

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2025-0020708
(43) 공개일자 2025년02월11일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 33/26 (2006.01) *A61K 31/714* (2006.01)
A61K 38/42 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 33/26 (2013.01)
A61K 31/714 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2025-7002551(분할)
(22) 출원일자(국제) 2015년09월28일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2023-7030842
원출원일자(국제) 2015년09월28일
심사청구일자 2023년10월06일
- (85) 번역문제출일자 2025년01월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/052676
(87) 국제공개번호 WO 2016/053882
국제공개일자 2016년04월07일
- (30) 우선권주장
62/057,047 2014년09월29일 미국(US)
62/212,232 2015년08월31일 미국(US)
- (71) 출원인
프레드 허친슨 캔서 센터
미국 98109 워싱턴주 시애틀 노스 페어뷰 애비뉴 1100
- (72) 발명자
제이거, 리차드
미국 98109 워싱턴주 시애틀 제이2-302 페어뷰 애비뉴 노스 1100
존슨, 알리 씨엠
미국 98109 워싱턴주 시애틀 제이2-302 페어뷰 애비뉴 노스 1100
- (74) 대리인
양영준, 이상남

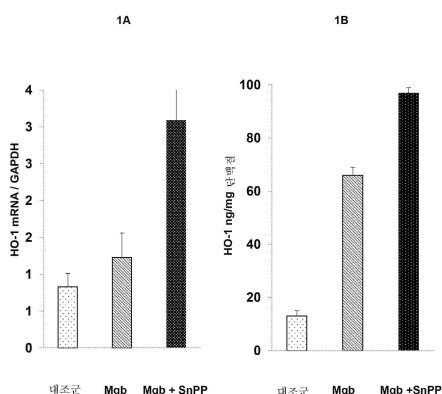
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 스트레스 단백질 유도제를 사용하여 획득 세포내성을 유도하기 위한 조성물, 키트 및 방법

(57) 요약

본 개시내용은 장기에 손상을 발생시키지 않으면서 획득 세포내성을 유도함으로써 장기를 보호하기 위한 조성물, 키트 및 방법을 제공한다. 상기 조성물, 키트 및 방법은 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12 및, 임의로, 헴 단백질 대사에 영향을 미치는 물질을 이용한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 38/42 (2013.01)

A61P 43/00 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

조성물의 용도.

발명의 설명

기술분야

[0001] 정부 지원 연구 또는 개발에 대한 성명

[0002] 본 발명은 국립 보건원(National Institutes of Health)이 허여한 허가 DK38432 하에 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명에 소정의 권한을 가진다.

[0003] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0004] 본원은 2014년 9월 29일에 출원된 미국 가특허 출원 제62/057,047호 및 2015년 8월 31일에 출원된 미국 가특허 출원 제62/212,232호(이의 전체 내용은 본 명세서에 참고문헌으로 포함됨)에 대한 우선권을 주장한다.

[0005] 기술분야

[0006] 본 개시내용은 장기에 손상을 발생시키지 않으면서 획득 세포내성(acquired cytoresistance)을 유도함으로써 장기를 보호하기 위한 조성물, 키트 및 방법을 제공한다. 상기 조성물, 키트 및 방법은 헵 단백질 및, 임의로, 헵 단백질 대사에 영향을 미치는 물질을 이용할 수 있다. 스트레스 단백질(stress protein)(예를 들어, 철 및 비타민 B12)을 상향조절하는 다른 화합물을 또한 사용할 수 있다.

배경기술

[0007] 신체 장기의 손상은 장기에 의한 보호 반응을 불러일으킬 수 있어서, 자체가 해로운 사건(즉, 자극(insult))이 계속하거나 재발생하게 하는 것이 더 우수하게 보호할 수 있다. 예를 들어, 한차례의 신장 손상은, 18시간 지체 시간 후, 후속하는 더 중증인 형태의 신장 손상에 대해 신장을 보호하는 보호 반응을 불러일으킬 수 있다. 이 보호는 연장된 시간 기간(일 내지 주) 동안 지속할 수 있다. 이 보호 현상은 "허혈성 양상화(ischemic preconditioning)" 또는 "획득 세포내성"이라 당해 분야에 공지되어 있다.

[0008] 하나의 생각은, 특히 알려진 자극이 임박한 때, 장기를 예방적으로 보호하기 위해 획득 세포내성의 현상을 이용하는 것이다. 예를 들어, 이 현상은 자극, 예컨대 수술에 대한 노출, 심폐 우회술 또는 조영제 독성 투여 전에 장기를 보호하도록 유도될 수 있다. 그러나, 보호되어야 하는 장기에 허용되지 않는 손상을 발생시키지 않으면서 제어 방식으로 획득 세포내성을 유도하는 기전이 없으므로, 이 접근법은 임상 용도로 사용되지 않았다.

발명의 내용

[0009] 본 개시내용은 장기에 손상을 발생시키지 않으면서 획득 세포내성의 유도를 허용하는 조성물, 키트 및 방법을 제공한다. 획득 세포내성은 장기에 손상을 발생시키지 않으면서 유도될 수 있으므로, 특히 알려진 자극이 임박한 때, 장기를 예방적으로 보호하는 임상 환경에서 이 현상이 이용될 수 있다.

[0010] 이론에 구속되지 않으면서, 조성물, 키트 및 방법은 보호 스트레스 단백질의 발현을 상향조절함으로써 획득 세포내성을 유도한다. 특정한 실시형태는 일정 수준에서의, 또는 일정 접근법에 의한 헵 단백질의 투여를 통해 획득 세포내성을 유도하고, 그래서 헵 단백질은 보호하고자 하는 장기에 손상을 발생시키지 않는다. 획득 세포내성의 유도는 다른 화합물, 예컨대 철 및/또는 비타민 B12를 투여함으로써 또한 달성될 수 있다.

[0011] 손상을 발생시키지 않으면서 획득 세포내성을 유도하는 접근법은 치료학적 유효량의 헵 단백질, 철 및/또는 비타민 B12(B12)의 투여; 헵 단백질, 철 및/또는 B12의 생물학적 반감기의 증가; 헵 단백질, 철 및/또는 B12의 작용의 강화; 및 헵 단백질, 철 및/또는 B12 투여와 연관된 독성의 감소를 포함한다. 각각의 이러한 접근법은 단독으로 또는 조합으로 실행될 수 있다.

[0012] 기재된 접근법은 하기 중 하나 이상에 의해 달성될 수 있다: 치료학적 유효량의 헴 단백질, 철 및/또는 B12의 투여; 헴 단백질 분해 저해제와 조합된 헴 단백질, 철 및/또는 B12의 투여; 변형된 헴 단백질, 철 및/또는 B12의 투여; 및/또는 적절한 조성물 및 전달 경로의 선택.

[0013] 예시적인 헴 단백질은 저분자량 헴 단백질, 신속히 청소되는 헴 단백질 및 미오글로빈을 포함한다. 철의 예시적인 형태는 철 수크로스를 포함한다. 예시적인 헴 단백질 분해 저해제는 프로토포포르피린, 금속 프로토포포르피린 및 헤마틴을 포함한다. 예시적인 변형된 헴 단백질 및 헴 단백질 분해 저해제는 PEG화 헴 단백질 및 헴 단백질 분해 저해제 및 아질산화 헴 단백질 및 헴 단백질 분해 저해제를 포함한다. 예시적인 조성물은 서방 방출 대포를 포함한다. 예시적인 전달 경로는 정맥내, 피하 또는 근육내 주사를 포함한다. 독성을 감소시키는 예시적인 방법은 만니톨, 글라이신 및 식염수에 의한 투여를 포함한다. 추가적인 예, 실시형태 및 조합은 상세한 설명에 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1A 및 도 1B는 글라이세롤 자극 전 18시간에 비히클(대조군), 미오글로빈(Mgb) 또는 Sn-프로토포포르피린(SnPP; Mgb + SnPP) 투여와 조합된 미오글로빈에 따른 헴 산화효소 mRNA 발현(도 1A) 및 단백질 발현(도 1B)을 보여준다. 이 도면은 미오글로빈의 투여가 단독으로 대표적인 세포보호 분자 헴 산화효소 1(HO-1)을 유도하고, HO-1와 일시적인 헴 산화효소 저해제(SnPP)의 조합이 미오글로빈 유도된 HO-1 mRNA 및 단백질 증가를 극적으로 증가시킨다는 것을 입증한다.

도 2 왼쪽 패널은 글라이세롤 유도된 급성 신부전 후 세포 신장 손상을 보여준다. 중증 손상이 양상화의 부재 하에 관찰되지만(광범위한 괴사, 상부 왼쪽; 중증 원주(cast) 형성, 하부 왼쪽), 글라이세롤 주사 전에 18시간에 미오글로빈 + SnPP에 의한 전처리는 본질적으로 정상인 신장 조직학을 발생시켰다(오른쪽 패널 상부 및 하부).

도 3은 N-Mgb + SnPP가 인터류킨-10(IL-10)인 보호 스트레스 단백질에 대한 mRNA를 상승시킨다는 것을 보여준다.

도 4는 N-Mgb + SnPP가 합토크로빈 mRNA(왼쪽) 및 단백질 수치(오른쪽)를 상승시킨다는 것을 보여준다.

도 5는 미오글로빈 독성의 발현에 대한 미오글로빈 Fe에 대한 등몰량의 아질산염 결합의 영향의 평가를 보여준다. HK-2 세포(정상 인간 신장으로부터 유래한 근위 세뇨관 세포주)를 정상(대조군) 조건 하에 또는 10mg/ml의 말 골격근 미오글로빈 또는 아질산화 미오글로빈(10mg/ml의 미오글로빈에 대한 등몰량의 Na 아질산염 첨가에 의해 생성됨)의 존재 하에 각질세포 혈청 비함유 배지 중에 항온처리하였다. 18시간 항온처리 후, MTT 검정에 의해 세포 손상의 중증도(세포사(%))를 평가하였다. 미오글로빈은 대조군 항온처리된 세포와 비교하여 40%의 세포사(MTT 세포 흡수의 40% 감소)를 유도하였다. 미오글로빈에 대한 아질산염 결합은 세포사를 75%만큼 감소시켰다. 따라서, 아질산염 결합은 미오글로빈의 세포독성 효과를 감소시킬 수 있다.

도 6은 혈장 헴 산화효소 1(HO-1)과 투여된 N-미오글로빈 용량 사이의 용량 반응 관계식을 보여준다. 정상 마우스에 0, 1, 2 또는 5mg/kg의 아질산화 미오글로빈 + SnPP(1μmole의 일정한 용량)를 근육내로(IM) 주사하였다. 18시간 후, ELISA에 의해 혈장 HO-1 수치를 평가하였다. 투여된 N-미오글로빈 용량과 혈장 HO-1 수치 사이의 가파른 용량 반응 관계식이 관찰되었다. 따라서, HO-1 검정은 N-Mgb/SnPP 유도된 HO-1 유도에 대한 가능한 바이오마커 이용성을 가진다.

도 7은 N-미오글로빈 용량의 25배 변경에 대한 정상 혈청 크레아티닌 수치의 유지를 보여준다. 마우스를 1, 3, 6, 12 또는 25mg/kg의 아질산화 미오글로빈(1μmole의 일정한 용량에서 SnPP를 유지)의 2시간 피하 점적주사로 처리하였다. 18시간 후, 혈청 크레아티닌 농도를 측정함으로써 가능한 신장 손상을 평가하였다. 유의미한 증가가 어떠한 N-Mgb 용량에서도 관찰되지 않아서, 과독성의 부족을 나타낸다(n, 2-4마리의 마우스/군).

도 8은 N-Mgb-SnPP 투여 후 18시간에 신장 조직학을 보여준다. 상부 2 패널은 대조군 마우스(C) 및 N-Mgb-SnPP 처리(Rx) 후 18시간에 마우스로부터의 PAS 염색된 신장 절편이다. 처리된 마우스로부터의 세뇨관 상피는 완전히 온전한 솔 가장자리(brush border)(내강 막의 어두운 착색부)를 가지는 정상 조직학적 외관을 유지한다. 하부 2 패널은 헤마톡실린 및 에오신 염색된 절편을 도시한다. N-Mgb-SnPP 전처리에 의해 조직학적 손상이 명확하지 않았다.

도 9는 정상 마우스의 N-Mgb-SnPP 처리에 의한 HO-1의 상승작용 유도를 보여준다. 왼쪽 패널은 치료 후 4시간에 HO-1 mRNA 수치를 도시한다. N-Mgb 단독 및 SnPP 단독이 보통의 mRNA 증가를 유도하지만, 조합된 물질 투여에

의해 20배 HO-1 mRNA 증가가 관찰되었다. 투여 후 18시간에, 상승작용 HO-1 단백질 증가가 관찰되었다(대조군에 대한 P 값). GAPDH, 글라이세르알데하이드-3-포스페이트 탈수소효소; HO-1, 헵 산화효소 1; mRNA, 메신저 RNA; N-Mgb, 아질산화 미오글로빈; SnPP, 주석 프로토포르피린.

도 10은 정상 마우스의 N-Mgb-SnPP 처리에 의한 IL-10의 상승작용 유도를 보여준다. 왼쪽 패널은 치료 후 4시간에 IL-10 mRNA 수치를 도시한다. N-Mgb 단독 및 SnPP 단독이 최소 IL-10 mRNA 증가를 발생시키거나 발생시키지 않았다. 그러나, 조합된 투여에 의해, 10배 IL-10 mRNA 증가가 관찰되었다. 오른쪽 패널에 도시된 바대로, 오직 조합된 치료는, 18시간 시점에 평가된 바대로, IL-10 단백질 증가를 유도하였다(대조군에 대한 P 값).

도 11은 정상 마우스에 대한 N-Mgb-SnPP 투여 후 합토클로빈 mRNA 및 단백질 발현을 보여준다. 조합된 N-Mgb 1 SnPP는 물질 단독에 의한 것보다 주사 후 4시간에 훨씬 더 큰 합토클로빈 mRNA 증가를 발생시켰다. 그러나, 물질 투여 후 18시간에, N-Mgb 단독 및 N-Mgb + SnPP는 필적하는 합토클로빈 단백질 증가를 유도하였다. 이것은 N-Mgb가 조합된 N-Mgb + SnPP 투여에 의해 생성된 합토클로빈 증가의 원인이라는 것을 제안한다. (대조군에 대한 P 값).

도 12는 횡문근융해증 유도 AKI의 글라이세롤 모델에서의 시험 물질에 의해 유도된 보호의 정도를 보여준다. 대조군 마우스(C)는, BUN 및 크레아티닌 농도에 의해 표시된 바대로, 현저한 AKI를 발생시켰다. SnPP는 무의미한 보호를 부여하지만, N-Mgb는 보통의 보호 효과를 유도하였다. 반대로, 조합된 N-Mgb-SnPP 투여는 글라이세롤 투여 후 18시간에, 정상 BUN 및 크레아티닌 수치에 의해 측정된 바대로, 완전한 기능 보호를 부여하였다(정상 수치는 수평 실선으로 표시됨).

도 13은 조합된 N-Mgb 1 SnPP(Rx) 처리가 AKI의 말레이이트 모델에 대해 현저한 보호를 부여한다는 것을 보여준다. 말레이이트 주사는 현저한 BUN 및 크레아티닌 증가를 발생시켰다. 처리(Rx)는 거의 완전한 보호 효과를 부여하였다(수평선은 정상 BUN 및 크레아티닌 농도를 나타낸다). 무처리(Rx 무)에 대한 P 값.

도 14는 말레이이트 유도된 심장독성이 N-Mgb + SnPP에 의한 전처리에 의해 감소한다는 것을 보여준다. 마우스를 1mg/kg의 N-미오글로빈 + 1 μ mole의 SnPP 또는 IV 비히클 주사에 의해 처리하였다. 18시간 후, 800mg/kg의 말레이이트를 IP 투여하였다. 심근 손상의 정도를 (ELISA에 의해) 혈장 트로포닌 I 농도를 측정함으로써 말레이이트 주사 후 18시간에 결정하였다. 말레이이트 주사는 혈장 트로포닌 수치의 10배 증가를 발생시켰다. N-Mgb+SnPP에 의한 전처리는 말레이이트 유도된 트로포닌 증가를 75%만큼 감소시켰다.

도 15는 N-Mgb + SnPP(Rx) 처리가 편측 허혈-재관류(ischemia-reperfusion; I/R) 유도 진행성 신장 질환에 대한 보호를 부여한다는 것을 보여준다. 마우스를 18시간 전에 N-Mgb-SnPP 전처리의 존재 또는 부재 하에 왼쪽 신장 허혈의 30분으로 처리하였다. 2주 허혈 후에, I/R은 (신장 중량에 의해 측정된) 신장 질량의 38% 감소를 발생시켰다. 전처리(Rx)는 신장 질량의 불과 12% 감소로 측정된 바대로 유의미한 보호를 부여하였다. 보호는 2주 허혈 후 왼쪽 신장에서 NGAL mRNA 및 단백질 수치의 현저한 감소에 의해 또한 표시되었다.

도 16은 신장 피질 및 혈장에서의 증가한 용량의 N-Mgb(SnPP의 고정 용량, 1 μ mol을 가짐)와 HO-1/합토클로빈 단백질 수치 사이의 용량 반응 관계식을 보여준다. 복강내 투여된, 증가한 용량의 N-Mgb는 혈장 및 신장 피질에서 각각의 단백질의 수치를 증가시켰다. 혈장 대 신장 농도에 대한 상관관계 계수는 각각 HO-1 및 합토클로빈에 대해 0.57 및 0.82이었다. 투여된 용량과 혈장 단백질 수치 사이의 상관관계는 각각 HO-1 및 합토클로빈에 대해 $r = 0.85$ 및 $r = 0.75$ 이었다.

도 17은 글라이세롤 투여 후 18시간에 BUN/크레아티닌 농도에 대한 N-Mgb의 투여된 IP 용량 사이의 용량 반응 관계식을 보여준다. N-Mgb의 용량의 증가(SnPP의 고정 용량에 의해; 1 μ mol)는 글라이세롤 유도 AKI에 대한 보호의 정도를 증가시켰다. 도 16에 제공된 결과에 의해 분석될 때, 혈장 및 신장 피질 HO-1/합토클로빈 농도와 글라이세롤 유도 AKI에 대한 보호의 정도 사이의 강한 직접적인 관계식이 명확하다. 수평선은 정상 BUN 및 크레아티닌 농도를 나타낸다. 오른쪽 패널에 도시된 바대로, 투여된 용량은, 시험된 투약량 범위에 걸쳐 정상 18시간 혈장 크레아티닌 농도의 유지에 의해 입증되는 바대로, 신장에 의해 매우 관용성이다.

도 18은 조합된 N-Mgb/SnPP 처리에 의한 간 및 심장에서의 HO-1, 합토클로빈(합토포) 및 IL-10 유전자 발현의 상향조절을 보여준다. 대조군 값에 대한 배수 증가로 표시된, 치료에 의한 증가의 정도가 제시되어 있다. 각각은 간(상부 2 패널) 및 심장(하부 2 패널) 둘 다에서 증가하였다. 개별 값은 표 9 및 표 10에 제공된다.

도 19는 N-Mgb-SnPP에 의한 양상화가 허혈 후 간 손상 및 간독성 손상을 완화시킨다는 것을 보여준다. 간 허혈-재관류(I/R) 손상의 정도는 혈장 락테이트 탈수소효소(LDH) 및 알라닌 아미노전환효소(ALT) 수치에 의해 판단된다. N-Mgb-SnPP에 의한 전처리는 LDH 및 ALT 농도 둘 다를 유의미하게 감소시켰다(왼쪽 및 중간 패널). 이것은

복강내 글라이세롤 주사에 의해 유도된 간독성 손상의 정도를 또한 감소시켰다(오른쪽 패널).

도 20은 N-Mgb-SnPP 전처리의 부재(상부) 및 존재(하부) 하의 허혈 후 18시간에 얻어진 간 박편의 전체 외관을 보여준다. 간 허혈은 약간 하얀 회색 간 외관(상부)에 의해 입증된 바대로 광범위한 전체 괴사를 일으켰다. 그러나, N-Mgb-SnPP 전처리에 의해, 간은 거의 정상 외관(하부)을 보여주었다.

도 21은 비타민 B12 및 Fe 수크로스가 각각 4시간 내에 현저한 HO-1 단백질 증가를 유도하고 이의 IV 주사의 18 시간 동안 지속한다는 것을 보여준다.

도 22는 말레에이트 주사가, 말레에이트 주사된 대조군(C)에 대해, 현저한 BUN 및 PCr 증가에 의해 표시된 바와 같은, 중증 AKI를 야기한다는 것을 보여준다. SnPP 단독도 FeS 단독도 신장 손상의 중증도를 유의미하게 변경하지 않았다. 그러나, 조합된 FeS + SNPP는, BUN/PCr 농도의 75% 감소로 표시된 바대로, 현저한 보호를 부여하였다(수평선은 정상 마우스에서의 BUN/PCr 수치의 평균을 나타낸다).

도 23은 IRI 유도의 18시간 내에 BUN 및 PCr 농도의 4배 증가가 생겼다는 것을 보여준다. FeS + SNPP에 의한 전처리는 유의미한 보호를 부여하여서, BUN 및 PCr 수치를 50%로 감소시켰다. 수평선은 정상 마우스에서의 평균 BUN/PCr 수치를 나타낸다.

도 24는 말레에이트 주사가 중증 AKI를 유도한다는 것을 보여준다. FeS + B12에 의한 전처리는, BUN/PCr 감소에 의해 표시된 바대로, 이 손상을 현저히 완화시켰다. 수평선은 정상 마우스에서의 평균 BUN/PCr 수치를 나타낸다.

도 25는 글라이세롤 주사의 18시간 내에 생긴 중증 신부전을 보여준다. FeS + B12에 의한 전처리는, 현저한 18 시간 BUN 및 PCr 농도 둘 다의 감소에 의해 표시된 바대로, 실질적인 기능 보호를 부여하였다. 수평선은 정상 마우스에 대한 평균 BUN/PCr 수치를 나타낸다.

도 26은 주사 후 4시간에 평가된 현저한 및 유의미한 HO-1 mRNA의 증가를 보여준다. 18시간에, HO-1 mRNA 수치는 정상 값으로 복귀하였다.

도 27은 4시간 mRNA 증가가 유의미한 HO-1 단백질 수치의 증가와 상관된다는 것을 보여준다. 이 수치는 특히 FeS 투여의 경우에 18시간 시점에 상승한 채 있었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 신체 장기의 손상은 장기에 의한 보호 반응을 불러일으킬 수 있어서, 자체가 해로운 사건(즉, 자극)이 계속하거나 재발하게 하는 것이 더 우수하게 보호할 수 있다. 이 보호 현상은 "허혈성 양성화" 또는 "획득 세포내성"이라 당해 분야에 공지되어 있다.
- [0016] 하나의 생각은, 특히 알려진 자극이 임박한 때, 장기를 예방적으로 보호하기 위해 획득 세포내성의 현상을 이용하는 것이다. 예를 들어, 이 현상은 자극, 예컨대 수술에 대한 노출, 풍선 혈관확장술, 유도된 심장 또는 뇌 허혈-재관류 손상, 또는 조영제 독성 전에 장기를 보호하도록 유도될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 이 현상은 냉온 저장 손상 및/또는 재이식 허혈-재관류 손상을 예방하거나 감소시키기 위해 장기 공여자(예를 들어, 신장, 간)에서 유도될 수 있다. 그러나, 본 개시내용까지, 자체가 보호되어야 하는 장기에 손상을 발생시키지 않으면서 제어 방식으로 획득 세포내성을 성공적으로 유도하는 기전이 없으므로, 이 접근법은 임상 용도로 사용되지 않았다.
- [0017] 본 개시내용은 보호되어야 하는 장기에 손상 없이 획득 세포내성의 유도를 허용하는 조성물, 키트 및 방법을 제공한다. 획득 세포내성은 장기에 손상을 발생시키지 않으면서 유도될 수 있으므로, 특히 알려진 자극이 임박한 때, 장기를 예방적으로 보호하는 임상 환경에서 이 현상이 이용될 수 있다.
- [0018] 이론에 구속되지 않으면서, 조성물, 키트 및 방법은 보호 스트레스 단백질의 발현을 상향조절함으로써 획득 세포내성을 유도한다. 획득 세포내성은, 헴 단백질이 보호되어야 하는 장기에 손상을 발생시키지 않게 하는, 일정 수준에서의, 또는 일정 접근법에 의한 헴 단백질의 투여를 통해 유도될 수 있다. 특정한 실시형태에서, 획득 세포내성의 유도는 헴 단백질에 의해 사용된 동일한 또는 유사한 생물학적 경로를 통해 스트레스 단백질을 상향조절하는 화합물을 투여함으로써 또한 달성될 수 있다. 이러한 화합물은 예를 들어 철 및 비타민 B12 및 연관 대사물질을 포함한다.
- [0019] "자극"은 장기에 손상을 발생시킬 것 같은 발생이다. 예시적인 자극은 쇼크(저혈압), 신장 관류저하, 수술, 유도된 심장 또는 뇌 허혈-재관류, 심폐 우회술, 풍선 혈관성형술, 조영제 독성 투여, 화학치료, 약물 투여, 신독

성 약물 투여, 둔력 외상, 천공, 독, 흡연 등을 포함한다.

- [0020] "손상"은, 하나 이상의 관련 대조군, 조건 또는 기준 수치와 비교하여, 장기 내의 세포사, 장기 내의 세포 손상, 장기 내의 손상된 구조 및/또는 장기의 기능 감소에 의해 입증된 장기에 대한 해로운 효과이다.
- [0021] 장기에 대한 "손상의 부재", 장기에 "손상을 발생시키지 않으면서", "장기에 손상을 발생시키지 않는다" 및 유사한 구절은 장기에 대한 임의의 효과가 타당한 의학적 판단의 범위 내에 투여의 합당한 이익/위험 비율에 알맞다는 것을 의미한다. 특정한 실시형태에서, 손상의 부재는 장기의 기능이 적절한 통계 비교를 이용하는 때에 장기 기능의 공지된 시험에 따라 관련 대조군, 조건 또는 기준 수치와 통계적으로 유의미하게 다르지 않다는 것을 보여줌으로써 입증될 수 있다. 장기 기능의 예시적인 검정은, 하나 이상의 관련 대조군, 조건 또는 기준 수치와 비교하여, 장기 기능과 연관된 마커의 측정; 장기의 산물의 측정; 및 장기의 성능 계량의 측정을 포함한다.
- [0022] 획득 세포내성을 유도함으로써, 본 명세서에 개시된 조성물, 키트 및 방법은 손상, 예컨대 자극 유도 손상으로 부터 장기를 보호한다. "손상으로부터의 장기의 보호" 및 유사한 구절은 하기 중 하나 이상을 포함한다: 하나 이상의 관련 대조군, 조건 또는 기준 수치와 비교하여 보호 스트레스 단백질의 발현의 상향조절; 전체 또는 부분의 장기 기능의 보전(예를 들어, 장기의 산물의 측정; 장기의 성능 계량의 측정); 장기 세포 손상의 감소(특정한 실시형태에서, 순환으로의 세포내 단백질의 누출 감소로 표시된 바대로), 및 장기 내의 세포사의 감소.
- [0023] 손상 및 연관 보호의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용될 수 있는 다양한 검정이 본 명세서에 개시되어 있고, 장기 기능의 동물 및 인간 모델에서 사용될 수 있다. 장기의 보호 및/또는 손상의 결여는 기준 수치를 가지는 대상체로부터의 관련 측정치를 비교함으로써 확인될 수 있다. 기준 수치는 장기 기능에 대한 컷오프 점 및/또는 비정상 값을 정의하기 위해 예를 들어 식별 한계 또는 위험 한계 한계치에 따라 정의된 "정상" 또는 "대조군" 수치 또는 값을 포함할 수 있다. 기준 수치는 장기 손상을 겪지 않는 대상체에서 통상적으로 발견되는 지표의 수치일 수 있다. "기준 수치"에 대한 다른 용어는 "지수", "기준치", "표준", "건강한", "손상전" 등을 포함한다. 이러한 정상 수치는 지표가 단독으로 또는 점수를 산출하기 위한 다른 지표와 조합된 식으로 사용되는지에 기초하여 변할 수 있다. 대안적으로, 기준 수치는 임상적으로 관련된 시간 기간에 걸쳐 장기 손상을 발생시키지 않은 이전에 시험된 대상체로부터의 점수의 데이터베이스로부터 도출될 수 있다. 기준 수치는 예를 들어 장기 손상 상태가 공지된 대조군 대상체 또는 집단으로부터 또한 도출될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 기준 수치는 장기 손상에 대해 치료에 노출된 하나 이상의 대상체, 또는 치료에 대한 노출의 결과로서 손상 후 장기 기능의 개선을 나타낸 대상체로부터 도출될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 기준 수치는 치료에 노출되지 않은 장기 손상을 가지는 하나 이상의 대상체로부터 도출될 수 있다. 기준 수치는 집단 연구로부터 손상 중증도 알고리즘 또는 컴퓨터화 지표로부터 또한 도출될 수 있다.
- [0024] 특정한 실시형태에서, "기준 수치"는 임의의 손상과 연관되지 않은 수치; 특정한 유형의 손상과 연관된 수치; 손상의 중증도와 연관된 수치; 또는 진단 시에, 치료의 시작 시에 또는 치료 동안의 시점에 특정한 대상체와 연관된 수치를 나타내는 장기 기능에 대해 표준화된 값을 의미할 수 있다. 기준 수치는 다양한 시험 위치에 걸쳐 유용한 보편적인 기준 수치일 수 있거나, 장기 기능을 측정하기 위해 이용된 특정한 검정 및 시험 위치에 특정한 기준 수치일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 기준 수치는 (i) 장기 손상 또는 특정한 유형의 장기 손상을 가지지 않는 개인; 또는 (ii) 장기 손상 또는 특정한 유형의 장기 손상을 가지지 않는 개인의 그룹으로부터 도출된다. 대상체의 기준 수치는 대상체에서 장기 손상의 자연적인 진행 또는 퇴행을 모니터링하기 위해 치료를 겪는 대상체의 시점과 또한 관련될 수 있다.
- [0025] 특정한 실시형태에서, 기준 수치는 "데이터세트"로부터 도출될 수 있다. 데이터세트는 원하는 조건 하에 샘플(또는 샘플의 집단)의 평가로부터 생긴 일련의 숫자 값을 나타낸다. 데이터세트의 값은 예를 들어 샘플로부터 측정치를 실험적으로 얻고 이 측정치로부터 데이터세트를 작성하거나; 대안적으로, 서비스 제공자, 예컨대 실험실로부터 또는 데이터베이스 또는 데이터세트가 저장된 서버로부터 데이터세트를 얻음으로써 얻어질 수 있다.
- [0026] 보호 스트레스 단백질의 상향조절. 이론에 구속되지 않으면서, 다수의 스트레스 단백질의 상향조절은 획득 세포내성을 유도한다. "상향조절"은 상향조절되지 않은 달리 동일한 또는 필적하는 유전자 또는 단백질에서의 발현 또는 활성과 비교하여 관심 있는 유전자 또는 핵산 분자의 발현 또는 단백질의 활성의 증가, 예를 들어 유전자 발현 또는 단백질 활성의 증가를 포함한다.
- [0027] 하기 예시적인 스트레스 단백질의 상향조절은 획득 세포내성을 유도할 수 있다: 헴 산화효소(HO), 합토크로빈, 헤모펙신, 헵시딘, 알파-1 안티트립신(AAT), 인터류킨-10(IL-10), 열 쇼크 단백질, 호중구 젤라틴분해효소(gelatinase) 연관 리포칼린(NGAL) 및 HMG CoA 환원효소.

- [0028] 헴 산화효소(heme oxygenase; HO)는 헴 이화작용에서 속도 제한 효소이다. 3개의 구별되는 HO 아이소자임이 존재한다: HO-1(예를 들어, 서열 번호 1), HO-2(아이소폼 A; 예를 들어, 서열 번호 2; 아이소폼 B; 예를 들어, 서열 번호 3; 아이소폼 C; 예를 들어, 서열 번호 4) 및 HO-3(예를 들어, 서열 번호 5). HO-1은 예컨대 헴 단백질, 중금속, 저산소증 및 다양한 산화환원 민감성 경로에 의해 유도된 조직 스트레스의 다양한 형태 후 발현이 상향 조절되는 아이소자임이다. 반대로, HO-2는 구성적으로 발현된 아이소자임이다. HO-3은 기능이 현재 공지되지 않은 최근에 확인된 아이소자임이다.
- [0029] 합토글로빈(예를 들어, 서열 번호 6)은 86,000 내지 400,000의 분자량을 가지는 혈액 혈장 단백질이고, 혈류로 방출된 헤모글로빈의 대사에서 중요한 역할을 한다. 혈액에서 광범위하게 방출될 때, 헤모글로빈은 신장 세뇨관을 통해 뇨로 배설되어서, 철 소실뿐만 아니라 신장 세뇨관의 장애를 발생시킨다. 합토글로빈이 생체내 헤모글로빈에 선택적으로 그리고 확고히 결합하고 이로써 헤모글로빈-합토글로빈 복합체를 형성하므로, 이것은 철의 회수에서 및 신장 장애의 예방에서 중요한 기능을 가진다.
- [0030] 헤모팩신(Hpx; 예를 들어, 서열 번호 7)은 오직 알부민, 면역글로불린 및 혈장 프로테아제 다음에 높은 양으로 혈장에 존재하는 60kDa 단백질이다. 헤모팩신은 대개 또한 베타-1B-당단백질이라 칭해진다. 헤모팩신은 헴에 높은 친화도($K_D < 10^{-12}$ M)를 가지고, Hpx의 생물학적 역할이 헴의 수송과 연관되어서 헴 유도된 산화 손상 및 헴 결합 철 손실을 방지하는 것으로 생각된다. 헤모팩신은 혈장에서부터 유리 헴을 봉쇄하고, 이것은 구조 변화를 유도하여서, 헴-Hpx 복합체는 간에서 수용체에 대한 증가한 친화도를 얻고, 여기서 이것은 수용체 매개 내포작용에 의해 에워싸이고, 헴은 엔도솜에서 낮은 pH에서 방출된다. 이후, Hpx는 순환으로 복귀하고 추가의 회차의 수송을 겪을 수 있다.
- [0031] 헤모팩신은 20개의 아미노산 잔기 링커에 의해 연결된 각각 200개의 아미노산인 2개의 상동성 도메인에서 폴딩된다. 2개의 도메인 사이에 25%의 서열 동일성이 존재한다. 2개의 히스티딘은 헴 철, 즉 링커 펩타이드로부터 His213 및 C 말단 도메인의 루프로부터 His270을 배위하여, 안정한 비스-히스티딜 Fe(III) 복합체를 생성한다. 넘버링은 성숙 단백질에 대한 것이다. 문헌[Clin. Chim. Acta, 312, 2001, 13-23 및 Cell Biol., 21, 2002, 297-304]은 Hpx 화학의 검토를 제공한다.
- [0032] 헵시딘(프리프로펩타이드; 예를 들어, 서열 번호 8)은 철 항상성을 조절하는 중요한 신호이다(Philpott, Hepatology 35:993 (2002); Nicolas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:4396 (2002)). 높은 수치의 인간 헵시딘은 철 수치를 감소시키고, 그 반대로 그렇다. 헵시딘 활성의 결여를 발생시키는 헵시딘 유전자에서의 돌연변이는 연소성 혈색소증, 중증 철 과부하 질환과 연관된다(Roetto et al., Nat. Genet., 33:21-22, 2003). 마우스에서의 연구는 정상 철 항상성의 조절에서의 헵시딘의 역할을 입증하였다(Nicolas et al., Nat. Genet., 34:97-101, 2003; Nicolas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99:4596-4601, 2002; Nicolas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98:8780-8785, 2001).
- [0033] 또한, 데이터는 축적되어 염증 동안 철 봉쇄에서 헵시딘을 보여준다(예를 들어 문헌[Weinstein et al., Blood, 100:3776-36781, 2002; Kemna et al., Blood, 106:1864-1866, 2005; Nicolas et al., J. Clin. Invest., 110:1037-1044, 2002; Nemeth et al., J. Clin. Invest., 113:1271-1276, 2004; Nemeth et al., Blood, 101:2461-2463, 2003 및 Rivera et al., Blood, 105:1797-1802, 2005] 참조). 헵시딘 유전자 발현은 척추동물의 선천성 면역계의 급성기 반응을 유도하는 염증성 자극, 예컨대 감염 후 왕성히 상향조절되는 것으로 관찰되었다. 마우스에서, 헵시딘 유전자 발현은 리포폴리사카라이드(LPS), 터펜틴, 프로인트 완전 아췌번트 및 아데노바이러스 감염에 의해 상향조절되는 것으로 밝혀졌다. 헵시딘 발현은 염증성 사이토카인 IL-6에 의해 유도된다. 헵시딘 발현과 염증의 빈혈 사이의 강한 상관관계가 박테리아, 진균 및 바이러스 감염을 포함하는 만성 염증성 질환을 가지는 환자에서 또한 발견되었다.
- [0034] 항균성 및 철 조절 활성을 가지는 25개의 아미노산 펩타이드(예를 들어, 서열 번호 9)인 인간 헵시딘이 신규한 항균성 펩타이드를 조사한 2개의 군에 의해 독립적으로 발견되었다. (Krause et al., FEBS Lett. 480:147 (2000); Park et al., J. Biol. Chem. 276:7806 (2001)). 이것은 또한 LEAP-1(간 발현된 항균 펩타이드)라 칭해진다. 마우스에서 83개의 아미노산 프리-프로펩타이드 및 랫트 및 인간에서 84개의 아미노산 프리-프로펩타이드를 코딩하는 헵시딘 cDNA는 철에 의해 조절된 간 특이적 유전자에 대한 조사에서 후속하여 확인되었다(Pigeon et al., J. Biol. Chem. 276:7811 (2001)). 24개의 잔기 N 말단 신호 펩타이드는 처음에 분해되어 프로헵시딘을 생성하고, 이것은 이후 추가로 처리되어 혈액 및 뇨 둘 다에서 발견되는 성숙 헵시딘을 생성한다. 인간 뇨에서, 주요 형태는 25개의 아미노산을 함유하지만, 더 짧은 22개 및 20개의 아미노산 펩타이드가 또한 존재한다.

- [0035] 성숙 펩타이드는 4개의 다이설파이드 브릿지로서 연결된 8개의 시스테인 잔기를 함유하는 것으로 유명하다. 헵시딘의 구조는 뇨로부터 정제된 네이티브 헵시딘과 동일한 HPLC 보유 시간으로 화학적으로 합성된 헵시딘을 사용하여 NMR에 의해 Hunter 등(J. Biol. Chem., 277:37597-37603 (2002))에 의해 연구되었다. 헨터(Hunter) 등은 헵시딘이 인접 다이설파이드 결합(C1-C8, C2-C7, C3-C6, C4-C5)을 함유하는 헤어핀 루프 구조로 폴딩된다는 이들의 결정을 보고하였다.
- [0036] 알파-1 안티트립신(AAT; 예를 들어, 서열 번호 10)은 간세포에 의해 분비되고 고농도로 혈청 및 대부분의 조직에 보통 존재하는 당단백질이고, 여기서 이것은 세린 프로테아제의 저해제로서 작용한다. AAT에 의한 프로테아제 저해는 조직 단백질분해의 조절의 필수 성분이고, AAT 결핍증은 몇몇 질환의 병리학에 관여한다. 항프로테아제로서의 이의 활성과 별도로, AAT는 많은 염증 매개자와 관련하여 그리고 산화제 라디칼과 관련하여 뛰어난 저해 능력을 가지므로 중요한 소염 생물학적 기능을 가질 수 있다(Brantly M. Am J Respir Cell Mol. Biol., 2002; 27: 652-654).
- [0037] 인터류킨-10(IL-10; 예를 들어, 서열 번호 11)은 몇몇 세포 유형, 예컨대 대식세포, 단핵구, Th2 유형 및 조절 T 세포 및 B 세포에 의해 생성된 다면발현 사이토카인이다. IL-10은 면역억제 및 소염 특성을 가지는 사이토카인이고; 이것은 다수의 세포 골수성 및 림프구성 활성을 조절하고, T 세포 및 천연 살해(NK) 세포에 의해 몇몇 염증성 사이토카인의 생성을 직접적으로 저해한다. IL-10은 B 세포 증식 인자로서 공지되어 있고, 자가면역, 항체 생성, 종양생성 및 이식 관용성에서 활성이다. Eur. J. Immunogenet. 1997 24(1): 1-8. IL-10은 또한 감염에 대한 대식세포 반응을 변경하지만 동일한 세포에서 Fc 수용체를 자극한다. Annals Allergy Asthma Immunol. 1997 79:469-483; J. Immunol. 1993 151: 1224-1234; 및 J. Immunol. 1992 149:4048-4052.
- [0038] 열 쇼크 단백질은 갑작스런 온도 상승에 노출된 포유류 세포에서 증가한 양으로 발현되는 것으로 원래 관찰되었지만, 대부분의 세포 단백질의 발현은 유의미하게 감소한다. 글루코스 박탈을 포함하는 다양한 유형의 스트레스에 반응하여 이러한 단백질이 생성되는 것으로 이후에 결정되었다.
- [0039] 열 쇼크 단백질은 이의 비네이티브 상태에서 다른 단백질에 결합하고, 특히 리보솜으로부터 나오고 소포체로 밀려 나온 초기 펩타이드에 결합하는 능력을 가진다. Hendrick and Hartl., Ann. Rev. Biochem. 62:349-384 (1993); Hartl., Nature 381:571-580 (1996). 추가로, 열 쇼크 단백질은 세포기질, 소포체 및 미토콘드리아에서 단백질의 적절한 폴딩 및 조립에서 중요한 역할을 하는 것으로 나타났고; 이의 기능의 관점에서, 이것은 "분자 샤페론"이라 칭해진다. Frydman et al., Nature 370: 111-117 (1994); Hendrick and Hartl., Ann. Rev. Biochem. 62:349-384 (1993); Hartl, Nature 381:571-580 (1996).
- [0040] 열 쇼크 단백질의 예는 BiP(또한 grp78(예를 들어, 서열 번호 12)이라 칭해짐), hsp/hsc70(예를 들어, 서열 번호 13), gp96(grp94)(예를 들어, 서열 번호 14), hsp60(예를 들어, 서열 번호 15), hsp40(예를 들어, 서열 번호 16), hsp70/72(예를 들어, 서열 번호 17) 및 hsp90(아이소폼 1; 예를 들어, 서열 번호 18; 아이소폼 2; 예를 들어, 서열 번호 19)을 포함한다.
- [0041] 리포칼린은 박테리아로부터 인간에 이르는 다양한 유기체에서 발견되는 세포외 리간드 결합 단백질의 패밀리아다. 리포칼린은 많은 상이한 기능, 예컨대 작은 소수성 분자의 결합 및 수송, 영양소 수송, 세포 성장 조절, 면역 반응의 조절, 염증 및 프로스타글란딘 합성을 보유한다.
- [0042] 인간 호중구 리포칼린(human neutrophil lipocalin; HNL), N-폼일 펩타이드 결합 단백질 및 25kDa α2-마이크로글로불린 관련 단백질로 또한 공지된 호중구 젤라틴분해효소 연관 리포칼린(NGAL; 예를 들어, 서열 번호 20)은 단백질과의 단량체, 동종이합체 또는 이종이합체로서 존재할 수 있는 24kDa 단백질, 예컨대 젤라틴분해효소 B 또는 기질 금속단백질분해효소-9(MMP-9)이다. NGAL의 삼합체 형태가 또한 확인되었다. NGAL은 활성화 인간 호중구의 특정한 과립으로부터 분비된다. 상동성 단백질이 마우스(24p3/자궁 내 칼린) 및 랫트(α2-마이크로글로불린 관련 단백질/neu 관련 리포칼린)에서 확인되었다. 구조 데이터는 NGAL이 리포칼린의 특징인 8개 가닥 β-배럴 구조를 가진다는 것을 확인시켜주지만; NGAL은 리포칼린에서 보통 보이는 것보다 더 극성이고 양으로 하전된 아미노산 잔기가 늘어선 대단히 큰 공동을 가진다. NGAL은 작은 친유성 물질, 예컨대 박테리아 유래 리포폴리사카라이드 및 폼일 펩타이드에 결합하는 것으로 생각되고, 염증의 조절자로서 작용할 수 있다.
- [0043] NGAL은 급성 신장 손상 또는 질환에 대한 조기 마커이다. 활성화 인간 호중구의 특정한 과립에 의해 분비되는 것 이외에, NGAL은 세뇨관 상피 손상에 반응하여 네프론에 의해 또한 생성되고, 세뇨관 간질성(tubulointerstitial; TI) 손상의 마커이다. NGAL 수치는 심지어 약간의 "준임상" 신장 허혈 후에도 허혈 또는 신독성으로부터의 급성 세뇨관 괴사(acute tubular necrosis; ATN)에서 상승한다. 더욱이, NGAL은 만성 신장 질환

환(CKD) 및 급성 신장 손상(AKI)의 경우에 신장에 의해 발현되는 것으로 공지되어 있고; 예를 들어 문헌 [Devarajan et al., Amer. J. Kidney Diseases 52(3): 395-399 (2008년 9월); 및 Bolignano et al., Amer. J. Kidney Diseases 52(3): 595-605 (2008년 9월)]을 참조한다. 뇨 NGAL 수치의 증가는 진행성 신부전의 예측으로서 제안되었다. NGAL이 동물 및 인간 모델 둘 다에서 허혈 또는 신독성 손상 후 매우 초기에 신장 세뇨관에 의해 현저히 발현된다는 것이 이전에 입증되었다. NGAL은 뇨로 신속히 분비되고, 여기서 이것은 용이하게 검출되고 측정될 수 있다. NGAL은 프로테아제에 내성이어서, 이것이 신장 세뇨관에서 NGAL 발현의 충실한 마커로서 뇨에서 회수될 수 있다는 것을 제안한다.

