2가 바이러스 단백질 및 뇌질환 유발 관련 단백질과 결합하고 있다는 사실을 확인하였는데, 즉, 본 발명에 따른 다른 일실시예에 따르면, 람도바이러스(rhabdovirus) 단백질들의 유전자들과 DRG2를 293 EBNA 세포에 함께 형질도입시킨 다음, 면역침전법(immunoprecipitation)을 이용하여 DRG2와 결합된 단백질을 확인한 결과, 람도바이러스의 nucleoprotein(N)과 결합된 상태로 존재하는 것을 확인하였으며(도 2 참조), 이러한 결과를 통해 DRG2가 바이러스의 성장에도 영향을 줄 수 있음을 알 수 있었다.
- [0036] DRG2가 바이러스의 성장에 미치는 영향을 조사하기 위해, 본 발명에 따른 다른 일실시예에 의하면, DRG2의 siRNA를 세포에 처리하여 DRG2의 발현을 억제한 후, 람도바이러스로 세포를 감염시킨 후, 바이러스의 성장을 관찰한 결과 바이러스의 성장이 감소하는 것으로 나타났다(도 3참조).
- [0037] 따라서 바이러스 구조단백질들의 조립 과정 및 바이러스의 성장에 DRG2가 필요하다는 사실을 알 수 있었고,

DRG2의 발현 또는 활성을 억제하는 경우 바이러스의 성장이 억제됨을 알 수 있었다.

- [0038] 또한, 본 발명에 따른 다른 일실시예에 따르면, misfolding 또는 응집된 단백질들을 분해하는데 관여하는 것으로 알려진 UCHL-1과 DRG2의 유전자를 293 EBNA 세포에 함께 형질 도입한 다음, 면역침전법을 이용하여 DRG2와 UCHL-1이 결합하는지 분석한 결과, DRG2와 UCHL-1이 세포 내에서 결합하는 것을 확인하였다(도 4참조).
- [0039] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 DRG2의 발현 또는 활성을 조절할 경우 세포내에서 단백질의 응집 형성을 억제하여 파킨슨병과 같은 단백질 응집에 의한 뇌질환을 억제 및 치료할 수 있다는 사실을 알 수 있었다.
- [0040] 그러므로 본 발명은 DRG2를 이용한 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공할 수 있으며, 바람직하게는 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현을 억제할 수 있는 억제제 또는 DRG2 단백질의 활성을 억제할 수 있는 억제제를 유효성분으로 포함하는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공할 수 있다.
- [0041] 특히, 본 발명에서 상기 “바이러스성 질환”이란 바이러스의 침입으로 인해 발생할 수 있는 질환이라면 모두 포함할 수 있으며, 바람직하게는 독감, 감기, 후천성 면역 결핍증(human immunodeficiency virus; HIV), 단순 포진, 대상 포진, 전염성 연속증, 수두, 사마귀 및 수족구병으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명에서 상기 “뇌 질환”이란 단백질의 응집으로 인해 발생할 수 있는 뇌 질환이라면 모두 포함할 수 있으며, 바람직하게는 알츠하이머병 (Alzheimer's disease; AD), 파킨슨병 (Parkinson's disease; PD), 크로이츠펬트-야코프병 (Creutzfeldt-Jakob disease), 광우병 (Mad cow disease), 전두측두치매 (frontotemporal dementia; FTD), 루이치매(dementia with Lewy bodies; DLB), 근육위축기측경화증 (amyotrophic lateral sclerosis; ALS), 피질기저퇴행증(corticobasal degeneration; CBD), 다계통위축증 (multiple system atrophy; MSA), 진행성핵상마비(progressive supranuclear palsy; PSP) 및 헌팅톤병 (Huntington's disease; HD)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0043] 또한, 상기 본 발명에 따른 바이러스성 질환 또는 뇌 질환의 예방 또는 치료용 조성물은 바이러스성 질환 또는 뇌 질환의 개선 또는 치료효과를 유도할 수 있는 약학적 조성물로 사용될 수 있는데, 본 발명에 따른 상기 약학적 조성물은 치료효과를 극대화할 수 있는 부가의 화학물질, 뉴클레오티드 또는 천연물 추출물을 더 포함할 수 있다.
- [0044] 또한, 상기 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수 있다. 상기에서 "약학적으로 허용되는"이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증 등과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다. 약학적으로 허용되는 담체로는 예를 들면, 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등과 같은 경구 투여용 담체 및 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코스 및 글리콜 등과 같은 비경구 투여용 담체 등이 있으며 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸- 또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995). 본 발명에 따른 약학적 조성물은 상술한 바와 같은 약학적으로 허용되는 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 적합한 형태로 제형화 될 수 있다. 즉, 본 발명의 약학적 조성물은 공지의 방법에 따라 다양한 비경구 또는 경구 투여용 형태로 제조될 수 있으며, 비경구 투여용 제형의 대표적인 것으로는 주사용 제형으로 등장성 수용액 또는 현탁액이 바람직하다. 주사용 제형은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 당업계에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있다. 예를 들면, 각 성분을 식염수 또는 완충액에 용해시켜 주사용으로 제형화될 수 있다. 또한, 경구 투여용 제형으로는, 이에 한정되지는 않으나, 분말, 과립, 정제, 환약 및 캡슐 등이 있다.
- [0045] 상기와 같은 방법으로 제형화된 약학적 조성물은 유효량으로 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있는데, 상기 투여란 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 물질의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다.
- [0046] 또한, 상기에서 유효량이란 환자에게 투여하였을 때, 예방 또는 치료 효과를 나타내는 양을 말한다. 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여량은 환자의 질환 종류 및 중증도, 연령, 성별, 체중, 약물에 대한 민감도, 현재 치료법의 종류, 투여방법, 표적 세포 등 다양한 요인에 따라 달라질 수 있으며, 당 분야의 전문가들에 의