[0044] HMG-CoA 환원효소 효소는 메발로네이트 경로를 통해 간 및 다른 조직에서 콜레스테롤 및 다른 아이소프레노이드의 생성에서 중요한 역할을 한다. 메발로네이트로의 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-조효소 A(HMG-CoA)의 전환은 HMG-CoA 환원효소에 의해 촉매화되고, 간 및 다른 조직에서 콜레스테롤 생합성 경로에서 초기 및 속도 제한 단계이다. HMG CoA 환원효소의 스트레스 유도 증가는 콜레스테롤 합성을 매개하여 혈장 막 콜레스테롤을 증가시킨다.

[0045] 보호 스트레스 단백질의 발현은 헴 단백질의 투여에 의해 상향조절된다. 헴 단백질은 헴 보결분자단을 함유하는 금속단백질이다(중양 Fe를 가지는 프로토포피린 고리; 프로토포피린 고리는 메틴 브릿지에 의해 연결된 4개의 피롤 고리를 포함한다. 4개의 메틸, 2개의 비닐 및 2개의 프로피오네이트 측쇄가 또한 부착될 수 있다). 특정한 실시형태에서, 헴 단백질은 저분자량 헴 단백질이다. "저분자량 헴 단백질"은 25kDa 이하; 24kDa 이하; 23kDa 이하; 22kDa 이하; 21kDa 이하; 20kDa 이하; 19kDa 이하; 18kDa 이하; 17kDa 이하; 16kDa 이하; 15kDa 이하; 14kDa 이하; 13kDa 이하; 12kDa 이하; 11kDa 이하; 또는 10kDa 이하의 분자량을 가지는 것을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 헴 단백질은 정맥내로 투여될 때 신속히 청소된다. "신속히 청소된다"는 50% 초과 혈청 크레아티닌 또는 유레아의 뇨 청소율을 가지는 뇨 배설 속도를 의미한다. 또 다른 실시형태에서 헴 단백질은 정맥내로 투여될 때 신속히 청소된 저분자량 헴 단백질이다. 미오글로빈(예를 들어, 서열 번호 21)은 본 명세서에 개시된 조성물, 키트 및 방법과 함께 사용될 수 있는 하나의 헴 단백질이다. 헴 단백질의 언급은 변형된 헴 단백질, 변이체 헴 단백질 및 d-치환된 유사체 헴 단백질을 포함한다. 미오글로빈의 언급은 본 명세서에서 그 외 기재된 바대로 변형된 미오글로빈, 변이체 미오글로빈 및 d-치환된 유사체 미오글로빈을 포함한다.

[0046] 미오글로빈은 횡문근 조직에 존재하고, 미오글로빈의 개방 결합 부위에서 O₂를 가역적으로 결합시킴으로써 산소를 저장하고 전달하도록 작용한다. 이 가역적 결합을 통해, 미오글로빈은 세포 미토콘드리아에 대한 산소의 세포내 소스를 생성한다. 또 다른 헴 단백질인 헤모글로빈과 달리, 미오글로빈은 오직 단량체로서 천연으로 존재한다.

[0047] 근육 조직이 손상될 때, 미오글로빈은 혈류로 방출된다. 문헌[Zager, R. A., Ren. Fail., 14, 341-344 (1992)]에 기재된 바대로, 혈액 중의 다량의 미오글로빈은 신장 혈관의 수축을 유발하고, 신장 세뇨관의 내강에서 폐색 원주를 형성하고, 간질 염증을 개시함으로써 신장 손상을 야기할 수 있다. 더욱이, 나스(Nath) 등은 헴 단백질, 예컨대 헤모글로빈이, 세포의 공간으로 방출될 때, 조직 독성을 부추길 수 있고, 미오글로빈이 횡문근융해증에서 신부전의 발병학에 직접적으로 연관된다는 것을 기술한다. J. Clin. Invest., 1992 Jul. (90)1: 267-70. 따라서, 헴 단백질 및 미오글로빈은 특히 신장계를 손상시킬 수 있다.

[0048] 미오글로빈을 포함하는 헴 단백질의 이들 공지된 해로운 효과에 기초하여, 헴 단백질, 예컨대 미오글로빈이 장기 손상을 발생시키지 않으면서 획득 세포내성을 유도하는 데 역할을 할 수 있다는 것이 예상되지 못했다. 따라서, 본 개시내용의 일 양태는 보호하고자 미오글로빈이 투여된 장기에 손상을 발생시키지 않으면서 획득 세포내성을 유도하는 방식으로 미오글로빈을 투여하기 위한 조성물, 키트 및 방법을 확인하는 것을 포함한다.

[0049] 장기 손상을 발생시키지 않으면서 헴 단백질 투여가 획득 세포내성을 유도하게 하는 접근법은 헴 단백질의 치료학적 유효량의 선택; 헴 단백질의 생물학적 반감기의 증가; 헴 단백질의 작용의 강화; 및 헴 단백질 투여와 연관된 독성의 감소를 포함한다.

[0050] 본 명세서에 개시된 일 실시형태는 헴 단백질, 예컨대 미오글로빈의 치료학적 유효량을 선택하는 것을 포함한다. 치료학적 유효량, 치료학적 유효량을 확인하는 방법 및 예시적인 치료학적 유효량은 더 완전히 하기 기재되어 있다.

[0051] 헴 단백질의 생물학적 반감기는 헴 단백질 분해 저해제와 조합되어 헴 단백질을 투여함으로써 연장될 수 있다. 특정한 실시형태에서, 헴 단백질 분해 저해제는 H₂O에 의한 헴 단백질의 포르피린 고리의 절단을 감소시키거나 제거하여서, 헴 단백질의 독성 Fe 내용물의 방출을 감소시키거나 제거할 수 있다. 특정한 실시형태에서, 헴 단

백질과 조합된 헴 단백질 분해 저해제의 투여는 저용량의 헴 단백질의 투여를 허용할 수 있다.

- [0052] 특정한 실시형태에서, H0에 대한 헴의 결합을 차단하는 임의의 화합물은 헴 단백질 분해 저해제로서 작용할 수 있다. 예를 들어, 철 프로토포르피린 IX의 다수의 합성 유사체가 공지되어 있다. 이들 화합물은 상업적으로 구입 가능하고/하거나, 공지된 방법에 의해 용이하게 합성될 수 있다. 이들은 예를 들어 백금, 아연, 니켈, 코발트, 구리, 은, 망간, 크롬 및 주석 프로토포르피린 IX를 포함한다. 편의를 위해, 이들 화합물은, 구체적으로 각각 크롬, 주석 및 아연 프로토포르피린 화합물에 대해 금속에 대한 화학 기호, 예컨대 Cr-프로토포르피린 (CrPP), Sn-프로토포르피린(SnPP), Zn-프로토포르피린(ZnPP)을 이용함으로써, 총칭적으로 Me-프로토포르피린 또는 MePP(여기서 Me는 금속을 나타냄)라 칭해질 수 있다.
- [0053] 헤민 및/또는 헤마틴은 경쟁적 H0-1 저해제로서 또한 사용될 수 있다. 몇몇 경우에, 헤민 및 헤마틴은 상호 교환적으로 사용되고, 클로라이드 리간드에 부착된 제2 철 이온을 함유하는 프로토포르피린 IX를 의미한다. 다른 것들은 헤민 및 헤마틴을 구별하고, 헤민으로서 C1 리간드 형태를 말하고, 클로라이드보다는 철 이온에 부착된 하이드록사이드와 동일한 화합물로서 헤마틴을 말한다. 둘 다는 본 개시내용의 교시내용 내에 경쟁적 H0-1 저해제로서 사용될 수 있다. 실제로, 기재된 바대로, H0에 대한 헴의 결합을 차단하는 임의의 화합물은 헴 단백질 분해 저해제로서 작용할 수 있다.
- [0054] H0의 작용을 차단하는 것이 손상을 발생시키지 않으면서 획득 세포내성의 유도에서 유리하게 도울 수 있을 것이고 예상되지 못했다. 예를 들어, 나스 등은 마우스에서의 H0-1 유전자의 녹아웃이 헴 단백질 독성의 글라이세롤 모델에서 신장 손상을 악화시켰다는 것을 보여준다. 저자는 H0-1을 생체내 급성 헴 단백질 유도 독성에 대한 중요한 보호물질이라고 기재한다. *Am. J. of Path.*, 2000 May 156(5): 1527-1535.
- [0055] 더욱이, 손상을 발생시키지 않으면서 획득 세포내성을 유도하도록 Me-프로토포르피린이 헴 단백질과 조합되어 사용된다는 것이 예상되지 못했다. 이것은 Me-프로토포르피린이 장기 손상의 다양한 모델에서 장기에 부정적으로 영향을 미치는 것으로 일반적으로 생각되기 때문이다. 예를 들어, 아가월(Agarwal) 등은 Sn-프로토포르피린에 의한 전처리가 헴 단백질 매개 신장 손상의 H0 기반 생체내 모델에서 신장 손상을 악화시킨다는 것을 발견하였다. 특히, Sn-프로토포르피린에 의한 전처리는 3일 내지 5일에 더 높은 혈청 크레아티닌 값을 발생시키고, 5일에 더 낮은 이눌린 청소율을 발생시켰다. 시스플라틴 후 2일에 시험된 신장 혈류역학은 Sn-프로토포르피린에 의해 치료된 랫트에서 신장 혈액 유속의 감소, 신장 맥관 저항의 증가 및 나트륨의 분획 배설의 증가를 입증하였다. *Kidney Int.* 1995 Oct. 48(4): 1298-307. 글라이세롤 모델 횡문근용해증에서, 나스 등은 신장이 H0를 유도함으로써 높은 양의 헴 단백질에 반응하고, 경쟁적 저해제(여기서, Sn-프로토포르피린)에 의한 H0의 작용의 차단이 신장 기능이상을 악화시킨다는 것을 발견하였다. *J. Clin. Invest.* 1992 Jul: 90(1): 267-70. 페렌바흐(Ferenbach) 등 및 굿맨(Goodman) 등은 Me-프로토포르피린을 사용한 H0의 저해가 신장 손상을 악화시킨다는 것을 유사하게 보여준다. 각각 문헌[Nephron. Exp. Nephrol. 2010 Apr. 115(3): e33-7 및 *Kidney Int.* 2007 Oct. 72(8): 945-53]을 참조한다. 당해 분야의 이 교시내용에 기초하여, 당해 분야의 당업자는 현재 개시된 H0-1 저해의 유리한 효과를 예상하지 못했을 것이다.
- [0056] 이론에 구속되지 않으면서, 헴 단백질은 산화환원 민감성 전사 인자를 활성화하여, 산화환원 민감성 세포보호 단백질을 상향조절한다. 이 경로는 Mgb의 철 함량에 의해 개시된다. 따라서, 본 명세서에서 입증된 바대로, 철 매개 신장 세뇨관 세포보호 유전자 신호전달을 유도하기 위한 대안적인 접근법이 또한 효과적이다. 이 대안적인 접근법은 철 및/또는 비타민 B12의 투여를 포함한다. B12에 대한 이유는 코발트 및 사이아나이드 둘 다 H0-1을 독립적으로 유도할 수 있다는 것이다. 따라서, B12는 단일 물질로서 사이아나이드 및 코발트 둘 다를 투여하기 위한 안전한 방법을 나타내는데, 왜냐하면 둘 다 B12 분자의 통합 부분이기 때문이다.
- [0057] 변형된 헴 단백질 및 헴 단백질 분해 저해제(예를 들어, 프로토포르피린, 헤민, 헤마틴)는 (a) 단백질 혈청 반감기 및/또는 기능적 생체내 반감기의 증가, (b) 단백질 항원성의 감소, (c) 단백질 저장 안정성의 증가, (d) 단백질 용해도의 증가, (e) 순환 시간의 연장, 및/또는 (f) 생체이용률의 증가, 예를 들어 곡선 하 면적(AUC)의 증가를 가지는 것을 포함할 수 있다.
- [0058] 특정한 실시형태에서, 변형된 헴 단백질 및 헴 단백질 분해 저해제("변형")는 하나 이상의 아미노산이 비아미노산 성분에 의해 대체된 것, 또는 아미노산이 작용기에 공액되거나, 작용기가 달리 아미노산과 연관된 것을 포함한다. 변형된 아미노산은 예를 들어 글라이코실화 아미노산, PEG화 아미노산, 파르네실화 아미노산, 아세틸화 아미노산, 바이오티닐화 아미노산, 지질 모이어티에 공액된 아미노산, 또는 유기 유도체화제에 공액된 아미노산일 수 있다. 아미노산(들)은 재조합 생성(예를 들어, 포유류 세포에서 발현 동안 N-X-S/T 모티프에서의 N 연결 글라이코실화) 동안 예를 들어 동시변역으로 또는 변역 후 변형되거나, 합성 수단에 의해 변형될 수 있다. 변형

된 아미노산은 서열 내에 또는 서열의 말단 끝에 있을 수 있다. 변형은 아질산화 헴 단백질, 예컨대 아질산화 미오글로빈을 또한 포함한다.

- [0059] 이의 네이티브 상태에서, 미오글로빈은 17kDa이고 따라서 신장에 의해 신속히 여과되고 배설된다. 미오글로빈의 크기를 증가시킴으로써, 이의 배설은 느려질 수 있어서, 더 연장되고 내구성인 보호 효과를 허용한다. 일 실시 형태에서, 변형된 단백질은 PEG화 헴 단백질 또는 헴 단백질 분해 저해제이다.
- [0060] PEG화는 미오글로빈 및 다른 저분자량 단백질의 크기를 증가시키기 위해 사용될 수 있는 일 방법이다. PEG화는 폴리에틸렌 글라이콜(PEG) 중합체 사슬이 다른 분자, 예컨대 약물 또는 단백질에 공유로 공역된 과정이다. 단백질의 PEG화의 몇몇 방법은 문헌에 보고되어 있다. 예를 들어, N-하이드록시 숙신이미드(NHS)-PEG는 단백질의 N 말단 및 라이신 잔기의 유리 아민기를 PEG화하도록 사용될 수 있고; 알데하이드기를 보유하는 PEG는 환원제의 존재 하에 단백질의 아미노 말단을 PEG화하도록 사용될 수 있고; 말레이미드 작용기를 가지는 PEG는 단백질에서 시스테인 잔기의 유리 티올기를 선택적으로 PEG화하도록 사용될 수 있고; 아세틸-페닐알라닌 잔기의 부위 특이적 PEG화를 수행할 수 있다.
- [0061] PEG에 대한 단백질 또는 펩타이드의 공유 부착은 신체에서 단백질 및 펩타이드의 순환 반감기를 증가시키는 유용한 방법인 것으로 입증되었다(Abuchowski, A. et al., Cancer Biochem. Biophys., 1984, 7:175-186; Hershfield, M. S. et al., N. Engl. J. Medicine, 1987, 316:589-596; 및 Meyers, F. J. et al., Clin. Pharmacol. Ther., 1991, 49:307-313). 단백질 및 펩타이드에 대한 PEG의 부착은 효소 분해에 대해 분자를 보호할 뿐만 아니라, 신체로부터의 이의 청소율을 감소시킨다. 단백질에 부착된 PEG의 크기는 단백질의 순환 반감기에 상당한 영향을 가진다. 청소율을 감소시키는 PEG화의 능력은 일반적으로 많은 PEG 기가 단백질에 어떻게 부착하는지의 함수가 아니라 변경된 단백질의 전체 분자량이다. PEG화는 분자의 겉보기 분자량을 증가시킴으로써 혈류로부터의 청소율을 감소시킨다. 소정의 크기까지, 단백질의 사구체여과율은 단백질의 크기에 반비례한다. 보통, PEG가 더 클수록, 부착된 단백질의 생체내 반감기는 더 길다. 또한, PEG화는 또한 단백질 응집을 감소시키고(Suzuki et al., Biochem. Bioph. Acta vol. 788, pg. 248 (1984)), 단백질 면역원성을 변경하고(Abuchowski et al.; J. Biol. Chem. vol. 252 pg. 3582 (1977)), (예를 들어 PCT 공보 제WO 92/16221호에 기재된 바대로) 단백질 용해도를 증가시킬 수 있다.
- [0062] 목표한 순환 반감기를 가지는 단백질을 생성하기에 적합한 PEG의 일부 크기는 상업적으로 구입 가능하다(Nektar Advanced PEGylation 카탈로그 2005-2006; 및 NOF DDS 카탈로그 Ver 7.1). mPEG 숙신이미딜 숙시네이트, mPEG 숙신이미딜 카보네이트, 및 PEG 알데하이드, 예컨대 mPEG-프로피온알데하이드를 포함하는 다양한 활성 PEG를 사용한다.
- [0063] 또 다른 실시형태에서, 변형된 단백질은 아질산화 헴 단백질 또는 아질산화 헴 단백질 분해 저해제이다. 아질산염은 일산화질소 생성효소(NOS) 독립적 경로로부터 일산화질소(NO)의 생성을 조절하는 데 관여한다. 무기 아질산염은 산소 결합 헴 단백질(헤모글로빈 및 미오글로빈), 데옥시헤모글로빈, 데옥시미오글로빈, 잔틴 산화환원 효소, 내피 NOS, 산성 불균일반응, 및 미토콘드리아 전자 전달 사슬의 구성원(예를 들어, 미토콘드리아 헴 단백질은 모두 가능한 전자 공여자임)에 의한 다양한 기전을 통해 NO로 다시 1개의 전자 환원을 겪을 수 있다.
- [0064] 예컨대, 미오글로빈에서 헴 철에 대한 아질산염 결합은 스트레스 단백질, 예컨대 열 쇼크 단백질(예를 들어, HSP 72); HO-1; 합토글로빈; 헤모팩신, 헵시딘, IL-10, AAT, NGAL 및/또는 HMG CoA 환원효소의 발현을 상향조절하는 헴 단백질의 능력을 증가시킬 수 있다. 본 명세서에 개시된 아질산염 - Fe 결합은 헴 단백질 투여와 연관된 독성을 또한 감소시킬 수 있다. 이론에 구속되지 않으면서, 스트레스 단백질의 상향조절된 발현은 획득 세포내성을 수월하게 하도록 작용한다.
- [0065] 이론에 구속되지 않으면서, 본 개시내용이 사구체 여과 후, N-Mgb 및 SnPP가 근위 세뇨관 흡수(여기서, 이것은 산화환원 민감성 전사 인자를 활성화하여 산화환원 민감성 세포보호 단백질을 상향조절함)를 겪는다는 것을 제안하므로, 활성 성분의 아질산화 형태는 특정한 실시형태에서 사용된다. 다시, 이론에 구속되지 않으면서, 이 경로는 Mgb의 철(Fe) 함량에 의해 개시된다. Mgb Fe에 대한 아질산염 결합은 가능한 Fe 독성을 감소시키면서 Fe 신호전달이 수월하게 한다. SnPP의 동시 투여는 또한 Fe 신호전달을 수월하게 한다. 이 동일한 경로는 소거제 수용체를 통한 Mgb 흡수 및 SnPP 조직 결합 부위/신호전달을 통한 신장의 장기에서 활성화될 수 있다.
- [0066] 본 명세서에 기재된 헴 단백질, 헴 단백질 분해 저해제 및 보호 스트레스 단백질을 포함하는 단백질의 언급은 또한 이의 변이체 및 d-치환된 유사체를 포함한다.
- [0067] 본 명세서에 개시된 단백질의 "변이체"는 본 명세서에 개시된 단백질과 비교하여 하나 이상의 아미노산 부가,

결실, 중단 위치 또는 치환을 가지는 단백질을 포함한다.

[0068] 아미노산 치환은 보존적 또는 비보존적 치환일 수 있다. 본 명세서에 개시된 변이체 단백질은 하나 이상의 보존적 아미노산 치환을 가지는 것을 포함할 수 있다. "보존적 치환"은 하기 보존적 치환 그룹 중 하나에서 발견되는 치환을 포함한다: 그룹 1: 알라닌(Ala 또는 A), 글라이신(Gly 또는 G), Ser, Thr; 그룹 2: 아스파르트산(Asp 또는 D), Glu; 그룹 3: 아스파라긴(Asn 또는 N), 글루타민(Gln 또는 Q); 그룹 4: Arg, 라이신(Lys 또는 K), 히스티딘(His 또는 H); 그룹 5: Ile, 류신(Leu 또는 L), 메티오닌(Met 또는 M), 발린(Val 또는 V); 및 그룹 6: Phe, Tyr, Trp.

[0069] 추가적으로, 아미노산은 유사한 기능, 화학 구조 또는 조성(예를 들어, 산성, 염기성, 지방족, 방향족, 황 함유)에 의해 보존적 치환기로 그룹화될 수 있다. 예를 들어, 지방족 그룹화는 치환의 목적을 위해, Gly, Ala, Val, Leu 및 Ile를 포함할 수 있다. 서로에 보존적 치환으로 생각되는 아미노산을 함유하는 다른 기능은 황 함유: Met 및 Cys; 산성: Asp, Glu, Asn 및 Gln; 작은 지방족, 비극성의 또는 약간 극성의 잔기: Ala, Ser, Thr, Pro 및 Gly; 극성의 음으로 하전된 잔기 및 이의 아마이드: Asp, Asn, Glu 및 Gln; 극성의 양으로 하전된 잔기: His, Arg 및 Lys; 큰 지방족, 비극성 잔기: Met, Leu, Ile, Val 및 Cys; 및 큰 방향족 잔기: Phe, Tyr 및 Trp를 포함한다. 추가적인 정보는 문헌[Creighton (1984) Proteins, W.H. Freeman and Company]에서 발견된다.

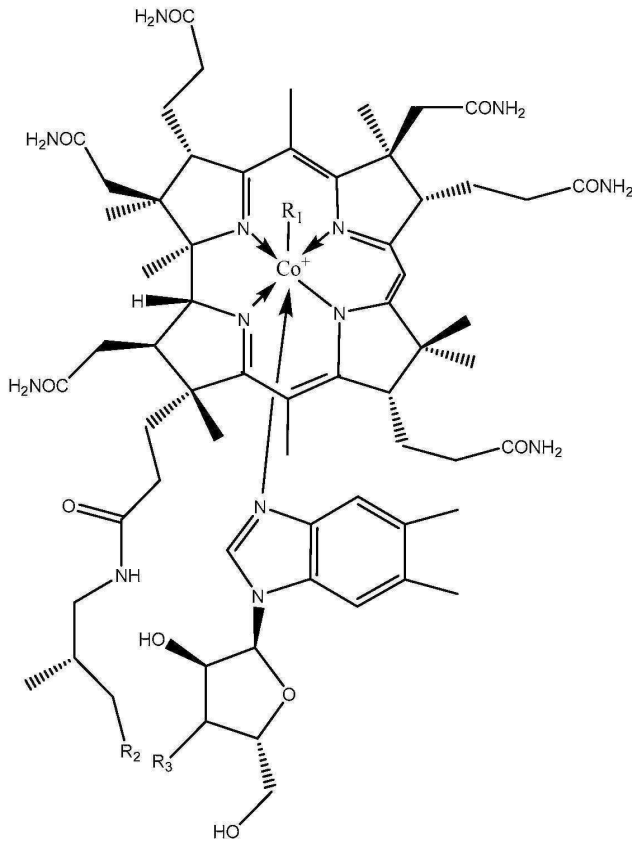
[0070] 본 명세서에 개시된 단백질의 변이체는 또한 본 명세서에 개시된 단백질과 적어도 70%의 서열 동일성, 적어도 80%의 서열 동일성, 적어도 85%의 서열 동일성, 적어도 90%의 서열 동일성, 적어도 95%의 서열 동일성, 적어도 96%의 서열 동일성, 적어도 97%의 서열 동일성, 적어도 98%의 서열 동일성, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 서열을 포함한다. 더 특히, 본 명세서에 개시된 단백질의 변이체는 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 70%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 80%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 81%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 82%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 83%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 84%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 85%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 86%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 87%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 88%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 89%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 90%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 91%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 92%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 93%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 94%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 95%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 96%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 97%의 서열 동일성; 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 98%의 서열 동일성; 또는 임의의 예를 들어 서열 번호 1-29와 99%의 서열 동일성을 공유하는 단백질을 포함한다.

[0071] 미오글로빈의 변이체는 예를 들어 서열 번호 21과 70%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 80%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 81%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 82%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 83%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 84%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 85%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 86%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 87%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 88%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 89%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 90%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 91%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 92%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 93%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 94%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 95%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 96%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 97%의 서열 동일성; 예를 들어, 서열 번호 21과 98%의 서열 동일성; 또는 예를 들어, 서열 번호 21과 99%의 서열 동일성을 공유하는 미오글로빈 단백질을 포함할 수 있다.

[0072] "%의 서열 동일성"은 서열을 비교함으로써 결정된 바와 같은 2개 이상의 서열 사이의 관계를 의미한다. 당해 분야에서, "동일성"은 또한 이러한 서열의 스트링 사이의 일치에 의해 결정된 바와 같은 단백질 서열 사이의 서열 관련성의 정도를 의미한다. "동일성"(대개 "유사성"이라 칭함)은 문헌[Computational Molecular Biology (Lesk, A. M., ed.) Oxford University Press, NY (1988); Biocomputing: Informatics and Genome Projects (Smith, D. W., ed.) Academic Press, NY (1994); Computer Analysis of Sequence Data, Part I (Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds.) Humana Press, NJ (1994); Sequence Analysis in Molecular Biology (Von Heijne, G., ed.) Academic Press (1987); 및 Sequence Analysis Primer (Gribskov, M. and Devereux, J., eds.) Oxford University Press, NY (1992)]에 기재된 것을 포함하는 공지된 방법에 의해 용이하게 계산될 수 있다. 서열 동일성을 결정하는 바람직한 방법은 시험된 서열 사이의 최고의 일치를 생성시키도록 설계된다. 서열 동일성 및 유사성을 결정하는 방법은 공중에게 이용 가능한 컴퓨터 프로그램에서 코드화된다. 서열 정렬 및

동일성 % 계산은 LASERGENE 생물정보 컴퓨팅 스위트의 Megalign 프로그램(DNASTAR, Inc.(위스콘신주 매디슨))을 이용하여 수행될 수 있다. 다수의 서열 정렬은 디폴트 매개변수(GAP 패널티 = 10, 갭 길이 패널티 = 10)에 의해 정렬의 Clustal 방법(Higgins and Sharp CABIOS, 5, 151-153 (1989))을 이용하여 또한 수행될 수 있다. 관련 프로그램은 또한 프로그램의 GCG 스위트(Wisconsin Package Version 9.0, Genetics Computer Group(GCG)(위스콘신주 매디슨)); BLASTP, BLASTN, BLASTX(Altschul, et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)); DNASTAR(DNASTAR, Inc.(위스콘신주 매디슨)); 및 스미스-워터맨(Smith-Waterman) 알고리즘을 통합한 FASTA 프로그램(Pearson, Comput. Methods Genome Res., [Proc. Int. Symp.] (1994), Meeting Date 1992, 111-20. Editor(s): Suhai, Sandor. Publisher: Plenum, New York, N.Y.)을 포함한다. 본 개시내용의 맥락에서, 서열 분석 소프트웨어가 분석에 사용된 경우, 분석의 결과가 언급된 프로그램의 "디폴트 값"에 기초한 것으로 이해될 것이다. "디폴트 값"은 처음에 초기화될 때 소프트웨어가 원래 로딩된 임의의 세트의 값 또는 매개변수를 의미한다.

- [0073] "d-치환된 유사체"는 하나 이상의 D-아미노산에 의해 치환된 하나 이상의 L-아미노산을 가지는 본 명세서에 개시된 단백질을 포함한다. D-아미노산은 기준 서열에서 발견되는 것과 동일한 아미노산 유형일 수 있거나, 상이한 아미노산일 수 있다. 따라서, D-유사체는 또한 변이체일 수 있다.
- [0074] 예시적인 서열이 본 명세서에 제공될 때, 공중 데이터베이스에 의해 제공된 서열 정보는 추가적인 관련 및 관계 단백질 서열 및 이러한 단백질을 코딩하는 관련 핵산 서열을 확인하도록 이용될 수 있다.
- [0075] 철. 철의 언급은 철 함유 복합체에서 철 분자 또는 철을 포함할 수 있다. "철 함유 복합체" 또는 "철 복합체"는 유기 화합물과 복합체화된 (II) 또는 (III) 산화 상태의 철을 함유하는 화합물이다. 철 복합체는 철 중합체 복합체, 철 탄수화물 복합체, 및 철 아미노글라이코산 복합체를 포함한다. 이들 복합체는 상업적으로 구입 가능하고/하거나, 당해 분야에 공지된 방법에 의해 합성될 수 있다.
- [0076] 철 탄수화물 복합체의 예는 철 단순 사카라이드 복합체, 철 올리고사카라이드 복합체, 및 철 폴리사카라이드 복합체, 예컨대 철 카복시말토스, 철 수크로스, 철 폴리리아이소말토스(철 텍스트란), 철 폴리말토스(철 텍스트린), 철 글루코네이트, 철 소르비탈, 철 수소화 텍스트란(다른 화합물, 예컨대 소르비탈, 시트르산 및 글루콘산(예를 들어, 철 텍스트린-소르비톨-시트르산 복합체 및 철 수크로스-글루콘산 복합체)과 추가로 복합체화될 수 있음), 및 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0077] 철 아미노글라이코산 복합체의 예는 철 콘드로이틴 설페이트, 철 데르마탄 설페이트, 철 케라탄 설페이트를 포함하고, 이들은 다른 화합물 및 이들의 혼합물과 추가로 복합체화될 수 있다.
- [0078] 철 중합체 복합체의 예는 철 히알루론산 복합체, 철 단백질 복합체, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 철 단백질 복합체는 페리틴, 트랜스페리틴, 및 아미노산 치환을 가지는 페리틴 또는 트랜스페리틴, 및 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0079] 특정한 실시형태는 저분자량 철 복합체(예를 들어, 저분자량 철 수크로스 복합체)를 이용한다. 복합체의 분자량은 25,000 미만이고 비중합체일 수 있다. 추가적인 실시형태에서, 복합체의 분자량은 12,000 미만 또는 5000 미만 또는 2500 미만일 수 있다. 철 복합체의 분자량이 더 낮고, 상응하게, 철 복합체가 더 낮을수록, 철 복합체가 환자의 혈액으로 더 빨리 도입될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.
- [0080] 특정한 실시형태에서, 청구항 및 예시적인 실시형태 내의 철은 철 수크로스를 의미한다.
- [0081] 비타민 B12 및 대사물질. 비타민 B12는 코발트인 금속 이온을 함유한다는 점에서 비타민 중에 독특하다. 특정한 실시형태는 코린 고리 내에 결합된 3가 코발트 이온을 가지는 유기 금속 화합물인 수용성 사이아노코발라민을 포함한다. 메틸코발라민 및 5-데옥시아데노실 코발라민은 인간 신체에 의해 주로 사용되는 비타민 B12의 형태이다. 추가적인 형태는 아데노실 코발라민 및 하이드록실 코발라민을 포함한다. 비타민 B12는 임의의 적절한 합성 또는 천연 소스, 및 모든 유사체, 유도체, 염, 및 프로드럭, 및 이들의 혼합물로부터 얻어질 수 있다.
- [0082] 실시형태에서, 사용될 수 있는 비타민 B12의 유도체는 비타민 B12의 PO_4^- 기의 적어도 일부를 절단함으로써 생성된다. 예를 들어, 비타민 B12의 PO_4^- 기는 뉴클레아제를 사용하여 절단되거나, 포스파타제와 조합되어 뉴클레아제에 의해 제거될 수 있다. 비타민 B12의 유도체는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0083]

[0084]

식 중, R_1 은 5'-데옥시아데노실, CH_3 , OH 또는 CN일 수 있고; R_2 는 OH 또는 H일 수 있고; R_3 은 OH 또는 H일 수 있다.

[0085]

실시형태에서, 비타민 B12는 사카라이드-금속 복합체에 의해 커플링될 수 있다. 추가적으로, 비타민 B12의 유도체는 사카라이드-금속 복합체에 의해 커플링될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 사카라이드-금속 복합체는 다이사카라이드로부터 유래할 수 있다. 예를 들어, 사카라이드-금속 복합체는 수크로스로부터 유래할 수 있다. 다른 예에서, 사카라이드-금속 복합체는 락토스로부터 유래할 수 있다. 예시적인 예에서, 사카라이드-금속 복합체는 철 수크로실 수 있다. 비타민 B12를 철 수크로스 및 커플링시킴으로써, 철 및 비타민 B12는 단일 구조를 사용하여 장기에 전달될 수 있다.

[0086]

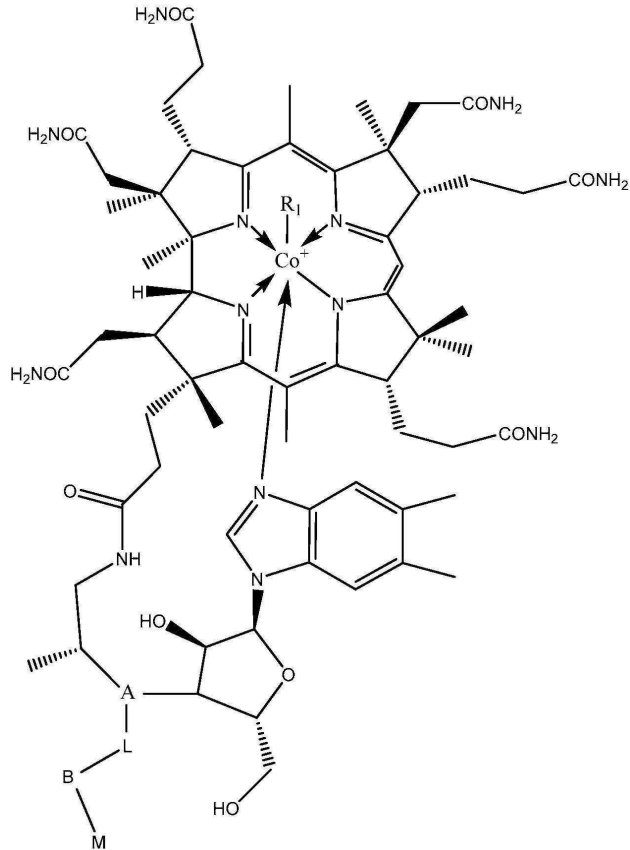
사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체 사이의 연결은 산 불안정 하이드라진 링커를 사용하여 형성될 수 있다. 추가적으로, 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체 사이의 연결은 산 불안정 하이드라존 링커를 사용하여 형성될 수 있다. 비타민 B12와 함께 사용되는 하이드라존 링커의 예는 문헌[Bagnato JD, Eilers AL, Horton RA, Grisson CB: Synthesis and characterization of a cobalamin-colchicine conjugate as a novel tumor-targeted cytotoxic. J. Org. Chem. 2004: 69, 8987-8996]에 기재되어 있다. 다른 실시형태에서, 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체 사이의 연결은 폴리에터를 사용하여 형성될 수 있다. 예시하기 위해, 사카라이드-금속 복합체를 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체에 연결하도록 폴리에틸렌 글라이콜을 사용할 수 있다. 추가적인 실시형태에서, 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체 사이의 연결은 펩타이드 링커를 사용하여 형성될 수 있다. 예시적인 예에서, 사카라이드-금속 복합체를 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체에 커플링하기 위해 폴리-글라이신-세린 링커를 사용할 수 있다. 추가의 실시형태에서, 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체 사이의 연결은 하나 이상의 펩타이드를 사용하여 형성될 수 있다. 다른 예시적인 예에서, 사카라이드-금속 복합체를 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체와 연결하기 위해 폴리아미드를 사용할 수 있다. 특정한 예시적인 예에서, 사카라이드-금속 복합체를 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체와 연결하기 위해 프로테아제 내성 폴리아미드를 사용할 수 있다.

[0087]

몇몇 경우에, 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체 사이의 연결은 사카라이드-금속 복합체의 다수의 부위에서 형성될 수 있다. 예를 들어, 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 또는 비타민 B12

의 유도체 사이의 연결은 사카라이드-금속 복합체의 다수의 하이드록실 부위에서 일 수 있다. 다른 실시형태에서, 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체 사이의 연결은 사카라이드-금속 복합체의 단일 부위에서 일 수 있다. 예시하기 위해, 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 또는 비타민 B12의 유도체 사이의 연결은 사카라이드-금속 복합체의 단일 하이드록실 부위에서 일 수 있다. 추가적으로, 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 사이의 연결은 비타민 B12의 포스페이트기 및 사카라이드-금속 복합체의 하이드록실기에 의할 수 있다. 추가로, 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12의 유도체 사이의 연결은 사카라이드-금속 복합체의 하이드록실기와 비타민 B12로부터 포스페이트기를 절단함으로써 생긴 부위 사이일 수 있다.

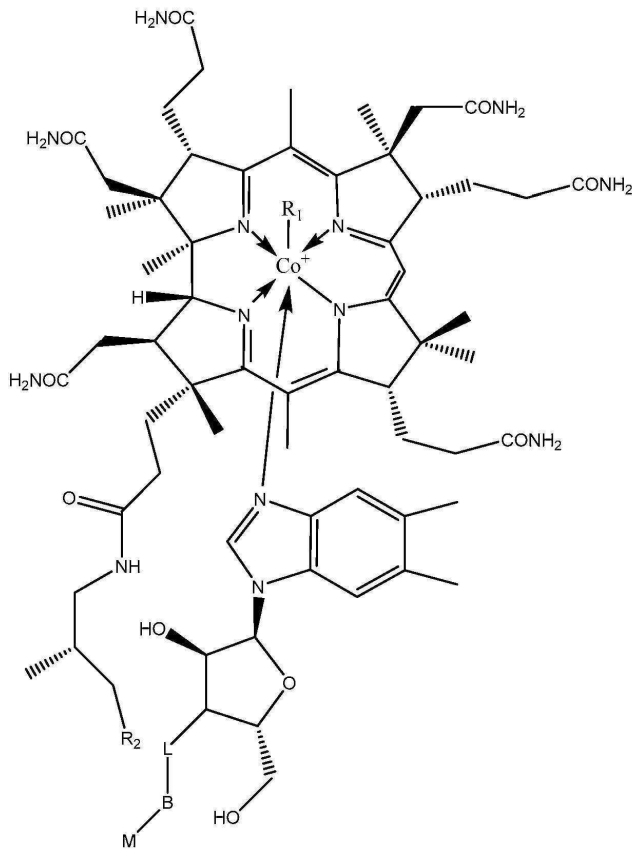
[0088] 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12 사이의 연결을 가지는 예시적인 구조는 하기 형태를 가질 수 있다:



[0089]

[0090] 식 중, R_1 은 5'-데옥시아테노실, CH_3 , OH 또는 CN일 수 있고; A는 포스페이트기이고, L은 링커이고, B는 사카라이드 기반 구조이고, M은 사카라이드 기반 구조에 의해 복합체화된 금속이다. 예시적인 실시형태에서, A는 PO_4 일 수 있고, L은 하이드라존 링커일 수 있고, B는 사카라이드 기반 구조일 수 있고, M은 Fe일 수 있다. 실시형태에서, B는 10-16개의 탄소 원자, 9-15개의 산소 원자 및 16-28개의 수소 원자를 포함할 수 있다. 특정한 실시형태에서, B는 수크로스로부터 유래할 수 있다.

[0091] 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12의 유도체 사이의 연결을 가지는 예시적인 구조는 하기 형태를 가질 수 있다:



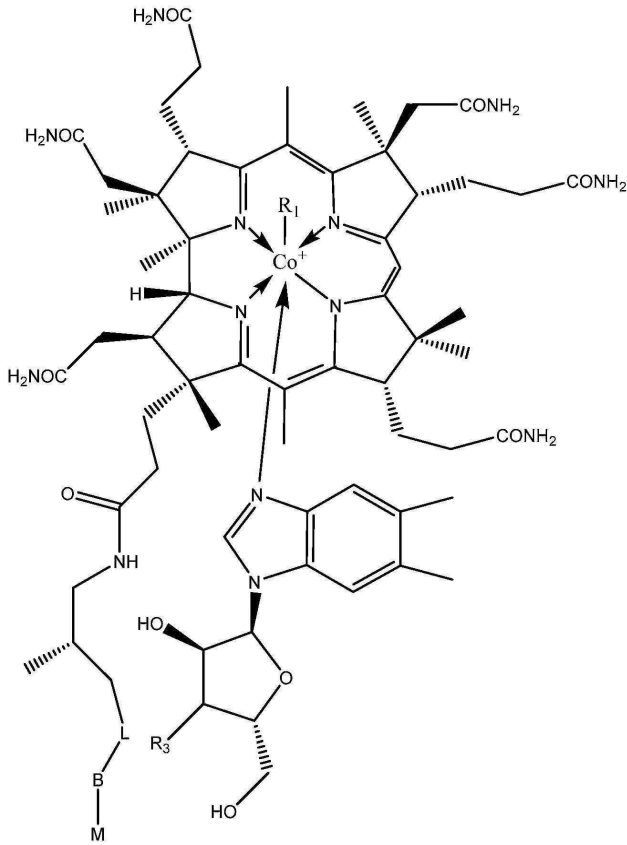
[0092]

[0093]

식 중, R₁은 5'-데옥시아데노실, CH₃, OH 또는 CN일 수 있고; R₂는 OH 또는 H일 수 있고; L은 링커이고, B는 사카라이드 기반 구조이고, M은 사카라이드 기반 구조에 의해 복합체화된 금속이다. 예시적인 실시형태에서, L은 하이드라존 링커일 수 있고, M은 Fe일 수 있다. 실시형태에서, B는 10-16개의 탄소 원자, 9-15개의 산소 원자 및 16-28개의 수소 원자를 포함할 수 있다. 특정한 실시형태에서, B는 수크로스로부터 유래할 수 있다.

[0094]

사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12의 유도체 사이의 연결을 가지는 추가적인 예시적인 구조는 하기 형태를 가질 수 있다:



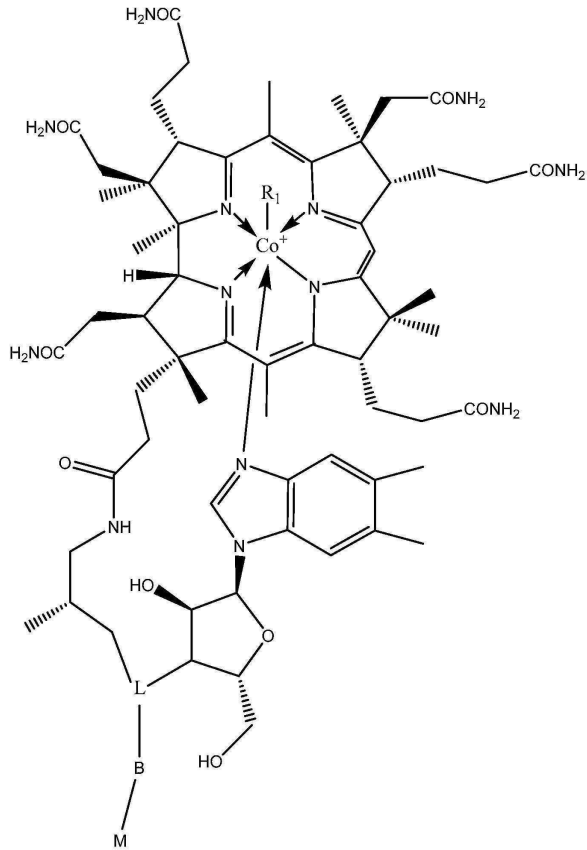
[0095]

[0096]

식 중, R_1 은 5'-데옥시아데노실, CH_3 , OH 또는 CN일 수 있고; R_3 은 OH 또는 H일 수 있고; L은 링커이고, B는 사카라이드 기반 구조이고, M은 사카라이드 기반 구조에 의해 복합체화된 금속이다. 예시적인 실시형태에서, L은 하이드라존 링커일 수 있고, M은 Fe일 수 있다. 실시형태에서, B는 10-16개의 탄소 원자, 9-15개의 산소 원자 및 16-28개의 수소 원자를 포함할 수 있다. 특정한 실시형태에서, B는 수크로스로부터 유래할 수 있다.

[0097]

사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12의 유도체 사이의 연결을 가지는 다른 예시적인 구조는 하기 형태를 가질 수 있다:



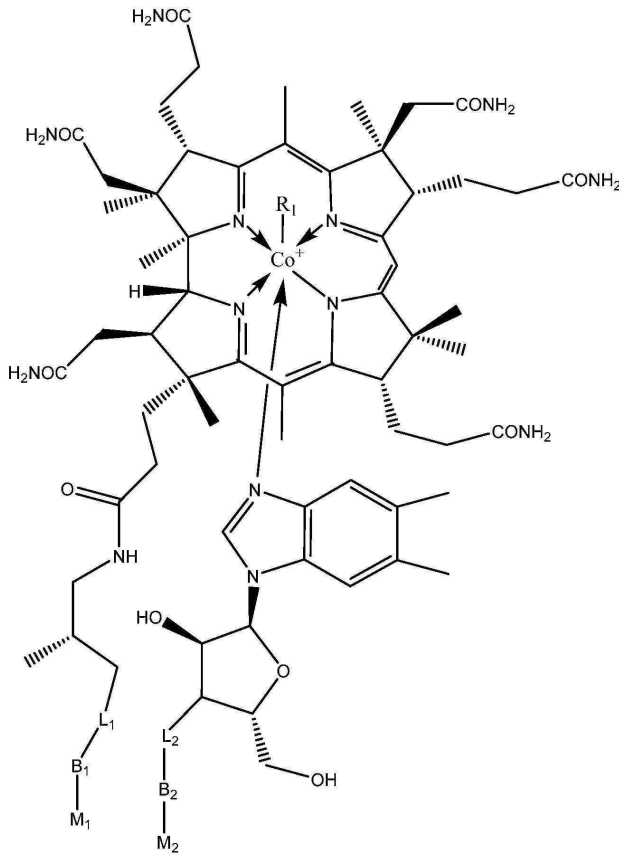
[0098]

[0099]

식 중, R_1 은 5'-데옥시아데노실, CH_3 , OH 또는 CN일 수 있고; L은 링커이고, B는 사카라이드 기반 구조이고, M은 사카라이드 기반 구조에 의해 복합체화된 금속이다. 예시적인 실시형태에서, L은 하이드라존 링커일 수 있고, M은 Fe일 수 있다. 실시형태에서, B는 10-16개의 탄소 원자, 9-15개의 산소 원자 및 16-28개의 수소 원자를 포함할 수 있다. 특정한 실시형태에서, B는 수크로스로부터 유래할 수 있다.

[0100]

복수의 사카라이드-금속 복합체와 비타민 B12의 유도체 사이의 연결을 가지는 예시적인 구조는 하기 형태를 가질 수 있다:



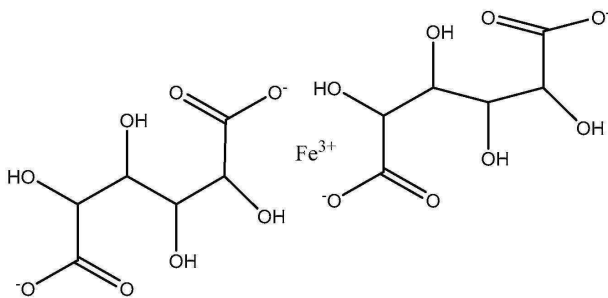
[0101]

[0102]

식 중, R_1 은 5'-데옥시아데노실, CH_3 , OH 또는 CN일 수 있고; L_1 은 제1 링커이고, L_2 는 제2 링커이고, B_1 은 제1 사카라이드 기반 구조이고, B_2 는 제2 사카라이드 기반 구조이고, M_1 은 사카라이드 기반 구조에 의해 복합체화된 제1 금속이고, M_2 는 제2 금속이다. 예시적인 실시형태에서, L_1 및 L_2 는 하이드라존 링커일 수 있고, M_1 및 M_2 는 Fe일 수 있다. 실시형태에서, B_1 및 B_2 는 10-16개의 탄소 원자, 9-15개의 산소 원자 및 16-28개의 수소 원자를 포함할 수 있다. 특정한 실시형태에서, B_1 및 B_2 는 수크로스로부터 유래할 수 있다.

[0103]

실시형태에서, 사카라이드-금속 복합체는 다이사카라이드로부터 유래할 수 있다. 예를 들어, 사카라이드-금속 복합체는 수크로스로부터 유래할 수 있다. 다른 예에서, 사카라이드-금속 복합체는 락토스로부터 유래할 수 있다. 사카라이드-금속 복합체의 예시적인 구조는 하기 형태를 가질 수 있다:



[0104]

[0105]

상기 구조가 수크로스 유래 화합물과 복합체화된 단일 Fe 원자를 나타내지만, 하나 이상의 Fe 원자가 필요한 바대로 그룹의 전하의 균형을 이루도록 수크로스 유래 화합물의 하나 이상의 반복 단위와 복합체화될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.

[0106]

조성물. 헴 단백질(이의 변형, 변이체 및 d-치환된 유사체 포함), 헴 단백질 분해 저해제(예를 들어, HO-1 저해제, 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴), 철 및 비타민 B12(개별적으로 및 총체적으로, "활성 성분")는 조성물 내에 단독으로 또는 조합으로 제공될 수 있다. 특정한 실시형태에서, 조성물은 적어도 하나의 헴 단백질 및/또는 적어도 하나의 헴 단백질 분해 저해제 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 활성 성

분의 염 및/또는 프로드럭을 또한 사용할 수 있다.

- [0107] 약제학적으로 허용되는 염은 활성 성분의 활성을 보유하고 약제학적 용도를 위해 허용되는 임의의 염을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 염은 또한 산, 또 다른 염, 또는 산 또는 염으로 전환되는 프로드럭의 투여의 결과로서 생체내 형성할 수 있는 임의의 염을 의미한다.
- [0108] 적합한 약제학적으로 허용되는 산 부가염은 무기 산 또는 유기 산으로부터 제조될 수 있다. 이러한 무기 산의 예는 염산, 브롬산, 요오드산, 질산, 탄산, 황산 및 인산이다. 적절한 유기 산은 유기 산의 지방족, 지방족, 방향족, 아릴지방족, 헤테로사이클릭, 카복실산 및 설폰산 종류로부터 선택될 수 있다.
- [0109] 적합한 약제학적으로 허용되는 염기 부가염은 알루미늄, 칼슘, 리튬, 마그네슘, 칼륨, 나트륨 및 아연으로부터 제조된 금속염 또는 N,N'-다이벤질에틸렌-다이아민, 클로로프로카인, 콜린, 다이에탄올아민, 에틸렌다이아민, N-메틸글루카민, 라이신, 아르기닌 및 프로카인으로부터 제조된 유기염을 포함한다.
- [0110] 프로드럭은 예컨대 단백질의 절단에 의해 또는 생물학적으로 불한정한 기의 가수분해에 의해 투여 후 치료학적 활성 화합물로 전환된 활성 성분을 포함한다.
- [0111] 몇몇 실시형태에서, 조성물은 조성물의 적어도 0.1%(w/v); 조성물의 적어도 1%(w/v); 조성물의 적어도 10%(w/v); 조성물의 적어도 20%(w/v); 조성물의 적어도 30%(w/v); 조성물의 적어도 40%(w/v); 조성물의 적어도 50%(w/v); 조성물의 적어도 60%(w/v); 조성물의 적어도 70%(w/v); 조성물의 적어도 80%(w/v); 조성물의 적어도 90%(w/v); 조성물의 적어도 95%(w/v); 또는 조성물의 적어도 99%(w/v)의 활성 성분을 포함한다.
- [0112] 다른 실시형태에서, 활성 성분은 예를 들어 조성물의 적어도 0.1%(w/w); 조성물의 적어도 1%(w/w); 조성물의 적어도 10%(w/w); 조성물의 적어도 20%(w/w); 조성물의 적어도 30%(w/w); 조성물의 적어도 40%(w/w); 조성물의 적어도 50%(w/w); 조성물의 적어도 60%(w/w); 조성물의 적어도 70%(w/w); 조성물의 적어도 80%(w/w); 조성물의 적어도 90%(w/w); 조성물의 적어도 95%(w/w); 또는 조성물의 적어도 99%(w/w)를 포함할 수 있는 조성물의 일부로서 제공될 수 있다.
- [0113] 특정한 실시형태는 아질산화 헴 단백질 분해 저해제와 아질산화 헴 단백질을 포함한다. 특정한 실시형태는 아질산화 프로토포르피린과 아질산화 헴 단백질을 포함한다. 특정한 실시형태는 아질산화 금속 프로토포르피린과 아질산화 헴 단백질을 포함한다. 특정한 실시형태는 아질산화 SnPP와 아질산화 헴 단백질을 포함한다. 특정한 실시형태는 아질산화 헤민과 아질산화 헴 단백질을 포함한다. 특정한 실시형태는 아질산화 헤마틴과 아질산화 헴 단백질을 포함한다. 이들 예시적인 실시형태의 특정한 형태에서, 아질산화 헴 단백질은 미오글로빈이다. 특정한 실시형태는 또한 하나 이상의 아질산화 헴 단백질 분해 저해제(예를 들어, 아질산화 프로토포르피린, 아질산화 헤민 및/또는 아질산화 헤마틴)와 헴 단백질(예를 들어, 미오글로빈 또는 아질산화 미오글로빈)을 포함한다. 추가의 특정한 실시형태에서, 헴 단백질 분해 저해제의 조합이 제공되고, 여기서 조합의 모든 구성성분이 아질산화되지는 않는다.
- [0114] 특정한 실시형태는 임의로 금속 프로토포르피린, SnPP 및/또는 비타민 B12와 조합된 철을 포함한다. 철은 철 수 크로스할 수 있다. 이 실시형태는 헴 단백질(예를 들어, 미오글로빈 또는 아질산화 미오글로빈) 및/또는 헴 단백질 분해 저해제(예를 들어, 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴 및/또는 이의 질산화 형태)를 추가적으로 포함할 수 있다. 실시형태가 비타민 B12와 조합하여 철을 이용할 때, 철 및 B12는 복합체화되거나 단일 단위로 가교결합될 수 있다.
- [0115] 예시적인 일반적으로 사용되는 약제학적으로 허용되는 담체는 임의의 및 모든 흡수 지연 물질, 향산화제, 결합제, 완충제, 벌크화제 또는 충전제, 킬레이트화제, 코팅, 붕괴제, 분산 매질, 겔, 등장화제, 활택제, 보존제, 염, 용매 또는 공용매, 안정화제, 계면활성제, 및/또는 전달 비히클을 포함한다.
- [0116] 예시적인 향산화제는 아스코르브산, 메티오닌 및 비타민 E를 포함한다.
- [0117] 예시적인 완충제는 시트레이트 완충제, 숙시네이트 완충제, 타르트레이트 완충제, 푸마레이트 완충제, 글루코네이트 완충제, 옥살레이트 완충제, 락테이트 완충제, 아세테이트 완충제, 포스페이트 완충제, 히스티딘 완충제 및/또는 트라이메틸아민 염을 포함한다.
- [0118] 예시적인 킬레이트화제는 EDTA이다.
- [0119] 예시적인 등장화제는 3가 또는 더 고가의 당 알코올을 포함하는 다가 당 알코올, 예컨대 글라이세린, 에리쓰리톨, 아라비톨, 자일리톨, 소르비톨 또는 만니톨을 포함한다.

- [0120] 예시적인 보존제는 페놀, 벤질 알콜, 메타-크레솔, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 옥타데실다이메틸벤질 암모늄 클로라이드, 벤즈알코늄 할라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레소르시놀, 사이클로헥산을 및 3-펜탄올을 포함한다.
- [0121] 안정화제는 활성 성분을 가용화시키고 변성 또는 용기 벽에 대한 부착을 막도록 돕는 벌크화제로부터 첨가제로 기능이 망라할 수 있는 광범위한 부형제 카테고리를 의미한다. 통상적인 안정화제는 다당 알콜; 아미노산, 예컨대 아르기닌, 라이신, 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 알라닌, 오르니틴, L-류신, 2-페닐알라닌, 글루탐산 및 트레오닌; 유기 당 또는 당 알콜, 예컨대 락토스, 트레할로스, 스타키오스, 만니톨, 소르비톨, 자일리톨, 리비톨, 미오이노시톨, 갈락티톨, 글라이세롤 및 사이클리톨, 예컨대 이노시톨; PEG; 아미노산 중합체; 황 함유 환원제, 예컨대 유레아, 글루타티온, 티옥트산, 나트륨 티오글라이콜레이트, 티오글라이세롤, 알파-모노티오글라이세롤 및 나트륨 티오설페이트; 저분자량 폴리펩타이드(즉, 10개 미만의 잔기); 단백질, 예컨대 인간 혈청 알부민, 소 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 모노사카라이드, 예컨대 자일로스, 만노스, 프럭토스 및 글루코스; 다이사카라이드, 예컨대 락토스, 말토스 및 수크로스; 트라이사카라이드, 예컨대 라피노스 및 폴리사카라이드, 예컨대 텍스트란을 포함할 수 있다. 안정화제는 통상적으로 활성 성분 중량을 기준으로 0.1 내지 10,000중량부의 범위로 존재한다.
- [0122] 본 명세서에 개시된 조성물은 예를 들어 주사, 흡입, 점적주사, 관류, 세척 또는 섭취에 의한 투여에 대해 제제화될 수 있다. 본 명세서에 개시된 조성물은 정맥내, 피내, 동맥내, 결절내, 림프관내, 복강내, 병변내, 전립선내, 질내, 직장내, 국소, 척수강내, 종양내경구, 근육내, 베시클내, 경구 및/또는 피하 투여에 의해 및 더 특히 정맥내, 피내, 동맥내, 결절내, 림프관내, 복강내, 병변내, 전립선내, 질내, 직장내, 척수강내, 종양내경구, 근육내, 베시클내 및/또는 피하 주사에 의해 추가로 제제화될 수 있다.
- [0123] 주사를 위해, 조성물은 수용액으로서, 예컨대 행크액, 링거액 또는 생리학적인 식염수를 포함하는 완충제 중에 제제화될 수 있다. 수용액은 제제화제, 예컨대 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다. 대안적으로, 제제는 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들어 무균 발열원 비함유 물에 의해 구성을 위한 동결건조 및/또는 분말 형태일 수 있다. 특정한 실시형태는 정맥내 투여를 위해 제제화될 수 있다.
- [0124] 경구 투여를 위해, 조성물은 정제, 환제, 드라제, 캡슐, 액체, 젤, 시럽, 슬러리, 현탁액 등으로서 제제화될 수 있다. 경구 고체 제제, 예컨대 분말, 캡슐 및 정제 등을 위해, 적합한 부형제는 결합제(검 트라가칸스, 아카시아, 옥수수 전분, 젤라틴), 충전제, 예컨대 당, 예를 들어 락토스, 수크로스, 만니톨 및 소르비톨; 인산이칼슘, 전분, 스테아르산마그네슘, 나트륨 사카린, 셀룰로스, 탄산마그네슘; 셀룰로스 제제, 예컨대 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 검 트라가칸스, 메틸 셀룰로스, 하이드록시프로필메틸-셀룰로스, 나트륨 카복시-메틸셀룰로스 및/또는 폴리비닐피롤리돈(PVP); 과립화제; 및 결합제를 포함한다. 원하는 경우, 붕괴제, 예컨대 옥수수 전분, 감자 전분, 알긴산, 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천 또는 알긴산 또는 이의 염, 예컨대 알긴산나트륨을 첨가할 수 있다. 원하는 경우, 고체 제형은 표준 기법을 이용하여 당 코팅 또는 장용 코팅될 수 있다. 향미료, 예컨대 페퍼민트, 윈터그린 오일, 체리향, 오렌지향 등을 또한 사용할 수 있다.
- [0125] 조성물은 에어로졸로서 제제화될 수 있다. 일 실시형태에서, 에어로졸은 무수, 액체 또는 건조 분말 흡입기의 형태로서 제공된다. 가압 팩 또는 분무기로부터의 에어로졸 스프레이는 적합한 추진제, 예를 들어 다이클로로다이플루오로메탄, 트라이클로로플루오로메탄, 다이클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 가스 와 또한 사용될 수 있다. 가압 에어로졸의 경우에, 투약량 단위는 계량된 양을 전달하도록 밸브를 제공함으로써 결정될 수 있다. 흡입기 또는 통기장치에서의 사용을 위한 젤라틴의 캡슐 및 카트리지는 헴 단백질 및 적합한 분말 기재, 예컨대 락토스 또는 전분의 분말 혼합물을 함유하여 또한 제제화될 수 있다.
- [0126] 조성물은 데포 제제로서 또한 제제화될 수 있다. 데포 제제는 적합한 중합체 또는 소수성 재료(예를 들어, 허용되는 오일 중의 에멀션으로서) 또는 이온 교환 수지에 의해, 또는 난용성 유도체, 예를 들어 난용성 염으로서 제제화될 수 있다.
- [0127] 추가적으로, 조성물은 적어도 하나의 활성 성분을 함유하는 고체 중합체의 반투과성 매트릭스를 이용하는 지효성 시스템으로서 제제화될 수 있다. 다양한 지효성 재료는 당해 분야의 당업자에 의해 확립되고 널리 공지되어 있다. 지효성 시스템은, 이의 화학 성질에 따라, 100일까지 걸쳐 수주 동안 투여 후 활성 성분을 방출할 수 있다. 데포 제제는 연조직, 체강으로 주사; 비경구 주사; 설치; 또는 이식에 의해 또는 때때로 미세한 침을 통한 주사에 의해 혈관으로 투여될 수 있다.
- [0128] 데포 제제는 원하는 락타이드:글라이콜라이드 비율, 평균 분자량, 다분산성, 및 말단 기 화학의 폴리(락타이

드), 폴리(글라이콜라이드), 폴리(카프로락톤) 및 폴리(락타이드)-코-(글라이콜라이드)(PLG)를 포함하는 다양한 생분해성 중합체를 포함한다. 다양한 등급을 이용한 상이한 비율의 상이한 중합체 유형의 블렌딩은 각각의 기여 중합체로부터 얻어진 특징을 발생시킬 수 있다.

- [0129] 상이한 용매(예를 들어, 다이클로로메탄, 클로로폼, 에틸 아세테이트, 트라이아세틴, N-메틸 피롤리돈, 테트라하이드로퓨란, 페놀, 또는 이들의 조합)의 사용은 방출 특징을 조절하기 위해 마이크로입자 크기 및 구조를 변경할 수 있다. 다른 유용한 용매는 물, 에탄올, 다이메틸 설펝사이드(DMSO), N-메틸-2-피롤리돈(NMP), 아세톤, 메탄올, 아이소프로필 알콜(IPA), 에틸 벤조에이트 및 벤질 벤조에이트를 포함한다.
- [0130] 예시적인 방출 조절제는 계면활성제, 세제, 내부 상 점도 증대제, 복합체화제, 표면 활성 분자, 공용매, 킬레이트화제, 안정화제, 셀룰로스의 유도체, (하이드록시프로필)메틸 셀룰로스(HPMC), HPMC 아세테이트, 셀룰로스 아세테이트, 플루로닉스(예를 들어, F68/F127), 폴리소르베이트, 스팬(Span)(등록상표)(Croda Americas(텔라웨어주 월밍턴)), 폴리(비닐 알콜)(PVA), 브리지(Brij)(등록상표)(Croda Americas(텔라웨어주 월밍턴)), 수크로스 아세테이트 아이소뷰테레이트(SAIB), 염, 및 완충제를 포함할 수 있다.
- [0131] 마이크로입자의 외부 상 경계로 분할하는 부형제, 예컨대 폴리소르베이트, 다이옥틸설펝옥시네이트, 폴록사머, PVA를 포함하는 계면활성제는 양호한 방식으로 입자 안정성 및 침식 속도, 수화 및 채널 구조, 계면 수송, 및 동역학을 포함하는 특성을 또한 변경할 수 있다.
- [0132] 개시된 지효성 데포 제제의 추가적인 공정처리는 완충제, 예컨대 트리스, 시트레이트 또는 히스티딘 중에 만니톨, 수크로스, 트레할로스 및 글라이신을 포함하는 부형제를 다른 성분, 예컨대 폴리소르베이트, PVA 및 다이옥틸설펝옥시네이트에 의해 안정화시키는 것을 이용할 수 있다. 동결 건조 사이클은 원래 현탁액의 유사한 크기 및 성능 특징으로 재구성하는 매우 낮은 수분 분말을 생성하도록 또한 이용될 수 있다.
- [0133] 본 명세서에 개시된 임의의 조성물은 유리하게는 투여의 이익을 증가하는 상당히 불리한, 알레르기 또는 다른 뜻밖의 반응을 생성하지 않는 것을 포함하는 임의의 다른 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 예시적인 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990]에 개시되어 있다. 더욱이, 생물학적 기준의 미국 FDA 관청 및/또는 다른 관련 외국 규제 기관이 요구하는 무균성, 발열원성, 일반적인 안정성 및 순도 기준을 만족시키기 위해 제제가 제조될 수 있다.
- [0134] 키트. 본 명세서에 기재된 하나 이상의 활성 성분 및/또는 조성물을 포함하는 하나 이상의 용기를 포함하는 키트가 본 명세서에 또한 개시되어 있다. 다양한 실시형태에서, 키트는 본 명세서에 기재된 활성 성분 및/또는 조성물과 조합되어 사용되는 하나 이상의 활성 성분 및/또는 조성물을 함유하는 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다. 이러한 용기(들)와 관련되어 의약품 또는 생물학적 생성물의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관이 규정한 주의가 있을 수 있고, 이 주의는 인간 투여에 대한 제조, 사용 또는 판매의 기관에 의한 승인을 반영한다.
- [0135] 임의로, 본 명세서에 기재된 키트는 본 명세서에 개시된 방법에서 키트를 사용하기 위한 설명서를 추가로 포함한다. 다양한 실시형태에서, 키트는 투여를 위한 활성 성분 및/또는 조성물의 조제; 활성 성분 및/또는 조성물의 투여; 키트를 사용하는 것과 연관된 결과를 이해하기 위한 적절한 기준 수치; 관련 폐기물의 알맞은 처분 등에 관한 설명서를 포함할 수 있다. 설명서는 키트 내에 제공된 인쇄 설명서의 형태일 수 있거나, 설명서는 키트 자체의 일부에 인쇄될 수 있다. 설명서는 시트, 팜플렛, 브로셔, CD-롬, 또는 컴퓨터 판독 가능한 장치의 형태일 수 있거나, 원격 위치, 예컨대 웹사이트에서 설명서에 지시를 제공할 수 있다. 설명서는 영어 및/또는 임의의 국가 또는 지역 언어일 수 있다. 다양한 실시형태에서, 대상체의 증상에 기초한 키트의 성분의 추가의 사용에 대한 가능한 부작용 및 금기사항이 포함될 수 있다. 키트 및 설명서는 보호되는 장기의 유형 및 장기가 마주칠 수 있는 자극의 유형에 따라 또한 맞춤화될 수 있다.
- [0136] 다양한 실시형태에서, 패키징, 활성 성분 및/또는 조성물, 및 설명서는 각각의 활성 성분 및/또는 조성물의 사용에 대한 인쇄 설명서를 가지는 작은 컴팩트한 키트로 조합된다. 하나 초과와 활성 성분 및/또는 조성물이 제공된 다양한 실시형태에서, 활성 성분 및/또는 조성물의 사용의 순서가 키트에 표지화될 수 있다.
- [0137] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 키트는 효과적으로 키트를 사용하기 위해 요구되는 필요한 의학 공급품의 일부 또는 전부를 포함하여서, 이러한 의학 공급품을 배치하고 모을 필요를 제거한다. 이러한 의학 공급품은 주사기, 앰플, 배관, 페이스 마스크, 무침 유체 전달 장치, 주사 캡, 스펀지, 무균 접착제 스트립, 클로라프렙(Chloraprep), 글러브 등을 포함할 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 키트의 내용물의 변형이 이루어질 수

있다. 특정한 키트는 정맥내 투여를 통해 조성물을 투여하기 위한 물질을 제공한다.

- [0138] 사용 방법. 기재된 바대로, 본 명세서에 개시된 조성물, 키트 및 방법은 손상의 부재 하에 획득 세포내성을 유도함으로써 손상으로부터 장기를 보호하기 위해 사용될 수 있다. 조성물, 키트 및 방법(이들 중 몇몇은 본 명세서에 기재됨)을 위한 다양한 잠재적 용도가 존재한다.
- [0139] 본 명세서에 개시된 방법은 본 명세서에 개시된 활성 성분, 및 이의 염 및 프로드럭에 의해 장기를 치료하는 것을 포함한다. 장기를 치료하는 것은 치료학적 유효량을 전달하는 것을 포함한다. 치료학적 유효량은 유효량, 예방학적 치료 및/또는 치료학적 치료를 제공하는 것을 포함한다.
- [0140] 장기는 통상적으로 자족적이고 특정한 생체 기능을 가지는 대상체의 부분이다. 장기의 예는 심장, 간, 신장, 비장, 췌장, 뇌, 폐, 장, 위 등을 포함한다. 특정한 실시형태에서, 치료학적 유효량은 장기에 직접적으로 투여될 수 있다.
- [0141] 치료학적 유효량은 장기가 있는 대상체에 치료학적 유효량을 투여함으로써 장기에 또한 투여될 수 있다. 대상체는 인간, 수의 동물(개, 고양이, 파충류, 조류 등), 가축(말, 소, 염소, 돼지, 닭 등) 및 조사 동물(원숭이, 랫트, 마우스, 어류 등)을 포함한다. 대상체를 치료하는 것은 치료학적 유효량을 전달하는 것을 포함한다. 따라서, 달리 기재되지 않은 한, 장기에 대한 투여는 장기에 생리학적 전달을 발생시키는 대상체에 대한 투여일 수 있거나, 직접적으로 장기에 대한 투여일 수 있다.
- [0142] "유효량"은 장기 또는 대상체에서 원하는 생리학적 변화를 발생시키는 데 필요한 활성 성분 또는 조성물의 양이다. 유효량은 대개 조사 목적을 위해 투여된다. 본 명세서에 개시된 유효량은 손상의 부재 하에 획득 세포내성을 유도함으로써 손상으로부터 장기를 보호한다.
- [0143] "예방학적 치료"는, 추가의 장기 손상을 발생시킬 위험을 줄이거나 예방하거나 감소시킬 목적을 위해 치료가 투여되도록, 장기 손상의 징후 또는 증상을 나타내지 않거나, 장기 손상의 오직 초기 징후 또는 증상을 나타내는, 장기에 투여된 치료를 포함한다. 따라서, 예방학적 치료는 장기 손상에 대한 예방적 치료로서 작용한다.
- [0144] "치료학적 치료"는 장기 손상의 증상 또는 징후를 나타내고 장기 손상의 악화를 감소시킬 목적으로 장기에 투여되는, 장기에 투여된 치료를 포함한다.
- [0145] 특정한 장기(또는 대상체)에 투여된 실제 용량 양은 매개변수, 예컨대 표적; 체중; 병태의 중증도; 알려진 경우 다가올 자극; 보호를 필요로 하는 장기의 유형; 이전의 또는 공존하는 치료학적 중재; 대상체의 특발증; 및 투여 경로를 포함하는 신체적 및 생리학적 인자를 고려하여 의사, 수의사 또는 조사자에 의해 결정될 수 있다.
- [0146] 조성물 내의 활성 성분의 양 및 농도, 및 투여된 조성물의 분량은 다른 고려사항 중에서 임상적으로 관련한 인자, 조성물 중의 활성 성분의 용해도, 활성 성분의 효력 및 활성, 및 조성물의 투여 방식, 및 활성 성분이 변형되거나(예를 들어, 아질산화, PEG화), 헴 단백질 분해 저해제(예를 들어, HO-1 저해제)와 조합되어 투여되는지에 기초하여 선택될 수 있다.
- [0147] 본 명세서에 개시된 활성 성분(들)의 치료학적 유효량을 포함하는 조성물은 조성물의 하나 이상의 별개의 투여를 포함하는 임상적으로 안전하고 효과적인 방식으로 장기의 보호를 위해 대상체에 정맥내로 투여될 수 있다. 예를 들어, 0.05mg/kg 내지 5.0mg/kg는 하나 이상의 용량(예를 들어, 0.05mg/kg의 QD, 0.10mg/kg의 QD, 0.50mg/kg의 QD, 1.0mg/kg의 QD, 1.5mg/kg의 QD, 2.0mg/kg의 QD, 2.5mg/kg의 QD, 3.0mg/kg의 QD, 0.75mg/kg의 BID, 1.5mg/kg의 BID, 또는 2.0mg/kg의 BID의 용량)으로 매일 대상체에게 투여될 수 있다. 소정의 장기 및 적응증에 대해, 활성 성분의 전체 1일 용량은, 60분 QD, BID 또는 TID 정맥내 점적주사 투약을 이용하여, 0.05-3.0, 0.1-3.0, 0.5-3.0, 1.0-3.0, 1.5-3.0, 2.0-3.0, 2.5-3.0, 및 0.5-3.0mg/kg/일의 조성물의 전체 1일 용량의 투여를 포함하여, 1일 1회 내지 3회 대상체에게 정맥내로 투여된 0.05mg/kg 내지 3.0mg/kg일 수 있다. 특정한 일 예에서, 조성물은 92-98% 중량/중량의 헴 단백질을 가지는 예를 들어 1.5mg/kg, 3.0mg/kg, 4.0mg/kg의 조성물의 전체 1일 용량으로 대상체에게 QD 또는 BID 정맥내로 투여될 수 있다.
- [0148] 추가적인 유용한 용량은 대개 0.1 내지 5 μ g/kg 또는 0.5 내지 1 μ g/kg의 범위일 수 있다. 다른 예에서, 용량은 1 μ g/kg, 5 μ g/kg, 10 μ g/kg, 15 μ g/kg, 20 μ g/kg, 25 μ g/kg, 30 μ g/kg, 35 μ g/kg, 40 μ g/kg, 45 μ g/kg, 50 μ g/kg, 55 μ g/kg, 60 μ g/kg, 65 μ g/kg, 70 μ g/kg, 75 μ g/kg, 80 μ g/kg, 85 μ g/kg, 90 μ g/kg, 95 μ g/kg, 100 μ g/kg, 150 μ g/kg, 200 μ g/kg, 250 μ g/kg, 350 μ g/kg, 400 μ g/kg, 450 μ g/kg, 500 μ g/kg, 550 μ g/kg, 600 μ g/kg, 650 μ g/kg, 700 μ g/kg, 750 μ g/kg, 800 μ g/kg, 850 μ g/kg, 900 μ g/kg, 950 μ g/kg, 1000 μ g/kg, 0.1 내지 5mg/kg, 또는 0.5 내지 1mg/kg를 포함할 수 있다. 다른 예에서, 용량은 1mg/kg, 5mg/kg, 10mg/kg, 15mg/kg, 20mg/kg, 25mg/kg, 30mg/kg, 35mg/kg,

40mg/kg, 45mg/kg, 50mg/kg, 55mg/kg, 60mg/kg, 65mg/kg, 70mg/kg, 75mg/kg, 80mg/kg, 85mg/kg, 90mg/kg, 95mg/kg, 100mg/kg, 150mg/kg, 200mg/kg, 250mg/kg, 350mg/kg, 400mg/kg, 450mg/kg, 500mg/kg, 550mg/kg, 600mg/kg, 650mg/kg, 700mg/kg, 750mg/kg, 800mg/kg, 850mg/kg, 900mg/kg, 950mg/kg, 1000mg/kg 이상을 포함할 수 있다.

[0149] 활성 성분의 기재된 용량의 각각은 단독의 헵 단백질, 조합된 헵 단백질, 단독의 헵 단백질 분해 저해제, 조합된 헵 단백질 분해 저해제 또는 하나 이상의 헵 단백질과 하나 이상의 헵 단백질 분해 저해제, 철 및/또는 비타민 B12의 조합일 수 있다. 특정한 실시형태에서, 용량, 예컨대 본 명세서에 기재된 용량을 생성하기 위해 조합으로 포함될 때, 조합에서의 치환기는 기재된 투약량에 도달하기 위해 조합에서의 치환기의 수 및 동일성에 따라 예시적인 비율, 예컨대 1:1; 1:1.25; 1:1.5; 1:1.75; 1:8; 1:1.2; 1:1.25; 1:1.3; 1:1.35; 1:1.4; 1:1.5; 1:1.75; 1:2; 1:3; 1:4; 1:5; 1:6:1:7; 1:8; 1:9; 1:10; 1:15; 1:20; 1:30; 1:40; 1:50; 1:60; 1:70; 1:80; 1:90; 1:100; 1:200; 1:300; 1:400; 1:500; 1:600; 1:700; 1:800; 1:900; 1:1000; 1:1:1; 1:2:1; 1:3:1; 1:4:1; 1:5:1; 1:10:1; 1:2:2; 1:2:3; 1:3:4; 1:4:2; 1:5:3; 1:10:20; 1:2:1:2; 1:4:1:3; 1:100:1:1000; 1:25:30:10; 1:4:16:3; 1:1000:5:15; 1:2:3:10; 1:5:15:45; 1:50:90:135; 1:1.5:1.8:2.3; 1:10:100:1000 또는 추가적인 유리한 비율로 제공될 수 있다. 조합에서의 치환기는 동일한 조성물 내에 또는 상이한 조성물 내에 제공될 수 있다.

[0150] 치료학적 유효량은 치료 섭생의 과정 동안 단일 또는 다수 용량(예를 들어, QID, TID, BID, 1일, 격일, 3일마다, 4일마다, 5일마다, 6일마다, 주마다, 2주마다, 3주마다, 개월마다, 2개월마다, 3개월마다, 4개월마다, 5개월마다, 6개월마다, 7개월마다, 8개월마다, 9개월마다, 10개월마다, 11개월마다, 또는 년마다)을 투여함으로써 달성될 수 있다.

[0151] 특정한 실시형태에서, 조성물은 다가올 자극의 48시간 내에, 다가올 자극의 46시간 내에, 다가올 자극의 44시간 내에, 다가올 자극의 42시간 내에, 다가올 자극의 40시간 내에, 다가올 자극의 38시간 내에, 다가올 자극의 36시간 내에, 다가올 자극의 34시간 내에, 다가올 자극의 32시간 내에, 다가올 자극의 30시간 내에, 다가올 자극의 28시간 내에, 다가올 자극의 26시간 내에, 다가올 자극의 24시간 내에, 다가올 자극의 22시간 내에, 다가올 자극의 20시간 내에, 다가올 자극의 18시간 내에, 다가올 자극의 16시간 내에, 다가올 자극의 14시간 내에, 다가올 자극 12시간 내에, 다가올 자극의 10시간 내에, 다가올 자극의 8시간 내에, 다가올 자극의 6시간 내에, 다가올 자극의 4시간 내에, 또는 다가올 자극의 2시간 내에 투여된다. 특정한 일 실시형태에서, 조성물은 다가올 자극의 18시간 내에 투여된다.

[0152] 추가적인 특정한 실시형태에서, 조성물은 다가올 자극 전에 적어도 48시간에, 다가올 자극 전에 적어도 46시간에, 다가올 자극 전에 적어도 44시간에, 다가올 자극 전에 적어도 42시간에, 다가올 자극 전에 적어도 40시간에, 다가올 자극 전에 적어도 38시간에, 다가올 자극 전에 적어도 36시간에, 다가올 자극 전에 적어도 34시간에, 다가올 자극 전에 적어도 32시간에, 다가올 자극 전에 적어도 30시간에, 다가올 자극 전에 적어도 28시간에, 다가올 자극 전에 적어도 26시간에, 다가올 자극 전에 적어도 24시간에, 다가올 자극 전에 적어도 22시간에, 다가올 자극 전에 적어도 20시간에, 다가올 자극 전에 적어도 18시간에, 다가올 자극 전에 적어도 16시간에, 다가올 자극 전에 적어도 14시간에, 다가올 자극 전에 적어도 12시간에, 다가올 자극 전에 적어도 10시간에, 다가올 자극 전에 적어도 8시간에, 다가올 자극 전에 적어도 6시간에, 다가올 자극 전에 적어도 4시간에, 또는 다가올 자극 전에 적어도 2시간에 투여된다. 특정한 일 실시형태에서, 조성물은 다가올 자극 전에 적어도 18시간에 투여된다.

[0153] 이식 보호. 특정한 실시형태에서, 장기는 이식 동안 손상으로부터 보호된다. 조성물은 (i) 공여자로부터의 장기 단리 전에 장기 공여자에게; (ii) 이식 전에 단리된 장기에, 및/또는 (iii) 장기 이식 수혜자에게 투여될 수 있다. 이들 사용 방법은 하나의 개인 대상체로부터 제2의 개인 대상체로 이식할 수 있는 임의의 장기에 적용될 수 있다. 특정한 실시형태에서, 치료학적 유효량은 대상체로부터 제거 후에 또는 제2 대상체에서 이식 전에 장기에 직접적으로 전달될 수 있다.

[0154] 신장계 보호. 본 개시내용까지, 높은 위험의 환자, 예컨대 수술, 심폐 우회술 또는 조영제 독성을 겪은 개인에서 AKI의 발생을 예방하거나 완화시키는 물질이 없었다. 급성 신부전이 이환율 및 사망률 둘 다, 및 장기간 신장 투석의 필요에 대한 주요 위험 인자라는 것이 주목할 만하다. 급성 신부전은 이의 말기 상태 신장 질환/의학 치료 프로그램에서 연방 정부가 10억 달러가 들게 한다. 따라서, AKI/급성 신부전의 예방은 중요하고 완전히 충족되지 않은 임상 수요를 제시한다.

[0155] "급성 신부전"(acute renal failure; ARF) 또는 "급성 신부전"으로 또한 공지된, "급성 신장 손상"(acute

kidney injury; AKI)은 신장의 손상으로 인해 신속한 신장 기능 상실이 발생하여서, 신장이 보통 배설하는 질소 함유(유레아 및 크레아티닌) 및 질소 비함유 폐기 생성물이 보유되는 질환 또는 병태를 의미한다. 신장 기능 이상의 중증도 및 기간에 따라, 이 축적은 대사성 산증(혈액의 산화) 및 고칼륨혈증(칼륨 수치 증가)과 같은 대사성 장애가 동반되고, 체액 균형을 변경하고, 많은 다른 장기 시스템/장기 시스템 부전, 혈관내 유효혈액량 과부하, 혼수 및 사망에 영향을 미친다. 이것은 췌노 또는 무노(노 생성의 감소 또는 중단)를 특징으로 할 수 있지만, 비췌노성 ARF가 발생할 수 있다. AKI는 병원에서 중증 합병증이며, 병원 체류를 연장시키고 높은 사망률을 발생시킨다. 심장 질환 및 심장 수술은 둘 다 AKI의 흔한 원인이다. 환자가 AKI를 가지면, 이의 사망률은 높다.

[0156] AKI는 a) 보통 쇼크 또는 탈수 및 체액 소실 또는 과도한 이뇨제 사용으로 인한 혈액량부족증 또는 혈액 용적 감소를 포함하는 전신성(혈액 공급에 의해 발생); 간부전으로 인해 신장 관류가 손상된 간신 증후군; 맥관 문제, 예컨대 신증후군의 합병증으로 발생할 수 있는 신정맥 혈전증 및 죽상색전성 질환; 감염, 보통 패혈증 및 감염으로 인한 전신 염증; 중증 화상; 심낭염 및 폐장염으로 인한 격리; 및 항고혈압제 및 혈관확장제로 인한 저혈압; b) 신장 허혈(일시적인 혈류 감소 또는 중단) 독소 또는 약제(예를 들어, 일부 NSAID, 아미노글라이코사이드 항생제, 요오드화 조영제, 리튬, 인산나트륨에 의한 대장내시경에 대한 장 준비로 인한 인산염 신장병증)를 포함하는 고유 신장 손상; 근육 조직의 횡문근융해증 또는 분해(여기서, 혈액에서의 미오글로빈의 생성된 방출은 신장에 영향을 미치고, 이것은 손상(특히 압력 손상 또는 광범위한 둔상), 스타틴, 각성제 및 일부 다른 약물에 의해 또한 야기될 수 있음); 다양한 병태, 예컨대 겸상 세포 질환 및 홍반성 낭창에 의해 발생할 수 있는 적혈구의 용혈 또는 분해; 고칼슘혈증 또는 "원주 신장병증"으로 인한 다발성 골수종; 다양한 원인, 예컨대 항사구체 기저막 질환/굿패스처 증후군, 베게너 육아종증, 또는 전신 홍반성 낭창을 동반한 급성 낭창성 신염에 의할 수 있는 급성 사구체신염; 및 c) 정상 방광 비움을 방해하는 약제(예를 들어, 항콜린제)를 포함하는 후신성 원인(요로에서의 폐쇄적 원인); 양성 전립선 비대증 또는 전립선암; 신장 결석; 복부 악성종양(예를 들어, 난소암, 결장암); 차단된 도뇨관; 또는 결정뇨를 발생시킬 수 있는 약물 및 미오글로빈뇨 및 방광염을 발생시킬 수 있는 약물을 포함하는 다양한 원인의 결과일 수 있다.

[0157] 본 개시내용의 방법은 획득 세포내성을 유도함으로써 신장을 보호하는 것을 포함한다. 기재된 바대로, 적절한 치료학적 유효량은 용량 범위를 확인하기 위해 동물 모델을 이용하여 초기에 결정될 수 있다. 활성 성분의 특정한 예시적인 치료학적 유효량은 10mg/kg; 20mg/kg; 30mg/kg; 40mg/kg; 50mg/kg; 60mg/kg; 70mg/kg; 80mg/kg; 90mg/kg 및 100mg/kg를 포함한다.

[0158] 신장 손상의 예시적인 동물 모델은 글라이세롤 유도 신부전(횡문근융해증을 모방); 허혈-재관류 유도 ARF(신장 혈류 감소에 의해 유도된 변화를 자극하여서, 조직 허혈 및 세포 세관 세포사를 발생시킴); 약물 유도 모델, 예컨대 겐타마이신, 시스플라틴, NSAID, 이포스파마이드 유도 ARF(각각의 약물의 임상 투여로 인한 신부전을 모방함); 우라늄, 중크롬산칼륨 유도 ARF(직접 재해를 모방함); S-(1,2-다이클로로비닐)-L-시스테인 유도 ARF(오염된 물 유도 신장 기능이상을 모방함); 패혈증 유도 ARF(감염 유도 신부전을 모방함); 및 조영제 유도 ARF(심장 도뇨관 설치 시 조영제의 사용 동안 환자에서 신부전을 모방함)를 포함한다. 이 모델에 관한 더 많은 정보를 위해, 문헌[Singh et al., Pharmacol. Rep. 2012, 64(1): 31-44]을 참조한다.

[0159] 신장 기능의 공지된 시험은 초음파; CT 스캔; 및 락테이트 탈수소효소(LDH), 혈중 요질소(blood urea nitrogen; BUN), 크레아티닌, 크레아티닌 청소율, 아이오탈라메이트 청소율, 사구체 여과율 및 이눌린 청소율의 측정을 포함한다.

[0160] 간 보호. 간 손상의 예시적인 동물 모델은 허혈 재관류 손상; 간독소(탄소 테트라클로라이드, 티오아세트아마이드, 다이메틸, 또는 다이에틸 나이트로사민)를 사용한 화학 유도 간 섬유증; 담관 결찰; 주혈흡충병 모델; 큰카나발린 A형 간염 모델; 유도성 HCV 형질전환 마우스; 다양한 유전자 모델; 경장 에탄올 점적주사 모델(즈카모토-프렌치(Tsukamoto-French) 모델); 및 메티오닌 및 콜린 결핍증 모델을 포함한다.

[0161] 추가로, 소정의 치료제를 포함하는 다수의 간독성 화합물은 세포독성을 유도한다. 간독성 화합물은 직접 화학 자극 또는 독성 대사물질의 생성에 의해 간 세포독성을 생성할 수 있다. 세포독성은 하기 약물을 이용하여 직접 화학 자극에 의해 유도될 수 있다: 마취제, 예컨대 엔플루란, 플루록센, 할로탄 및 메톡시플루란; 신경향정신제, 예컨대 코카인, 하이드라자이드, 메틸페니데이트 및 트라이사이클릭; 항경련제, 예컨대 페닐로인 및 발프로산; 진통제, 예컨대 아세트아미노펜, 클로르зок사존, 단트롤렌, 디클로페낙, 이부프로펜, 인도메타신, 살리실레이트, 톨메텐 및 족사졸라민; 호르몬, 예컨대 아세트헥사마이드, 카르부타마이드, 글리피자이드, 메타헥사마이드, 프로필티오유라실, 타목시펜, 다이에틸stilbest로; 항균제, 예컨대 암포테리신 B, 클린다마이

신, 케토코나졸, 메벤다졸, 메트로니다졸, 옥사실린, 파라아미노살리실산, 페니실린, 리팜피신, 설폰아마이드, 테트라사이클린, 및 지도부딘; 심혈관 약물, 예컨대 아미오다론, 딜리티아젬, α -메틸도파, 메실레틴, 하이드라잘린, 니코틴산, 파파베린, 페르헥실린, 프로카이나마이드, 퀴니딘 및 토카이나마이드; 및 면역억제제 및 항종양제, 예컨대 아스파라기나제, 시스플라틴, 사이클로포스파마이드, 다카르바진, 독소루비신, 플루오로유라실, 메토트렉세이트, 미트라마이신, 6-MP, 나이트로소유레아, 타목시펜, 티오구아닌 및 빈크리스틴; 및 기타 약물, 예컨대 디소피람, 요오다이드 이온, 옥시페니스타틴, 비타민 A 및 파라아미노벤조산.