해 용이하게 결정될 수 있다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 종래의 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 바람직하게는 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 1~10000 μ g/체중kg/day, 더욱더 바람직하게는 10~1000mg/체중kg /day의 유효용량으로 하루에 수회 반복 투여될 수 있다.

[0047] 또한, 본 발명에 따른 상기 조성물에 포함될 수 있는 유효성분인 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 단백질의 발현 억제제는 바람직하게 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 및 이의 기능적 동등물의 억제, 감소 또는 방해 활성을 갖는 물질이라면 모두 포함할 수 있다.

[0048] 본 발명에서 상기 '기능적 동등물'이란, 아미노산의 부가, 치환 또는 결실의 결과, 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열과 적어도 60%, 바람직하게는 70%, 보다 바람직하게는 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 것으로서 본 발명의 DRG2와 실질적으로 동질의 활성을 나타내는 폴리펩티드를 말한다. 여기서, '실질적으로 동질의 활성'이란 상기에서 기재한 DRG2의 활성을 의미한다. 상기 기능적 동등물에는, 예를 들어, 본 발명에 따른 DRG2의 아미노산 서열의 아미노산 중 일부가 치환되거나, 결실 또는 부가된 아미노산 서열 변형체가 포함될 수 있다. 아미노산의 치환은 바람직하게는 보존적 치환일 수 있으며, 천연에 존재하는 아미노산의 보존적 치환의 예는 다음과 같다; 지방족 아미노산(Gly, Ala, Pro), 소수성 아미노산(Ile, Leu, Val), 방향족 아미노산(Phe, Tyr, Trp), 산성 아미노산(Asp, Glu), 염기성 아미노산(His, Lys, Arg, Gln, Asn) 및 황 함유 아미노산(Cys, Met). 아미노산의 결실은 바람직하게는 본 발명의 DRG2의 활성에 직접 관여하지 않는 부분에 위치할 수 있다. 또한 상기 기능적 동등물의 범위에는 DRG2의 기본 골격 및 이의 생리 활성을 유지하면서 폴리펩티드의 일부 화학 구조가 변형된 폴리펩티드 유도체도 포함될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 폴리펩티드의 안정성, 저장성, 휘발성 또는 용해도 등을 변경시키기 위한 구조변경 및 생리활성을 유지하면서 다른 단백질과 융합으로 만들어진 융합단백질 등이 이에 포함될 수 있다.

[0049] 또한, 본 발명은 DRG2 유전자를 이용하여 바이러스성 질환 또는 뇌 질환의 발병을 예측 또는 진단할 수 있는 방법을 제공할 수 있는데, 바람직하게 본 발명에 따른 바이러스성 질환 또는 뇌 질환 발병 예측 또는 진단 방법은,

[0050] (a) 생물학적 시료에 존재하는 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현양 또는 DRG2 단백질의 양을 측정하는 단계; 및 (b) 상기 (a) 단계의 측정결과를 대조군 시료의 DRG2 유전자의 발현양 또는 DRG2 단백질의 양과 비교하는 단계를 포함할 수 있다.

[0051] 여기서 상기 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현양을 측정하는 방법은 바람직하게 DRG2 유전자가 발현된 mRNA 수준, 즉, mRNA의 양을 측정하는 방법일 수 있으며, 상기 수준을 측정할 수 있는 물질로는 DRG2 유전자에 특이적인 프라이머 또는 프로브를 포함할 수 있다. 본 발명에서 상기 DRG2 유전자에 특이적인 프라이머 또는 프로브는 서열번호 1로 나타내는 DRG2 유전자 전체 또는 유전자의 특정 영역을 특이적으로 증폭할 수 있는 프라이머 또는 프로브일 수 있으며, 상기 프라이머 또는 프로브는 당업계에 알려진 방법을 통해 디자인할 수 있다.