[0162] 담즙의 흐름의 정지인 담즙울혈을 유도하는 간독성 화합물은 여러 형태를 취할 수 있다. 중심소엽 담즙울혈은 문맥 염증성 변화를 동반한다. 담관 변화는 일부 약물, 예컨대 에리스로마이신에 의해 보고되었지만, 순수한 세관 담즙울혈은 다른 약물, 예컨대 동화 스테로이드의 특징이다. 만성 담즙울혈은 메틸테스토스테론 및 에스트라다이올과 같은 약물과 연결된다. 질환은 하기를 포함하는 간독성 화합물을 사용하여 유도될 수 있다: 피임성 스테로이드, 안드로겐 스테로이드, 동화 스테로이드, 아세틸살리실산, 아자티오프린, 벤조다이아제핀, 케노데옥시콜산, 클로르디아제폭사이드, 에리스로마이신 에스테레이트, 플루페나진, 푸로세마이드, 그리세오폴빈, 할로페리돌, 이미프라민, 6-머캅토피린, 메티마졸, 메토트렉세이트, 메틸도파, 메틸렌다이아민, 메틸테스토스테론, 나프록센, 나이트로푸란토인, 페니실라민, 페르페나진, 프로클로르페라진, 프로마진, 티오벤다졸, 티오리다진, 톨부타마이드, 트라이메토프림설파메톡사졸, 비소, 구리 및 파라쿠아트(Paraquat).

[0163] 몇몇 약물은, 주로 담즙울혈성이지만, 간독성을 또한 생성할 수 있고, 따라서 이들이 야기한 간 손상이 혼합될 수 있다. 약물 야기 혼합된 간 손상은 예를 들어 하기를 포함한다: 클로르프로마진, 페닐뷰타존, 할로탄, 클로르디아제폭사이드, 디아제팜, 알로푸리놀, 페노바르비탈, 나프록센, 프로필티오유라실, 클로르암페니콜, 트라이메토프림설파메톡사졸, 아미논, 디소피라마이드, 아자티오프린, 시메티딘 및 라니티딘.

[0164] 아르기닌/유레아/NO 사이클 중 하나 이상의 효소, 황화 효소, 및/또는 스펙트린 분해 관련 생성물의 검출은 간 손상의 진단이다. 이들 마커의 예는 아르기니노숙시네이트 합성효소(ASS) 및 아르기니노숙시네이트 리가제(ASL), 황화(에스트로겐 설포전환효소(EST)), 스쿠알렌 생성효소(SQS), 간 글라이코겐 포스포릴라제(GP), 카바모일-포스페이트 합성효소(CPS-1), α -엔올라제 1, 글루코스 조절 단백질(GRP) 및 스펙트린 분해 생성물을 포함한다.

[0165] 다른 실시형태에서, 간 손상, 예컨대 허혈에 대한 손상의 진단으로서 바이오마커의 검출은 기존의 시험과 상관될 수 있다. 이것은 알칼리 포스파타제(AP); 5'-뉴클레오티다제(5'-ND); α -글루타밀 트랜스펩티다제(G-GT); 류신 아미노펩티다제(LAP); 아스파르테이트 트랜스아미나제(AST); 알라닌 트랜스아미나제(ALT); 프럭토스-1,6-다이포스페이트 알돌라제(ALD); LDH; 아이소시트레이트 탈수소효소(ICDH); 오르니틴-카바모일전환효소(OCT); 소르비톨 탈수소효소(SDH) 아르기나제; 구아나제; 크레아틴 포스포키나제(CPK); 콜린에스테라제(ChE); 프로콜라겐 유형 III 펩타이드 수치(PIIIP); 간성뇌증에서의 암모니아 혈액 수치; 간세포암 및 괴사의 수준에서의 리간드; 간 내피 세포 손상으로 인한 히알우로네이트 수치; 간세포암을 검출하기 위한 α -1-태아단백질(AFP) 수치; 간에 대한 암 전이를 검출하기 위한 암배아 항원(CEA) 수치; 다양한 세포 성분, 예컨대 미토콘드리아, 및 핵 및 특정한 간 막 단백질에 대한 항체의 상승; 및 단백질, 예컨대 알부민, 글로빈, 아미노산, 콜레스테롤 및 다른 지질의 검출을 포함할 수 있다. 또한, 간 생검으로부터 얻어진 다양한 미네랄, 대사물질 및 효소의 생화학 분석은 유전성, 후천성인 및 실험적으로 유도된 간 장애에서 추가의 바이오마커를 확인하는 데 있어서 유용할 수 있다.

[0166] 다른 실시형태에서, 검출된 바이오마커의 양은 간 손상을 추가로 평가하는 간 기능 시험과 상관될 수 있다. 당해 분야의 당업자가 이해하는 바대로, 간 기능 시험을 하기를 포함한다: 유기 음이온, 예컨대 빌리루빈, 인도사이아닌 그린(indocyanine green; ICG), 설포브로모프탈레인(sulfobromophthalein; BSP) 및 담즙산의 간 청소율의 평가; 갈락토스의 측정 및 ICG 청소율에 의한 간 혈류의 평가; 및 아미노피린 호흡 시험 및 카페인 청소율 시험의 사용을 통한 간 마이크로솜 기능의 평가. 예를 들어, 혈청 빌리루빈은 황달의 존재 및 중증도를 확인하고, 조직질소 간 질환에서 볼 수 있는 것처럼 고빌리루빈혈증의 정도를 결정하기 위해 측정될 수 있다. 아미노전환효소(트랜스아미나제) 상승은 활성 간세포 손상의 중증도를 반영하지만, 알칼리 포스파타제 상승은 담즙울혈 및 간 침윤물에서 발견된다(Isselbacher, K. and Podolsky, D. in Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition. Wilson et al. eds., 2: 1301-1308 (1991)).

[0167] 간 기능을 평가하기 위해 사용된 추가적인 점수 매김 시스템 및 매개변수는 하기와 같은 차일드-푸(Child-Pugh) 스코어링 시스템을 포함한다:

차일드-푸 스코어링 시스템			
측정치	1점	2점	3점
빌리루빈(전체) $\mu\text{mol/l}$ (mg/dl)	<34(<2)	34-50(2-3)	>50(>3)
혈청 알부민 g/l	>35	28-35	<28
INR	<1.7	1.71-2.20	>2.20
복수	무	경증	중증
간 뇌증	무	등급 I-II(또는 약제에 의해 억제됨)	등급 III-IV (또는 난치성)

[0168]

[0169]

손가락 끝 광 센서를 사용한 인도사이아닌 혈장 청소를 시험, 및 싰들(Schindl) 등이 개발한 수술 후 간 기능 스코어링 시스템(Schindl M et al. 2005, Archives of Surgery 140(2):183-189)이 사용될 수 있다. 이 시스템은 락트산, 전체 빌리루빈, INR 및 수술 후 뇌증의 수준에 따라 간 기능이상을 등급화한다. 0, 1-2, 3-4, 또는 4 초과와 전체 점수를 이용하여 간 기능이상을 각각 부재, 경증, 중등도 또는 중증으로 분류한다. 추가로, 담즙염 대 인지질 비율이 평가될 수 있다.

[0170]

심장 보호. 심장 손상의 예시적인 동물 모델은 심근 경색(MI) 모델, MI 후 개형 모델, 유전자 치료 모델, 세포 치료 모델, 교차 대동맥 협착(transverse aortic constriction; TAC) 모델, 급성 허혈 뇌졸중 모델, 신장 및 사지 허혈 모델, 랑겐도르프(Langendorff) 관류 모델, 및 독소루비신 유도 심근병증 모델을 포함한다. 또한, 예를 들어 카디오바스쿨라 리서치 래버러토리(Cardiovascular Research Laboratory)(메릴랜드주 볼티모어)에 의해 싰행된 심장 손상 동물 모델을 참조한다.

[0171]

비침습적 영상화, 예컨대 자기 공명 영상화(Magnetic Resonance Imaging; MRI), 초음파, X선 컴퓨터 단층촬영(Computed Tomography; CT), 단일 광자 방출 컴퓨터 단층촬영(single photon emission computed tomography; SPECT) 및/또는 양성자 방출 단층촬영(positron emission tomography; PET)을 포함하는 심장 손상을 검출하기 위한 다양한 방법을 이용할 수 있다. 추가적인 측정은 심장초음파, 심전도, 마이크로-팁(Mikro-tip) 압력 카테터, 원격측정, 면역조직화학 및 분자 생물학적 연구를 포함할 수 있다. 미국 특허 제2002/0115936호는 호흡장기의 이동을 모니터링함으로써 심장 기능의 평가를 위한 방법 및 장치를 기재한다.

[0172]

심장 기능의 공지된 시험은 PDH 수치, 혈장 락테이트 수치 및/또는 심장 탄수화물 산화를 측정하는 것을 포함한다. 비허혈 심장 손상과 연관된 마커는 알파-2-HS-당단백질 전구체(예를 들어, 서열 번호 22); 아스포린(Asporin); ATP 생성효소 아단위 델타(미토콘드리아); 혈관 심외막 물질(예를 들어, 서열 번호 23); C6ORF142; 탄산무수화효소 1; 탄산무수화효소 3; 세룰로플라스민(Ceruloplasmin); 응고 인자 IX; 콜라겐 알파-3(VI) 사슬; 데르마토폰틴(Dermatopontin); EGF 함유 피브린 유사 세포외 매트릭스 단백질 1; 피브리노겐 감마 사슬; 피브린 -1; 피브린-2; 열 쇼크 단백질 HSP 90-베타(예를 들어, 서열 번호 24); 헤모글로빈 아단위 알파; 헤모글로빈 아단위 베타; Ig 알파-1 사슬 C 영역; Ig 알파-2 사슬 C 영역; Ig 감마-2 사슬 C 영역; Ig 람다 사슬 C 영역; Ig 뮤 사슬 C 영역; 잠복 형질전환 성장 인자 β 결합 단백질 2; 미소섬유 연관 당단백질 4; 미오신-2; 혈청 아밀로이드 A 단백질; 소르빈(Sorbin) 및 SH3 도메인 함유 단백질 2(예를 들어, 서열 번호 25); 및 소르빈 및 SH3 도메인 함유 단백질 2(예를 들어, 서열 번호 26)를 포함한다.

[0173]

허혈 심장 손상과 연관된 마커는 알파-2-HS-당단백질 전구체(예를 들어, 서열 번호 22); 알파-2-마크로글로불린; 탄산무수화효소 1; 헤모글로빈 아단위 알파; 헤모글로빈 아단위 베타; Ig 알파-1 사슬 C 영역; Ig 알파-2 사슬 C 영역; Ig 뮤 사슬 C 영역; 레이오모딘-1(예를 들어, 서열 번호 27); 미오신 조절 경쇄 MRLC2(예를 들어, 서열 번호 28); 넥실린(Nexilin)(예를 들어, 서열 번호 29); 피루베이트 탈수소효소 E1 부품 아단위 α ; 혈청 아밀로이드 A 단백질; 및 신체 형태(somatic form)를 포함한다.

[0174]

폐 보호. 급성 폐 손상을 포함하는 폐 손상의 동물 모델은 내독소(LPS)의 장기내 설치, 기계적 환기, 저산소증, 생 박테리아(이. 콜라이), 고산소증, 블레오마이신, 올레산, 맹장 결찰 및 천공, 및 산 기체에 의한 손상 유도를 포함한다. 폐 손상 모델에 관한 더 많은 정보를 위해, 문헌[World's Largest On-Line Marketplace for

Pharmaceutical Research Services]에 기재된 바와 같은 검정 데포를 참조한다.

- [0175] 폐 손상의 증상은 힘들어는, 빠른 호흡, 저혈압, 및 숨가쁨을 포함한다. 임의의 유형의 폐 기능 시험을 이용할 수 있다. 폐 기능 시험은 일반적으로 3개의 주요 영역으로 분할될 수 있다. 폐 시험의 제1 유형은 일반적으로 흡기 및 호기 노력을 가지는 상이한 환자의 용적 및 호흡 속도의 면에서 측정을 제공하는 폐활량측정이라 칭해진다. 또한, 다양한 시험 단계에서의 다양한 유속은 또한 폐활량측정 시험으로부터 생긴 데이터의 유형이다. 폐 시험의 제2 영역은 환자의 폐에 걸쳐 흡입 공기의 분포의 균일성을 결정하기 위해 설계된 일련의 절차이다. 이러한 시험에 의해, 폐 부전증은 환자의 폐포 환기가 정상일 때에도 결정될 수 있다. 폐 시험의 제3 유형은 폐포 막을 통해 흡입 공기를 확산시키는 폐의 능력에 관한 것이고, 이러한 시험은 이산화탄소에 대해 산소를 교환시킴으로써 정맥 혈액을 동맥혈로 변화시키는 폐의 능력의 표시를 제공한다.
- [0176] 호흡 용적은 대상체의 기도에 연결된 용적 흐름 감지 장치를 사용함으로써(예를 들어, 폐활량계 또는 속도계의 사용에 의해) 또는 흉부 및 복부 벽의 기계적 운동을 측정함으로써 평가될 수 있다. 변형률계 기반(바디 원주 길이의 변경의 기록), 또는 환자의 흉부 및 복부 주위에 배열된 탄성 유도성 전기 도체 루프에 기반한 흉부 및 복부 벽 이동의 기록에 의존하는 기법을 또한 이용할 수 있다. 이후, 루프의 인덕턴스의 기록은 흉부 및 복부 구획의 횡단면 변경의 규모를 예측하기 위해 이용될 수 있다. 미국 특허 제4,308,872호는 이 자가 인덕턴스 루프 예측 기술의 예이다. 이러한 방법은 보정 절차 후 호흡 용적의 정량적 측정에 사용될 수 있다.
- [0177] 특정한 실시형태에서, 폐 기능의 시험은 호흡 용적, 동맥 혈액 가스 및/또는 A-a O₂ 구배를 측정하는 것을 포함한다.
- [0178] 패혈증에 대한 보호. 패혈증 또는 전신 염증성 반응 증후군(Systemic Inflammatory Response Syndrome; SIRS)은 감염의 존재를 가지는 전신 염증성 상태를 특징으로 한다. 패혈증은 열, 빠른 호흡 및 저혈압을 발생시킬 수 있고, 심혈관계, 면역계 및 내분비계의 장기를 포함하는 모든 장기에 해가 될 수 있다.
- [0179] 패혈증의 동물 모델은 단독의 또는 박테리아(예를 들어, 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 또는 스트렙토코커스 뉴모니아에(*Streptococcus pneumoniae*))의 설치와 조합된 맹장 결찰 및 천공(CLP) 유도 패혈증을 포함한다. 패혈증 동물 모델은 톨 유사 수용체(TLR) 물질, 예컨대 리포폴리사카라이드(LPS 또는 내독소) 또는 지모산의 정맥내 또는 복강내 투여를 또한 포함한다. 다른 패혈증 모델은 상행 결장 스텐트 복막염 및 후기 면역자극 모델을 포함한다. 패혈증 모델에 관한 더 많은 정보에 대해, 문헌[World's Largest On-Line Marketplace for Pharmaceutical Research Services]에 기재된 검정 데포를 참조한다.
- [0180] 패혈증에 대한 보호는 혈압, 혈액 가스, 사이토카인 측정, 및 본 명세서에서 그 외 기재된 바와 같은 부차적인 장기 기능(예를 들어, 폐, 간, 심장, 신장 기능)을 측정함으로써 확인될 수 있다.
- [0181] 하기 실시예는 본 개시내용의 특정한 실시형태를 입증하도록 포함된다. 당해 분야의 당업자는 본 개시내용의 견지에서 많은 변경이 본 명세서에 개시된 구체적인 실시형태에 이루어질 수 있고, 본 개시내용의 정신 및 범위를 벗어나지 않으면서 동일한 또는 유사한 결과를 여전히 얻을 수 있다는 것을 인식해야 한다.
- [0182] 예시적인 실시형태.
- [0183] 1. 손상으로부터 대상체의 장기(들)를 보호하기 위한 키트로서, 키트는 치료학적 유효량의 미오글로빈, 철 및/또는 비타민 B12를 포함하되, 대상체에 대한 치료학적 유효량의 미오글로빈, 철 및/또는 비타민 B12의 투여는 장기 손상을 발생시키지 않으면서 손상으로부터 대상체의 장기(들)를 보호하는, 키트.
- [0184] 2. 손상으로부터 대상체의 장기(들)를 보호하기 위한 키트로서, 키트는 치료학적 유효량의 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12를 포함하되, 대상체에 대한 치료학적 유효량의 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12의 투여는 장기 손상을 발생시키지 않으면서 손상으로부터 대상체의 장기(들)를 보호하는, 키트.
- [0185] 3. 실시형태 2에 있어서, 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12는 조성물 내에 제제화된, 키트.
- [0186] 4. 실시형태 2 또는 3 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 헴 단백질 변이체, 헴 단백질 d-치환된 유사체, 헴 단백질 변형, 또는 이들의 조합인, 키트.
- [0187] 5. 실시형태 2-4 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 변형된 헴 단백질인, 키트.
- [0188] 6. 실시형태 5에 있어서, 변형된 헴 단백질은 아질산화 헴 단백질 또는 PEG화 헴 단백질인, 키트.
- [0189] 7. 실시형태 2-6 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈인, 키트.

- [0190] 8. 실시형태 2-7 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈 변이체 및/또는 미오글로빈 변형인, 키트.
- [0191] 9. 실시형태 8에 있어서, 변형된 미오글로빈은 아질산화 미오글로빈 또는 PEG화 미오글로빈인, 키트.
- [0192] 10. 실시형태 2-9 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제, 임의로, 아질산화 헴 단백질 분해 저해제를 추가로 포함하는, 키트.
- [0193] 11. 실시형태 10에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 조성물 내에 제제화된, 키트.
- [0194] 12. 실시형태 10 또는 11 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제 및 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12는 조성물 내에 제제화된, 키트.
- [0195] 13. 실시형태 10-12 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 헴 산화효소 저해제인, 키트.
- [0196] 14. 실시형태 13에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴, 임의로, 아질산화 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴인, 키트.
- [0197] 15. 실시형태 13 또는 14 중 어느 하나에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 금속 프로토포르피린, 임의로, 아질산화 금속 프로토포르피린인, 키트.
- [0198] 16. 실시형태 15에 있어서, 금속 프로토포르피린은 Sn-프로토포르피린인, 키트.
- [0199] 17. 실시형태 2-16 중 어느 하나에 있어서, 투여 설명서를 추가로 포함하는, 키트.
- [0200] 18. 실시형태 2-17 중 어느 하나에 있어서, 투여에 의해 발생한 장기 손상의 부재는 기준 수치와의 비교에 의해 확인된, 키트.
- [0201] 19. 실시형태 2-18 중 어느 하나에 있어서, 보호는 기준 수치와의 비교에 의해 입증된, 키트.
- [0202] 20. 실시형태 중 18 또는 19 어느 하나에 있어서, 기준 수치는 상기 키트 내에 제공된, 키트.
- [0203] 21. 실시형태 2-20 중 어느 하나에 있어서, 장기는 자극에 기초한 손상으로부터 보호된, 키트.
- [0204] 22. 실시형태 21에 있어서, 자극은 스케줄링된, 키트.
- [0205] 23. 실시형태 22에 있어서, 투여는 스케줄링된 자극 전에 적어도 8시간에 발생하는, 키트.
- [0206] 24. 실시형태 22 또는 23 중 어느 하나에 있어서, 스케줄링된 자극은 수술, 유도된 심장/뇌 허혈 재관류, 심혈관 수술, 풍선 혈관성형술, 화학치료, 신독성 약물 투여 및/또는 조영제 독성인, 키트.
- [0207] 25. 실시형태 24에 있어서, 수술은 장기 이식 수술인, 키트.
- [0208] 26. 실시형태 21에 있어서, 자극은 패혈증인, 키트.
- [0209] 27. 실시형태 2-26 중 어느 하나에 있어서, 장기는 이식된 장기인, 키트.
- [0210] 28. 실시형태 2-27 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장, 신장, 간 또는 폐인, 키트.
- [0211] 29. 실시형태 2-28 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장이고, 보호는 심장 기능의 개선 및/또는 심장 효소 방출의 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0212] 30. 실시형태 29에 있어서, 심장 효소는 트로포닌인, 키트.
- [0213] 31. 실시형태 2-30 중 어느 하나에 있어서, 장기는 신장이고, 보호는 혈중 요질소(BUN) 또는 혈청 크레아티닌 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0214] 32. 실시형태 2-31 중 어느 하나에 있어서, 장기는 간이고, 보호는 간 효소 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0215] 33. 실시형태 2-32 중 어느 하나에 있어서, 장기는 폐이고, 보호는 혈액 가스 저하의 감소, 보충 산소의 필요의 감소 및/또는 인공호흡기 요건의 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0216] 34. 대상체의 장기(들)에서 획득 세포내성을 생성하기 위한 키트로서, 키트는 치료학적 유효량의 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12를 포함하되, 대상체에 대한 치료학적 유효량의 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12의 투여는 장기 손상을 발생시키지 않으면서 대상체의 장기(들)에서 획득 세포내성을 생성하는, 키트.

- [0217] 35. 실시형태 34에 있어서, 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12는 조성물 내에 제제화된, 키트.
- [0218] 36. 실시형태 34 또는 35 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 헴 단백질 변이체, 헴 단백질 d-치환된 유사체, 헴 단백질 변형, 또는 이들의 조합인, 키트.
- [0219] 37. 실시형태 34-36 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 변형된 헴 단백질인, 키트.
- [0220] 38. 실시형태 37에 있어서, 변형된 헴 단백질은 아질산화 헴 단백질 또는 PEG화 헴 단백질인, 키트.
- [0221] 39. 실시형태 34-38 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈인, 키트.
- [0222] 40. 실시형태 34-39 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈 변이체 및/또는 미오글로빈 변형인, 키트.
- [0223] 41. 실시형태 40에 있어서, 변형된 미오글로빈은 아질산화 미오글로빈 또는 PEG화 미오글로빈인, 키트.
- [0224] 42. 실시형태 34-41 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제, 임의로 아질산화 헴 단백질 분해 저해제를 추가로 포함하는, 키트.
- [0225] 43. 실시형태 42에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 조성물 내에 제제화된, 키트.
- [0226] 44. 실시형태 42 또는 43 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제 및 헴 단백질은 동일한 조성물 내에 제제화된, 키트.
- [0227] 45. 실시형태 42-44 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 헴 산화효소 저해제인, 키트.
- [0228] 46. 실시형태 45에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴, 임의로 아질산화 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴인, 키트.
- [0229] 47. 실시형태 45 또는 46 중 어느 하나에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 금속 프로토포르피린인, 키트.
- [0230] 48. 실시형태 47에 있어서, 금속 프로토포르피린은 Sn-프로토포르피린인, 키트.
- [0231] 49. 실시형태 34-48 중 어느 하나에 있어서, 투여 설명서를 추가로 포함하는, 키트.
- [0232] 50. 실시형태 34-49 중 어느 하나에 있어서, 투여에 의해 발생한 장기 손상의 부재는 기준 수치와의 비교에 의해 확인된, 키트.
- [0233] 51. 실시형태 34-50 중 어느 하나에 있어서, 획득 세포내성은 손상으로부터 장기를 보호하는, 키트.
- [0234] 52. 실시형태 51에 있어서, 보호는 기준 수치와의 비교에 의해 입증된, 키트.
- [0235] 53. 실시형태 50 또는 52 중 어느 하나에 있어서, 기준 수치는 상기 키트 내에 제공된, 키트.
- [0236] 54. 실시형태 51-53 중 어느 하나에 있어서, 장기는 자극에 기초한 손상으로부터 보호된, 키트.
- [0237] 55. 실시형태 54에 있어서, 자극은 스케줄링된, 키트.
- [0238] 56. 실시형태 55에 있어서, 투여는 스케줄링된 자극 전에 적어도 8시간에 발생하는, 키트.
- [0239] 57. 실시형태 55 또는 56 중 어느 하나에 있어서, 스케줄링된 자극은 수술, 화학치료 또는 조영제 독성인, 키트.
- [0240] 58. 실시형태 57에 있어서, 수술은 장기 이식 수술인, 키트.
- [0241] 59. 실시형태 54에 있어서, 자극은 패혈증인, 키트.
- [0242] 60. 실시형태 34-59 중 어느 하나에 있어서, 장기는 이식된 장기인, 키트.
- [0243] 61. 실시형태 34-60 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장, 신장, 간 또는 폐인, 키트.
- [0244] 62. 실시형태 51-61 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장이고, 보호는 심장 기능의 개선 및/또는 심장 효소 방출의 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0245] 63. 실시형태 62에 있어서, 심장 효소는 트로포닌인, 키트.
- [0246] 64. 실시형태 51-63 중 어느 하나에 있어서, 장기는 신장이고, 보호는 BUN 또는 혈청 크레아티닌 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 키트.

- [0247] 65. 실시형태 51-64 중 어느 하나에 있어서, 장기는 간이고, 보호는 간 효소 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0248] 66. 실시형태 51-65 중 어느 하나에 있어서, 장기는 폐이고, 보호는 혈액 가스 저하의 감소, 보충 산소의 필요의 감소 및/또는 인공호흡기 요건의 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0249] 67. 대상체의 장기(들)에서 보호 스트레스 단백질의 발현을 상향조절하기 위한 키트로서, 키트는 치료학적 유효량의 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12를 포함하되, 대상체에 대한 치료학적 유효량의 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12의 투여는 장기 손상을 발생시키지 않으면서 대상체의 장기(들)에서 보호 스트레스 단백질의 발현을 상향조절하는, 키트.
- [0250] 68. 실시형태 67에 있어서, 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12는 조성물 내에 제제화된, 키트.
- [0251] 69. 실시형태 67 또는 68 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 헴 단백질 변이체, 헴 단백질 d-치환된 유사체, 헴 단백질 변형, 또는 이들의 조합인, 키트.
- [0252] 70. 실시형태 67-69 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 변형된 헴 단백질인, 키트.
- [0253] 71. 실시형태 70에 있어서, 변형된 헴 단백질은 아질산화 헴 단백질 또는 PEG화 헴 단백질인, 키트.
- [0254] 72. 실시형태 67-71 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈인, 키트.
- [0255] 73. 실시형태 67-72 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈 변이체 및/또는 미오글로빈 변형인, 키트.
- [0256] 74. 실시형태 73에 있어서, 변형된 미오글로빈은 아질산화 미오글로빈 또는 PEG화 미오글로빈인, 키트.
- [0257] 75. 실시형태 67-74 중 어느 하나에 있어서, 보호 스트레스 단백질은 헴 산화효소, 합토글로빈, 헤모펙신, 헵시딘, 알파-1 안티트립신, 인터류킨-10, 열 쇼크 단백질, 호중구 젤라틴분해효소 연관 리포칼린 및 HMG CoA 환원 효소로부터 선택된, 키트.
- [0258] 76. 실시형태 67-75 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제, 임의로 아질산화 헴 단백질 분해 저해제를 추가로 포함하는, 키트.
- [0259] 77. 실시형태 76에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 조성물 내에 제제화된, 키트.
- [0260] 78. 실시형태 76 또는 77 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제 및 헴 단백질은 동일한 조성물 내에 제제화된, 키트.
- [0261] 79. 실시형태 76-78 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 헴 산화효소 저해제인, 키트.
- [0262] 80. 실시형태 79에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴, 임의로 아질산화 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴인, 키트.
- [0263] 81. 실시형태 79 또는 80 중 어느 하나에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 금속 프로토포르피린인, 키트.
- [0264] 82. 실시형태 81에 있어서, 금속 프로토포르피린은 Sn-프로토포르피린인, 키트.
- [0265] 83. 실시형태 67-82 중 어느 하나에 있어서, 투여 설명서를 추가로 포함하는, 키트.
- [0266] 84. 실시형태 67-83 중 어느 하나에 있어서, 투여에 의해 발생한 장기 손상의 부재는 기준 수치와의 비교에 의해 확인된, 키트.
- [0267] 85. 실시형태 67-84 중 어느 하나에 있어서, 보호 스트레스 단백질의 상향 조절은 손상으로부터 장기를 보호하는, 키트.
- [0268] 86. 실시형태 85에 있어서, 보호는 기준 수치와의 비교에 의해 입증된, 키트.
- [0269] 87. 실시형태 84 또는 86 중 어느 하나에 있어서, 기준 수치는 키트 내에 제공된, 키트.
- [0270] 88. 실시형태 85-87 중 어느 하나에 있어서, 장기는 자극에 기초한 손상으로부터 보호된, 키트.
- [0271] 89. 실시형태 88에 있어서, 자극은 스케줄링된, 키트.
- [0272] 90. 실시형태 89에 있어서, 투여는 스케줄링된 자극 전에 적어도 8시간에 발생하는, 키트.
- [0273] 91. 실시형태 89 또는 90 중 어느 하나에 있어서, 스케줄링된 자극은 수술, 화학치료 또는 조영제 독성인,

키트.

- [0274] 92. 실시형태 91에 있어서, 수술은 장기 이식 수술인, 키트.
- [0275] 93. 실시형태 88에 있어서, 자극은 패혈증인, 키트.
- [0276] 94. 실시형태 67-93 중 어느 하나에 있어서, 장기는 이식된 장기인, 키트.
- [0277] 95. 실시형태 67-94 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장, 신장, 간 또는 폐인, 키트.
- [0278] 96. 실시형태 85-95 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장이고, 보호는 심장 기능의 개선 및/또는 심장 효소 방출의 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0279] 97. 실시형태 96에 있어서, 심장 효소는 트로포닌인, 키트.
- [0280] 98. 실시형태 85-97 중 어느 하나에 있어서, 장기는 신장이고, 보호는 BUN 또는 혈청 크레아티닌 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0281] 99. 실시형태 85-98 중 어느 하나에 있어서, 장기는 간이고, 보호는 간 효소 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0282] 100. 실시형태 85-99 중 어느 하나에 있어서, 장기는 폐이고, 보호는 혈액 가스 저하의 감소, 보충 산소의 필요의 감소 및/또는 인공호흡기 요건의 감소에 의해 입증된, 키트.
- [0283] 101. 미오글로빈, 미오글로빈 변이체, 미오글로빈 d-치환된 유사체, 미오글로빈 변형, 또는 이들의 조합, 임의로 철 및/또는 비타민 B12를 포함하는, 조성물.
- [0284] 102. 실시형태 101에 있어서, 미오글로빈은 변형된 미오글로빈인, 조성물.
- [0285] 103. 실시형태 102에 있어서, 변형된 미오글로빈은 아질산화 미오글로빈 또는 PEG화 미오글로빈인, 조성물.
- [0286] 104. 실시형태 101-103 중 어느 하나에 있어서, 미오글로빈은 미오글로빈 변이체인, 조성물.
- [0287] 105. 실시형태 101-104 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제, 임의로 아질산화 헴 단백질 분해 저해제를 추가로 포함하는, 조성물.
- [0288] 106. 실시형태 105에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 헴 산화효소 저해제인, 조성물.
- [0289] 107. 실시형태 106에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴, 임의로 아질산화 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴인, 조성물.
- [0290] 108. 실시형태 106 또는 107 중 어느 하나에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 금속 프로토포르피린인, 조성물.
- [0291] 109. 실시형태 108에 있어서, 금속 프로토포르피린은 Sn-프로토포르피린인, 조성물.
- [0292] 110. 헴 단백질 및 헴 단백질 분해 저해제, 임의로 철 및/또는 비타민 B12를 포함하는 조성물.
- [0293] 111. 실시형태 110에 있어서, 헴 단백질은 변형된 헴 단백질인, 조성물.
- [0294] 112. 실시형태 111에 있어서, 변형된 헴 단백질은 아질산화 헴 단백질 또는 PEG화 헴 단백질인, 조성물.
- [0295] 113. 실시형태 110-112 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈인, 조성물.
- [0296] 114. 실시형태 110-113 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈 변이체 및/또는 미오글로빈 변형인, 조성물.
- [0297] 115. 실시형태 114에 있어서, 변형된 미오글로빈은 아질산화 미오글로빈 또는 PEG화 미오글로빈인, 조성물.
- [0298] 116. 실시형태 110-115 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 헴 산화효소 저해제인, 조성물.
- [0299] 117. 실시형태 116에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴, 임의로 아질산화 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴인, 조성물.
- [0300] 118. 실시형태 116 또는 117 중 어느 하나에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 금속 프로토포르피린인, 조성물.
- [0301] 119. 실시형태 118에 있어서, 금속 프로토포르피린은 Sn-프로토포르피린인, 조성물.
- [0302] 120. 장기에 대한 손상이 발생하기 전에 치료학적 유효량의 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12를 대상체에게 투

여하는 단계를 포함하는 손상으로부터 대상체의 장기(들)를 보호하는 방법으로서, 투여 단계는 장기 손상을 발생시키지 않으면서 손상으로부터 대상체의 장기(들)를 보호하는, 방법.

- [0303] 121. 실시형태 120에 있어서, 조성물은 변형된 헴 단백질을 포함하는, 방법.
- [0304] 122. 실시형태 121에 있어서, 변형된 헴 단백질은 아질산화 헴 단백질 또는 PEG화 헴 단백질인, 방법.
- [0305] 123. 실시형태 120-122 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈인, 방법.
- [0306] 124. 실시형태 120-123 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈 변이체 및/또는 미오글로빈 변형인, 방법.
- [0307] 125. 실시형태 124에 있어서, 변형된 미오로빈은 아질산화 미오글로빈 또는 PEG화 미오글로빈인, 방법.
- [0308] 126. 실시형태 120-125 중 어느 하나에 있어서, 조성물은 헴 단백질 분해 저해제, 임의로 아질산화 헴 단백질 분해 저해제를 추가로 포함하는, 방법.
- [0309] 127. 실시형태 120-126 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제, 임의로 아질산화 헴 단백질 분해 저해제를 포함하는 제2 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0310] 128. 실시형태 126 또는 127 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 헴 산화효소 저해제인, 방법.
- [0311] 129. 실시형태 128에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴, 임의로 아질산화 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴인, 방법.
- [0312] 130. 실시형태 128 또는 129 중 어느 하나에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 금속 프로토포르피린인, 방법.
- [0313] 131. 실시형태 130에 있어서, 금속 프로토포르피린은 Sn-프로토포르피린인, 방법.
- [0314] 132. 실시형태 120-131 중 어느 하나에 있어서, 투여에 의해 발생한 장기 손상의 부재는 기준 수치와의 비교에 의해 확인된, 방법.
- [0315] 133. 실시형태 120-132 중 어느 하나에 있어서, 보호는 기준 수치와의 비교에 의해 입증된, 방법.
- [0316] 134. 실시형태 120-133 중 어느 하나에 있어서, 손상은 자극에 기초한 손상인, 방법.
- [0317] 135. 실시형태 134에 있어서, 자극은 스케줄링된, 방법.
- [0318] 136. 실시형태 135에 있어서, 투여는 스케줄링된 자극 전에 적어도 8시간에 발생하는, 방법.
- [0319] 137. 실시형태 135 또는 136 중 어느 하나에 있어서, 스케줄링된 자극은 수술, 화학치료 또는 조영제 독성인, 방법.
- [0320] 138. 실시형태 137에 있어서, 수술은 장기 이식 수술인, 방법.
- [0321] 139. 실시형태 134에 있어서, 자극은 패혈증인, 방법.
- [0322] 140. 실시형태 120-139 중 어느 하나에 있어서, 장기는 이식된 장기인, 방법.
- [0323] 141. 실시형태 120-140 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장, 신장, 간 또는 폐인, 방법.
- [0324] 142. 실시형태 120-141 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장이고, 보호는 심장 기능의 개선 및/또는 심장 효소 방출의 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0325] 143. 실시형태 142에 있어서, 심장 효소는 트로포닌인, 방법.
- [0326] 144. 실시형태 120-143 중 어느 하나에 있어서, 장기는 신장이고, 보호는 BUN 또는 혈청 크레아티닌 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0327] 145. 실시형태 120-144 중 어느 하나에 있어서, 장기는 간이고, 보호는 간 효소 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0328] 146. 실시형태 120-145 중 어느 하나에 있어서, 장기는 폐이고, 보호는 혈액 가스 저하의 감소, 보충 산소의 필요의 감소 및/또는 인공호흡기 요건의 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0329] 147. 치료학적 유효량의 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12을 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를

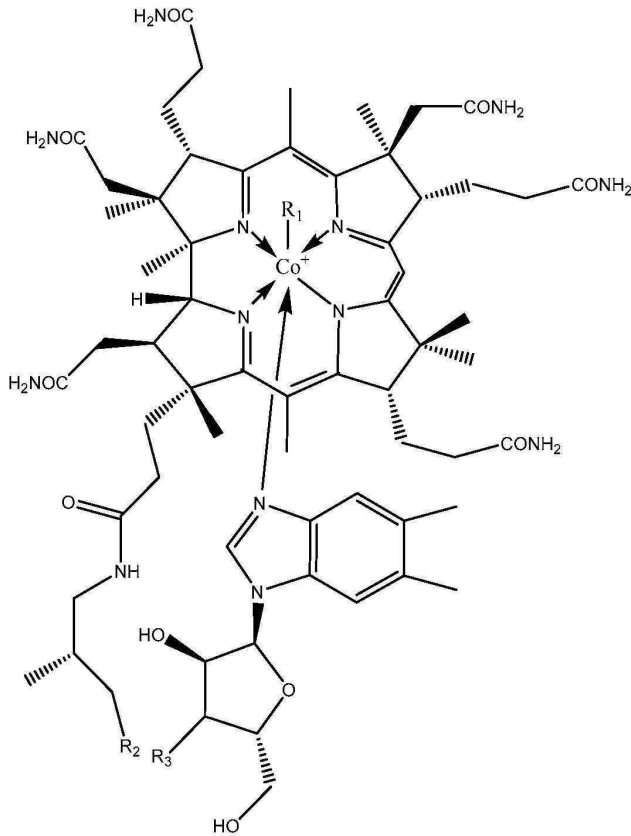
포함하는 대상체의 장기(들)에서 획득 세포내성을 생성하는 방법으로서, 투여 단계는 장기 손상을 발생시키지 않으면서 획득 세포내성을 생성하는, 방법.

- [0330] 148. 실시형태 147에 있어서, 조성물은 변형된 헴 단백질을 포함하는, 방법.
- [0331] 149. 실시형태 148에 있어서, 변형된 헴 단백질은 아질산화 헴 단백질 또는 PEG화 헴 단백질인, 방법.
- [0332] 150. 실시형태 147-149 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈인, 방법.
- [0333] 151. 실시형태 147-150 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈 변이체 및/또는 미오글로빈 변형인, 방법.
- [0334] 152. 실시형태 151에 있어서, 변형된 미오글로빈은 아질산화 미오글로빈 또는 PEG화 미오글로빈인, 방법.
- [0335] 153. 실시형태 147-152 중 어느 하나에 있어서, 조성물은 헴 단백질 분해 저해제를 추가로 포함하는, 방법.
- [0336] 154. 실시형태 147-153 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제, 임의로 아질산화 헴 단백질 분해 저해제를 포함하는 제2 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0337] 155. 실시형태 153 또는 154 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 헴 산화효소 저해제인, 방법.
- [0338] 156. 실시형태 155에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴, 임의로 아질산화 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴인, 방법.
- [0339] 157. 실시형태 155 또는 156 중 어느 하나에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 금속 프로토포르피린인, 방법.
- [0340] 158. 실시형태 157에 있어서, 금속 프로토포르피린은 Sn-프로토포르피린인, 방법.
- [0341] 159. 실시형태 147-158 중 어느 하나에 있어서, 투여에 의해 발생한 장기 손상의 부재는 기준 수치와의 비교에 의해 확인된, 방법.
- [0342] 160. 실시형태 147-159 중 어느 하나에 있어서, 획득 세포내성은 손상으로부터 장기를 보호하는, 방법.
- [0343] 161. 실시형태 160에 있어서, 보호는 기준 수치와의 비교에 의해 입증된, 방법.
- [0344] 162. 실시형태 160 또는 161 중 어느 하나에 있어서, 손상은 자극에 기초한 손상인, 방법.
- [0345] 163. 실시형태 162에 있어서, 자극은 스케줄링된, 방법.
- [0346] 164. 실시형태 163에 있어서, 투여는 스케줄링된 자극 전에 적어도 8시간에 발생하는, 방법.
- [0347] 165. 실시형태 163 또는 164 중 어느 하나에 있어서, 스케줄링된 자극은 수술, 화학치료 또는 조영제 독성인, 방법.
- [0348] 166. 실시형태 165에 있어서, 수술은 장기 이식 수술인, 방법.
- [0349] 167. 실시형태 162에 있어서, 자극은 패혈증인, 방법.
- [0350] 168. 실시형태 147-167 중 어느 하나에 있어서, 장기는 이식된 장기인, 방법.
- [0351] 169. 실시형태 147-168 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장, 신장, 간 또는 폐인, 방법.
- [0352] 170. 실시형태 160-169 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장이고, 보호는 심장 기능의 개선 및/또는 심장 효소 방출의 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0353] 171. 실시형태 170에 있어서, 심장 효소는 트로포닌인, 방법.
- [0354] 172. 실시형태 160-171 중 어느 하나에 있어서, 장기는 신장이고, 보호는 BUN 또는 혈청 크레아티닌 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0355] 173. 실시형태 160-172 중 어느 하나에 있어서, 장기는 간이고, 보호는 간 효소 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0356] 174. 실시형태 160-173 중 어느 하나에 있어서, 장기는 폐이고, 보호는 혈액 가스 저하의 감소, 보충 산소의 필요의 감소 및/또는 인공호흡기 요건의 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0357] 175. 치료학적 유효량의 헴 단백질, 철 및/또는 비타민 B12를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를

포함하는 대상체의 장기(들)에서 보호 스트레스 단백질의 발현을 상향조절하는 방법으로서, 투여 단계는 장기 손상을 발생시키지 않으면서 대상체의 장기에서 보호 스트레스 단백질의 발현을 상향조절하는, 방법.

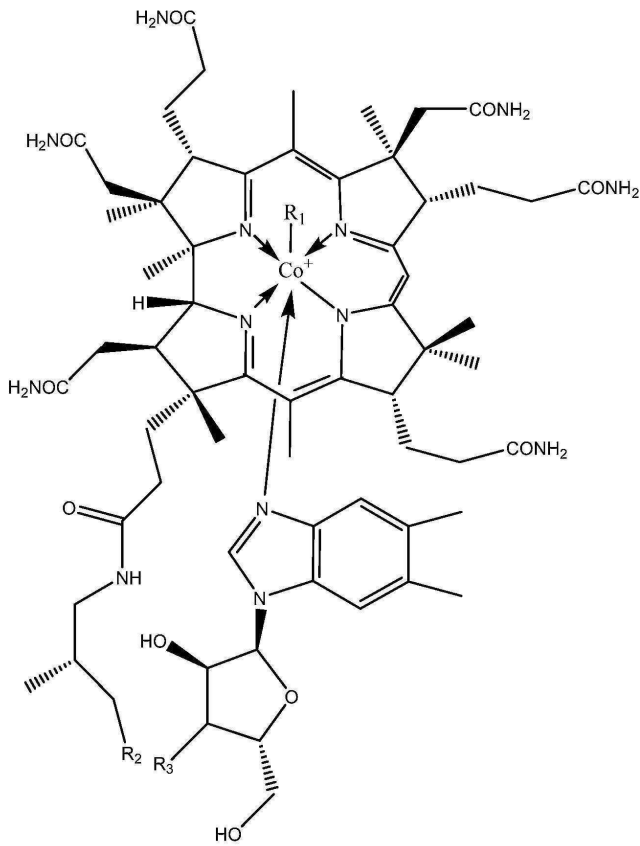
- [0358] 176. 실시형태 175에 있어서, 보호 스트레스 단백질은 헴 산화효소, 합토글로빈, 헤모펙신, 헵시딘, 알파-1 안티트립신, 인터류킨-10, 열 쇼크 단백질, 호중구 젤라틴분해효소 연관 리포칼린 및/또는 HMG CoA 환원효소로부터 선택된, 방법.
- [0359] 177. 실시형태 175 또는 176 중 어느 하나에 있어서, 조성물은 변형된 헴 단백질을 포함하는, 방법.
- [0360] 178. 실시형태 177에 있어서, 변형된 헴 단백질은 아질산화 헴 단백질 또는 PEG화 헴 단백질인, 방법.
- [0361] 179. 실시형태 175-178 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈인, 방법.
- [0362] 180. 실시형태 175-179 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질은 미오글로빈 변이체 및/또는 미오글로빈 변형인, 방법.
- [0363] 181. 실시형태 180에 있어서, 변형된 미오글로빈은 아질산화 미오글로빈 또는 PEG화 미오글로빈인, 방법.
- [0364] 182. 실시형태 175-181 중 어느 하나에 있어서, 조성물은 헴 단백질 분해 저해제, 임의로 아질산화 헴 단백질 분해 저해제를 추가로 포함하는, 방법.
- [0365] 183. 실시형태 175-182 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제, 임의로 아질산화 헴 단백질 분해 저해제를 포함하는 제2 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0366] 184. 실시형태 182 또는 183 중 어느 하나에 있어서, 헴 단백질 분해 저해제는 헴 산화효소 저해제인, 방법.
- [0367] 185. 실시형태 184에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴, 임의로 아질산화 프로토포르피린, 헤민 및/또는 헤마틴인, 방법.
- [0368] 186. 실시형태 184 또는 185 중 어느 하나에 있어서, 헴 산화효소 저해제는 금속 프로토포르피린인, 방법.
- [0369] 187. 실시형태 186에 있어서, 금속 프로토포르피린은 Sn-프로토포르피린인, 방법.
- [0370] 188. 실시형태 175-187 중 어느 하나에 있어서, 투여에 의해 발생한 장기 손상의 부재는 기준 수치와의 비교에 의해 확인된, 방법.
- [0371] 189. 실시형태 175-188 중 어느 하나에 있어서, 보호 스트레스 단백질의 상향조절된 발현은 손상으로부터 장기를 보호하는, 방법.
- [0372] 190. 실시형태 189에 있어서, 보호는 기준 수치와의 비교에 의해 입증된, 방법.
- [0373] 191. 실시형태 189 또는 190 중 어느 하나에 있어서, 손상은 자극에 기초한 손상인, 방법.
- [0374] 192. 실시형태 191에 있어서, 자극은 스케줄링된, 방법.
- [0375] 193. 실시형태 192에 있어서, 투여는 스케줄링된 자극 전에 적어도 8시간에 발생하는, 방법.
- [0376] 194. 실시형태 192 또는 193 중 어느 하나에 있어서, 스케줄링된 자극은 수술, 화학치료 또는 조영제 독성인, 방법.
- [0377] 195. 실시형태 194에 있어서, 수술은 장기 이식 수술인, 방법.
- [0378] 196. 실시형태 191에 있어서, 자극은 패혈증인, 방법.
- [0379] 197. 실시형태 175-196 중 어느 하나에 있어서, 장기는 이식된 장기인, 방법.
- [0380] 198. 실시형태 175-197 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장, 신장, 간 또는 폐인, 방법.
- [0381] 199. 실시형태 189-198 중 어느 하나에 있어서, 장기는 심장이고, 보호는 심장 기능의 개선 및/또는 심장 효소 방출의 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0382] 200. 실시형태 199에 있어서, 심장 효소는 트로포닌인, 방법.
- [0383] 201. 실시형태 189-200 중 어느 하나에 있어서, 장기는 신장이고, 보호는 BUN 또는 혈청 크레아티닌 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 방법.