[0052] 본 발명에서 상기 프라이머란 용어는 적합한 온도 및 적합한 완충액 내에서 적합한 조건(즉, 4종의 다른 뉴클레오타이드 트리포스페이트 및 중합반응 효소) 하에서 주형-지시 DNA 합성의 개시점으로 작용할 수 있는 단일-가닥 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. 프라이머의 적합한 길이는 다양한 요소, 예컨대, 온도와 프라이머의 용도에 따라 변화가 있을 수 있다. 또한, 프라이머의 서열은 주형의 일부 서열과 완전하게 상보적인 서열을 가질 필요는 없으며, 주형과 혼성화되어 프라이머 고유의 작용을 할 수 있는 범위 내에서의 충분한 상보성을 가지면 충분하다. 따라서 본 발명에서의 프라이머는 주형인 DRG2 유전자의 뉴클레오타이드 서열에 완벽하게 상보적인 서열을 가질 필요는 없으며, 이 유전자 서열에 혼성화되어 프라이머 작용을 할 수 있는 범위 내에서 충분한 상보성을 가지면 충분하다. 또한, 본 발명에 따른 프라이머는 유전자 증폭 반응에 이용될 수 있는 것이 바람직하다.

[0053] 상기 증폭 반응은 핵산 분자를 증폭하는 반응을 말하며, 이러한 유전자의 증폭 반응들에 대해서는 당업계에 잘 알려져 있고, 예컨대, 중합효소 연쇄반응(PCR), 역전사 중합효소 연쇄반응(RT-PCR), 리가아제 연쇄반응(LCR), 전자 중재 증폭(TMA), 핵산 염기서열 기관 증폭(NASBA) 등이 포함될 수 있다.

[0054] 본 발명에서, 상기 프로브라는 용어는 자연의 또는 변형된 모노머 또는 연쇄(linkages)의 선형 올리고머를 의미하며, 디옥시리보뉴클레오타이드 및 리보뉴클레오타이드를 포함하고 타겟 뉴클레오타이드 서열에 특이적으로 혼성화할 수 있으며, 자연적으로 존재하거나 또는 인위적으로 합성된 것을 말한다. 본 발명에 따른 프로

브는 단일쇄일 수 있으며, 바람직하게는 올리고디옥시리보뉴클레오타이드일 수 있다. 본 발명의 프로브는 자연 dNMP(즉, dAMP, dGMP, dCMP 및 dTMP), 뉴클레오타이드 유사체 또는 유도체를 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 프로브는 리보뉴클레오타이드도 포함할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 프로브는 골격 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대, 펩타이드 핵산 (PNA) (M. Egholm et al., Nature, 365:566-568(1993)), 포스포로티오에이트 DNA, 포스포로디티오에이트 DNA, 포스포로아미테이트 DNA, 아마이드-연결된 DNA, MMI-연결된 DNA, 2'-O-메틸 RNA, 알파-DNA 및 메틸포스포네이트 DNA, 당 변형된 뉴클레오타이드 예컨대, 2'-O-메틸 RNA, 2'-플루오로 RNA, 2'-아미노 RNA, 2'-O-알킬 DNA, 2'-O-알릴 DNA, 2'-O-알카이닐 DNA, 핵소스 DNA, 피라노실 RNA 및 안히드로핵시톨 DNA, 및 염기 변형을 갖는 뉴클레오타이드 예컨대, C-5 치환된 피리미딘(치환기는 플루오로-, 브로모-, 클로로-, 아이오도-, 메틸-, 에틸-, 비닐-, 포르밀-, 에티틸-, 프로피닐-, 알카이닐-, 티아조틸-, 이미다조틸-, 피리딜- 포함), C-7 치환기를 갖는 7-테아자퓨린 (치환기는 플루오로-, 브로모-, 클로로-, 아이오도-, 메틸-, 에틸-, 비닐-, 포르밀-, 알카이닐-, 알켄일-, 티아조틸-, 이미다조틸-, 피리딜-), 이노신 및 디아미노퓨린을 포함할 수 있다.

[0055] 또한, 본 발명에서 상기 DRG2 단백질의 양을 측정할 수 있는 물질로는 DRG2 단백질에 대해 특이적으로 결합할 수 있는 다클론 항체, 단일클론 항체 및 재조합 항체 등의 항체를 포함할 수 있다.

[0056] 상기 DRG2 단백질의 양을 측정할 수 있는 DRG2 단백질에 대한 항체의 경우, 시중에서 판매하고 있는 DRG2 단백질에 대한 항체라면 모두 사용 가능하며 또는 상기 항체를 제조하여 사용할 수 있는데, 항체 제조 방법은 당해 기술분야의 일반적 기술자가 공지된 기술을 이용하여 용이하게 제조할 수 있다. 예컨대, 다클론 항체의 경우에는 DRG2 항원을 동물에 주사하고 동물로부터 채혈하여 항체를 포함하는 혈청을 수득하는 당업계에 널리 공지된 방법에 의해 생산할 수 있으며, 이러한 다클론 항체는 염소, 토끼, 양, 원숭이, 말, 돼지, 소, 개 등의 임의의 동물 중 숙주로부터 제조가능하다. 단일클론 항체의 경우에는 당업계에 널리 공지된 하이브리도마(hybridoma) 방법(Kohler et al., European Journal of Immunology, 6, 511-519, 1976)을 이용하여 제조할 수 있으며 또는 파지 항체 라이브러리(Clackson et al., Nature, 352, 624-628, 1991, Marks et al., J. Mol. Biol., 222:58, 1-597, 1991) 기술을 이용하여 제조할 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 완전한 형태뿐만 아니라, 항체 분자의 기능적인 단편을 포함할 수 있다. 항체 분자의 기능적인 단편이란 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 뜻하며, Fab, F(ab'), F(ab')₂ 및 Fv 등이 있다.

[0057] 이와 같이, DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현양 또는 DRG2 단백질 양의 측정은 앞서 기재된 DRG2에 대한 프라이머, 프로브 및 항체와 같은 물질을 이용하여 역전사 중합효소 연쇄반응(reverse transcriptase-polymerase chain reaction), 실시간 중합효소 연쇄반응(real time-polymerase chain reaction), 웨스턴 블롯, 노던 블롯, ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(radioimmunoassay;RIA), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 면역침전분석법(immunoprecipitation assay) 및 면역조직 화학적 분석(immunohistochemical analysis)으로 이루어진 군 중에서 선택되는 방법을 이용하여 측정할 수 있다.

[0058] 바람직하게, 상기 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현양을 측정하는 방법은 바람직하게는 mRNA의 수준을 측정하는 것이며, mRNA의 수준을 측정하는 방법으로는 역전사 중합효소연쇄반응(RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소연쇄반응, RNase 보호 분석법, 노던 블랏 및 DNA 칩 등이 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0059] 또한, 상기 DRG2 단백질 수준의 측정은 항체를 이용할 수 있는데, 이러한 경우, 생물학적 시료 내의 DRG2 단백질과 이에 특이적인 항체 결합물, 즉, 항원-항체 복합체를 형성하며, 항원-항체 복합체의 형성양은 검출 라벨(detection label)의 시그널의 크기를 통해서 정량적으로 측정할 수 있다. 이러한 검출 라벨은 효소, 형광물, 리간드, 발광물, 미소입자(microparticle), 레독스 분자 및 방사선 동위원소로 이루어진 그룹 중에서 선택할 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0060] 단백질 수준을 측정하기 위한 분석 방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 웨스턴 블랏, ELISA, 방사선면역분석, 방사선 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법, 로케트 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법, 보체 고정분석법, FACS, 단백질 칩 등을 사용할 수 있다.

[0061] 나아가 본 발명은, (a) DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자 또는 DRG2 단백질을 포함하는 세포에 분석하고자 하는 시료를 접촉시키는 단계; (b) 상기 DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성을 측정하는 단계; 및 (c) 상기 (b) 단계의 측정 결과, DRG2 유전자의 발현양,

DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성이 감소되는 경우에 상기 시료는 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질로 판정하는 단계를 포함하는, 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료용 물질을 스크리닝하는 방법을 제공할 수 있다.

[0062] 본 발명의 방법에 따르면, 먼저 DRG2 유전자 또는 DRG2 단백질을 포함하는 세포에 분석하고자 하는 시료를 접촉시킬 수 있다. 여기서 상기시료는 DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성에 영향을 미치는지 여부를 검사하기 위하여 스크리닝에서 이용되는 미지의 물질을 의미한다. 상기 시료는 화합물, 뉴클레오타이드, 안티센스-RNA, siRNA(small interference RNA) 및 천연물 추출물을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 이후, 시료가 처리된 세포에서 DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성을 측정할 수 있으며, 측정 결과, DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성이 감소된 것이 측정되면 상기 시료는 바이러스성 질환 또는 뇌질환을 치료 또는 예방할 수 있는 물질로 판정될 수 있다.

[0063] 상기에서 DRG2 유전자의 발현양, DRG2 단백질의 양 또는 DRG2 단백질의 활성을 측정하는 방법은 당업계에 공지된 다양한 방법을 통해 수행될 수 있는데, 예를 들면, 이에 제한되지는 않으나, 역전사 중합효소 연쇄반응(reverse transcriptase-polymerase chain reaction), 실시간 중합효소 연쇄반응(real time-polymerase chain reaction), 웨스턴 블롯, 노던 블롯, ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(radioimmunoassay;RIA), 방사면역확산법(radioimmunodiffusion), 면역침전분석법(immunoprecipitation assay) 및 면역조직화학적 분석(immunohistochemical analysis)등을 이용하여 수행할 수 있다.

[0064] 뿐만 아니라 본 발명은 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는 인간을 제외한 포유동물의 바이러스성 질환 또는 뇌질환의 예방 또는 치료방법을 제공할 수 있다.