- [0384] 202. 실시형태 189-201 중 어느 하나에 있어서, 장기는 간이고, 보호는 간 효소 증가의 예방 또는 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0385] 203. 실시형태 189-202 중 어느 하나에 있어서, 장기는 폐이고, 보호는 혈액 가스 저하의 감소, 보충 산소의 필요의 감소 및/또는 인공호흡기 요건의 감소에 의해 입증된, 방법.
- [0386] 204. 실시형태 1-203 중 어느 하나에 있어서, 조성물은 정맥내 전달, 경구 전달, 피하 전달 또는 근육내 전달을 위해 제제화된, 방법.
- [0387] 205. 실시형태 1-204 중 어느 하나에 있어서, 조성물은 서방 방출 데포 내에 제제화된, 방법.
- [0388] 206. 하기 구조를 포함하는 물질의 조성물:



- [0389]
- [0390] 식 중, R₁은 5'-데옥시아테노실, CH₃, OH 또는 CN이고; R₂는 OH 또는 H이고; R₃은 OH 또는 H이다.

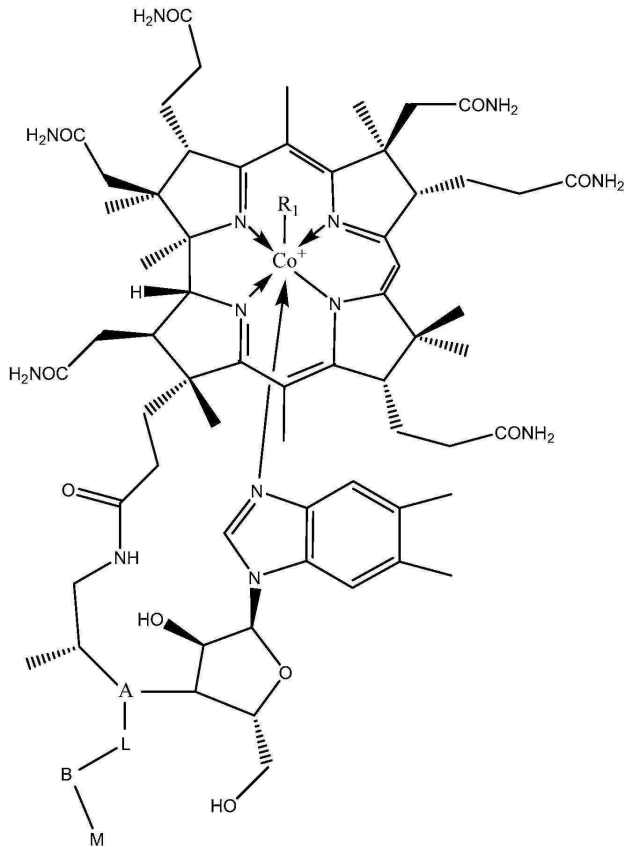
[0391] 207. 실시형태 1-205 중 어느 하나에 있어서, B12가 하기 구조를 가지는 실시형태:



[0392] 식 중, R₁은 5'-데옥시아데노실, CH₃, OH 또는 CN이고; R₂는 OH 또는 H이고; R₃은 OH 또는 H이다.

[0394] 208. 상기 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 대상체에 대한 투여를 통한 장기에 대한 투여이기보다는, 투여는 직접적으로 장기에 대한 것인, 실시형태.

[0395] 209. 하기 구조를 포함하는 물질의 조성물:



[0396]

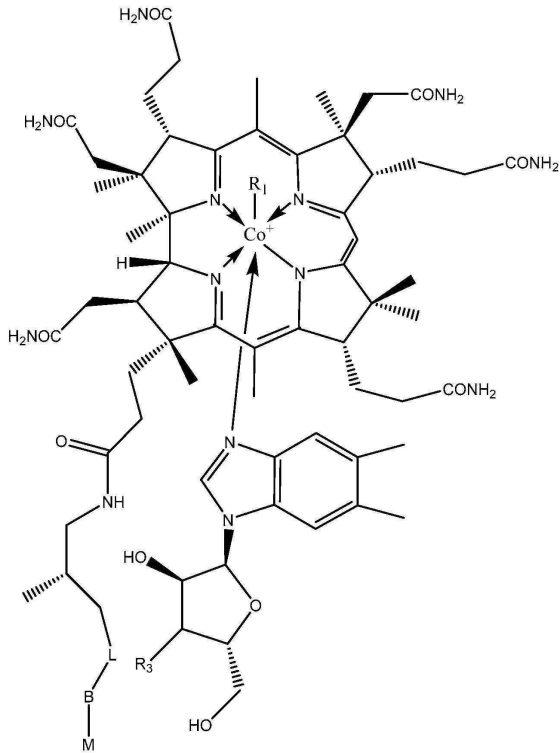
[0397] 식 중, R₁은 5'-데옥시아데노실, CH₃, OH 또는 CN이고; A는 포스페이트기이고, L은 링커이고, B는 사카라이드 기반 구조이고, M은 사카라이드 기반 구조에 의해 복합체화된 금속이다.

[0398] 210. 실시형태 209에 있어서, A는 PO₄이고, L은 하이드라존 링커이고, B는 사카라이드 기반 구조이고, M은 Fe인, 물질의 조성물.

[0399] 211. 실시형태 209 또는 210에 있어서, B는 10-16개의 탄소 원자, 9-15개의 산소개의 원자 및 16-28개의 수소 원자를 가지는, 물질의 조성물.

[0400] 212. 실시형태 209, 210 또는 211에 있어서, B는 수크로스로부터 유래한, 물질의 조성물.

[0401] 213. 하기 구조를 포함하는 물질의 조성물:



[0402]

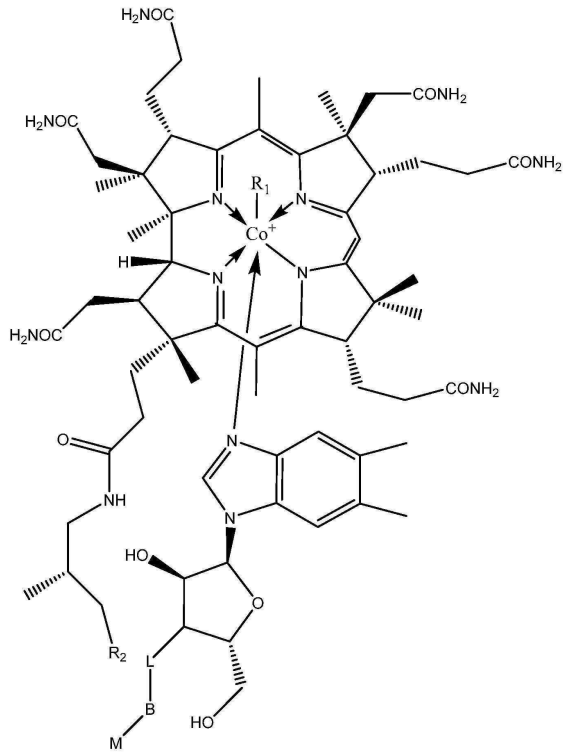
[0403] 식 중, R_1 은 5'-데옥시아데노실, CH_3 , OH 또는 CN이고; R_3 은 OH 또는 H이고; L은 링커이고, B는 사카라이드 기반 구조이고, M은 사카라이드 기반 구조에 의해 복합체화된 금속이다.

[0404] 214. 실시형태 213에 있어서, L은 하이드라존 링커이고, M은 Fe인, 물질의 조성물.

[0405] 215. 실시형태 213 또는 214에 있어서, B는 10-16개의 탄소 원자, 9-15개의 산소개의 원자 및 16-28개의 수소 원자를 가지는, 물질의 조성물.

[0406] 216. 실시형태 213, 214 또는 215에 있어서, B는 수크로스로부터 유래한, 물질의 조성물.

[0407] 217. 하기 구조를 포함하는 물질의 조성물:



[0408]

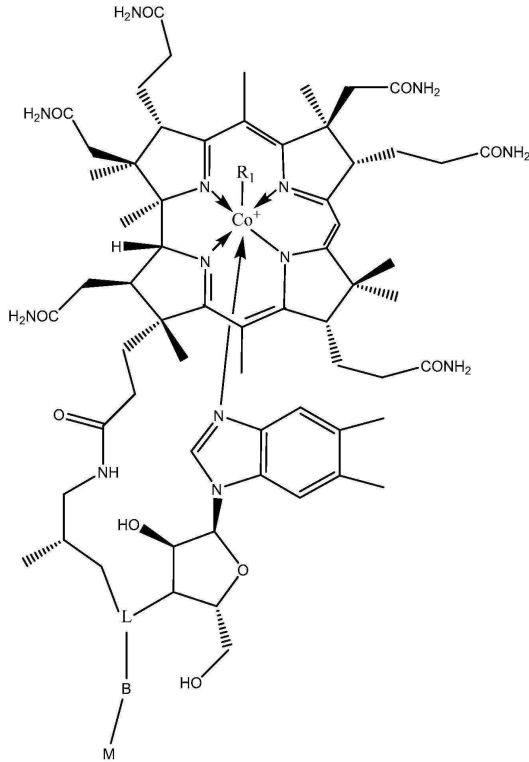
[0409] 식 중, R_1 은 5'-데옥시아데노실, CH_3 , OH 또는 CN 이고; R_3 은 OH 또는 H이고; L은 링커이고, B는 사카라이드 기반 구조이고, M은 사카라이드 기반 구조에 의해 복합체화된 금속이다.

[0410] 218. 실시형태 217에 있어서, L은 하이드라존 링커이고, M은 Fe인, 물질의 조성물.

[0411] 219. 실시형태 217 또는 218에 있어서, B는 10-16개의 탄소 원자, 9-15개의 산소개의 원자 및 16-28개의 수소 원자를 가지는, 물질의 조성물.

[0412] 220. 실시형태 217, 218 또는 219에 있어서, B는 수크로스로부터 유래한, 물질의 조성물.

[0413] 221. 하기 구조를 포함하는 물질의 조성물:



[0414]

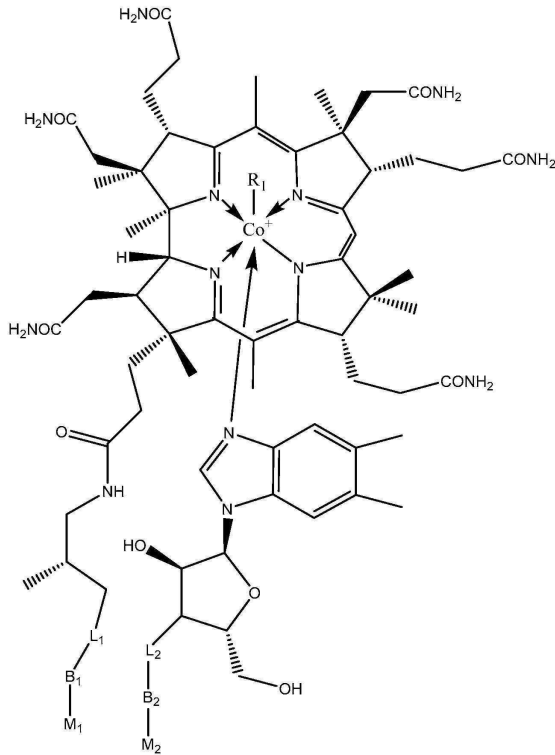
[0415] 식 중, R_1 은 5'-데옥시아데노실, CH_3 , OH 또는 CN이고; L은 링커이고, B는 사카라이드 기반 구조이고, M은 사카라이드 기반 구조에 의해 복합체화된 금속이다.

[0416] 222. 실시형태 221에 있어서, L은 하이드라존 링커이고, M은 Fe인, 물질의 조성물.

[0417] 223. 실시형태 221 또는 222에 있어서, B는 10-16개의 탄소 원자, 9-15개의 산소개의 원자 및 16-28개의 수소 원자를 가지는, 물질의 조성물.

[0418] 224. 실시형태 221, 222 또는 223에 있어서, B는 수크로스로부터 유래한, 물질의 조성물.

[0419] 225. 하기 구조를 포함하는 물질의 조성물:



[0420]

[0421]

식 중, R_1 은 5'-데옥시아데노실, CH_3 , OH 또는 CN 이고; L_1 은 제1 링커이고, L_2 는 제2 링커이고, B_1 은 제1 사카라이드 기반 구조이고, B_2 는 제2 사카라이드 기반 구조이고, M_1 은 사카라이드 기반 구조에 의해 복합체화된 제1 금속이고, M_2 는 제2 금속이다.

[0422]

226. 실시형태 225에 있어서, L_1 및 L_2 는 각각 독립적으로 하이드라존 링커이고, M_1 및 M_2 는 각각 독립적으로 Fe 인, 물질의 조성물.

[0423]

227. 실시형태 225 또는 226에 있어서, B_1 및 B_2 는 각각 독립적으로 10-16개의 탄소 원자, 9-15개의 산소개의 원자 및 16-28개의 수소 원자를 포함하는, 물질의 조성물.

[0424]

228. 실시형태 225, 226 또는 227에 있어서, B_1 및 B_2 는 각각 독립적으로 수크로스로부터 유래한, 물질의 조성물.

[0425]

실시에 1. 신장 보호. 하기 프로토콜을 이용하여 도 1-4 및 표 1-7에 기재된 데이터를 수집하였다:

[0426]

AKI의 글라이세롤 모델. 이것은 50년 동안 세계적으로 사용된 횡문근융해증 유도 AKI의 널리 사용된 모델이다. 모델을 이용하여 예방학적 중재가 AKI에 대한 보호를 부여하는지를 시험하였다. 기본적으로, 프로토콜은 하기와 같다: 찰스 리버 래버러토리즈(Charles River Laboratories)(매사추세츠주 윌밍턴)로부터 얻은 수컷 CD-1 마우스(35-45그램)를 연구하였다. 마우스를 표준 사육장 조건 하에 유지시키고, 일반적으로 연구 전에 1-3주 동안 감금하였다. 마우스를 원통형 제한 우리에 위치시키고, 이후 시험 물질(하기 참조) 또는 시험 물질 비히클을 꼬리 정맥 주사하였다. 이후, 마우스를 이의 우리로 돌려보냈다. 18시간(h) 후, 마우스를 아이소플루란 흡입에 의해 알게 마취시키고, 9mL/kg 체중의 용량으로 고장성(50%) 글라이세롤을 근육내 주사하였다. 용량을 2개로 분할하고, 절반을 각각의 뒷다리의 근육에 주사하였다. 이후, 마우스를 이의 우리로 돌려보냈다. 18시간 후, 마우스를 펜토바르비탈(50-100mg/kg)에 의해 깊게 마취시키고, 복강을 정중선 복부 절개를 통해 개복하고, 혈액 샘플을 복부 대정맥으로부터 얻고, 신장을 절제하였다. 신장 횡단면을 얻고 후속하는 조직학적 분석을 위해 포말린 중에 고정하였다. 상업적으로 구입 가능한 검정 키트를 이용하여 BUN 및 크레아티닌에 대해 말단 혈액 샘플을 분석하였다. 남은 신장 조직을 피질 절개로 처리하고, 이후 피질 조직을 단백질 및 RNA에 대해 추출하였다. 단백질 샘플을 HO-1 수치의 분석을 위해 비축하고, RNA 샘플을 RT-PCR로 처리하여 HO-1 mRNA 및 다른 스트레스 유전자 mRNA(예를 들어, NGAL, 합토글로빈, 헤모팩신, 헤피시딘)의 수치를 정량화하였다.

- [0427] 시험 준비: 동결건조된 말 골격근(미오글로빈)(시그마 케미칼즈(Sigma Chemicals))을 시험 물질로서 사용하였다.
- [0428] 미오글로빈 + SnPP: 5mg의 건조 미오글로빈에 0.9ml의 PBS + 0.1ml의 스탁 SnPP 용액(50umole/ml)을 첨가하였다. 생성된 최종 농도는 5mg/ml의 미오글로빈 + 5umoles/ml의 SnPP이었다. 꼬리 정맥에 200 μ l의 이 용액을 주사하였고, 이것은 1mg의 미오글로빈 + 1 μ mole의 SnPP에 동등하다.
- [0429] 아질산화 미오글로빈: Na 아질산염을 미오글로빈에 첨가하여 미오글로빈(예를 들어, 1-5umole의 아질산염/1 μ mole의 미오글로빈)에 대한 1-5mole/mole 비율을 달성하였다. 생성된 최종 농도는 5-10mg/ml의 미오글로빈 + 0.04-0.4mg/ml의 아질산염이었다. 꼬리 정맥에 200 μ l의 이 용액을 주사하였다.
- [0430] 미오글로빈 + PEG: PBS 중의 20mg/ml Mgb의 스탁 용액에 100mg/ml의 PEG-6000; .250 μ l를 첨가하였다. 이것을 등쪽 목에서 피하 주사로서 투여하였다(250 μ l의 전체 주사). 조합된 Mgb/PEG + SnPP의 경우, SnPP를 3mg/ml의 농도로 상기에 첨가하였다.
- [0431] 이것은 상기 기재된 바와 같은 글라이세롤 AKI 모델에 대한 보호를 평가하기 위해 마우스에 투여된 시험 재료이다.
- [0432] 각각의 시험 물질의 독립적 효과: 미오글로빈 + SnPP가 미오글로빈 단독 또는 SnPP 단독보다 더 큰 효과를 가지는지를 평가하기 위해, 상기 기재된 바와 같은 동일한 용액을 하기한 바대로 생성하였다: 미오글로빈 + SnPP; SnPP 단독 또는 미오글로빈 단독. 이것을 상기 기재된 글라이세롤 모델에서 사용하였다.
- [0433] 미오글로빈 대 미오글로빈 + SnPP 대 SnPP 단독 실험 후 4시간. 미오글로빈 + SnPP가 HO-1 mRNA 및 HO-1 단백질 수치를 유도하는 데 있어서 상승작용 효과를 가지는지를 확인하기 위해, 상기 조합의 각각을 꼬리 정맥 주사를 통해 단독으로 투여하였다. 4시간 후, 마우스를 상기 기재된 바대로 희생시키고, HO-1 mRNA 및 단백질 수치의 평가를 위해 신장을 수확하였다. 방법에 관한 추가적인 정보를 위해, 문헌[Zager et al., Am J Physiol Renal Physiol. 2014 Jul 30. pii]을 참조한다.

표 1

SnPP는 단독의 미오글로빈(HO-1/GAPDH mRNA)에 비해 주사 후 4시간에 HO-1 mRNA 유도의 양을 4배가 되게 한다

	4시간 IV 대조군	4시간 IV 미오글로빈	4시간 IV SnPP	4시간 IV 미오글로빈 및 SnPP
	1.80	2.58	6.95	13.80
	2.49	2.41	2.85	12.05
	1.50	7.78	9.72	13.51
		2.93	8.25	12.36
평균	1.93	3.93	6.94	12.93
표준 오차	0.29	1.29	1.48	0.43
(대조군에 대한) 비대칭적 p		0.25	0.036	0.000006
(Ovnt 미오글로빈에 대한) 비대칭적 p			0.17	0.00057
(Ovnt SnPP에 대한) 비대칭적 p				0.0080

[0434]

- [0435] 표 2에 기재된 바대로, 4시간 시점에서, (ELISA에 의해) HO-1 단백질 발현이 우선적으로 증가하였다. 이것이 주사 후 바로 4시간이라는 것을 고려하면, 단백질 합성이 mRNA 유도 후에 발생해야 해서 더 많은 시간을

요하므로, mRNA 증가는 단백질 증가보다 크다.

표 2

4시간 시점에 (ELISA에 의한) HO-1 단백질 발현의 우선적 증가(피질: HO-1(ng)/단백질(mg))

	4시간 IV PBS	4시간 IV 담체 (0.01N NaOH)	4시간 IV 1mg 미오글로빈	4시간 IV 1 μ mole SnPP	4시간 IV 1mg 미오글로빈 및 1 μ mole SnPP
	12.6	20.2	64.7	53.6	68.8
	12.9	22.8	36.0	32.2	41.7
	15.6		40.7	31.5	88.6
	13.1		40.2	20.5	86.4
평균	13.5	21.5	45.4	34.4	71.4
표준 오차	0.7	1.3	6.5	6.9	10.8
(대조군에 대한) 비대칭적 p		0.0037	0.0028	0.024	0.0018
(담체 - 0.01N NaOH에 대한) 비대칭적 p			0.071	0.28	0.038
(IV 미오글로빈에 대한) 비대칭적 p				0.29	0.086
(IV SnPP에 대한) 비대칭적 p					0.028

[0436]

[0437]

표 3은 SnPP와 조합된 미오글로빈에 대한 미오글로빈 단독(HO-1/GAPDH mRNA)에 대해 주사 후 거의 18시간에(밤새) HO-1 mRNA 유도를 보여준다.

표 3

대조군(PBS), 단독의 미오글로빈(HO-1/GAPDH mRNA) 및 SnPP와 조합된 미오글로빈에 의한 주사 후 밤새 HO-1 mRNA 유도.

대상체	Ovnt IV 대조군(PBS)	Ovnt IV 1mg 미오글로빈	Ovnt IV 1mg 미오글로빈 + 1 μ mole SnPP
1	0.28	0.51	0.75
2	0.47	0.71	2.26
3	0.62	0.53	6.76
평균	0.46	0.58	3.26
표준 오차	0.10	0.06	1.81
(정상에 대한) 비대칭적 p		0.35	0.20
(IV 미오글로빈에 대한) 비대칭적 p			0.21

[0438]

[0439]

표 4는 SnPP와 조합된 미오글로빈에 대한 미오글로빈 단독(HO-1/GAPDH mRNA)에 대해 대조군 주사 후 거의 18시간에(밤새) HO-1 단백질 유도를 보여준다.

표 4

대조군, 단독의 미오글로빈(HO-1/GAPDH mRNA) 및 SnPP와 조합된 미오글로빈에 의한 주사 후 발현 HO-1 단백질 유도.

대상체	Ovnt IV 대조군(PBS)	Ovnt IV lmg 미오글로빈	Ovnt IV lmg 미오글로빈 + 1 μ mole SnPP
1	24.8	24.6	61.4
2	16.0	50.6	93.6
3	20.6	34.9	102.6
평균	20.5	36.7	85.9
표준 오차	2.5	7.6	12.5
(대조군에 대한) 비대칭적 p		0.11	0.0068
(미오글로빈에 대한) 비대칭적 p			0.028
상관관계 단백질 대 mRNA r =			0.80

[0440]

[0441]

도 1A 및 도 1B는 글라이세롤 자극 전에 18시간에 비히클(대조군), 미오글로빈(Mgb) 또는 SnPP(Mgb + SnPP)와 조합된 미오글로빈 투여 후 HO mRNA 발현(도 1A) 및 단백질 발현(도 1B)을 보여준다. 데이터는 동시적 SnPP 처리에 의한 미오글로빈 유도된 HO-1 유도의 강화가 존재한다는 것을 나타낸다.

[0442]

표 5는 담체 대조군과 비교하여 미오글로빈 단독 또는 PEG와 조합된 미오글로빈에 대한 노출 후 합토글로빈 단백질 발현의 유도를 보여준다. 데이터는 미오글로빈 + PEG가 미오글로빈 단독보다 세포보호 합토글로빈 발현의 더 높은 증가를 유도한다는 것을 입증한다.

표 5

SQ 주사 후 4시간 시점에 합토글로빈 단백질 발현.

대조군	미오글로빈 단독	미오글로빈 + PEG
9.5 ± 2.9ng/mg 단백질	32.7 ± 6.3ng/mg 단백질	118.8 ± 20ng/mg 단백질
		대조군에 대한 p<001; 단독의 미오글로빈에 대한 p<0.025

[0443]

[0444]

표 6은 간, 신장, 폐 및 심장 손상의 민감성 마커인 혈장 LDH 수치를 보여준다. 미오글로빈 + SnPP는 4시간 시점에 LDH 증가를 발생시키지 않았다.

표 6

미오글로빈 + SnPP는 4시간 시점에 LDH 증가를 발생시키지 않는다[(혈장: 흡광율 U LDH/ml)]

대상체	4시간 IV 담체	4시간 IV 미오글로빈	4시간 IV SnPP	4시간 IV 미오글로빈 및 SnPP
1		4.54	4.54	5.06
2		4.91	5.29	5.63
3	5.36	4.54	5.00	5.78
4	3.49	3.90	3.23	3.30
평균	4.43	4.47	4.51	4.94
표준 오차	0.94	0.21	0.46	0.57
(담체에 대한) 비대칭적 p		0.95	0.93	0.64
(미오글로빈에 대한) 비대칭적 p			0.94	0.47
(SnPP에 대한) 비대칭적 p				0.58

[0445]

[0446] 도 2 왼쪽 패널은 글라이세롤 자극 후 세포 신장 손상을 보여주고, 도 2 오른쪽 패널은 SnPP와 조합된 미오글로빈에 의한 전처리의 보호 효과를 보여준다.

[0447] 도 3은 N-Mgb + SnPP가 인터류킨-10(IL-10)인 보호 스트레스 단백질을 우선적으로 상승시킨다는 것을 보여준다.

[0448] 도 4는 N-Mgb + SnPP가 합토클로빈인 보호 스트레스 단백질을 상승시킨다는 것을 보여준다.

[0449] 실시예 2. 간 보호. 자극 후 24시간에 혈장 LDH 수치에 의해 간독성 손상을 평가하였다. 간 자극은 9ml/kg의 글라이세롤 주사를 포함하였다(이것은 신장 손상을 발생시키기 위해 사용된 동일한 모델이다). 간 손상은 혈장 LDH를 3.5로부터 114단위/ml로 상승시켰다. 미오글로빈/SnPP 전처리에 의해, 혈장 LDH 수치는 75%만큼 감소하였다.

표 7

공격 후 24시간에 혈장 LDH 수준에 의해 평가된 간독성 손상.

대상체 번호	대조군	간 손상	간 손상 + 미오글로빈 + SnPP
1	3.7	4.4	
2	2.1	130.1	10.4
3	3.9	69.5	20.9
4	4.1	87.5	60.2
5		128.3	38.9
6		155.4	61.3
평균	3.5	114.2	32.7
표준 오차	0.5	15.6	10.1
비대칭적 t 시험 (손상 +/- 미오글로빈 + SnPP)			p<0.0014

[0450]

[0451] 실시예 1 및 2에 기재된 데이터는 헴 단백질, 변형된 헴 단백질 및 헴 단백질 분해 저해제와 조합된 헴 단백질이 글라이세롤 자극으로 인한 손상으로부터 신장 및 간을 보호한다는 것을 보여준다. 보호는 손상의 마커(LDH), 장기 기능(BUN 및 크레아티닌) 및 보호 스트레스 단백질(HO-1 및 합토클로빈)의 유도를 통해 입증된다.

[0452] 실시예 3. 도 5는 미오글로빈 독성의 발현에 대해 미오글로빈 Fe에 결합한 등몰량의 아질산염의 영향을 평가를 보여준다. HK-2 세포(정상 인간 신장으로부터 유래한 근위 세뇨관 세포주)를 정상(대조군) 조건 하에 또는 10mg/ml의 말 골격근 미오글로빈 또는 아질산화 미오글로빈(10mg/ml의 미오글로빈에 대한 등몰량의 Na 아질산염 첨가에 의해 생성됨)의 존재 하에 각질세포 혈청 비함유 배지 중에 항온처리하였다. 18시간 항온처리 후, MTT 검정에 의해 세포 손상의 중증도(세포사(%))를 평가하였다. 미오글로빈은 대조군 항온처리된 세포와 비교하여 40%의 세포사(MTT 세포 흡수의 40% 감소)를 유도하였다. 미오글로빈에 대한 아질산염 결합은 세포사를 75%만큼 감소시켰다. 따라서, 아질산염 결합은 미오글로빈의 세포독성 효과를 감소시킬 수 있다.

[0453] 도 6은 혈장 헴 산화효소 1(HO-1)과 투여된 N-미오글로빈 용량 사이의 용량 반응 관계식을 보여준다. 정상 마우스에 0, 1, 2 또는 5mg/kg의 아질산화 미오글로빈 + SnPP(1mmole의 일정한 용량)를 IM 주사하였다. 18시간 후, ELISA에 의해 혈장 HO-1 수치를 평가하였다. 투여된 N-미오글로빈 용량과 혈장 HO-1 수치 사이의 가파른 용량 반응 관계식이 관찰되었다. 따라서, HO-1 검정은 N-Mgb/SnPP 유도된 HO-1 유도에 대한 가능한 바이오마커 이용성을 가진다.

[0454] 도 7은 N-미오글로빈 용량의 25배 변경에 대한 정상 혈청 크레아티닌 수치의 유지를 보여준다. 마우스를 1, 3, 6, 12 또는 25mg/kg의 아질산화 미오글로빈(1μmole의 일정한 용량에서 SnPP를 유지)의 2시간 피하 점적주사로 처리하였다. 18시간 후, 혈청 크레아티닌 농도를 측정함으로써 가능한 신장 손상을 평가하였다. 유의미한 증가가 어떠한 N-Mgb 용량에서도 관찰되지 않아서, 과독성의 부족을 나타낸다(n, 2-4마리의 마우스/군).

[0455] 실시예 4. 도입. 급성 신장 손상(AKI)은 만성 신장 질환의 이환율, 사망률 및 개시에 대한 훌륭히 인식된 위험 인자이다(CKD; Ishani et al. J Am Soc Nephrol 2009;20:223-8; Xue et al. J Am Soc Nephrol 2006;17:1135-

42; Liangos et al. Clin J Am Soc Nephrol 2006;1:43-51; Wald et al. JAMA 2009; 302:1179-85; Goldberg et al. Kidney Int 2009;76:900-6). 그러나, AKI를 예방하기 위한 증명된 방식이 현재 존재하지 않는다. 초기 한 차례의 허혈 또는 독성 손상 후, 신장이 후속하는 손상에 대해 현저한 저항을 진행시킨다는 것이 훌륭히 확립되었다(예를 들어, Honda et al. Kidney Int 1987;31:1233-8; Zager et al. Kidney Int 1984;26:689-700; Zager et al. Lab Invest 1995;72:592-600; Zager, Kidney Int 1995;47:1336-45; Zager, Kidney Int 1995;47:628-37). 부분적으로 세포보호 및 소염 "스트레스" 단백질(예를 들어, 헴 산화효소 1(HO-1), 페리틴, 합토클로빈, 헤모팩신, 알파 1 안티트립신, 인터류킨 10(IL-10))의 상향조절에 의해 매개되는 이 현상은 "허혈성 양상화" 또는 "획득 세포내성" 상태라 칭해진다. Zager et al. J Am Soc Nephrol 2014;25:998-1012; Deng et al. Kidney Int 2001;60: 2118-28; Zarjou et al. J Clin Invest 2013;123:4423-34; Nath et al. J Clin Invest 1992;90:267-70; Zager et al. Am J Physiol 2012;303:F1460-72; Fink, J Leukoc Biol 2009;86:203-4 Arredouani et al. Immunology 2005;114:263-71; Blum et al. J Am Coll Cardiol 2007; 49:82-7; Galicia et al. Eur J Immunol 2009;39:3404-12; Zager et al. Am J Physiol 2012;303:F139-48; Zager et al. PLoS One 2014;9:e9838; Hunt & Tudor, Curr Mol Med 2012;12:827-35; Janciauskiene et al. J Biol Chem 2007;282:8573-82.

[0456] 획득 세포내성의 심오한 보호 성질을 고려하여, 조사자들은 인간에서 이것을 안전하게 재항복시키는 방식을 찾았다. 주목할 만한 이와 관련하여 소위 "원격 양상화"이고, 이로써 되풀이되는 한차례의 상지 및 하지 허혈은 혈압 커프를 되풀이하여 팽창시키고 수축시킴으로써 유도된다. Yang et al. Am J Kidney Dis 2014;64:574-83; Mohd et al. J Surg Res 2014;186:207-16; Li et al. J Cardiothorac Surg 2013;8:43. 목표는 전신 순환으로 알려지지 않은 조직 "컨디셔닝 인자"를 방출시켜서 (예를 들어, 뇌, 심장, 간 및 신장에서) 보호 조직 반응을 촉발하는 것이다. 이 관심에도 불구하고, 이 접근법은 아마도 하기 이유로 인해 오직 의심스러운 성공을 가졌다: (1) "양상화"를 유도하는 허혈 후 사지로부터 방출된 "인자" 및 이 상태를 유도하기 위해 얼마나 많은 인자 방출이 필요한지는 알려져 있지 않고; (2) 이러한 인자가 세포내성을 유도하기에 먼 장기에 영향을 미치는 세포 경로가 정의되지 않았고; (3) 원하는 양상화가 임의의 소정의 개인에서 실제로 발생하는지를 판단하는 것이 불가능하다.

[0457] 획득 세포내성을 유도하기 위한 대안적인 접근법이 추구되었다. 이를 위해, 명확한 신장 또는 신장의 독성의 부재 하에 신장 세뇨관 세포 세포보호제(예를 들어, HO-1, 합토클로빈 및 IL-10)의 숙주를 현저하게 그리고 상승 작용으로 상향조절하는, 저용량 아질산화 미오글로빈(N-Mgb) + 주석 프로토포르피린(SnPP)을 포함하는, 약리학 적 섭생이 개발되었다. 물질 투여의 18시간 내에, 신독성 AKI에 대한 두드러진 내성, 아테노신 트라이포스페이트(ATP) 고갈 유도 AKI 및 AKI 후 CKD로의 진행이 생겼다. 또한, 허혈 후 및 독성 손상에 대한 간 보호가 발견된다. 마지막으로, 이 세포내성 상태의 유도가 이의 유도의 "바이오마커"로서 혈장 HO-1 및 합토클로빈 수치를 사용함으로써 비침습적으로 측정될 수 있다는 것이 관찰되었다.

[0458] 방법. 일반적인 접근법. 동물. 수컷 CD-1 마우스(35-45g; 찰스 리버 래버러토리즈(매사추세츠주 윌밍턴))를 사용하여 모든 실험을 수행하였다. 이들을 도처에서 음식 및 물에 자유로이 접근하게 하면서 표준 사육장 조건 하에 감금하였다. 이용된 프로토콜은 미국 국립 보건원 가이드라인에 따라 장기 동물 관리 및 사용 위원회(Institutional Animal Care and Utilization Committee; IACUC)에 의해 승인되었다.

[0459] 세포내성 유도 시약. 주요 세포내성 유도제로서 말 골격근(#M0360; 시그마)을 사용하였다. 그러나, 미오글로빈(Mgb)이 고유 신독성 가능성(특히 용적 고갈 및 산뇨의 조건 하에)을 가지므로, 2개의 접근법을 이용하여 Mgb의 가능한 부작용을 완화시켰다. 처음에, 동물량의 나트륨(Na) 아질산염의 첨가에 의해 Mgb를 아질산화 형태로 전환시켰다. 이와 관련하여, 아질산염은 이의 산소 또는 질소 성분을 통해 미오글로빈 Fe에 직접적으로 1:1 결합하는 암비덴테이트 분자이다. Cotton et al. Advanced inorganic chemistry. Hoboken, NJ: Wiley-Interscience, 1999:1355; Silaghi-Dumitrescu et al. Nitric Oxide 2014; 42C:32-9. 주목하게는, Fe는 Mgb의 세포독성 효과의 우세한 중개자이고(Zager et al. J Clin Invest 1992;89:989-95; Zager & Burkhart, Kidney Int 1997;51:728-38), 이 독성은 이전의 아질산염 결합에 의해 실질적으로 감소한다. Rassaf et al. Circ Res 2014;114:1601-10; Totzeck et al. Circulation 2012;126:325-34 [J Clin Invest 1992;89: 989-95]; Totzeck et al. PLoS One 2014;22:e105951; Hendgen-Cotta et al. Proc Natl Acad Sci US A 2008;105:10256-61.

[0460] Fe 매개 독성을 감소시키는 이의 능력 이외에, 아질산염은 가능하게는 일산화질소(NO) 생성을 통해 "원격 양상화"의 중개자로서 연루된다. 상기 라사프(Rassaf) 문헌 참조. 이와 관련하여, 헴 단백질은 NO를 생성시키면서 아질산염을 직접적으로 감소시킨다. Juncos et al. Am J Pathol 2006;169:21-31; Kellerman, J Clin Invest 1993;92:1940-9; Zager et al. Am J Physiol 2008;294:F187-97. 따라서, Mgb에 아질산염을 직접적으로 결합시

김으로써, 후속하는 근위 세뇨관 식균작용 흡수에 의한 Mgb 주사는 직접적인 근위 세뇨관 아질산염 및 NO 표적화를 발생시킨다.

- [0461] 둘째로, 헴 Fe가 이의 세포독성의 대부분을 유도시키기 위해, 이것은 포르피린 고리 내의 이의 격리 부위로부터 처음에 방출되어야 한다. 이 Fe 방출은 HO-1을 통해 포르피린 고리 절단을 통해 매개된다. 그러므로, 가능한 Mgb 세포독성을 약화시키기 위해, 이것은 SnPP인 일시적인 HO-1 저해제와 함께 투여된다. 이와 관련하여, Mgb 노출된 배양된 근위 세뇨관(HK-2) 세포 또는 생체내 헴 로딩된 마우스 근위 세뇨관 분절에 대한 SnPP 첨가가 85%만큼이나 Mgb 독성을 감소시킨다는 것이 이전에 보고되었다. Zager & Burkhart, *Kidney Int* 1997;51:728-38. 이 세포보호 작용은 SnPP가 허혈 후 급성 신부전(ARF)을 완화시킬 수 있다는 관찰에 의해 더욱 나타난다. Juncos et al. *Am J Pathol* 2006;169:21-31; Kaizu et al. *Kidney Int* 2003;63:1393-403.
- [0462] 신장 피질 헴 신호전달에 대한 Mgb, SnPP 및 Mgb 1 SnPP의 영향. (1) N-Mgb가 강력한 신호전달 분자이어서, 세포보호 활성화(예를 들어, HO-1, 합토클로빈, 헤모팩신 및 IL-10)을 일으키는, 헴 반응성 요소 및 산화환원 민감성 유전자를 상향조절하고; (2) SnPP가 이러한 유전자를 독립적으로 상향조절할 수 있고; (3) 함께 투여될 때, N-Mgb + SnPP 동시투여가 상가작용 또는 상승작용 헴 반응성 요소 신호전달을 발생시킬 수 있다는 것이 상정되었다. 하기 실험은 이 가설을 시험하였다.
- [0463] 32마리의 마우스를 4개의 동일한 군으로 나눴다: (1) 대조군 마우스; (2) (꼬리 정맥을 통해 볼루스로서) 1mg의 N-Mgb 주사에 의해 처리된 마우스; (3) (꼬리 정맥을 통해) 1mmol의 SnPP에 의해 처리된 마우스; 및 (4) 조합된 N-Mgb 1 SnPP에 의해 처리된 마우스. 4시간(n = 16) 또는 18시간(n = 16) 후, 마우스를 펜토바르비탈(50mg/kg)에 의해 깊게 마취시키고, 복강을 정중선 복부 절개를 통해 개복하고, 신장을 제거하였다. 신장의 장기에 대한 가능한 효과를 결정하기 위해, 간엽 및 심장을 또한 제거하였다. 조직을 차갑게 얼리고, 이후 단백질 및 RNA(RNeasy Plus Mini; 퀴아젠(캘리포니아주 발렌시아))에 대해 추출하고, HO-1, 합토클로빈, 및 IL-10 단백질 및 메신저 RNA(mRNA)에 대해 효소 연결 면역흡착 검정(ELISA) 및 역전사효소 중합효소 사슬 반응(RT-PCR)으로 처리하였다. Zager et al. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:998-1012; Zager et al. *Am J Physiol* 2012;303:F139-48. 신장 기능의 평가로서, 대조군 마우스 및 18시간 후 N-Mgb + SnPP 처리된 마우스는 측정된 혈중 요질소(BUN) 및 혈장 크레아티닌 수치를 가졌다. 추가적으로, 횡방향 10% 포말린 고정 신장 절편(3mm)을 절단하고 헤마톡실린 및 에오신(H&E) 및 주기적 산 시프(periodic acid Schiff; PAS)에 의해 염색하여 가능한 손상을 추가로 평가하였다.
- [0464] 세포내성의 평가. 횡문근융해증 유도 AKI의 글라이세롤 모델. 20마리의 마우스를 이전에 기재된 바대로 4개의 동일한 군으로 나눴다(대조군, N-Mgb, SnPP에 의해 처리된 마우스, 및 N-Mgb + SnPP 꼬리 정맥 주사에 의해 처리된 마우스). 18시간 후, 마우스를 아이소플루란에 의해 얇게 마취시키고, 9ml/kg의 50% 글라이세롤을 즉시 주사하고, 각각의 뒷다리에 동등하게 분할된 용량을 투여하였다. 글라이세롤 주사 후 18시간에, 마우스를 펜토바르비탈에 의해 마취시키고, 복강을 개복하고, BUN 및 크레아티닌 평가를 위한 혈액 샘플을 대정맥으로부터 얻고, 신장을 절제하였다. 대조군 글라이세롤 후 군 및 N-Mgb + SnPP 전처리 글라이세롤 군은 H&E에 의해 염색된 신장 절편을 가졌다.
- [0465] AKI의 말레에이트 모델. 설치류에게 주사할 때, 말레에이트는 유기 음이온 수송체를 통해 선택적 근위 세뇨관 흡수를 겪고 심오한 근위 세뇨관 특이적 ATP 고갈을 유도한다. Kellerman, *J Clin Invest* 1993;92:1940-9; Zager et al. *Am J Physiol* 2008;294:F187-97. 이것은 중증 AKI로 끝난다. 하기 실험은 N-Mgb + SnPP 전처리가 이 형태의 신장 손상을 보호할 수 있는지를 평가하였다. 12마리의 마우스를 2개의 동일한 군으로 나눴고, 이것은 N-Mgb-SnPP 또는 비히클 주사를 받았다. 18시간 후, 이들은 모두 Na 말레에이트(600mg/kg)의 복강내(IP) 주사를 받았다. Zager et al. *Am J Physiol* 2008;294:F187-97. 18시간 후, 마우스를 마취시키고, BUN 및 크레아티닌 측정을 위해 말단 혈액 샘플을 하대정맥으로부터 얻었다.
- [0466] 허혈 후 CKD로의 AKI 진행. 편측 신장 허혈의 30분 후, 손상된 신장은, 40%의 신장 질량(신장 중량) 소실로 끝나는 진행성 세뇨관 탈락, 간질 염증, 및 섬유증으로 나타난, CKD로의 이행을 겪는다. Zager et al. *Am J Physiol* 2011;301:F1334-45; Zager et al. *Kidney Int* 2013;84:703-12. N-Mgb-SnPP 처리가 허혈 후 질환 진행을 완화시키는지를 확인하기 위해, 6마리의 마우스를 이 물질에 의해 전처리하고, 18시간 후 이들을 펜토바르비탈에 의해 마취시키고, 37°C의 체온에서 중앙선 복부 절제를 통해 수행된 왼쪽 신장 백서(pedicle) 폐색의 30분으로 처리하였다.
- [0467] 오른쪽 신장을 만지지 않고 두었다. 신장 허혈의 기간 후, 맥관 클램프를 제거하고 완전한 재관류는 신장 청색증의 소실에 의해 확인되었다. 이후, 마우스를 봉합하고 마취로부터 회복되게 하였다. N-Mgb-SnPP 전처리가 없

음을 제외하고 동일한 수술 프로토콜로 처리된 6마리의 마우스는 대조군으로서 작용한다. 2주 후, 복부 절제를 다시 개복하고 신장을 절제하였다. 6마리의 정상 마우스로부터의 왼쪽 신장의 중량에 대한 (신장 습식 중량에 의해 결정된 바대로) 왼쪽 신장 질량의 소실에 의해 2개의 군 사이의 신장 손상의 상대 정도를 평가하였다. 신장 손상의 추가적인 마커로서 신장 피질 호중구 젤라틴분해효소 관련 리포칼린(NGAL) mRNA 및 단백질 수치를 또한 평가하였다.