[0065] 또한 본 발명에 따른 단백질 응집의 억제방법은 본 발명의 실시예에서 수행한 방법 이외에도 시험관 내에서 DRG2(Developmentally regulated GTP-binding protein 2) 유전자의 발현을 억제할 수 있는 당업계에 공지된 방법, 예컨대 DRG2에 대한 siRNA 또는 안티센스올리고뉴클레오타이드의 사용 등과 같은 방법을 이용할 수 있으며, 또는 시험관 내에서 DRG2 단백질의 활성을 억제 또는 감소할 수 있는 물질을 처리하는 방법을 통해서도 수행할 수 있으며, 이에 제한되지는 않는다.

[0066] 이하 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0067] <실시예 1>

[0068] DRG2의 세포 내 분포 분석

[0069] 본 발명자들은 DRG2 단백질이 세포에서 어떻게 분포하고 있는지를 확인하기 위해, 형광단백질을 만들어 내는 EGFP(Enhanced Green Fluorescent Protein gene)와 DRG2를 융합한 EGFP-DRG2를 293 EBNA 세포에 형질감염(transfection) 시켰다. 이때 대조구로는 pEGFP 벡터만을 형질감염 시킨 것을 사용하였다. 이후, 형질감염된 293 EBNA 세포를 공초점현미경(Confocal Microscopy)으로 관찰하여 세포 내에서 DRG2 단백질의 위치를 확인하였다.

[0070] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 대조구의 경우에는 형광을 띤 EGFP 단백질이 세포 전체에 걸쳐 분포되어 있는 것으로 관찰된 반면 세포 내에서 발현된 DRG2 단백질은 세포의 특정 부분에 응집(aggregate)된 상태로 분포되어 있는 것으로 나타났다.

[0071] 또한, 본 발명자들은 세포내에서 응집된 형태로 분포되어 있는 DRG2 단백질이 세포내 칼슘 변화에 의해 응집 형태가 풀어지는지를 확인하기 위해, 형질감염된 상기 세포들에 50mM KCl을 처리한 다음, 현미경을 통해 DRG2 단백질의 세포내 분포현상을 관찰하였다.

[0072] 그 결과, 응집된 상태로 존재하고 있던 DRG2 단백질은 50mM KCl의 처리에 의해 세포 내부로 들어온 칼슘 이온

들에 의해 DRG2의 응집이 풀어지는 것을 확인할 수 있었다.

<실시예 2>

바이러스 성장과 DRG2의 관련성 분석

<2-1> 면역침전법을 이용한 바이러스 단백질과 DRG2의 관련성 조사

상기 실시예 1을 통해 세포내에서 응집된 형태로 존재하는 DRG2가 바이러스의 성장에 어떠한 역할을 하는지 조사하기 위해, 랍도바이러스(rhabdovirus)에 의해 감염된 세포에서 DRG2의 발현 변화를 조사하였는데 즉, 랍도바이러스 단백질의 유전자들과 DRG2 유전자를 293 EBNA 세포에 cotransfection 시킨 다음, 이들의 항체를 이용한 면역침전법(immunoprecipitation)을 통해 DRG2와 결합된 바이러스 단백질을 조사하였다.

그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 세포내에서 발현되어 응집형태로 존재하는 DRG2 단백질은 랍도바이러스의 nucleoprotein(N)과 결합하는 것을 확인할 수 있었다.

이러한 결과를 통해 본 발명자들은 세포내에서 DRG2가 응집의 형태로 존재하고 있기 때문에 랍도바이러스의 nucleoprotein(N) 단백질 역시 DRG2와 함께 응집된 형태로 세포내에 존재하고 있음을 알 수 있었다.

나아가 일반적으로 대부분의 바이러스들은 세포를 감염시키고, 세포내에서 바이러스의 게놈 및 바이러스를 구성하고 있는 각 구조단백질들을 합성한 후, 조립(assembly) 과정을 거쳐 새로운 바이러스입자를 만드는데, 이와 같은 조립 과정을 위해서는 새로 합성되는 바이러스의 구조 단백질들이 일정한 장소에 모여서 존재해야 하며, 바이러스 구조 단백질들의 응집 형성은 바이러스 성장에 매우 중요한 것으로 알려져 있다.

따라서 DRG2와 바이러스의 구조단백질이 세포 내에서 결합된 형태로 존재하고 있다는 사실을 통해 본 발명자들은 DRG2가 바이러스 구조단백질의 응집 형성에 중요한 역할을 할 수 있다는 사실을 알 수 있었다.

<2-2> DRG2 발현억제에 따른 바이러스의 성장 억제 효과

상기 실시예<2-1>을 통해 랍도바이러스의 nucleoprotein(N)가 DRG2와 결합한다는 사실을 확인함에 따라 본 발명자들은 바이러스 구조단백질의 응집형성에 DRG2가 중요한 역할을 할 것이라는 예상 하에, 하기 서열을 갖는 DRG2의 siRNA를 처리하여 세포 내에서 DRG2의 발현을 억제시키고 랍도바이러스로 세포를 감염시킨 다음, 랍도바이러스의 성장을 조사하였다.

DRG2 siRNA: 5'-CCGAAUAACCAUCAAGAACCAGA-3'

그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, DRG2의 siRNA를 이용하여 세포 내에서 DRG2의 발현을 억제하였을 경우, 랍도바이러스의 성장도 감소되는 것으로 나타났다.

따라서 바이러스의 성장, 특히 바이러스 구조단백질들의 조립 과정에 DRG2가 반드시 필요하다는 사실을 알 수 있었고, 나아가 DRG2의 발현 또는 활성을 억제하는 경우 바이러스의 성장을 억제할 수 있다는 사실을 알 수 있었으며, 궁극적으로 바이러스 감염에 따른 각종 질환들을 예방 또는 치료할 수 있다는 사실을 알 수 있었다.

<실시예 3>

DRG2와 UCHL-1 단백질의 결합 분석

나아가 본 발명자들은 DRG2가 뇌질환과 어떠한 관련성이 있는가를 조사하기 위해, misfolding 또는 응집된 단백질들을 분해하는데 관여하는 것으로 알려진 UCHL-1 단백질과의 관련성을 조사하였는데, 즉, DRG2와 UCHL-1 유전자를 293 EBNA 세포에 함께 형질도입 시킨 후, 면역침전법을 이용하여 DRG2와 UCHL-1이 결합하는지를 분석하였다. 여기서 상기 UCHL-1 단백질이 만약 세포 내에서 기능을 제대로 발휘하기 못하게 되면, 세포내 단백

질의 응집체가 증가하여 세포에 독성을 주게되며 이러한 독성으로 파킨슨 질환과 같은 뇌질환이 발생하게 된다. 따라서 UCHL-1의 정상적인 작용을 뇌질환의 예방에 매우 중요한 작용을 한다.

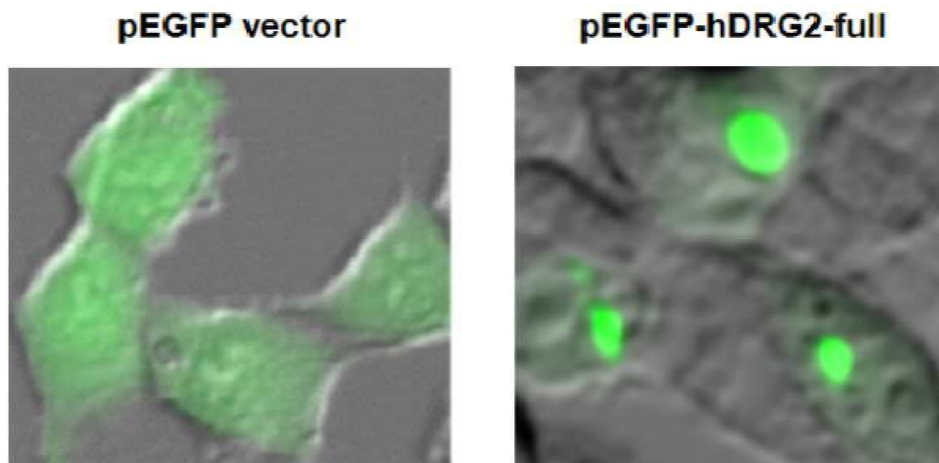
[0089] 이에, 본 발명에 따른 DRG2 단백질이 뇌질환 예방과 치료에 중요한 작용을 하는 UCHL-1 단백질과의 관계를 분석한 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 세포 내에서 발현된 DRG2는 UCHL-1과 결합된 형태로 존재하는 것을 알 수 있었다.

[0090] 따라서 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 DRG2가 UCHL-1과의 결합을 통해 세포 내에서 단백질의 응집 형성에 영향을 줄 수 있다는 것을 알 수 있었으며, DRG2의 발현 또는 활성을 조절, 즉, DRG2의 발현 또는 활성을 억제할 경우, 세포내에서 단백질의 분해 역할을 하는 UCHL-1 단백질의 작용을 조절하여 응집 형성을 억제할 수 있고, 나아가 파킨슨병 등의 단백질 응집에 의한 뇌질환을 억제 및 치료할 수 있다는 사실을 알 수 있었다.

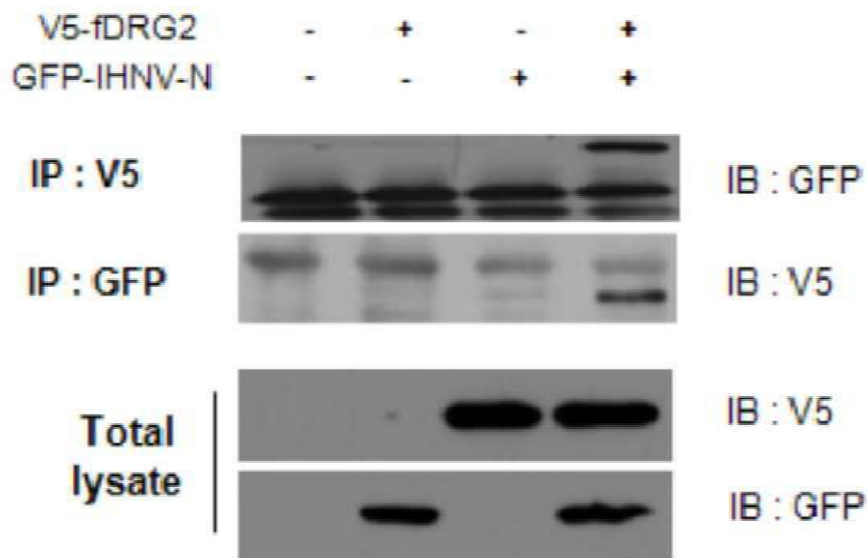
[0091] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