[0468] IP N-Mgb-SnPP 주사 후 용량 반응 관계식. (정맥내 [IV] 볼루스 주사를 통한 것에 대해) N-Mgb-SnPP의 더 느린 전달 속도가 세포보호 단백질 및 신장 세포내성의 상향조절을 유도하는지를 또한 평가하기 위해, 마우스에 0, 1, 2.5 또는 5mg의 N-Mgb 1, 표준 SnPP 용량(1mmol)(각각 3마리의 마우스; 1mL의 식염수 비히클)을 주사하였다. 18시간 후, 마우스를 펜토바르비탈에 의해 마취하고, 혈액 샘플을 얻고, 신장을 절제하여 HO-1 및 합토클로빈 mRNA 및 단백질 수치를 결정하였다. 혈장 HO-1 및 합토클로빈 수치가 상승하고 신장 HO-1 및 합토클로빈 상향조절의 정도를 반영하는지를 시험하기 위해, 혈장 HO-1 및 합토클로빈 수치를 또한 결정하였다.

[0469] 이전에 결정된 혈장 및 신장 HO-1 및 합토클로빈 수치가 세포내성의 정도와 상관되는지를 평가하기 위해, 추가적인 마우스에 0, 2.5 또는 5mg의 N-Mgb 1, 1mmol의 SnPP(군마다 n = 3마리의 마우스)를 주사하였다. 18시간 후, 모든 마우스를 이전에 기재된 바대로 글라이세롤 AKI 모델로 처리하였다. BUN 및 혈장 크레아티닌 분석에 의해 글라이세롤 주사 후 18시간에 AKI의 중증도를 결정하였다.

[0470] 간 허혈 실험. 14마리의 마우스를 25분 동안 5개 중 3개의 간엽에 (문맥삼분지에서) 혈류를 폐색함으로써 수행된 이전에 공개된 부분 간 허혈 모델로 처리하였다. Zager et al. Am J Physiol Renal Physiol 2014;307:F856-68. 마우스의 절반을 이전에 기재된 바대로 1mg N-Mgb + 1mmol SnPP에 의해 초기에 18시간에 의해 전처리하였다. 3개의 관여한 간엽에서 정상 간 색상의 복원에 의해 허혈 기간 후 재관류를 평가하였다. 18시간 후, 마우스를 다시 마취시키고, 복강을 다시 개복하고, 허혈 후 간 손상의 마커로서 혈장 알라닌 아미노전환효소(ALT) 및 락테이트 탈수소효소(LDH) 수치에 대해 말단 혈액 샘플을 얻었다.

[0471] 간독성 손상. N-Mgb-SnPP가 간 손상의 독성 형태에 대해 보호할 수 있는지를 평가하기 위해, 12마리의 마취된 마우스는 50% 글라이세롤의 주사를 받았다. 글라이세롤(8mg/kg)은 문맥 순환을 통해 간세포 흡수를 장려하도록 IP 주사를 통해 제공되었다. 마우스의 절반을 이전에 기재된 바대로 N-Mgb-SnPP(1mg Mgb/1mmol SnPP)에 의해 초기에 18시간에 전처리하였다. IP 글라이세롤 주사 후 4시간에, 마우스가 여전히 마취되었을 때, 이것을 복부 대정맥의 가로절단을 통해 희생시켰다. 혈장 ALT 농도에 의해 급성 간 손상의 정도를 측정하였다.

[0472] 계산 및 통계. 모든 값은 평균 6의 평균 표준 오차로 제공된다. 비대칭적 스튜던트 t 시험에 의해 통계 비교가 이루어졌다. 복수의 비교가 이루어지면, 본페로니(Bonferroni) 보정을 적용하였다. 글라이세롤 AKI 모델에서의 신장 조직학적 손상의 중증도를 11 내지 41 스케일(최저 내지 최고의 중증 세뇨관 괴사 및 원주 형성이 관찰됨)로 등급화하였다. 조직학적 결과를 윌콕슨(Wilcoxon) 순위 합계 시험에 의해 비교하였다. 통계 유의성은 <0.05의 P 값으로 취해졌다.

[0473] 결과. IV N-Mgb + SnPP 주사 후 신장 기능 및 조직학. BUN 증가도 혈장 크레아티닌 증가도 1mg N-Mgb + SnPP의 IV 주사 후 18시간에 관찰되지 않았다(각각 BUN, 22 ± 3 대 25 ± 3 mg/dL; 크레아티닌, 0.32 ± 0.03 대 0.30 ± 0.04 mg dL; 대조군 대 Mgb/SnPP 처리). 더욱이, PAS 또는 H&E 염색에 의해 입증된 바대로 신장 형태학적 손상의 증가가 없었다. 특히, 세뇨관 괴사 또는 헴 원주 형성의 증가가 치료군에서 명확하지 않았다(도 8 참조). PAS 염색에 의해 도식된 원위 세뇨관 술 가장자리는 완전히 온전히 남아 있었다(상부 2개의 패널). 이와 관련하여, 술 가장자리 기포 및 근위 세뇨관 내강으로의 팽윤은 세뇨관 손상의 매우 민감한 광학 현미경 마커인 것으로 판단된다. Venkatachalam et al. Kidney Int 1978;14:31-49; Donohoe et al. Kidney Int 1978;13:208-22. 따라서, 이 데이터는 IV N-Mgb-SnPP 처리가 신장에 의해 매우 관용적이라는 것을 나타낸다.

[0474] HO-1, IL-10 및 합토클로빈 발현에 대한 단독 및 조합의 IV N-Mgb 및 SnPP의 영향. 신장 HO-1 평가. 도 9에 도식된 바대로, 왼쪽 패널, N-Mgb 단독 및 SnPP 단독은 4시간 HO-1 mRNA 수치의 오직 보통의 증가를 발생시켰다. 반대로, 조합된 N-Mgb + SnPP 주사 후 4시간에 HO-1 mRNA의 20배 증가가 관찰되었다. 치료 후 18시간에, 이 mRNA 증가는 대조군 값보다 7배 높은 현저한 HO-1 단백질 증가로 변환되었다. 반대로, 18시간 시점에 N-Mgb 단독 또는 SnPP 단독에 의해 오직 비교적 작은 HO-1 단백질 증가가 관찰되었다. 요약하면, 이 4시간 mRNA 및 18시간 HO-1 단백질 증가는 신장 피질 HO-1 유전자 발현에 대한 N-Mgb + SnPP의 상승작용 효과를 나타낸다. (추가적인 HO-1 mRNA[18시간] 및 단백질 데이터[4시간]가 표 8에 제시되어 있다).

표 8

Rx 처리 후 4시간(a) 및 18시간(b)에 신장 mRNA 및 단백질 값

측정된 물질	대조군	N-Mgb	SnPP	SnPP 1N-Mgb
(a) Rx 처리 후 4시간에				
신장 mRNA				
HO-1	0.61 ± 0.1	3.38 ± 0.38	4.38 ± 0.28	10.5 ± 1.23 (<0.0001)
합토글로빈	0.20 ± 0.06	1.94 ± 0.31	0.19 ± 0.01	5.45 ± 1.16 (<0.005)
IL-10	0.56 ± 0.20	1.45 ± 0.6	0.39 ± 0.15	5.18 ± 1.23 (<0.005)
HO-1 단백질	13.3 ± 1.3	36.1 ± 2.9	22.9 ± 2.6	55.5 ± 3.7 (<0.001)
합토글로빈	7.9 ± 1.9	17.6 ± 1	13.1 ± 1.3	18.9 ± 2.7 (<0.001)
IL-10	304 ± 29	265 ± 54	550 ± 86	838 ± 63 (<0.001)
(b) Rx 처리 후 18시간에				
신장 mRNA				
피질				
HO-1	0.61 ± 0.1	0.58 ± 0.18	0.63 ± 0.06	1.45 ± 0.61 (NS)
합토글로빈	0.20 ± 0.06	0.24 ± 0.04	0.23 ± 0.08	0.4 ± 0.19 (NS)
IL-10	0.56 ± 0.20	0.43 ± 0.10	0.18 ± 0.09	0.57 ± 0.13 (NS)
신장 단백질				
HO-1	13.3 ± 1.3	30 ± 6	18 ± 2	71 ± 10 (<0.001)
합토글로빈	10.3 ± 2.7	183.8 ± 20.4	53.5 ± 17.2	203 ± 8 (<0.0001)
IL-10	304 ± 29	292 ± 54	454 ± 51	840 ± 60 (<0.001)

약어: HO-1, 헵 옥시게나아제 1; IL-10, 인터류킨 10; mRNA, 메신저 RNA; N-Mgb, 아질산화 미오글로빈; NS, 유의적이 아님; Rx, 처리; SnPP, 주석 프로토포포르핀.

주사 후 4시간(a) 및 18시간(b)에 단독으로 또는 조합으로 투여된 시험 물질에 의해 유도된 개별 신장 피질 mRNA 및 단백질 수치.

[0475]

[0476]

신장 IL-10 평가. 도 10에 도시된 바대로, 왼쪽 패널, N-Mgb 단독 및 SnPP 단독은 4시간 시점에 IL-10 mRNA 수치에 최소 영향을 가지거나 가지지 않았다. 반대로, 조합된 N-Mgb + SnPP는 주사 후 4시간에 10배 IL-10 mRNA 증가를 발생시켰다. 이 결과에 상응하게 N-Mgb 단독 또는 SnPP 주사 단독 후 18시간에 IL-10 단백질 증가의 부재가 있었다. 정반대로, 조합된 N-Mgb-SnPP 주사 후 18시간에 IL-10 단백질의 2배 초과 증가가 관찰되었다. (추가적인 IL-10 mRNA[18시간] 및 단백질 데이터[4시간]가 표 8에 제시되어 있다).

[0477]

신장 피질 합토글로빈 평가. HO-1 및 IL-10에서처럼, N-Mgb + SnPP의 조합은 물질 주사 후 4시간에 가장 높은 합토글로빈 mRNA 증가를 유도하였다(도 11). 주사 후 18시간에, N-Mgb-SnPP 주사에 반응하여 신장 피질 합토글로빈 단백질 수치의 엄청난(20배) 증가가 관찰되었다. 그러나, 합토글로빈 단백질 수치는 18시간 시점에 N-Mgb 단독에 의해 동등하게 증가하였다. 이것은 이것이 18시간 합토글로빈 단백질 증가를 만드는 조합된 치료의 N-Mgb 성분이라는 것을 암시한다. (이 엄청난 증가를 고려하여, 조합 치료에 의해 추가된 증가가 유도되지 않을 수 있다는 것이 고안 가능하다). 추가적인 합토글로빈 mRNA(18시간) 및 단백질 데이터(4시간)가 표 8에 제시되어 있다.

[0478]

글라이세롤 AKI 모델의 중증도에 대한 IV N-Mgb 단독, SnPP 단독 및 N-Mgb + SnPP의 영향. 도 12에 도시된 바대로, SnPP 단독에 의한 전처리는 글라이세롤 유도 AKI의 중증도에 사실상 영향을 갖지 않았다. N-Mgb 단독은 BUN/크레아티닌 수치에 의해 판단된 바대로 보통의 보호를 유도하였다. 그러나, N-Mgb + SnPP가 함께 사용될 때, 완전한 기능 보호가 관찰되었다(BUN/크레아티닌 수치는 정상 값으로 있었다). 공존적인 조직학적 보호가 또한 관찰되었다(글라이세롤 대 N-Mgb + SnPP 처리군에 대한 3.5 ± 0.25 대 1.25 ± 0.25 조직학적 점수; $P <$

0.05). 이와 관련하여, 비처리된 글라이세롤 군은 이전에 기재된 바대로 널리 퍼진 세뇨관 괴사 및 원주 형성을 입증하였다. Zager et al. Am J Physiol Renal Physiol 2014;307:F856-68. 이 변화는 N-Mgb + SnPP 전처리 군에서 사실상 부재하였다.

- [0479] 말레에이트 AKI 모델. 도 13에 도시된 바대로, 말레에이트 주사는 현저한 BUN/크레아티닌 증가에 의해 표시된 바대로 중증 신장 손상을 발생시켰다. N-Mgb + SnPP에 의한 전처리는 거의 정상의 BUN/크레아티닌 수치에 의해 표시된 바대로 이 손상에 대해 거의 완전한 보호를 부여하였다.
- [0480] 도 14는 말레에이트 유도된 심장독성이 N-Mgb + SnPP에 의한 전처리에 의해 감소한다는 것을 보여준다. 마우스를 1mg/kg의 N-미오글로빈 + 1mmole의 SnPP 또는 IV 비히클 주사에 의해 처리하였다. 18시간 후, 800mg/kg의 말레에이트를 IP 투여하였다. 심근 손상의 정도를 (ELISA에 의해) 혈장 트로포닌 I 농도를 측정함으로써 말레에이트 주사 후 18시간에 결정하였다. 말레에이트 주사는 혈장 트로포닌 수치의 10배 증가를 발생시켰다. N-Mgb+SnPP에 의한 전처리는 말레에이트 유도된 트로포닌 증가를 75%만큼 감소시켰다.
- [0481] 허혈 후 AKI 모델. 허혈 후 2주에, 허혈 후 왼쪽 신장 질량의 38% 감소가 대조군 편측 허혈 마우스에서 관찰되었다(도 15). 반대로, 오직 12% 감소가 예방학적 N-Mgb + SnPP 처리를 받은 마우스에서 관찰되었다($P < 0.005$). 이 신장 손상의 감소는 N-Mgb-SnPP 전처리 군에서 NGAL mRNA 및 단백질 수치의 현저한 감소로 또한 표시되었다(도 15).
- [0482] 신장 피질 및 혈장 HO-1/합토글로빈 수치와 글라이세롤 유도 AKI에 대한 보호의 정도의 용량 반응 관계식. 도 16에 도시된 바대로, 정상 마우스로의 IP N-Mgb 투약량의 진행성 증가는 신장 피질 및 혈장 HO-1 및 합토글로빈 수치의 진행성 증가를 생성하였다. 혈장과 신장 피질 HO-1과 합토글로빈 수치 사이의 유의미한 상관관계가 관찰되었다(예를 들어, 신장 피질과 혈장 합토글로빈 수치 사이에 $r = 0.82$). 더욱이, 이 증가하는 N-Mgb 용량은 글라이세롤 AKI 모델에 대한 진행성(50%; 100%) 보호와 연관된다(도 17). 따라서, 이 데이터는 혈장 HO-1 또는 합토글로빈 증가의 정도가 N-Mgb-SnPP 유도 신장 유전자 유도의 바이오마커 및 후속하는 ARF에 대한 내성의 정도로서 작용할 수 있다는 것을 암시한다. 5mg의 N-Mgb(+표준 SnPP 용량)를 투여함에도 불구하고, 신장 손상(정상 BUN, 크레아티닌; 도 17, 오른쪽 패널 참조)의 증거가 관찰되지 않았다.
- [0483] 간 평가. N-Mgb/SnPP 주사에 반응한 간에서의 간 HO-1, IL-10 및 합토글로빈 발현. HO-1, IL-10 및 합토글로빈 mRNA(4시간) 및 단백질 수치(18시간)에 대한 대조군 값에 대한 배수 증가가 도 18, 상부 패널에 도시되어 있다. 각각의 현저한 증가가 관찰되었다. 단독 또는 조합된 각각의 물질에 대한 개별 값이 표 9에 제공된다.

표 9

Rx 처리 후 4시간(a) 및 18시간(b)에 간 mRNA 및 단백질 수준

측정된 물질	대조군	N-Mgb	SnPP	SnPP 1N-Mgb
(a) Rx 처리 후 4시간에				
간 mRNA				
HO-1	1.1 ± 0.12	1.83 ± 0.33	3.15 ± 0.25	5.66 ± 0.29 (<0.001)
합토글로빈	0.5 ± 0.1	0.98 ± 0.1	0.32 ± 0.02	1.01 ± 0.12 (<0.01)
IL-10	0.06 ± 0.002	0.67 ± 0.46	0.14 ± 0.1	1.12 ± 0.64 (<0.001)
간 단백질				
HO-1 단백질	10.2 ± 1.2	17 ± 2	7.4 ± 0.7	15.1 ± 1.4 (<0.025)
합토글로빈	115.3 ± 9.6	359.5 ± 39.6	130.0 ± 8.9	351.0 ± 40.7 (<0.001)
IL-10	314 ± 36	286 ± 32	485 ± 47	412 ± 34 (=0.1)
(b) Rx 처리 후 18시간에				
간 mRNA				
HO-1	1.1 ± 0.12	0.82 ± 0.07	2.56 ± 0.21	2.86 ± 0.4 (<0.001)
합토글로빈	0.5 ± 0.1	0.91 ± 0.07	0.65 ± 0.17	1.19 ± 0.4 (<0.05)
IL-10	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.02 (NS)
간 단백질				
HO-1 단백질	10.2 ± 1.2	14.9 ± 0.3	18 ± 2.5	22.9 ± 1.2 (<0.0001)
합토글로빈	115.3 ± 9.6	358.8 ± 32.8	212.0 ± 63.6	410 ± 64.3 (<0.001)
IL-10	314 ± 36	5988 ± 549	8198 ± 725	8015 ± 225 (<0.001)

약어: HO-1, 헵 옥시게나아제 1; IL-10, 인터류킨 10; mRNA, 메신저 RNA; N-Mgb, 아질산화 미오글로빈; NS, not 유의적인; Rx, 처리; SnPP, 주석 프로토포르피린.

주사 후 4시간(a) 및 18시간(b)에 단독 또는 조합으로 투여된 시험 물질에 의해 유도된 개별 간 mRNA 및 단백질 수치.

[0484]

[0485]

주사 후 4시간에, 간 HO-1, IL-10 및 합토글로빈 mRNA 수치는 어느 하나의 물질 단독에 대해 조합된 N-Mgb + SnPP 주사에 의해 유의미하게 더 높았다(표 9). 이것은 18시간 시점에 평가된 바대로 더 높은 간 HO-1, IL-10 및 합토글로빈 단백질 증가로 변환되었다(대조군 조직에 대해 각각의 단백질에 대한 $P < 0.001$).

[0486]

간 허혈 모델. 간 허혈은 혈장 ALT 및 LDH 농도의 현저한 증가를 유도하였다(도 19 참조). LDH 및 ALT 증가는 N-Mgb + SnPP 전처리에 의해 각각 75% 및 50%만큼 감소하였다(간 HO-1, 합토글로빈 및 IL-10 단백질 증가에 상응; 표 9). 도 20(상부)에 도시된 바대로, 허혈 후 간의 전체 절편에서 널리 퍼진 괴사가 관찰되었다. N-Mgb + SnPP에 의한 전처리는 훨씬 더 정상인 전체 간 외관을 발생시켰다(도 20(하부)).

[0487]

간독성 손상. 도 19의 오른쪽 패널에 도시된 바대로, N-Mgb + SnPP 처리는 또한, 혈장 ALT 수치에 의해 측정된 바대로, IP 글라이세롤 유도 간 손상의 정도를 감소시켰다.

[0488]

심장 HO-1, IL-10 및 합토글로빈 mRNA 및 단백질 수치. 도 18의 하부에 도시된 바대로, 조합된 N-Mgb + SnPP는 4시간에 HO-1, 합토글로빈 및 IL-10 mRNA의 3배 내지 4배 증가, 및 18시간 시점에 이의 단백질 수치의 3배 내지 15배 증가를 유도하였다. 개별 값은 표 10에 제공된다.

표 10

Rx 처리 후 4시간(a) 및 18시간(b)에 심장 mRNA 및 단백질 수준

측정된 물질	대조군	N-Mgb	SnPP	SnPP + N-Mgb
(a) Rx 처리 후 4시간에				
심장 mRNA				
HO-1	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.3 ± 0.01 (<0.001)
합토글로빈	0.31 ± 0.07	0.75 ± 0.10	0.52 ± 0.21	1.32 ± 0.22 (<0.002)
IL-10	0.36 ± 0.10	0.86 ± 0.11	0.58 ± 0.16	0.96 ± 0.22 (<0.04)
심장 단백질				
HO-1	1.50 ± 08	1.64 ± 0.19	1.310.13	1.54 ± 0.09 (NS)
합토글로빈	15.6 ± 5.0	40.4 ± 8.6	19.1 ± 2.1	29.4 ± 4.1 (<0.1)
IL-10	8.1 ± 5	21 ± 12	15.8 ± 10	41 ± 14 (<0.035)
(b) Rx 처리 후 18시간에				
심장 mRNA				
HO-1	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.03	0.24 ± 0.07 (<0.005)
합토글로빈	0.31 ± 0.07	0.53 ± 0.21	0.59 ± 0.17	1.28 ± 0.2 (<0.002)
IL-10	0.36 ± 0.10	0.67 ± 0.10	0.53 ± 0.10	0.64 ± 0.14 (=0.1)
심장 단백질				
HO-1	1.5 ± 0.08	1.9.7 ± 0.37	2.67 ± 0.4	4.2 ± 0.98 (<0.01)
합토글로빈	15.6 ± 5.0	249.6 ± 15.0	96.1 ± 36.2	250.7 ± 37.8 (<0.001)
IL-10	8 ± 5	14.5 ± 10	23.4 ± 14	51.4 ± 19 (<0.035)

약어: HO-1, 헴 옥시게나아제 1; IL-10, 인터류킨 10; mRNA, 메신저 RNA; N-Mgb, 아질산화 미오글로빈; NS, not 유의적인; Rx, 처리; SnPP, 주석 프로토포포르핀.

주사 후 4시간(a) 및 18시간(b)에 단독 또는 조합으로 투여된 시험 물질에 의해 유도된 개별 심장 mRNA 및 단백질 수치.

[0489]

[0490]

일반적으로, 어느 하나의 물질 단독에 대해 조합된 물질 투여에 의해 훨씬 더 높은 mRNA 및 단백질 증가가 관찰되었다.

[0491]

토의. 1992년에, 나스 등(J Clin Invest 90:267-70)은 랫트에서 헤모글로빈 투여가 후속하는(24시간 후) 글라이세롤 매개 횡문근용해증 유도 ARF에 대해 현저한 보호를 유도할 수 있다는 것을 입증하였다. 이 보호 반응은 2개의 중심이 되는 관찰에 기초하여 헴 매개 HO-1 상호조절 덕택이다: (1) 헴 전처리는 신장 HO-1 mRNA 및 단백질 수치, 및 HO-1 효소 활성을 현저히 증가시키고, (2) 글라이세롤 모델은 글라이세롤 주사 시에(그리고 후에) SnPP인 강력한 HO-1 저해제를 투여함으로써 현저히 악화되었다. 이 중요한 관찰 시로부터, 강력한 항산화 및 소염 분자로서의 HO-1의 역할은 AKI의 복수의 모델(예를 들어, 시스플라틴, 신장 허혈, 내독소혈증; 문헌[Nath, Curr Opin Nephrol Hypertens 2014;23:17-24]에 검토됨)에서 훌륭히 확립되었다. 더욱이, 이의 보호 효과는 신장외 조직 손상(예를 들어, 뇌, 간, 심장, 장기 이식)의 다양한 형태로 광범위하게 기재되었다. Kusmic et al. J Transl Med 2014;12:89; Czibik et al. Basic Res Cardiol 2014;109:450; Sharp et al. Transl Stroke Res 2013;6:685-92; Le et al. CNS Neurosci Ther 2013;12:963-8; Huang et al. World J Gastroenterol 2013;21:2937-48; Liu et al. Crit Care Med 2014; 42:e762-71; Wszola et al. Prog Transplant 2014;1: 19-26. 그러나, 보호가 수행되는 정확한 기전은 HO의 보호 작용의 존재보다 덜 확실하다. 포르피린 고리의 HO-1 절단이 매우 독성인 촉매 Fe를 방출하므로(직접적인 부작용을 행사함; Zager & Burkhart, Kidney Int 1997;51:728-38), HO-1 활성의 증가의 부차적인 결과가 관여하는 것으로 이제 생각된다. 이것은 항산화제 담록소 및 빌리루빈의 생성, 세포보호 일산화탄소 생성 및 조직(H) 페리틴 수치의 증가(촉매 Fe 결합에 대한 이의 높은 역량을 가짐)를 포함한다. Zarjou et al. J Clin Invest 2013;123:4423-34; Nath, Curr Opin Nephrol

Hypertens 2014;23:17-24. 세포보호에서의 HO-1 관여를 해석하는 데 있어서의 추가적인 복잡함은 HO-1 유도제 (예를 들어, 헵)가 다수의 다른 세포보호 경로, 예를 들어 합토클로빈(Zager et al. Am J Physiol 2012;303:F139-48), 헤모팩신(Zager et al. Am J Physiol 2012;303:F1460-72) 알파 1 안티트립신(Zager et al. PLoS One 2014;9:e9838) 및 IL-10(본 개시내용에 기재된 바와 같음)을 또한 상향조절한다는 사실로부터 생긴다. 이것은 복수의 상향조절된 조직 보호 단백질의 존재를 고려하여 조직 손상에 대한 HO-1 영향의 해석을 복잡하게 한다.

[0492] SnPP 및 HO-1의 상호작용이 또한 복잡하다. 첫째로, HO-1의 경쟁적 저해제로서, SnPP 투여는 두 번째로 효소 "피드백 저해"에 의해 또는 HO-1 생성의 역균형화에 의한 가벼운 산화 촉진 상태의 유도에 의해 HO-1 mRNA 및 단백질 수치를 증가시킬 수 있다(예를 들어, Kaizu et al. Kidney Int 2003;63:1393-403). 둘째로, SnPP의 Sn 모이어티는 직접적인 산화 촉진 효과를 통해 HO-1을 독립적으로 상향조절할 수 있다. Barrera-Oviedo et al. Ren Fail 2013;35:132-7. 셋째로, SnPP의 효과를 고려할 때마다, 부차적인 HO-1 유도가 SNPP 유도 HO-1 저해에 의해 가능하게 상쇄될 수 있다는 것을 인식하는 것이 중요하다. 그러나, SnPP가 비교적 짧은 반감기를 가진다는 것이 주목할 만하다(2-4시간; Berglund et al. Hepatology 1988;8:625-31). 따라서, 지연된 HO-1 증가(예를 들어, 글라이세롤 투여 또는 N-Mgb-SnPP 처리 후 18시간)가 이전의 SnPP 제거 때문에 이의 생물학적 효과를 자유로이 발휘해야 한다. 이 개념은 SnPP 투여 후 24시간에 상향조절된 HO-1이 세포보호 효과를 발휘할 수 있다는 관찰에 의해 지지된다(예를 들어, 허혈 ARF에 대해; Juncos et al. Am J Pathol 2006;169:21-31; Kaizu et al. Kidney Int 2003;63:1393-403).

[0493] 이전에 언급된 고려사항의 견지에서, N-Mgb + SnPP의 조합이 HO-1 및 다른 산화환원 민감성 세포보호 단백질(예를 들어, 합토클로빈 및 IL-10)의 상가작용 또는 상승작용 증가를 유도한다는 것이 가설되었다. N-Mgb, SnPP 또는 N-Mgb + SnPP 주사 후 4 및 18시간에 HO-1, 합토클로빈 및 IL-10 mRNA 및 단백질 수치를 측정함으로써 이 가설을 시험하였다. 도 7-9에 도시된 바대로, 조합된 치료는 일반적으로 상승작용 또는 상가작용 반응을 유도하였다. 예를 들어, 주사 후 4시간에, HO-1 mRNA의 20배 증가가 관찰되었고, N-Mgb 또는 SnPP 단독에 의해 보이는 증가의 2배 초과이다. 18시간에, 이 초기 mRNA 증가는 7배 HO-1 단백질 증가로 변환되었다. 정량적으로 유사한 결과가 IL-10에 의해 관찰되었다. N-Mgb-SnPP 투여 후 18시간에 합토클로빈 단백질의 거대한 (20배) 증가가 특히 주목할만하다. 그러나, 이 경우에, N-Mgb + SnPP에 대해 N-Mgb 단독이 필적하는 신장 합토클로빈 증가를 유도한다는 것을 고려하면 이것이 주로 책임지는 N-Mgb-SnPP 상호작용보다는 N-Mgb인 것으로 보인다. 명확하게, HO-1, IL-10 및 합토클로빈 이외의 추가적인 세포보호 산화환원 민감성 단백질이 N-Mgb-SnPP 프로토콜(예를 들어, $\alpha 1$ 안티트립신, 헤모팩신, 헵시딘)에 의해 또한 유도될 수 있다. 따라서, 이것은 복수의 세포보호 단백질이 세포 손상 반응을 완화시키기 위해 협력하여 작용할 수 있다는 논리로 보인다.

[0494] N-Mgb-SnPP 투여 후 세포보호 단백질의 극적인 신장 피질 증가가 관찰되지만, AKI의 3개의 형태를 보호하는 데 있어서의 후자의 유효성을 시험하였다. 도 12는 글라이세롤 모델에서의 결과를 도시한다. 보이는 것처럼, SnPP 투여 단독은 BUN 또는 크레아티닌 수치의 무의미한 감소를 유도하였다. N-Mgb 단독이 투여될 때, 보통의 보호 효과가 관찰되었다. 그러나, 함께 투여될 때, N-Mgb + SnPP 전처리는 글라이세롤 주사 후 18시간에 정상 BUN 및 혈장 크레아티닌 농도에 의해 표시된 바대로 본질적으로 완전한 기능 보호를 불러일으켰다. 더욱이, 거의 정상인 신장 조직학이 관찰되었다. 따라서, 이 발견은 세포보호 단백질의 상승작용 증가가 ARF에 대한 상승작용 보호로 변환될 수 있다는 원칙을 표시한다.

[0495] N-Mgb-SnPP 매개 보호의 범위를 추가로 조사하기 위해, 근위 세뇨관 ATP 고갈 매개 ARF의 말레이트 모델을 이용하였다. 다시, 극적인 또는 거의 완전한 보호가 관찰되었다(도 13). AKI가 진행성 만성 신장 질환의 발생을 개시할 수 있다는 것이 이제 훌륭히 인식되므로, 신장 질량의 40% 소실이 보통 2주에 생기는 이전에 공개된 편측 허혈 후 신장 손상 모델(Zager et al. Kidney Int 2013;84:703-12; Zager et al. Am J Physiol Renal Physiol 2014;307:F856)에서 N-Mgb-SnPP 전처리가 이 과정을 파기시키는지를 평가하였다. 도 15에 도시된 바대로, 허혈 후 손상은, 38%로부터 12%로의 신장 질량 소실의 감소 및 NGAL mRNA 및 단백질 수치의 현저한 감소로 입증된 바대로, N-Mgb-SnPP 전처리에 의해 현저히 약화되었다. 따라서, 3개의 이중성 AKI 모델의 각각에서, 극적인 보호가 관찰되었다. 신장이 (예를 들어, 신속한 여과, Mgb 내포작용을 통해) 2개의 시험 물질에 가장 큰 노출을 가지지만, 사실상 모든 세포는 이의 IV 주사 후 이들에 일시적으로 노출된다. 더욱이, 프로토포르피린은 다양한 세포에 결합하고 이에 의해 채워질 수 있다. Anderson et al. J Pharmacol Exp Ther 1984;228:327-33. 따라서, 개시된 N-Mgb-SnPP 섭생이 신장의 장기에서 보호 반응을 또한 상향조절하는지는 의심되었다. 실제로, 간 및 심장 조직 둘 다 N-Mgb-SnPP 주사 후 4 및 18시간 둘 다에 (표 9 및 표 10에 제시된 바대로) HO-1, IL-10 및 합토클로빈 mRNA 및 단백질 증가를 나타낸다는 것을 고려하면, 이 경우도 그러하다. 메갈린-쿠빌린 매

개 내포작용이 신장 특이적 경로인 것으로 생각된다는 것을 고려하면, N-Mgb 단독이 신장의 조직에서 반응을 유도할 수 있다는 것이 놀랍다. 이것은 가능하게는 소거제 수용체를 통한 가능한 신장의 흡수(Canton et al. Nat Rev 2013;13:621-34) 또는 미소순환 시 존재할 때, N-Mgb 및 SnPP가 세포외 세포보호 유전자를 활성화할 수 있다는 것을 제안한다. 신장의 보호가 생기는지를 시험하기 위해, 허혈 후 간 손상의 정도에 대한 N-Mgb + SnPP 전처리의 영향을 평가하였다. 도 18에 제시된 바대로, LDH 및 ALT 혈장 농도 둘 다의 현저한 감소가 관찰되었다. 더욱이, 명확한 보호가 허혈 후 간 조직의 전체 외관에 의해 표시되었다(도 19). 손상에 대한 간 내성을 추가로 시험하기 위해, 마우스를 글라이세롤의 IP 주사로 처리하고, 이것은 문맥 순환을 통해 간에 도달 시 보통의 간 손상을 유도한다. IP 글라이세롤 주사의 4시간 내에, 혈장 ALT의 증가가 생기고, 이것은 이전의 N-Mgb-SnPP 주사에 의해 대부분 폐기되었다.

[0496] 합토클로빈 또는 HO-1의 혈장 수치가 ARF의 환경에서 신장 피질 합토클로빈 및 HO-1 증가의 바이오마커로서 작용할 수 있다는 것이 이전에 입증되었다. Z Zager et al. Am J Physiol 2012;303:F139-48; Zager et al. J Am Soc Nephrol 2012;23:1048-2057. 따라서, 혈장 합토클로빈 및 HO-1이 N-Mgb-SnPP 투여 후 신장에서의 이 단백질의 유도에 대해 및 세포내성 상태의 발생에 대한 바이오마커로서 또한 작용하는지는 의심스럽다. 이것은 실제로 그 경우이다. 도 16에 도시된 바대로, 증가하는 용량의 N-Mgb-SnPP는 혈장 합토클로빈 및 HO-1 수치의 용량 의존적 증가를 유도하였고, 이 증가는 신장 피질 합토클로빈 및 HO-1 함량과 직접적으로 상관된다. 더욱이, N-Mgb-SnPP 유도 혈장 HO-1 및 혈장 합토클로빈 증가와 글라이세롤 후 BUN 농도 사이의 두드러진 역전관계가 관찰되었다(각각 BUN 대 혈장 HO-1 및 합토클로빈 수치에 대해 r , $-0.79/r$, -0.71). 따라서, 혈장 HO-1/합토클로빈 증가는 임상 실험에서 N-Mgb-SnPP의 생물학적 활성을 아마도 확인시켜줄 것이고, HO-1 및 합토클로빈 혈장 증가의 정도는 후속하는 AKI에 대한 내성의 정도를 또한 예측할 것이다.

[0497] 환자에게 이 예방학적 전략을 적용함으로써 명확한 관심은 가능한 신장 및/또는 신장의 독성이다. 그러나, 이와 관련하여, SnPP가 인간에서 매우 관용적인 것으로 이미 밝혀졌다는 것이 주목할 만하다(예를 들어, Berglund et al. Hepatology 1988;8:625-31; Kappas et al. Pediatrics 1988;81:485-97; Reddy et al. J Perinatol 2003;23: 507-12). 더욱이, 세포 배양 시스템에서 아질산염 첨가가 미오글로빈의 세포독성 효과를 75%만큼 현저히 감소시킨다는 것이 이전에 보고되었다(미공개 데이터, 2014). N-Mgb + SnPP에 대한 안정성의 가능한 생체내 한계를 평가하기 위해(보충 도면 참조), 신독성이 관찰되기 전에 마우스에 제공될 수 있는 N-Mgb의 최대 양을 시험하였다. 25시간까지, (일정한 SnPP 용량과 함께) 사용된 N-Mgb 용량을 신독성의 유도 없이 (2시간에 걸쳐) 투여할 수 있었다(18시간 후 정상 BUN 및 크레아티닌). 마지막으로, 표준 N-Mgb-SnPP 투약량(1mg N-Mgb/1mmol SnPP)도 5mg의 IP N-Mgb(도 17)도 명시적인 신장 손상(18시간 BUN/크레아티닌 또는 조직학)도 유도하지 않았고, 간 ALT 또는 심장 트로포닌 수치를 상승시키지 않았다. 협력하여, 이 데이터는 임상 적용에서의 유용성을 나타낸다.

[0498] 결론. 분해의 저해제(SnPP)와 함께 N-Mgb의 투여는 신장에서 다수의 세포보호 단백질의 극적인 증가를 발생시켰다. 이 반응의 효력은 보고된 신장 HO-1 단백질 증가가 널리 인정된 Nrf-2 매개 HO-1 유도제인 바르독솔론 메틸에 의해 달성된 것보다 15배 초과라는 관찰에 의해 표시된다. Wu et al. Am J Physiol 2011;300: F1180-92. 이의 투여의 18시간 내에, N-Mgb + SnPP는 AKI의 3개의 다양한 모델에 대해 극적인 보호를 불러일으켰다: 글라이세롤 유도 횡문근융해증, 말레에이트 유도 근위 세뇨관 ATP 고갈 및 허혈 후 CKD로의 AKI 진행. 놀랍게도, N-Mgb + SnPP 투여는 또한 간에서 세포보호 단백질의 상승작용 증가를 유도하여서, 간 허혈-재관류 손상 및 간독성에 대해 극적인 보호를 발생시켰다. 마지막으로, N-Mgb + SnPP는 심장에서 세포보호 단백질을 상향조절할 수 있어서, 심장 보호 및 이에 따라 광범위한 범위의 세포보호 효과를 제안한다. 특히, 각각의 이들 반응은 인식할 수 있는 신장, 간, 또는 심장 독성의 부재 하에 유도되었다. 따라서, 이 데이터는 N-Mgb + SnPP 동시투여가, 예컨대 심폐 우회술, 대동맥류재건술 또는 다른 복잡한 고위험 수술 동안 생길 수 있는 신장 및 신장의 손상 둘다에 대해 보호하기 위한 임상 예방 전략을 제공할 수 있다는 것을 제안한다. 따라서, 이 전략은 다수의 유의미한 충족되지 않은 임상 수요를 잠재적으로 충족시킬 수 있었다.

[0499] 실시예 5. 2마리의 잡종견(1개는 수컷, 1개는 암컷)은 혈장 헴 산화효소 1(HO-1; 개과 ELISA,) BUN, 혈장 크레아티닌 및 락테이트 탈수소효소(LDH) 수치의 측정을 위해 채혈된 기준치 혈액을 가졌다. HO-1 검정을 위해 기준치 얼룩 뇨 샘플을 또한 얻었다. 이후, 개 1은 5mg/kg의 아질산화 개과 미오글로빈 + 3.75mg/kg의 SnPP를 함유하는 정상 식염수/40mM NaHCO₃의 50ml/50분의 점적주사를 받았다. 개 2는 2.5mg/kg의 개과 N-미오글로빈 + 7.5 mg/kg의 SnPP를 받았다. 4시간 및 26시간 후에, 반복 혈액 샘플을 얻었다. 점적주사 후 26시간에 제2 뇨 샘플을 수집하였다. 표 11에 표시된 바대로, 점적주사는 신장 손상의 부재 하에 (프리 및 BUN 및 혈장 크레아티닌 수치에 기초한) 혈장 및 뇨 HO-1 농도의 거대한 증가를 불러일으켰다. LDH 값은 변하지 않고 있어서, 명확한 신장/

신장의 조직 손상의 부재를 나타낸다.

표 11

개에서의 HO-1 유도

	개 1(수컷)	개 2(암컷)
기준치 BUN(mg/dl)	20	28 →
26시간 BUN	28	23
기준치 크레아티닌(mg/dl)	0.5	0.7 →
26시간 크레아티닌	0.5	0.6
기준치 LDH(단위/dl)	0.4	0.31 →
26시간 LDH	0.2	0.31
기준치 혈장 HO-1(mg/ml)	1.3	4.0 →
4시간 혈장 HO-1	34	44.7 →
26시간 혈장 HO-1	155	90.6
기준치 뇨 HO-1(mg/mg cr)	2	0.8 →
26시간 뇨 HO-1	18.8	11.1

[0500]

[0501]

실시예 6. 신장에서의 헴 산화효소 1 유도에 대한 Fe 수크로스 및 사이아노코발라민(비타민 B₁₂)의 영향. 헴 산화효소-1(HO-1) 상향조절은 신장 및 신장의 장기에서 N-미오글로빈/SnPP의 세포보호 활성의 중요한 매개자이다. 그러므로, HO-1 상향조절을 유도하고, 따라서 손상의 독성 및 허혈 형태에 대해 조직 보호의 발생에 기여할 수 있는 추가적인 물질이 추구되었다. Fe가 N-Mgb의 활성의 주요한 매개자이므로, HO-1 수치에 대한 Fe-탄수화물 중합체(Fe 수크로스; 34-61kDa 범의 분자량)의 영향을 평가하였다.

[0502]

대안적 및/또는 보충적 전략으로서, 신장에서의 HO-1 유도에 대한 사이아노코발라민(비타민 B₁₂)의 영향을 연구하였다. B₁₂ 시험에 대한 이유는 코발트 및 사이아나이드 둘 다 HO-1을 독립적으로 유도할 수 있다는 것이다. 따라서, B₁₂는 단일 물질로서 사이아나이드 및 코발트를 둘 다를 투여하기 위한 안전한 방법을 나타낼 수 있는데, 왜냐하면 둘 다 B₁₂ 분자의 통합 부분이기 때문이다.

[0503]

방법. 수컷 CD-1 마우스(25-40그램; 찰스 리버 래버러토리즈(매사추세츠주 윌밍턴))를 모든 실험에 사용하였다. 이들을 음식 및 물에 자유로이 접근하게 하면서 표준 사육장 조건 하에 감금하였다. 모든 실험은 NIH 가이드라인에 따라 프레드 허친슨 암 연구소(red Hutchinson Cancer Research Center) IACUC에 의해 승인되었다.

[0504]

AKI 중증도에 대한 Fe 수크로스(FeS)/주석 프로토포르피린(SnPP)의 영향. AKI의 말레이이트 모델. 설치류에 주사될 때, 말레이이트는 유기 음이온 수송체를 통해 비교적 선택적인 근위 세뇨관 세포 흡수를 겪는다. 세포내 축적이 발생하면, 말레이이트는 숙시닐-CoA:3-옥소산 CoA 전환효소에 대한 바람직한 기질이다. 이것은 말레이-조효소 A를 형성시킨다. 안정한 티오에터로의 말레이 CoA의 후속하는 전환에 의해, 중증 조효소 A(CoA) 고갈이 생긴다. CoA의 충분한 수치는 ATP를 생성시키는 크랩스 회로(Krebs cycle)를 통해 이의 후속하는 대사를 허용하는 지방산 “활성화”에 필수적이다. 이 과정의 부재 하에, 근위 세뇨관 ATP 고갈 및 세포 손상이 생긴다. 추가적으로, 말레이이트는 글루타티온(GSH)의 설프하이드릴기에 공액하여서, GSH 고갈 및 가능한 산화 세뇨관 스트레스가 된다.

[0505]

하기 실험은 FeS, SnPP 또는 조합된 FeS + SNPP가 급성 신장 손상(AKI)의 이 형태를 완화시킬 수 있는지를 시험하였다. 27마리의 마우스를 하기 중 하나의 200ml의 IV 꼬리 주사로 처리하였다: 1) 비히클(인산염 완충 식염수, PBS; n, 10); 2) 1mg FeS(American Regent(뉴욕주 쉐리); n, 3); 3) 1μmole의 SnPP(Frontier Scientific(유타주 로간); n 7), 또는 FeS +SnPP, n, 7). 18시간 후, 모든 마우스는 Na 말레이이트의 IP 주사(800mg/kg; 500μl의 PBS 중)를 받았다. 18시간 후, 마우스를 펜토바르비탈(50mg/kg의 IP)에 의해 깊게 마취시키고, 복강을 개복하고, 복부 대정맥으로부터 혈액 샘플을 얻었다. 혈장 혈중 요질소(BUN) 및 혈장 크레아티닌(PCr) 농도를 결정함으로써 신장 손상의 중증도를 평가하였다.

[0506]

AKI의 신장 허혈-재관류 손상(IRI) 모델. 하기 실험은 조합 FeS + SNPP가 AKI의 신동맥 폐색 모델을 완화시킬 수 있는지를 평가하였다. 마우스는 상기 기재된 바대로 PBS(n, 9) 또는 FeS +SnPP(n, 8)의 200μl의 꼬리 정맥 주사를 받았다. 18시간 후, 마우스를 펜토바르비탈(40-50mg/kg의 IP)에 의해 깊게 마취시키고, 복강을 개복하고, 신장 백서가 확인되었고, 둘 다를 미세혈관 클램프에 의해 폐쇄하였다. 체온을 내내 36-37℃에서 유지시켰다. 양측 신장 허혈의 22분 후, 클램프를 제거하고, 정상 신장 색상의 재출현(조직 청색증의 소실)에 의

해 가시적으로 균일한 재관류를 확인하고, 이후 복강을 실크 봉합사에 의해 2개의 층으로 봉합하였다. 18시간 후, 마우스를 다시 마취시키고, 복강을 다시 개방하고, 대정맥으로부터 말단 혈액 샘플을 얻었다. BUN 및 PCr 농도에 의해 신장 손상의 중증도를 결정하였다.

[0507] AKI의 중증도에 대한 FeS/B12 영향효과. AKI의 글라이세롤 모델. 마우스는 PBS 비히클(n 6), 또는 조합 FeS + 1 μ mole B12(n, 6; Alfa Aesar(메사추세츠주 워드 힐) 사제의 B12)의 꼬리 정맥 주사를 받았다. 18시간 후, 마우스를 아이소플루란에 의해 알게 마취시키고, 이후 횡문근융해증 AKI의 글라이세롤 모델을 유도하였다(상부 뒷 다리로 2개의 동등하게 분할된 IM 주사로 투여된, 9ml/kg의 50% 글라이세롤). 글라이세롤 주사 후 18시간에, 마우스를 펜토바르비탈에 의해 깊게 마취시키고, 말단 대정맥 혈액 샘플을 얻었다. 최종 BUN 및 PCr 농도에 의해 신장 손상 중증도를 평가하였다.