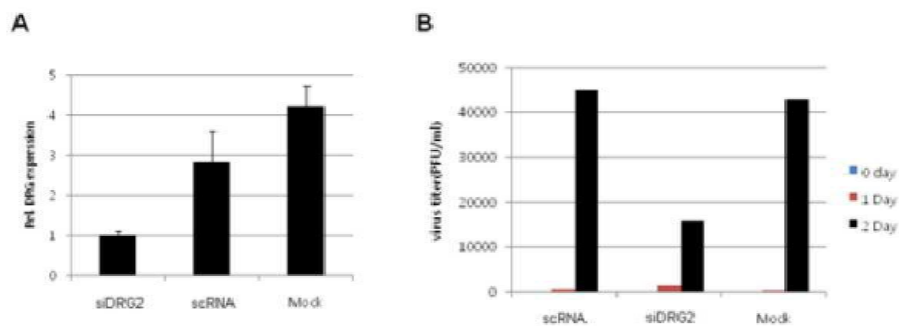
도면1



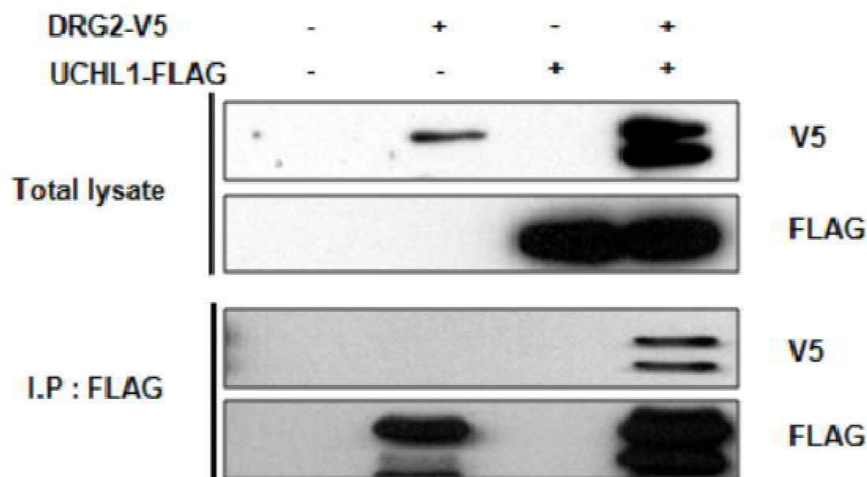
도면2



도면3



도면4



서열 목록

<110> Industry Academic Cooperation Foundation of Ulsan University

<120> Composition comprising an inhibitor of DRG2 as an active

ingredient for the prevention or treatment of viral diseases or
brain diseases

<160> 3

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 1888

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> human drg2 dna seq.

<400> 1

cggaattgcc ggtgcgccc ccaccgctgt ctgtgcgccc acctctgctg ctaccatggg 60

gatcttagag aagatctcgg agatcgagaa ggagatcgct cggacacaga agaacaaggc 120

cactgagtat catctgggcc tgctgaaagc taagctcgcc aagtatcggg cccagctcct 180

ggaaccgtcc aaatcgccct cgtccaaagg agagggttt gatgtcatga agtcgggtga 240

tgcccggtg gcgctgattg gatttccctc tgtgggtaag tccacattct tgagtctgat 300

gacctccacg gccagcgagg cagcgtccta tgagttcacc actctgacgt gtattcctgg 360

ggtcattgaa tacaagggtg ccaacatcca gtcctggac cttcctggaa tcattgaagg 420

cgcagcccaa ggaaaaggcc gtggccggca ggtgatcgct gtggcgcgca cggctgacgt 480

catcatcatg atgctggatg ccaccaaggg agaggtgcag aggtctctgc tggagaagga 540

gtgggagtct gtgggcatcc gcctcaacaa gcacaagcct aacatctact tcaagcccaa 600

gaaaggtggt ggcatctcct ttaactcgac agtcacgtg acccagtgt cggaaaagct 660

ggtgcagctc atcctgcacg aatacaagat cttcaatgca gaagtgttt tccgagaaga 720

ctgctccccg gacgagtcca tcgatgtgat cgtgggcaac cgggtgtaca tgccctgcct 780

gtatgtttat aacaaaatcg accagatctc catggaagag gtggaccgcc tggcccgaag 840

acccaacagt gtggtcatca gctgcggcat gaagctgaac ctggactatc tgctggagat 900

gctttgggag tacttggccc tgacctgcat ctacaccaag aagagaggac agaggccaga 960

cttcacagac gccatcattc tccgaaaagg ggcctcagtg gagcacgtgt gccaccgcat 1020

ccaccgtca ctgccagcc agttcaagta cgccttggtg tggggcacca gcaccaagta 1080

cagtccgag cgggtgggcc tgaccacac catggagcat gaggacgtca tccagatcgt 1140

gaagaagtaa cggcgccctgc cgggcctccc gccacctgc ctcgtctccc tggggagggtg 1200

gtccactgg gacacacaaa caccacaaac gaaaaataca aatacacgta ccccaggaag 1260

gggtccctca agtctctgct atttacagaa gtttcttcag taggcagacg aagagtgtgt 1320

tggggcaaag gggctcggtt ggaggcattt ccataagac tgagccctct catgggggtt 1380

ttgagtttgt agtgctgagc ctgcatctgt gcctcccagc cccctgcact gagggagcaa 1440
gttgcccaca tgcccgcag ccagggccta aagcagatgg catgctcagt gccaggtgg 1500
tagctgggcc tgtttgggtc cctggaggt gtggctgctg tcatggcacc tcactccctc 1560
agctcttgcc agcttctctg acacttgggt tgggggcct tccaggagga aaccccttg 1620
ggtgcccac acagggtctt ccatgatggg aaccagtgg tagtggttc aaaggcccag 1680
ctgacaccct ccacagccta aggggtgtcc taaagtgcct cccctgtat tccccctcc 1740
agggcagccc ctgccagca caaaaccca ggaccctggc tctgcacgcc tggggcaggg 1800

acttttgagt ttaggatctg tattttctaa gtccccagtt ctctggctc tcctttctga 1860
aataaaggat tgaaaacggt tcctgttc 1888

<210> 2

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> human drg2 amino acid seq.

<400> 2

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

1 5 10 15

Thr Gln Lys Asn Lys Ala Thr Glu Tyr His Leu Gly Leu Leu Lys Ala

20 25 30

Lys Leu Ala Lys Tyr Arg Ala Gln Leu Leu Glu Pro Ser Lys Ser Ala

35 40 45

Ser Ser Lys Gly Glu Gly Phe Asp Val Met Lys Ser Gly Asp Ala Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Met Thr Ser Thr Ala Ser Glu Ala Ala Ser Tyr Glu Phe Thr Thr

85 90 95

Leu Thr Cys Ile Pro Gly Val Ile Glu Tyr Lys Gly Ala Asn Ile Gln

100 105 110

Leu Leu Asp Leu Pro Gly Ile Ile Glu Gly Ala Ala Gln Gly Lys Gly

115 120 125

Arg Gly Arg Gln Val Ile Ala Val Ala Arg Thr Ala Asp Val Ile Ile
130 135 140

Met Met Leu Asp Ala Thr Lys Gly Glu Val Gln Arg Ser Leu Leu Glu
145 150 155 160

Lys Glu Leu Glu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asn Lys His Lys Pro Asn
165 170 175

Ile Tyr Phe Lys Pro Lys Lys Gly Gly Gly Ile Ser Phe Asn Ser Thr
180 185 190

Val Thr Leu Thr Gln Cys Ser Glu Lys Leu Val Gln Leu Ile Leu His
195 200 205

Glu Tyr Lys Ile Phe Asn Ala Glu Val Leu Phe Arg Glu Asp Cys Ser
210 215 220

Pro Asp Glu Phe Ile Asp Val Ile Val Gly Asn Arg Val Tyr Met Pro
225 230 235 240

Cys Leu Tyr Val Tyr Asn Lys Ile Asp Gln Ile Ser Met Glu Glu Val
245 250 255

Asp Arg Leu Ala Arg Lys Pro Asn Ser Val Val Ile Ser Cys Gly Met
260 265 270

Lys Leu Asn Leu Asp Tyr Leu Leu Glu Met Leu Trp Glu Tyr Leu Ala
275 280 285

Leu Thr Cys Ile Tyr Thr Lys Lys Arg Gly Gln Arg Pro Asp Phe Thr
290 295 300

Asp Ala Ile Ile Leu Arg Lys Gly Ala Ser Val Glu His Val Cys His
305 310 315 320

Arg Ile His Arg Ser Leu Ala Ser Gln Phe Lys Tyr Ala Leu Val Trp
325 330 335

Gly Thr Ser Thr Lys Tyr Ser Pro Gln Arg Val Gly Leu Thr His Thr
340 345 350

Met Glu His Glu Asp Val Ile Gln Ile Val Lys Lys
355 360

<210> 3

<211> 25

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> siRNA

<400> 3

ccgaaauaac caaucaagaa ccaga

25