[0508] AKI의 말레이이트 모델. 마우스는 FeS+B12의 조합 또는 비히클의 꼬리 정맥 주사를 받았다(n, 군마다 6마리). 18시간 후, 이들은 상기 기재된 바대로 IP 말레이이트 주사를 받았다. 최종 BUN 및 PCr 평가에 의해 말레이이트 주사 후 18시간에 AKI의 중증도를 결정하였다.

[0509] 헵 산화효소 1(HO-1)의 신장 피질 유도에 대한 FeS, SnPP 및 B12의 영향. 하기 실험은 세포보호 단백질 HO-1의 가능한 유도에 대한 FeS, SnPP 및 B12의 영향을 평가하였다. 이를 위해, 마우스에 상기 기재된 바대로 각각의 이들 물질을 주사하였다. 4시간 또는 18시간 후, 이들을 마취시키고 신장을 정중앙 복부 절개를 통해 제거하였다. 신장 피질을 얼음에서 절개하고, 이후 단백질을 mRNA를 위해 추출하였다. 이후, ELISA에 의해 HO-1 단백질에 대해 그리고 RT-PCR(GAPDH 수치가 고려됨)에 의해 HO-1 mRNA에 대해 샘플을 평가하였다. 5마리의 정상 마우스는 대조군 값을 제공하였다.

[0510] 결과. AKI의 중증도에 대한 FeS/SnPP의 영향. 말레이이트 유도된 AKI: 도 22에 도시된 바대로, 말레이이트 주사는 말레이이트 주사된 대조군(C)에 비해, 현저한 BUN 및 PCr 증가로 표시된 바대로, 중증 AKI를 발생시켰다. SnPP 단독도 FeS 단독도 신장 손상의 중증도를 유의미하게 변경하지 않았다. 그러나, 조합된 FeS + SnPP는, BUN/PCr 농도의 75% 감소로 표시된 바대로, 현저한 보호를 부여하였다(수평선은 정상 마우스에서의 BUN/ PCr 수치의 평균을 나타낸다).

[0511] 신장 허혈-재관류(IRI) 유도된 AKI: IRI의 유도의 18시간 내에, BUN 및 PCr 농도의 4배 상승이 발생했다(도 23). FeS + SnPP에 의한 전처리는 유의미한 보호를 부여하여서, BUN 및 PCr 수치를 50%만큼 감소시켰다. 수평선은 정상 마우스에서의 평균 BUN/PCr 수치를 나타낸다.

[0512] AKI 중증도에 대한 FeS/B12의 영향. 말레이이트 유도된 AKI: 다시, 말레이이트 주사는 중증 AKI를 유도하였다(도 24). FeS + B12에 의한 전처리는, BUN/PCr 감소로 표시된 바대로, 이 손상을 현저히 완화시켰다. 수평선은 정상 마우스에서의 평균 BUN/PCr 수치를 나타낸다.

[0513] AKI의 글라이세롤 모델: 중증 신부전이 글라이세롤 주사의 18시간 내에 발생했다(도 25). FeS + B12에 의한 전처리는, 18시간 BUN 및 PCr 농도 둘 다의 현저한 감소에 의해 표시된 바대로, 실질적인 기능 보호를 부여하였다. 수평선은 정상 마우스에 대한 평균 BUN/PCr 수치를 나타낸다.

[0514] 신장 피질 HO-1 mRNA 및 단백질 수치. 도 26에 도시된 바대로, 각각의 물질은 주사 후 4시간에 평가된 바대로 HO-1 mRNA의 현저한 및 유의미한 증가를 유도하였다. 18시간에, HO-1mRNA 수치는 정상 값으로 복귀하였다. 도 27에 도시된 바대로, 4시간 mRNA 증가의 연관성은 HO-1 단백질 수치의 유의미한 증가이었다. 이 수치는 특히 FeS 투여의 경우에 18시간 시점에 상승한 채 있었다.

[0515] 예언적 실시예. 예언적 실시예 1. 테포 제제가 정맥내(IV) 미오글로빈/SnPP 처리 및/또는 Fe-S 및/또는 B12보다 덜 가능한 독성으로 동일하거나 더 큰 세포보호를 부여하는지를 평가할 것이다. 상이한 용량의 미오글로빈과 SnPP 및/또는 Fe-S 및/또는 B12는 100mg/ml의 PEG(PEG 5000)에 현탁액으로서 첨가될 것이다. 이 실험을 수행하는 2가지 이유가 존재한다. 첫째로, 근육내(IM)로 또는 피하(SQ)로 주사함으로써 미오글로빈 및 SnPP 및/또는 Fe-S 및/또는 B12는 (IV 주사 후 즉각적인 전신 미오글로빈 /SnPP 및/또는 Fe-S 및/또는 B12 노출에 대해) 비교적 느리게 흡수될 것이다. 테포 PEG 주사에 의한 미오글로빈 및/또는 Fe-S 및/또는 B12 흡수를 느리게 함으로써, 미오글로빈 및/또는 Fe-S 및/또는 B12에 대한 더 느린, 더 지속적인 신장 노출이 생길 것이다. 이것은 미오글로빈 및/또는 Fe-S 및/또는 B12 흡수의 증가를 도울 것이고, 동시에, 신속한 신장 미오글로빈 및/또는 Fe-S 및/또는 B12 로딩(세뇨관 내강 내에 폐쇄성 원주 형성을 발생시킴)으로 생길 수 있는 신독성에 대한 가능성을 감소시킬 것이다. 둘째로, PEG는 삼투제이고, 신장 배설을 겪을 것이다. 뇨 삼투질농도의 급성 증가가 저절로 세포보호 단백질을 유도하고, 또한 뇨 유속을 증가시킴으로써 보호를 부여할 수 있으므로, 상가작용 또는

상승작용의 유리한 효과가 관찰될 수 있다.

- [0516] 예언적 실시예 2. 헤마틴은 HO 및 유사한 SnPP를 저해할 것이고, 이것은 또한 (효소 피드백 저해를 통해) HO 생성의 증가를 유도할 수 있다. 따라서, 헤마틴은 SnPP 처리의 유리한 효과를 재항복시켜야 한다. 중요하게는, 헤마틴은 포르피린증인 임상 질환의 치료를 위해 FDA에 의해 승인받았다. 따라서, 헤마틴이 SnPP로서 효과적인 경우, 헤마틴은 추가의 연구 및 임상 개발을 위해 선택될 수 있다.
- [0517] 예언적 실시예 3. HO가 실험적 패혈증 및 내독소혈증에 대해 보호할 수 있다는 것이 널리 보고되었다. HO-1은 본 명세서에 개시된 조성물, 키트 및 방법에 따라 상향조절될 것이고, 이후 18시간 후, 마우스는 내독소에 의해 시험공격될 것이다. 2시간 및 24시간 후에, 패혈증의 중증도는 혈장 및 신장에서의 염증성 사이토카인(TNF, MCP-1) 수치에 의해 측정된다. 또한, 내독소혈증이 신장 손상을 발생시키므로, BUN 및 크레아티닌 수치에 의한 신장 기능이상 중증도가 시험될 것이다. 결과는 엔도톡신 주사로 처리된 나이브 마우스와 비교될 것이다. 성공적일 때, 이것은 개시된 보호 전략의 이용성을 고위험의 패혈증의 환자(예를 들어, ICU 환자)로 크게 연장할 것이다.
- [0518] 예언적 실시예 4. 진행 중인 연구는 자극으로부터 다양한 장기 시스템으로 보호하는 데 있어서 철 및/또는 비타민 B12의 유효성을 입증할 것이다.
- [0519] 본 명세서에 개시된 조성물, 키트 및 방법은 "원격 양상화"으로부터 구별되어서, (예를 들어, 혈압 커프를 팽창 시킴으로써) 사지에서의 허혈이 다른 장기를 양상화하게 하고, 이것은 오직 매우 제한 성공을 만족시켰다. 특정한 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 키트 및 방법은 "원격 약리학적 양상화"(RPR)라 칭해질 수 있다.
- [0520] 당해 분야의 당업자에 의해 이해되는 것처럼, 본 명세서에 개시된 각각의 실시형태는 이의 특정한 기재된 구성요소, 단계, 성분 또는 구성성분을 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 이들로 이루어질 수 있다. 따라서, 용어 "포함한다", 또는 "포함하는"은 "포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 이루어진다"는 것을 언급하는 것으로 해석되어야 한다. 전환 용어 "포함한다", 또는 "포함하는"은 심지어 다량으로 기재되지 않은 구성요소, 단계, 성분 또는 구성성분(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 것을 의미하고 이의 포함을 허용한다. 전환 구절 "이루어진"은 기재되지 않은 임의의 구성요소, 단계, 성분 또는 구성성분을 배제한다. 전환 구절 "본질적으로 이루어진"은 실시형태의 범위를 기재된 구성요소, 단계, 성분 또는 구성성분으로 그리고 실시형태에 중요하게 영향을 미치지 않는 것으로 제한한다. 중요한 효과는 스케줄링된 자극으로부터 장기를 보호하기 위한 개시된 조성물, 키트 또는 방법의 능력의 통계적으로 유의미한 감소를 발생시킬 것이다.
- [0521] 달리 표시되지 않은 한, 명세서 및 청구항에 사용된 성분의 분량, 특성, 예컨대 분자량, 반응 조건 등을 표현하는 모든 숫자는 모든 경우에 용어 "약"에 의해 변형되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 달리 반대로 표시되지 않은 한, 명세서 및 첨부된 청구항에 기재된 숫자 매개변수는 본 발명에 의해 얻어지는 추구하는 원하는 특성에 따라 변할 수 있는 근사치이다. 적어도, 청구항의 범위에 균등물의 원칙의 적용을 제한하고자 하는 시도가 아니면서, 각각의 숫자 매개변수는 보고된 유의미한 디지털의 수의 견지에서 보통의 올림 기법을 적용함으로써 적어도 해석되어야 한다. 추가의 명확성이 요구될 때, 용어 "약"은 기재된 숫자 값 또는 범위와 함께 사용될 때 당해 분야의 당업자에 의해 이것에 합당하게 부여된 의미를 가지고, 즉 기재된 값의 $\pm 20\%$; 기재된 값의 $\pm 19\%$; 기재된 값의 $\pm 18\%$; 기재된 값의 $\pm 17\%$; 기재된 값의 $\pm 16\%$; 기재된 값의 $\pm 15\%$; 기재된 값의 $\pm 14\%$; 기재된 값의 $\pm 13\%$; 기재된 값의 $\pm 12\%$; 기재된 값의 $\pm 11\%$; 기재된 값의 $\pm 10\%$; 기재된 값의 $\pm 9\%$; 기재된 값의 $\pm 8\%$; 기재된 값의 $\pm 7\%$; 기재된 값의 $\pm 6\%$; 기재된 값의 $\pm 5\%$; 기재된 값의 $\pm 4\%$; 기재된 값의 $\pm 3\%$; 기재된 값의 $\pm 2\%$; 또는 기재된 값 $\pm 1\%$ 의 범위 내로 기재된 값 또는 범위의 약간 많거나 약간 적은 것을 의미한다.
- [0522] 본 발명의 광범위한 범위를 기재한 숫자 범위 및 매개변수가 근사치라는 것에도 불구하고, 구체적인 예에 기재한 숫자 값은 가능한 정확하게 보고되어 있다. 그러나, 임의의 숫자 값은 본래 이의 각각의 시험 측정에서 발견된 표준 편차로부터 반드시 생기는 소정의 오류를 함유한다.
- [0523] 본 발명을 설명하는 맥락에서(특히 하기 청구항의 맥락에서) 사용된 용어 "하나", "일", "이" 및 유사한 지시어는, 본 명세서에서 달리 표시되거나 문맥에 의해 명확히 반대되지 않은 한, 단수 및 복수 둘 다를 포괄하는 것으로 해석되어야 한다. 본 명세서에서 값의 범위의 언급은 범위 내에 해당하는 각각의 별개의 값을 개별적으로 언급하는 간단한 방법을 제공하는 것으로 단지 의도된다. 본 명세서에서 달리 표시되지 않는 한, 각각의 개별 값은, 이것이 본 명세서에서 개별적으로 언급된 것처럼, 명세서로 포함된다. 본 명세서에 기재된 모든 방법은, 본 명세서에서 달리 표시되거나 문맥에 의해 달리 명확히 반대되지 않은 한, 임의의 적합한 방식으로 수행될 수 있다. 본 명세서에 제공된 임의의 및 모든 예, 또는 예시적인 언어(예를 들어, "예컨대")의 사용은 본 발명을

더 잘 밝히도록 단지 의도되고, 달리 청구된 본 발명의 범위에 제한을 부여하지 않는다. 명세서에서의 어떠한 언어도 본 발명의 실행에 본질적인 임의의 청구되지 않은 요소를 나타내는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0524] 본 명세서에 개시된 본 발명의 대안적인 요소 또는 실시형태의 그룹화는 제한으로서 해석되지 않아야 한다. 각각의 군 구성원은 개별적으로 또는 본 명세서에서 발견되는 다른 군 구성원 또는 다른 구성요소와 임의의 조합으로 언급되거나 청구될 수 있다. 하나 이상의 군 구성원이 편의 및/또는 특허성의 이유로 군에 포함되거나 군으로부터 삭제될 수 있다는 것으로 예상된다. 임의의 이러한 포함 또는 삭제가 발생할 때, 명세서는 변형된 바대로 군을 함유하여서 첨부된 청구항에 사용된 모든 마쿠쉬(Markush) 군의 쓰여진 설명을 충족시키는 것으로 생각된다.

[0525] 본 발명을 실행하기 위해 본 발명자들에게 공지된 최고의 방식을 포함하여 본 발명의 소정의 실시형태가 본 명세서에 기재되어 있다. 물론, 이 기재된 실시형태의 변형은 상기 명세서를 읽을 때 당해 분야의 당업자에게 명확할 것이다. 본 발명자들은 당업자가 적절한 바대로 이러한 변형을 이용할 것을 기대하고, 본 발명자들은 본 발명이 본 명세서에 구체적으로 기재된 것과 달리 실행되는 것을 의도한다. 따라서, 본 발명은 준거법에 의해 허용되는 바대로 본 명세서에 첨부된 청구항에 기재된 대상의 모든 변형 및 균등물을 포함한다. 더욱이, 모든 가능한 변형의 상기 기재된 구성요소의 임의의 조합은, 본 명세서에서 달리 표시되지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 명확히 반대되지 않는 한, 본 발명에 의해 포함된다.

[0526] 더욱이, 본 명세서에 걸쳐 특허, 인쇄 공보, 저널 논문 및 다른 서면 문헌(본 명세서의 참고자료)에 다양한 참고문헌이 이루어졌다. 언급된 자료의 각각은 이의 참조된 교시내용을 위해 전문이 참고문헌으로 본 명세서에 개별적으로 포함된다.

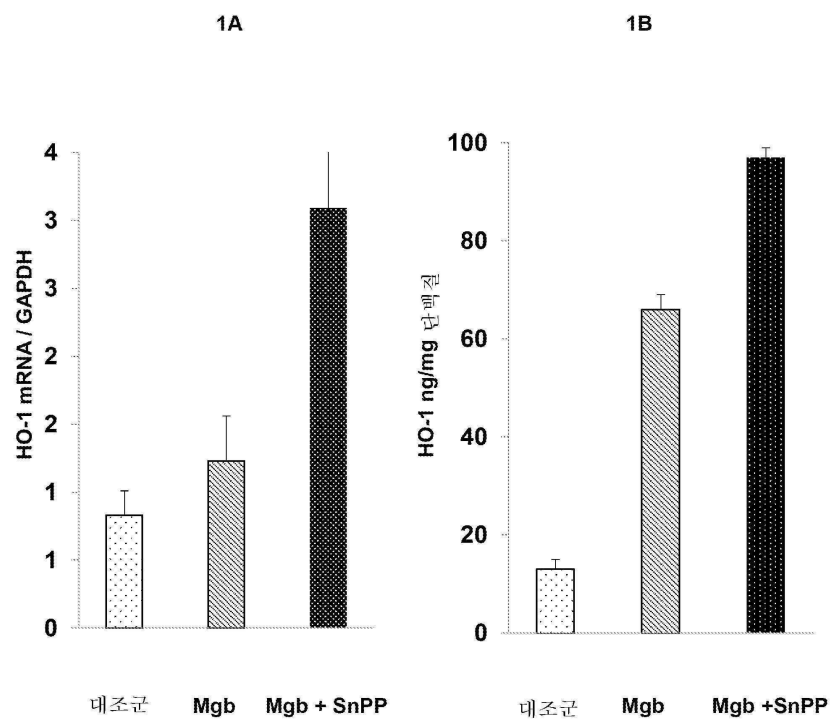
[0527] 본 명세서에서 도시된 특정사항은 오직 본 발명의 바람직한 실시형태의 예시적인 토의의 목적을 위해 그리고 예에 의한 것이고, 본 발명의 다양한 실시형태의 원칙 및 개념적 양태의 가장 유용하고 용이하게 이해된 설명인 것으로 생각되는 것을 제공하는 경우에 제시된다. 이와 관련하여, 본 발명의 기본적인 이해에 대해 필요한 것보다 본 발명의 구조적 상세내용을 더 자세히 나타내도록 시도가 이루어지지 않았고, 설명은 본 발명의 여러 형태가 어떻게 실행 상 구현될 수 있는지 당해 분야의 당업자에게 명확하게 만드는 도면 및/또는 예에 의해 취해진다.

[0528] 본 개시내용에서 사용된 정의 및 설명은 하기 예에서 명확히 및 분명하게 변형되지 않은 한 또는 의미의 적용이 임의의 구성을 의미 없게 또는 본질적으로 의미 없게 만들 때 임의의 미래의 구성을 조절하는 것을 의미하고 이렇게 의도된다. 용어의 구성이 이것이 의미 없게 또는 본질적으로 의미 없게 만드는 경우에, 정의는 웹마스터(Webster) 사전(3판) 또는 당해 분야의 당업자에게 공지된 사전, 예컨대 Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology(Ed. Anthony Smith, Oxford University Press, Oxford, 2004)로부터 취해져야 한다.

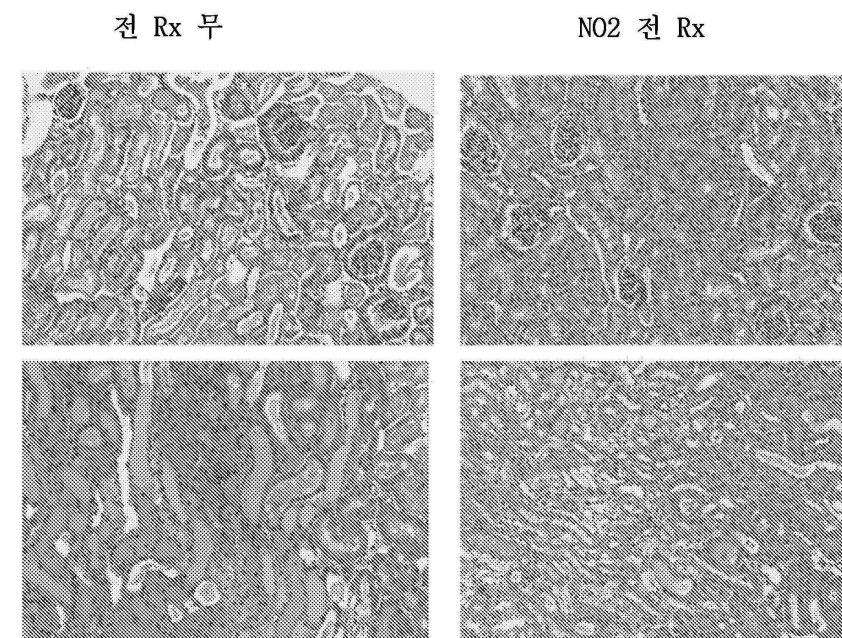
[0529] 마치면서, 본 명세서에 개시된 본 발명의 실시형태가 본 발명의 원칙을 예시하는 것으로 이해되어야 한다. 이용될 수 있는 다른 변형은 본 발명의 범위 내에 있다. 따라서, 제한이 아니라, 예로서, 본 발명의 대안적인 구성은 본 명세서의 교시내용에 따라 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 정확히 도시되고 기재된 것으로 제한되지 않는다.

도면

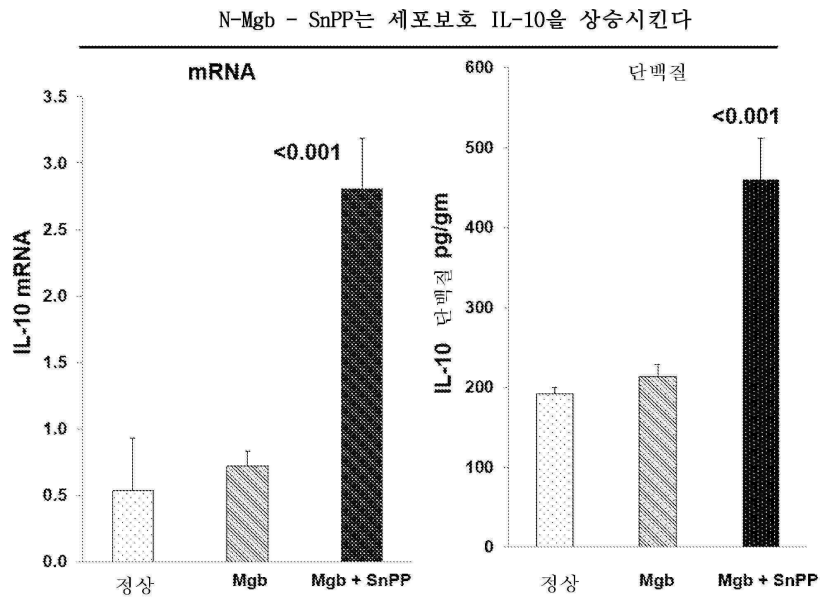
도면1



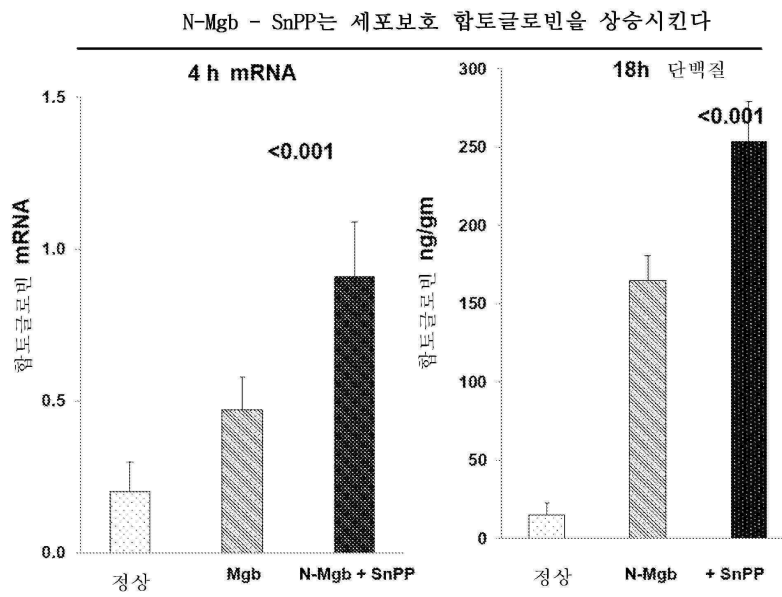
도면2



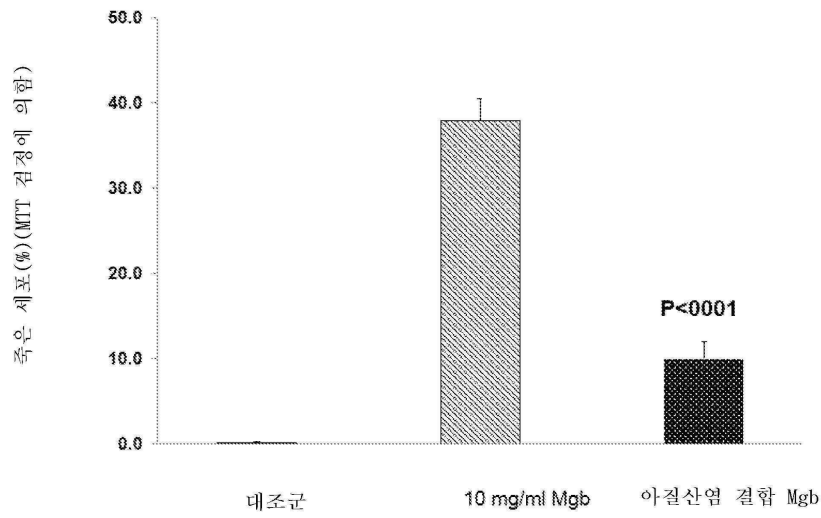
도면3



도면4

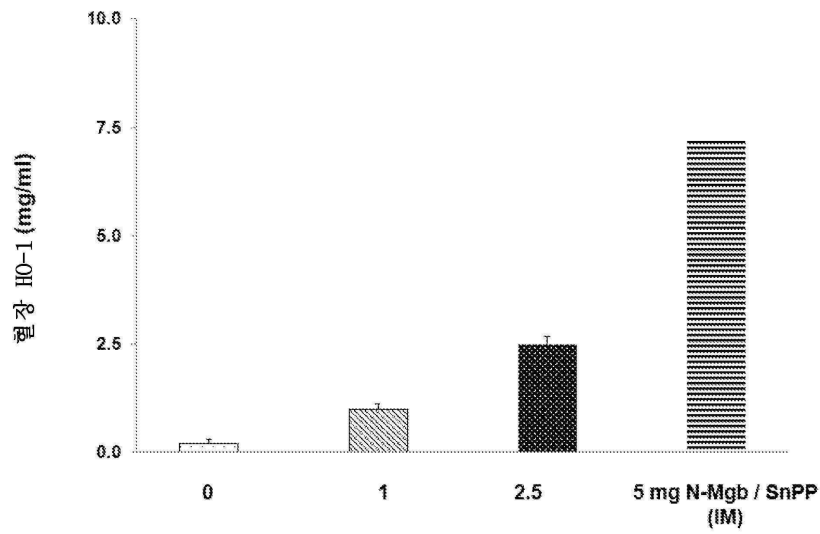


도면5

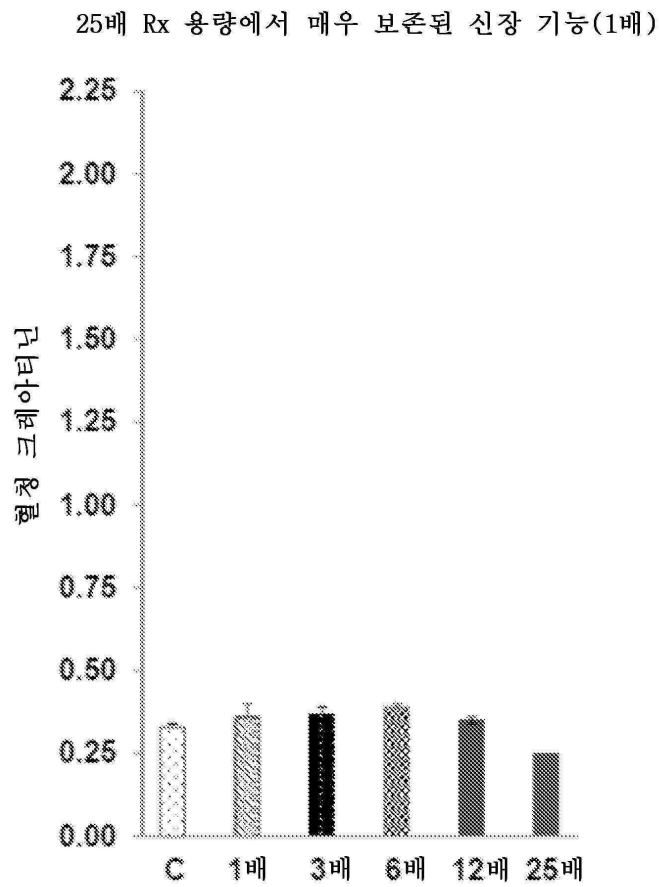


도면6

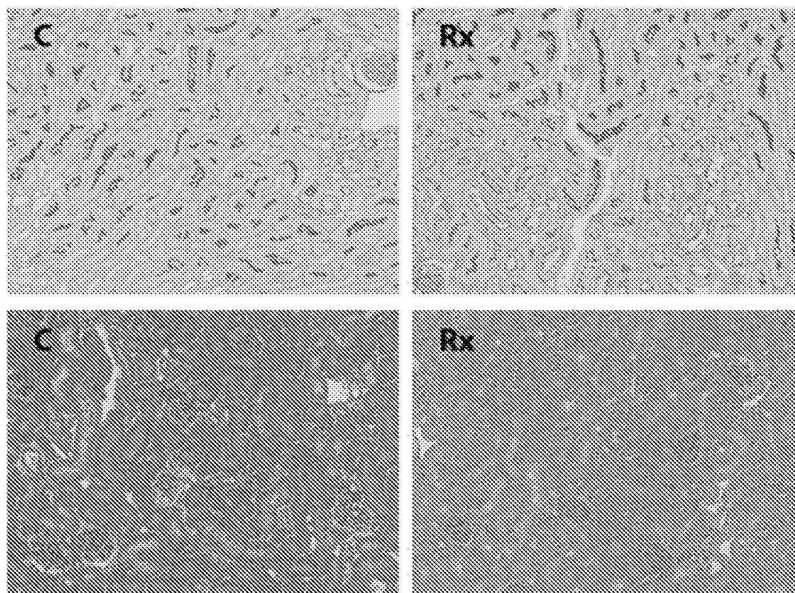
투여된 N 미오글로빈 용량과 혈장 HO-1 단백질 수치 사이의
용량 반응 관계식



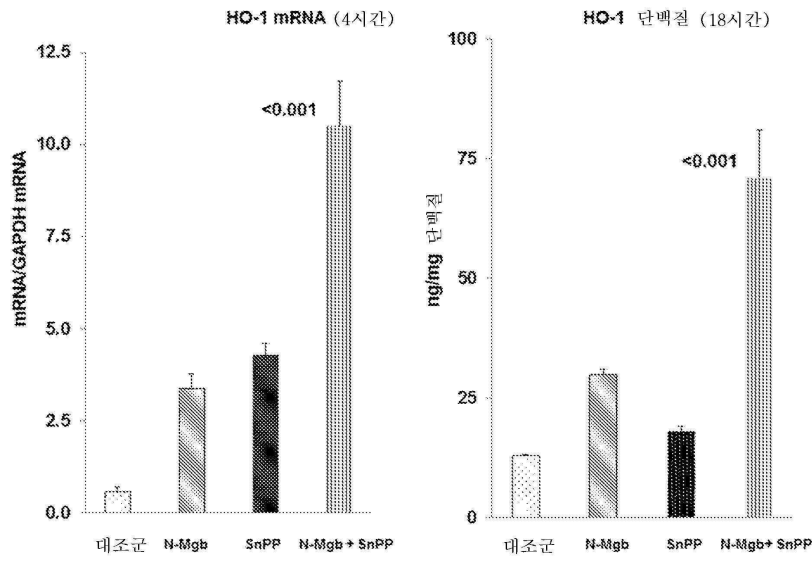
도면7



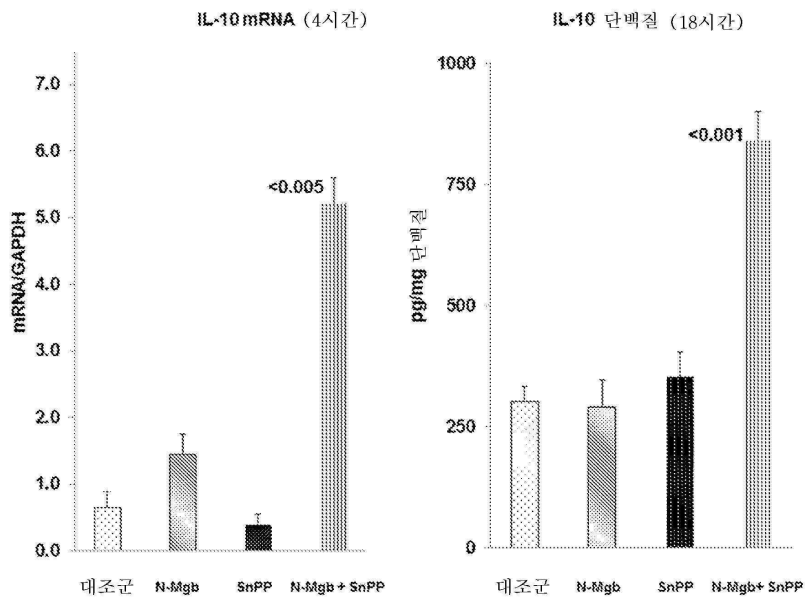
도면8



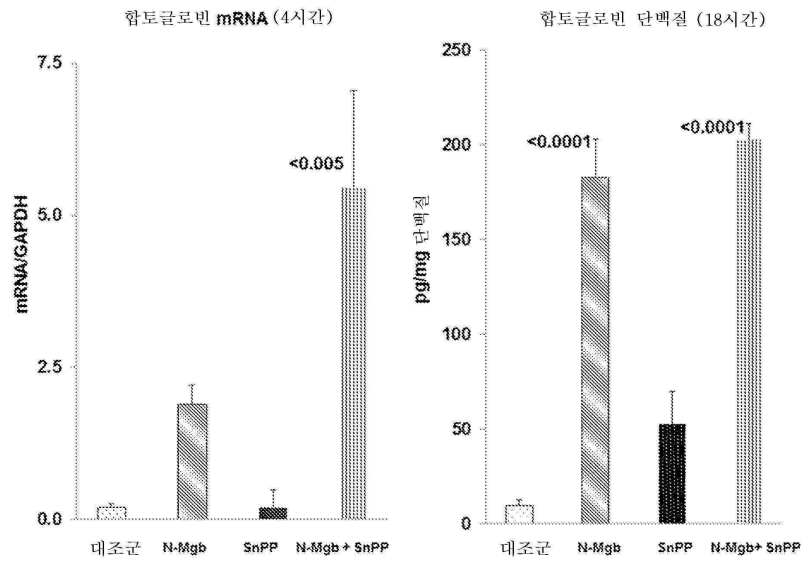
도면9



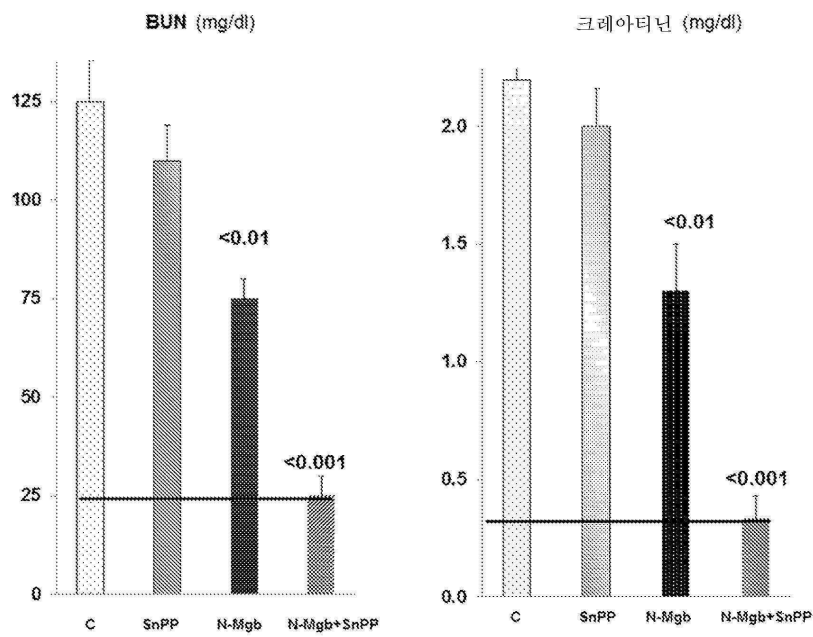
도면10



도면11

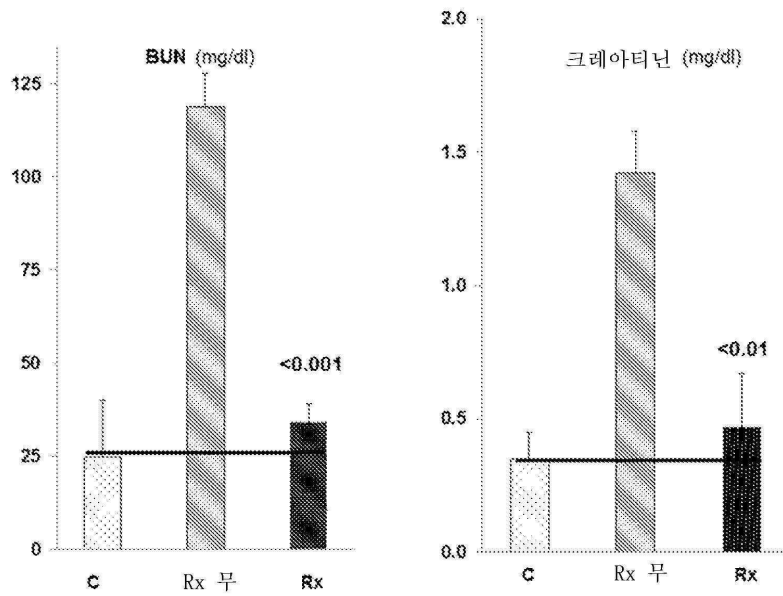


도면12



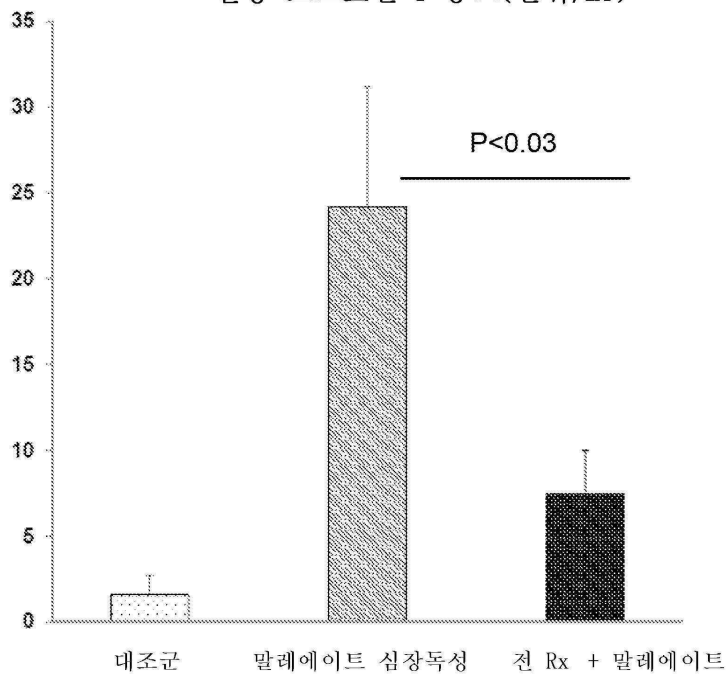
도면13

전처리는 말레이이트에 대해 보호한다 - 유도된 AKI

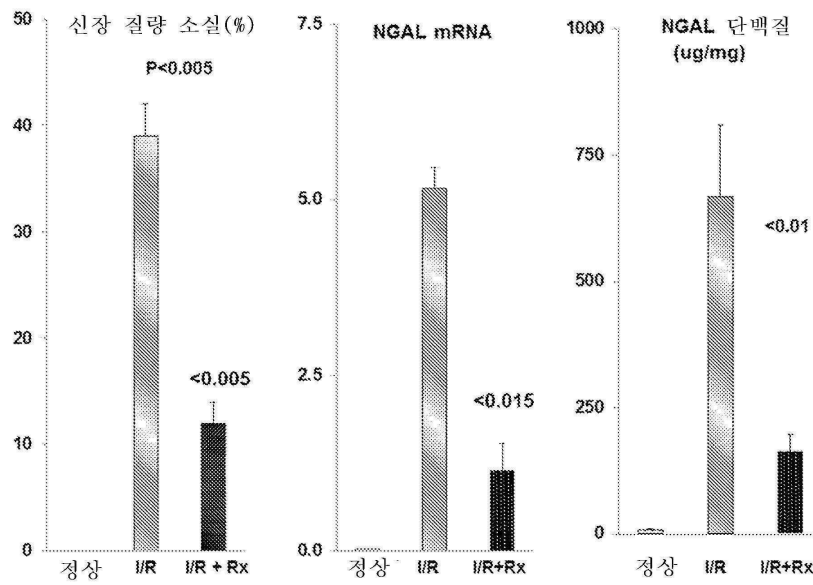


도면14

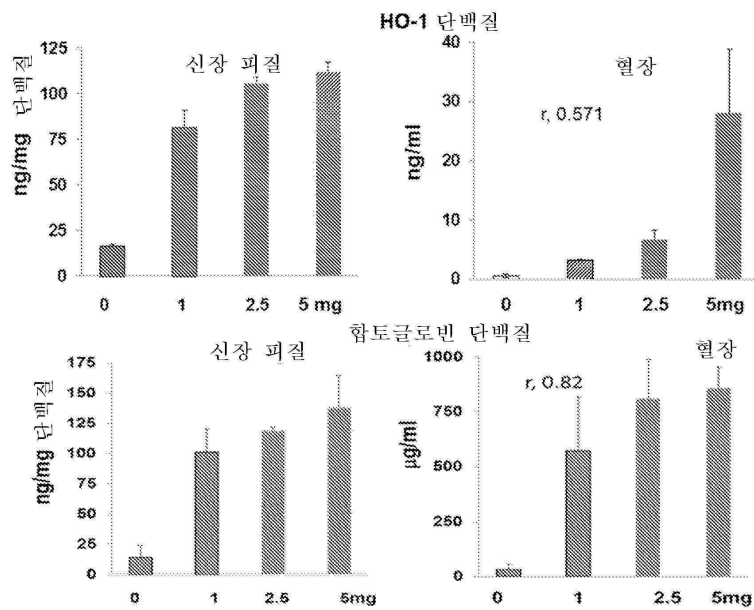
혈장 트로포닌 I 농도(단위/ml)



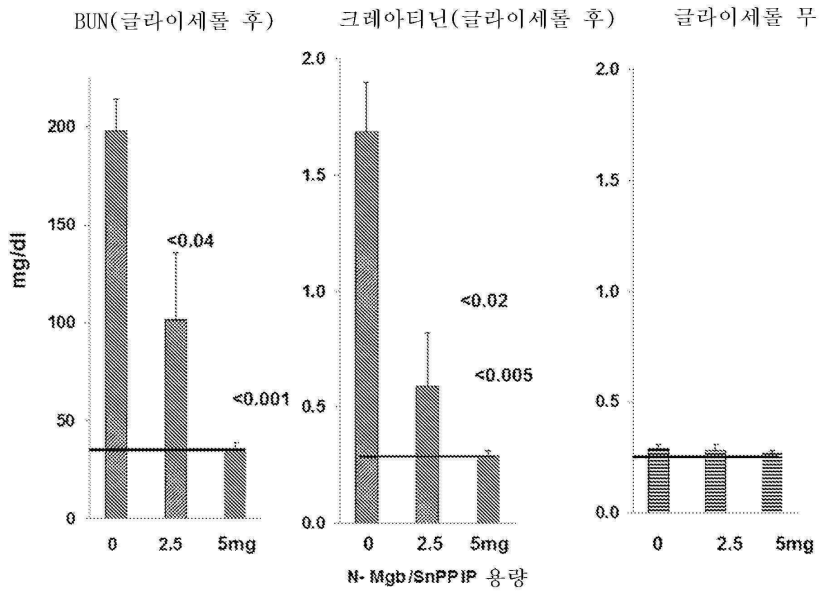
도면15



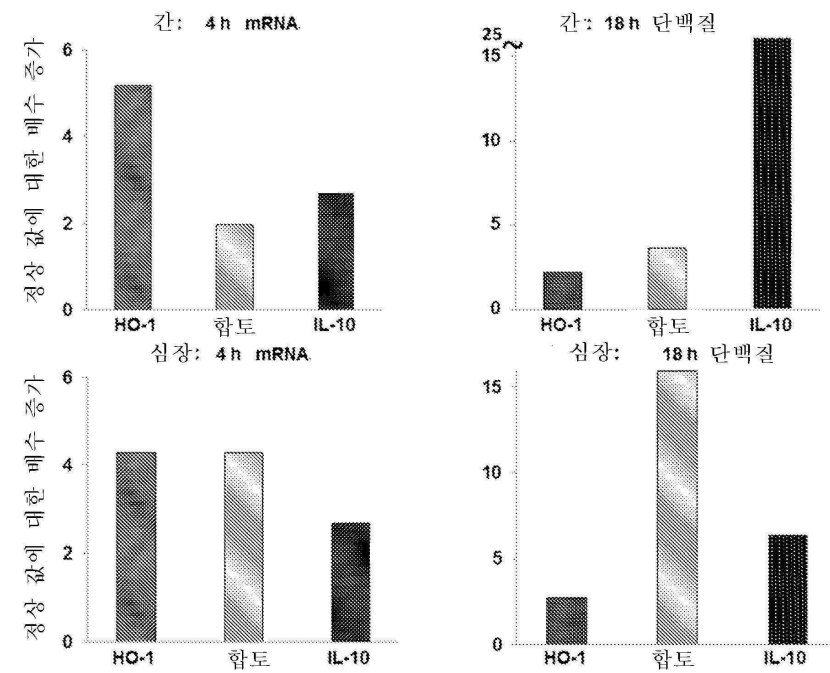
도면16



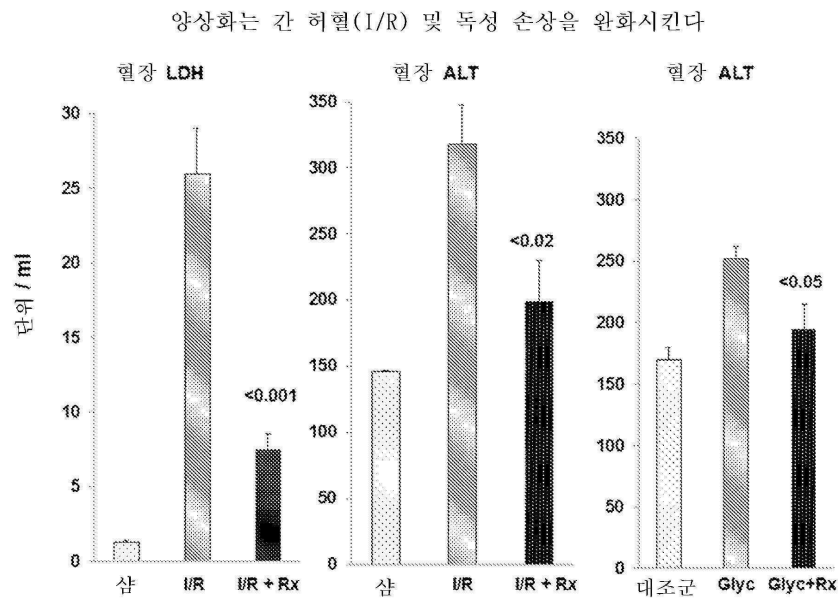
도면17



도면18



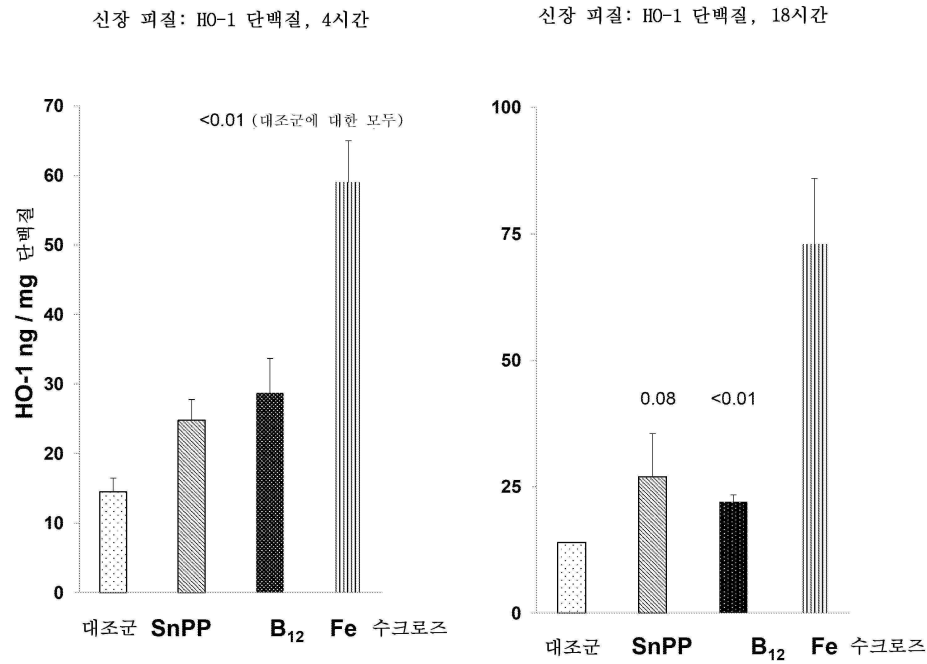
도면19



도면20

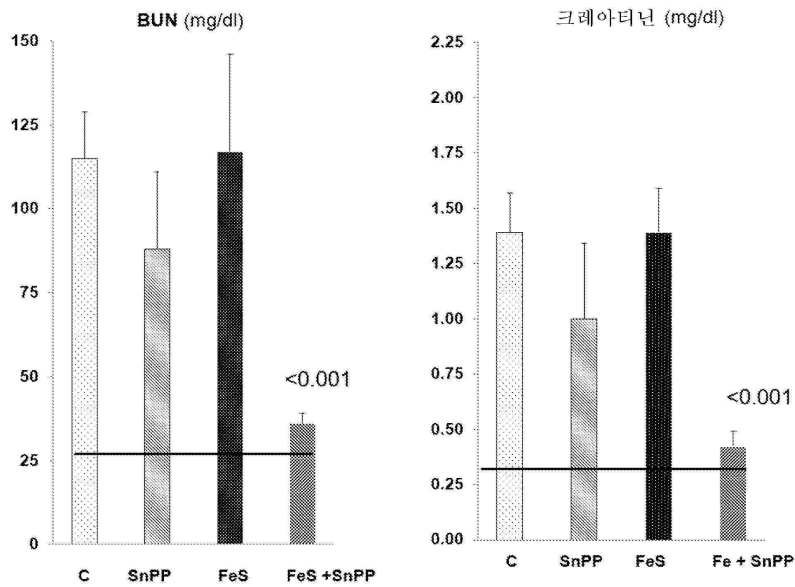


도면21



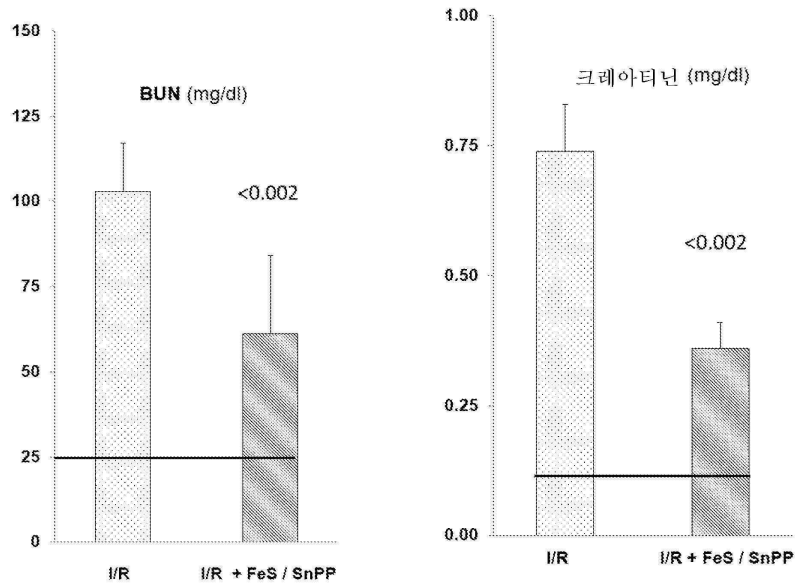
도면22

신장 손상의 말레이트 모델



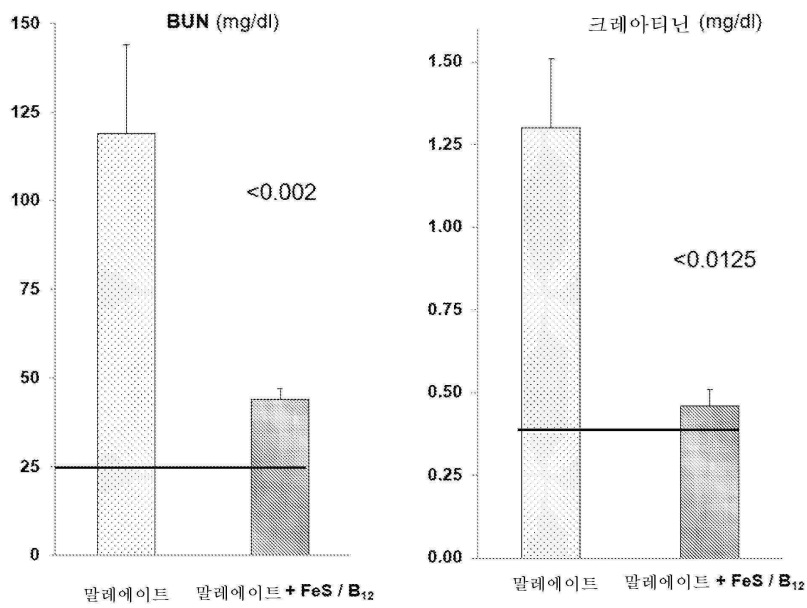
도면23

허혈-재관류(I/R) 모델

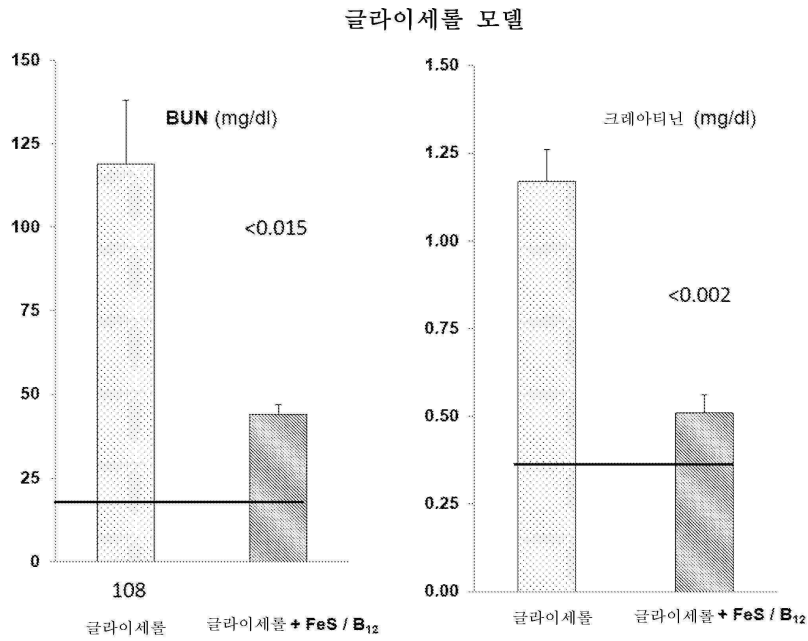


도면24

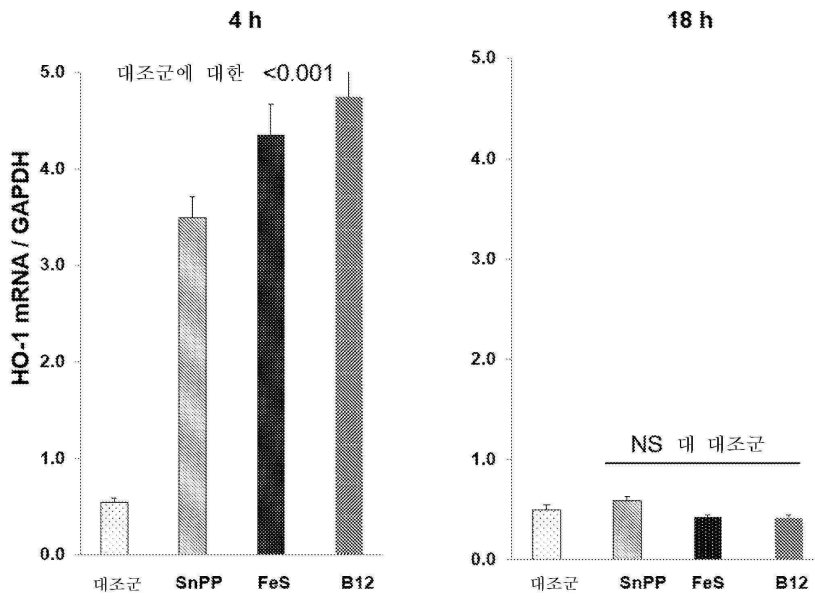
말레이트 모델



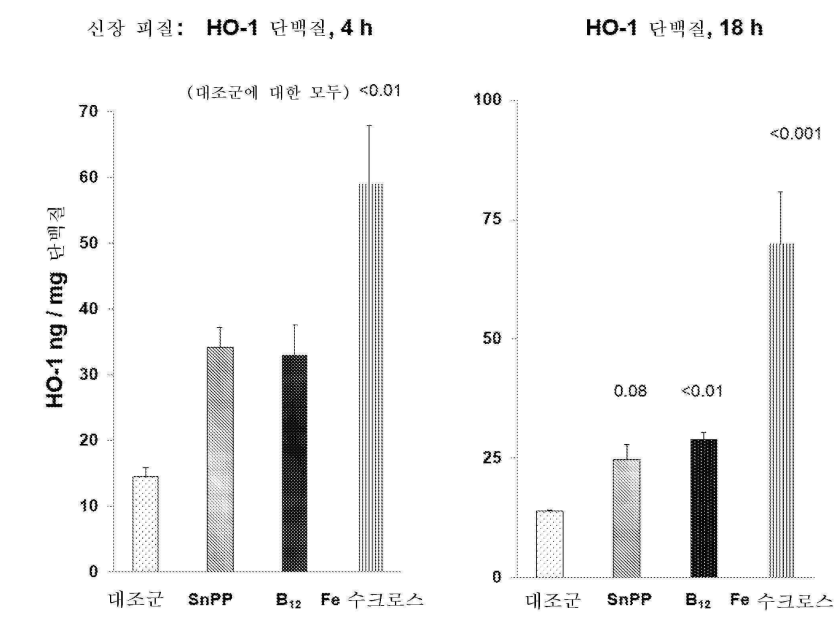
도면25



도면26



도면27



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Fred Hutchinson Cancer Research Center

<120> Inducing Acquired Cytoresistance

<130> F053-0014PCT

<150> 62/057,047

<151> 2014-09-29

<150> 62/212,232

<151> 2015-08-31

<160> 29

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 1

Met Glu Arg Pro Gln Pro Asp Ser Met Pro Gln Asp Leu Ser Glu Ala

1 5 10 15

Leu Lys Glu Ala Thr Lys Glu Val His Thr Gln Ala Glu Asn Ala Glu

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

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

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

 210 215 220
 Thr Lys Asp Gln Ser Pro Ser Arg Ala Pro Gly Leu Arg Gln Arg Ala
 225 230 235 240
 Ser Asn Lys Val Gln Asp Ser Ala Pro Val Glu Thr Pro Arg Gly Lys
 245 250 255
 Pro Pro Leu Asn Thr Arg Ser Gln Ala Pro Leu Leu Arg Trp Val Leu
 260 265 270

Thr Leu Ser Phe Leu Val Ala Thr Val Ala Val Gly Leu Tyr Ala Met

275 280 285

<210> 2

<211> 370

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 2

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

1 5 10 15

Ala His Cys Ser Leu His Leu Leu Gly Ser Arg Asp Ser Pro Ala Ser

20 25 30

Ala Ser Cys Val Ala Gly Ile Thr Gly Pro Glu Glu Arg Glu Gln Gln

35 40 45

Glu Pro His Pro Ala Ala Met Ser Ala Glu Val Glu Thr Ser Glu Gly

50 55 60

Val Asp Glu Ser Glu Lys Lys Asn Ser Gly Ala Leu Glu Lys Glu Asn

65 70 75 80

Gln Met Arg Met Ala Asp Leu Ser Glu Leu Leu Lys Glu Gly Thr Lys

85 90 95

Glu Ala His Asp Arg Ala Glu Asn Thr Gln Phe Val Lys Asp Phe Leu

100 105 110

Lys Gly Asn Ile Lys Lys Glu Leu Phe Lys Leu Ala Thr Thr Ala Leu

115 120 125

Tyr Phe Thr Tyr Ser Ala Leu Glu Glu Glu Met Glu Arg Asn Lys Asp

130 135 140

His Pro Ala Phe Ala Pro Leu Tyr Phe Pro Met Glu Leu His Arg Lys

145 150 155 160

Glu Ala Leu Thr Lys Asp Met Glu Tyr Phe Phe Gly Glu Asn Trp Glu

165 170 175

Glu Gln Val Gln Cys Pro Lys Ala Ala Gln Lys Tyr Val Glu Arg Ile

180 185 190

His Tyr Ile Gly Gln Asn Glu Pro Glu Leu Leu Val Ala His Ala Tyr
195 200 205

Thr Arg Tyr Met Gly Asp Leu Ser Gly Gly Gln Val Leu Lys Lys Val
210 215 220

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

Tyr Leu Phe Glu Asn Val Asp Asn Ala Gln Gln Phe Lys Gln Leu Tyr
245 250 255

Arg Ala Arg Met Asn Ala Leu Asp Leu Asn Met Lys Thr Lys Glu Arg
260 265 270

Ile Val Glu Glu Ala Asn Lys Ala Phe Glu Tyr Asn Met Gln Ile Phe
275 280 285

Asn Glu Leu Asp Gln Ala Gly Ser Thr Leu Ala Arg Glu Thr Leu Glu
290 295 300

Asp Gly Phe Pro Val His Asp Gly Lys Gly Asp Met Arg Lys Cys Pro
305 310 315 320

Phe Tyr Ala Ala Glu Gln Asp Lys Gly Ala Leu Glu Gly Ser Ser Cys
325 330 335

Pro Phe Arg Thr Ala Met Ala Val Leu Arg Lys Pro Ser Leu Gln Phe
340 345 350

Ile Leu Ala Ala Gly Val Ala Leu Ala Ala Gly Leu Leu Ala Trp Tyr
355 360 365

Tyr Met
370

<210> 3

<211> 316

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 3

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

Lys Asn Ser Gly Ala Leu Glu Lys Glu Asn Gln Met Arg Met Ala Asp

20 25 30
 Leu Ser Glu Leu Leu Lys Glu Gly Thr Lys Glu Ala His Asp Arg Ala
 35 40 45
 Glu Asn Thr Gln Phe Val Lys Asp Phe Leu Lys Gly Asn Ile Lys Lys

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

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

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

 245 250 255
 Asp Gly Lys Gly Asp Met Arg Lys Cys Pro Phe Tyr Ala Ala Glu Gln
 260 265 270

Asp Lys Gly Ala Leu Glu Gly Ser Ser Cys Pro Phe Arg Thr Ala Met
275 280 285

Ala Val Leu Arg Lys Pro Ser Leu Gln Phe Ile Leu Ala Ala Gly Val
290 295 300

Ala Leu Ala Ala Gly Leu Leu Ala Trp Tyr Tyr Met

305 310 315

<210> 4

<211> 287

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 4

Met Ala Asp Leu Ser Glu Leu Leu Lys Glu Gly Thr Lys Glu Ala His
1 5 10 15

Asp Arg Ala Glu Asn Thr Gln Phe Val Lys Asp Phe Leu Lys Gly Asn
20 25 30

Ile Lys Lys Glu Leu Phe Lys Leu Ala Thr Thr Ala Leu Tyr Phe Thr
35 40 45

Tyr Ser Ala Leu Glu Glu Glu Met Glu Arg Asn Lys Asp His Pro Ala
50 55 60

Phe Ala Pro Leu Tyr Phe Pro Met Glu Leu His Arg Lys Glu Ala Leu
65 70 75 80

Thr Lys Asp Met Glu Tyr Phe Phe Gly Glu Asn Trp Glu Glu Gln Val
85 90 95

Gln Cys Pro Lys Ala Ala Gln Lys Tyr Val Glu Arg Ile His Tyr Ile
100 105 110

Gly Gln Asn Glu Pro Glu Leu Leu Val Ala His Ala Tyr Thr Arg Tyr
115 120 125

Met Gly Asp Leu Ser Gly Gly Gln Val Leu Lys Lys Val Ala Gln Arg
130 135 140

Ala Leu Lys Leu Pro Ser Thr Gly Glu Gly Thr Gln Phe Tyr Leu Phe
145 150 155 160

Glu Asn Val Asp Asn Ala Gln Gln Phe Lys Gln Leu Tyr Arg Ala Arg

165 170 175

Met Asn Ala Leu Asp Leu Asn Met Lys Thr Lys Glu Arg Ile Val Glu

180 185 190

Glu Ala Asn Lys Ala Phe Glu Tyr Asn Met Gln Ile Phe Asn Glu Leu

195 200 205

Asp Gln Ala Gly Ser Thr Leu Ala Arg Glu Thr Leu Glu Asp Gly Phe

210 215 220

Pro Val His Asp Gly Lys Gly Asp Met Arg Lys Cys Pro Phe Tyr Ala

225 230 235 240

Ala Glu Gln Asp Lys Gly Ala Leu Glu Gly Ser Ser Cys Pro Phe Arg

245 250 255

Thr Ala Met Ala Val Leu Arg Lys Pro Ser Leu Gln Phe Ile Leu Ala

260 265 270

Ala Gly Val Ala Leu Ala Ala Gly Leu Leu Ala Trp Tyr Tyr Met

275 280 285

<210> 5

<211> 290

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 5

Met Ser Ser Glu Val Glu Thr Ala Glu Ala Val Asp Glu Ser Glu Lys

1 5 10 15

Asn Ser Met Ala Ser Glu Lys Glu Asn His Ser Lys Ile Ala Asp Phe

20 25 30

Ser Asp Leu Leu Lys Glu Gly Thr Lys Glu Ala Asp Asp Arg Ala Glu

35 40 45

Asn Thr Gln Phe Val Lys Asp Phe Leu Lys Gly Asn Ile Lys Lys Glu

50 55 60

Leu Phe Lys Leu Ala Thr Thr Ala Leu Ser Tyr Ser Ala Pro Glu Glu

65 70 75 80

Glu Met Asp Ser Leu Thr Lys Asp Met Glu Tyr Phe Phe Gly Glu Asn

85 90 95
 Trp Glu Glu Lys Val Lys Cys Ser Glu Ala Ala Gln Thr Tyr Val Asp
 100 105 110
 Gln Ile His Tyr Val Gly Gln Asn Glu Pro Glu His Leu Val Ala His
 115 120 125
 Thr Tyr Ser Thr Tyr Met Gly Gly Asn Leu Ser Gly Asp Gln Val Leu

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

 195 200 205
 Ser Glu Leu Asp Gln Ala Gly Ser Ile Pro Val Arg Glu Thr Leu Lys
 210 215 220
 Asn Gly Leu Ser Ile Leu Asp Gly Lys Gly Gly Val Cys Lys Cys Pro
 225 230 235 240
 Phe Asn Ala Ala Gln Pro Asp Lys Gly Thr Leu Gly Gly Ser Asn Cys
 245 250 255
 Pro Phe Gln Met Ser Met Ala Leu Leu Arg Lys Pro Asn Leu Gln Leu

 260 265 270
 Ile Leu Val Ala Ser Met Ala Leu Val Ala Gly Leu Leu Ala Trp Tyr
 275 280 285
 Tyr Met
 290
 <210> 6
 <211> 406
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens
 <400> 6

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

245 250 255
 Ser Val Asn Glu Arg Val Met Pro Ile Cys Leu Pro Ser Lys Asp Tyr
 260 265 270
 Ala Glu Val Gly Arg Val Gly Tyr Val Ser Gly Trp Gly Arg Asn Ala
 275 280 285

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

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

 <210> 7
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens

 <400
 > 7
 Met Ala Arg Val Leu Gly Ala Pro Val Ala Leu Gly Leu Trp Ser Leu
 1 5 10 15
 Cys Trp Ser Leu Ala Ile Ala Thr Pro Leu Pro Pro Thr Ser Ala His
 20 25 30
 Gly Asn Val Ala Glu Gly Glu Thr Lys Pro Asp Pro Asp Val Thr Glu
 35 40 45

Arg Cys Ser Asp Gly Trp Ser Phe Asp Ala Thr Thr Leu Asp Asp Asn
50 55 60

Gly Thr Met Leu Phe Phe Lys Gly Glu Phe Val Trp Lys Ser His Lys
65 70 75 80

Trp Asp Arg Glu Leu Ile Ser Glu Arg Trp Lys Asn Phe Pro Ser Pro
85 90 95

Val Asp Ala Ala Phe Arg Gln Gly His Asn Ser Val Phe Leu Ile Lys
100 105 110

Gly Asp Lys Val Trp Val Tyr Pro Pro Glu Lys Lys Glu Lys Gly Tyr
115 120 125

Pro Lys Leu Leu Gln Asp Glu Phe Pro Gly Ile Pro Ser Pro Leu Asp
130 135 140

Ala Ala Val Glu Cys His Arg Gly Glu Cys Gln Ala Glu Gly Val Leu
145 150 155 160

Phe Phe Gln Gly Asp Arg Glu Trp Phe Trp Asp Leu Ala Thr Gly Thr
165 170 175

Met Lys Glu Arg Ser Trp Pro Ala Val Gly Asn Cys Ser Ser Ala Leu
180 185 190

Arg Trp Leu Gly Arg Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Asn Gln Phe Leu Arg
195 200 205

Phe Asp Pro Val Arg Gly Glu Val Pro Pro Arg Tyr Pro Arg Asp Val
210 215 220

Arg Asp Tyr Phe Met Pro Cys Pro Gly Arg Gly His Gly His Arg Asn
225 230 235 240

Gly Thr Gly His Gly Asn Ser Thr His His Gly Pro Glu Tyr Met Arg
245 250 255

Cys Ser Pro His Leu Val Leu Ser Ala Leu Thr Ser Asp Asn His Gly
260 265 270

Ala Thr Tyr Ala Phe Ser Gly Thr His Tyr Trp Arg Leu Asp Thr Ser
275 280 285

Arg Asp Gly Trp His Ser Trp Pro Ile Ala His Gln Trp Pro Gln Gly

290 295 300
 Pro Ser Ala Val Asp Ala Ala Phe Ser Trp Glu Glu Lys Leu Tyr Leu
 305 310 315 320

 Val Gln Gly Thr Gln Val Tyr Val Phe Leu Thr Lys Gly Gly Tyr Thr
 325 330 335
 Leu Val Ser Gly Tyr Pro Lys Arg Leu Glu Lys Glu Val Gly Thr Pro
 340 345 350
 His Gly Ile Ile Leu Asp Ser Val Asp Ala Ala Phe Ile Cys Pro Gly
 355 360 365
 Ser Ser Arg Leu His Ile Met Ala Gly Arg Arg Leu Trp Trp Leu Asp
 370 375 380

 Leu Lys Ser Gly Ala Gln Ala Thr Trp Thr Glu Leu Pro Trp Pro His
 385 390 395 400
 Glu Lys Val Asp Gly Ala Leu Cys Met Glu Lys Ser Leu Gly Pro Asn
 405 410 415
 Ser Cys Ser Ala Asn Gly Pro Gly Leu Tyr Leu Ile His Gly Pro Asn
 420 425 430
 Leu Tyr Cys Tyr Ser Asp Val Glu Lys Leu Asn Ala Ala Lys Ala Leu
 435 440 445

 Pro Gln Pro Gln Asn Val Thr Ser Leu Leu Gly Cys Thr His
 450 455 460

 <210> 8
 <211> 84
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens
 <400> 8

 Met Ala Leu Ser Ser Gln Ile Trp Ala Ala Cys Leu Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Ser Leu Thr Ser Gly Ser Val Phe Pro Gln Gln Thr Gly
 20 25 30
 Gln Leu Ala Glu Leu Gln Pro Gln Asp Arg Ala Gly Ala Arg Ala Ser

35 40 45
 Trp Met Pro Met Phe Gln Arg Arg Arg Arg Arg Asp Thr His Phe Pro
 50 55 60
 Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys His Arg Ser Lys Cys Gly Met
 65 70 75 80
 Cys Cys Lys Thr

<210> 9

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 9

Asp Thr His Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys His Arg
 1 5 10 15

Ser Lys Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr
 20 25

<210> 10

<211> 418

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 10

Met Pro Ser Ser Val Ser Trp Gly Ile Leu Leu Leu Ala Gly Leu Cys
 1 5 10 15

Cys Leu Val Pro Val Ser Leu Ala Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala
 20 25 30

Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn
 35 40 45

Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln
 50 55 60

Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser
 65 70 75 80

Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr
 85 90 95

His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro
100 105 110

Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn
115 120 125

Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu
130 135 140

Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys
145 150 155 160

Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu
165 170 175

Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys
180 185 190

Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu
195 200 205

Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val
210 215 220

Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe His Val Asp Gln Val Thr Thr Val
225 230 235 240

Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys
245 250 255

Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala
260 265 270

Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu
275 280 285

Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp
290 295 300

Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr
305 310 315 320

Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe
325 330 335

Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys

340 345 350
 Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly
 355 360 365

Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile
 370 375 380
 Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu
 385 390 395 400
 Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr
 405 410 415
 Gln Lys

<210> 11
 <211> 178
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens
 <400> 11
 Met His Ser Ser Ala Leu Leu Cys Cys Leu Val Leu Leu Thr Gly Val

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

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

Phe Leu Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn

130 135 140
Ala Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu
145 150 155 160
Phe Asp Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile
165 170 175
Arg Asn

<210> 12

<211> 654

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 12

Met Lys Leu Ser Leu Val Ala Ala Met Leu Leu Leu Leu Ser Ala Ala
1 5 10 15

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

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

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

 Tyr Gly Leu Asp Lys Arg Glu Gly Glu Lys Asn Ile Leu Val Phe Asp
 210 215 220
 Leu Gly Gly Gly Thr Phe Asp Val Ser Leu Leu Thr Ile Asp Asn Gly
 225 230 235 240
 Val Phe Glu Val Val Ala Thr Asn Gly Asp Thr His Leu Gly Gly Glu
 245 250 255
 Asp Phe Asp Gln Arg Val Met Glu His Phe Ile Lys Leu Tyr Lys Lys
 260 265 270

 Lys Thr Gly Lys Asp Val Arg Lys Asp Asn Arg Ala Val Gln Lys Leu
 275 280 285
 Arg Arg Glu Val Glu Lys Ala Lys Arg Ala Leu Ser Ser Gln His Gln
 290 295 300
 Ala Arg Ile Glu Ile Glu Ser Phe Tyr Glu Gly Glu Asp Phe Ser Glu
 305 310 315 320
 Thr Leu Thr Arg Ala Lys Phe Glu Glu Leu Asn Met Asp Leu Phe Arg
 325 330 335

 Ser Thr Met Lys Pro Val Gln Lys Val Leu Glu Asp Ser Asp Leu Lys
 340 345 350
 Lys Ser Asp Ile Asp Glu Ile Val Leu Val Gly Gly Ser Thr Arg Ile
 355 360 365
 Pro Lys Ile Gln Gln Leu Val Lys Glu Phe Phe Asn Gly Lys Glu Pro
 370 375 380
 Ser Arg Gly Ile Asn Pro Asp Glu Ala Val Ala Tyr Gly Ala Ala Val

385 390 395 400
 Gln Ala Gly Val Leu Ser Gly Asp Gln Asp Thr Gly Asp Leu Val Leu
 405 410 415
 Leu Asp Val Cys Pro Leu Thr Leu Gly Ile Glu Thr Val Gly Gly Val
 420 425 430
 Met Thr Lys Leu Ile Pro Arg Asn Thr Val Val Pro Thr Lys Lys Ser
 435 440 445
 Gln Ile Phe Ser Thr Ala Ser Asp Asn Gln Pro Thr Val Thr Ile Lys
 450 455 460

 Val Tyr Glu Gly Glu Arg Pro Leu Thr Lys Asp Asn His Leu Leu Gly
 465 470 475 480
 Thr Phe Asp Leu Thr Gly Ile Pro Pro Ala Pro Arg Gly Val Pro Gln
 485 490 495
 Ile Glu Val Thr Phe Glu Ile Asp Val Asn Gly Ile Leu Arg Val Thr
 500 505 510
 Ala Glu Asp Lys Gly Thr Gly Asn Lys Asn Lys Ile Thr Ile Thr Asn
 515 520 525

 Asp Gln Asn Arg Leu Thr Pro Glu Glu Ile Glu Arg Met Val Asn Asp
 530 535 540
 Ala Glu Lys Phe Ala Glu Glu Asp Lys Lys Leu Lys Glu Arg Ile Asp
 545 550 555 560
 Thr Arg Asn Glu Leu Glu Ser Tyr Ala Tyr Ser Leu Lys Asn Gln Ile
 565 570 575
 Gly Asp Lys Glu Lys Leu Gly Gly Lys Leu Ser Ser Glu Asp Lys Glu
 580 585 590

 Thr Met Glu Lys Ala Val Glu Glu Lys Ile Glu Trp Leu Glu Ser His
 595 600 605
 Gln Asp Ala Asp Ile Glu Asp Phe Lys Ala Lys Lys Lys Glu Leu Glu
 610 615 620
 Glu Ile Val Gln Pro Ile Ile Ser Lys Leu Tyr Gly Ser Ala Gly Pro
 625 630 635 640

Pro Pro Thr Gly Glu Glu Asp Thr Ala Glu Lys Asp Glu Leu

645

650

<210> 13

<211> 840

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 13

Met Ser Val Val Gly Ile Asp Leu Gly Phe Gln Ser Cys Tyr Val Ala

1 5 10 15

Val Ala Arg Ala Gly Gly Ile Glu Thr Ile Ala Asn Glu Tyr Ser Asp

20 25 30

Arg Cys Thr Pro Ala Cys Ile Ser Phe Gly Pro Lys Asn Arg Ser Ile

35 40 45

Gly Ala Ala Ala Lys Ser Gln Val Ile Ser Asn Ala Lys Asn Thr Val

50 55 60

Gln Gly Phe Lys Arg Phe His Gly Arg Ala Phe Ser Asp Pro Phe Val

65 70 75 80

Glu Ala Glu Lys Ser Asn Leu Ala Tyr Asp Ile Val Gln Leu Pro Thr

85 90 95

Gly Leu Thr Gly Ile Lys Val Thr Tyr Met Glu Glu Glu Arg Asn Phe

100 105 110

Thr Thr Glu Gln Val Thr Ala Met Leu Leu Ser Lys Leu Lys Glu Thr

115 120 125

Ala Glu Ser Val Leu Lys Lys Pro Val Val Asp Cys Val Val Ser Val

130 135 140

Pro Cys Phe Tyr Thr Asp Ala Glu Arg Arg Ser Val Met Asp Ala Thr

145 150 155 160

Gln Ile Ala Gly Leu Asn Cys Leu Arg Leu Met Asn Glu Thr Thr Ala

165 170 175

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

180 185 190

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

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

 500 505 510
 Asp Gln Asn Ala Lys Glu Glu Glu Lys Met Gln Val Asp Gln Glu Glu
 515 520 525
 Pro His Val Glu Glu Gln Gln Gln Gln Thr Pro Ala Glu Asn Lys Ala
 530 535 540
 Glu Ser Glu Glu Met Glu Thr Ser Gln Ala Gly Ser Lys Asp Lys Lys
 545 550 555 560
 Met Asp Gln Pro Pro Gln Ala Lys Lys Ala Lys Val Lys Thr Ser Thr

 565 570 575
 Val Asp Leu Pro Ile Glu Asn Gln Leu Leu Trp Gln Ile Asp Arg Glu
 580 585 590
 Met Leu Asn Leu Tyr Ile Glu Asn Glu Gly Lys Met Ile Met Gln Asp
 595 600 605
 Lys Leu Glu Lys Glu Arg Asn Asp Ala Lys Asn Ala Val Glu Glu Tyr
 610 615 620
 Val Tyr Glu Met Arg Asp Lys Leu Ser Gly Glu Tyr Glu Lys Phe Val

 625 630 635 640
 Ser Glu Asp Asp Arg Asn Ser Phe Thr Leu Lys Leu Glu Asp Thr Glu
 645 650 655
 Asn Trp Leu Tyr Glu Asp Gly Glu Asp Gln Pro Lys Gln Val Tyr Val
 660 665 670
 Asp Lys Leu Ala Glu Leu Lys Asn Leu Gly Gln Pro Ile Lys Ile Arg
 675 680 685

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

690 695 700

Gln Ile Gln Gln Tyr Met Lys Ile Ile Ser Ser Phe Lys Asn Lys Glu

705 710 715 720

Asp Gln Tyr Asp His Leu Asp Ala Ala Asp Met Thr Lys Val Glu Lys

725 730 735

Ser Thr Asn Glu Ala Met Glu Trp Met Asn Asn Lys Leu Asn Leu Gln

740 745 750

Asn Lys Gln Ser Leu Thr Met Asp Pro Val Val Lys Ser Lys Glu Ile

755 760 765

Glu Ala Lys Ile Lys Glu Leu Thr Ser Thr Cys Ser Pro Ile Ile Ser

770 775 780

Lys Pro Lys Pro Lys Val Glu Pro Pro Lys Glu Glu Gln Lys Asn Ala

785 790 795 800

Glu Gln Asn Gly Pro Val Asp Gly Gln Gly Asp Asn Pro Gly Pro Gln

805 810 815

Ala Ala Glu Gln Gly Thr Asp Thr Ala Val Pro Ser Asp Ser Asp Lys

820 825 830

Lys Leu Pro Glu Met Asp Ile Asp

835 840

<210> 14

<211> 803

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 14

Met Arg Ala Leu Trp Val Leu Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Thr Phe

1 5 10 15

Gly Ser Val Arg Ala Asp Asp Glu Val Asp Val Asp Gly Thr Val Glu

20 25 30

Glu Asp Leu Gly Lys Ser Arg Glu Gly Ser Arg Thr Asp Asp Glu Val

35 40 45

Val Gln Arg Glu Glu Glu Ala Ile Gln Leu Asp Gly Leu Asn Ala Ser
50 55 60
Gln Ile Arg Glu Leu Arg Glu Lys Ser Glu Lys Phe Ala Phe Gln Ala
65 70 75 80
Glu Val Asn Arg Met Met Lys Leu Ile Ile Asn Ser Leu Tyr Lys Asn
85 90 95
Lys Glu Ile Phe Leu Arg Glu Leu Ile Ser Asn Ala Ser Asp Ala Leu
100 105 110
Asp Lys Ile Arg Leu Ile Ser Leu Thr Asp Glu Asn Ala Leu Ser Gly
115 120 125
Asn Glu Glu Leu Thr Val Lys Ile Lys Cys Asp Lys Glu Lys Asn Leu
130 135 140
Leu His Val Thr Asp Thr Gly Val Gly Met Thr Arg Glu Glu Leu Val
145 150 155 160
Lys Asn Leu Gly Thr Ile Ala Lys Ser Gly Thr Ser Glu Phe Leu Asn
165 170 175
Lys Met Thr Glu Ala Gln Glu Asp Gly Gln Ser Thr Ser Glu Leu Ile
180 185 190
Gly Gln Phe Gly Val Gly Phe Tyr Ser Ala Phe Leu Val Ala Asp Lys
195 200 205
Val Ile Val Thr Ser Lys His Asn Asn Asp Thr Gln His Ile Trp Glu
210 215 220
Ser Asp Ser Asn Glu Phe Ser Val Ile Ala Asp Pro Arg Gly Asn Thr
225 230 235 240
Leu Gly Arg Gly Thr Thr Ile Thr Leu Val Leu Lys Glu Glu Ala Ser
245 250 255
Asp Tyr Leu Glu Leu Asp Thr Ile Lys Asn Leu Val Lys Lys Tyr Ser
260 265 270
Gln Phe Ile Asn Phe Pro Ile Tyr Val Trp Ser Ser Lys Thr Glu Thr
275 280 285
Val Glu Glu Pro Met Glu Glu Glu Glu Ala Ala Lys Glu Glu Lys Glu

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

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

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

 485 490 495
 Ile Glu Asp His Ser Asn Arg Thr Arg Leu Ala Lys Leu Leu Arg Phe
 500 505 510
 Gln Ser Ser His His Pro Thr Asp Ile Thr Ser Leu Asp Gln Tyr Val
 515 520 525
 Glu Arg Met Lys Glu Lys Gln Asp Lys Ile Tyr Phe Met Ala Gly Ser
 530 535 540

Ser Arg Lys Glu Ala Glu Ser Ser Pro Phe Val Glu Arg Leu Leu Lys

545 550 555 560

Lys Gly Tyr Glu Val Ile Tyr Leu Thr Glu Pro Val Asp Glu Tyr Cys

565 570 575

Ile Gln Ala Leu Pro Glu Phe Asp Gly Lys Arg Phe Gln Asn Val Ala

580 585 590

Lys Glu Gly Val Lys Phe Asp Glu Ser Glu Lys Thr Lys Glu Ser Arg

595 600 605

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

610 615 620

Lys Ala Leu Lys Asp Lys Ile Glu Lys Ala Val Val Ser Gln Arg Leu

625 630 635 640

Thr Glu Ser Pro Cys Ala Leu Val Ala Ser Gln Tyr Gly Trp Ser Gly

645 650 655

Asn Met Glu Arg Ile Met Lys Ala Gln Ala Tyr Gln Thr Gly Lys Asp

660 665 670

Ile Ser Thr Asn Tyr Tyr Ala Ser Gln Lys Lys Thr Phe Glu Ile Asn

675 680 685

Pro Arg His Pro Leu Ile Arg Asp Met Leu Arg Arg Ile Lys Glu Asp

690 695 700

Glu Asp Asp Lys Thr Val Leu Asp Leu Ala Val Val Leu Phe Glu Thr

705 710 715 720

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

725 730 735

Asp Arg Ile Glu Arg Met Leu Arg Leu Ser Leu Asn Ile Asp Pro Asp

740 745 750

Ala Lys Val Glu Glu Glu Pro Glu Glu Glu Pro Glu Glu Thr Ala Glu

755 760 765

Asp Thr Thr Glu Asp Thr Glu Gln Asp Glu Asp Glu Glu Met Asp Val

770 775 780

Gly Thr Asp Glu Glu Glu Glu Thr Ala Lys Glu Ser Thr Ala Glu Lys

785 790 795 800

Asp Glu Leu

<210> 15

<211> 573

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 15

Met Leu Arg Leu Pro Thr Val Phe Arg Gln Met Arg Pro Val Ser Arg

1 5 10 15

Val Leu Ala Pro His Leu Thr Arg Ala Tyr Ala Lys Asp Val Lys Phe

20 25 30

Gly Ala Asp Ala Arg Ala Leu Met Leu Gln Gly Val Asp Leu Leu Ala

35 40 45

Asp Ala Val Ala Val Thr Met Gly Pro Lys Gly Arg Thr Val Ile Ile

50 55 60

Glu Gln Ser Trp Gly Ser Pro Lys Val Thr Lys Asp Gly Val Thr Val

65 70 75 80

Ala Lys Ser Ile Asp Leu Lys Asp Lys Tyr Lys Asn Ile Gly Ala Lys

85 90 95

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

100 105 110

Thr Thr Thr Ala Thr Val Leu Ala Arg Ser Ile Ala Lys Glu Gly Phe

115 120 125

Glu Lys Ile Ser Lys Gly Ala Asn Pro Val Glu Ile Arg Arg Gly Val

130 135 140

Met Leu Ala Val Asp Ala Val Ile Ala Glu Leu Lys Lys Gln Ser Lys

145 150 155 160

Pro Val Thr Thr Pro Glu Glu Ile Ala Gln Val Ala Thr Ile Ser Ala

165 170 175

Asn Gly Asp Lys Glu Ile Gly Asn Ile Ile Ser Asp Ala Met Lys Lys

180	185	190	
Val Gly Arg Lys Gly Val Ile Thr Val Lys Asp Gly Lys Thr Leu Asn			
195	200	205	
Asp Glu Leu Glu Ile Ile Glu Gly Met Lys Phe Asp Arg Gly Tyr Ile			
210	215	220	
Ser Pro Tyr Phe Ile Asn Thr Ser Lys Gly Gln Lys Cys Glu Phe Gln			
225	230	235	240
Asp Ala Tyr Val Leu Leu Ser Glu Lys Lys Ile Ser Ser Ile Gln Ser			
245	250	255	
Ile Val Pro Ala Leu Glu Ile Ala Asn Ala His Arg Lys Pro Leu Val			
260	265	270	
Ile Ile Ala Glu Asp Val Asp Gly Glu Ala Leu Ser Thr Leu Val Leu			
275	280	285	
Asn Arg Leu Lys Val Gly Leu Gln Val Val Ala Val Lys Ala Pro Gly			
290	295	300	
Phe Gly Asp Asn Arg Lys Asn Gln Leu Lys Asp Met Ala Ile Ala Thr			
305	310	315	320
Gly Gly Ala Val Phe Gly Glu Glu Gly Leu Thr Leu Asn Leu Glu Asp			
325	330	335	
Val Gln Pro His Asp Leu Gly Lys Val Gly Glu Val Ile Val Thr Lys			
340	345	350	
Asp Asp Ala Met Leu Leu Lys Gly Lys Gly Asp Lys Ala Gln Ile Glu			
355	360	365	
Lys Arg Ile Gln Glu Ile Ile Glu Gln Leu Asp Val Thr Thr Ser Glu			
370	375	380	
Tyr Glu Lys Glu Lys Leu Asn Glu Arg Leu Ala Lys Leu Ser Asp Gly			
385	390	395	400
Val Ala Val Leu Lys Val Gly Gly Thr Ser Asp Val Glu Val Asn Glu			
405	410	415	
Lys Lys Asp Arg Val Thr Asp Ala Leu Asn Ala Thr Arg Ala Ala Val			
420	425	430	

Glu Glu Gly Ile Val Leu Gly Gly Gly Cys Ala Leu Leu Arg Cys Ile
435 440 445

Pro Ala Leu Asp Ser Leu Thr Pro Ala Asn Glu Asp Gln Lys Ile Gly
450 455 460

Ile Glu Ile Ile Lys Arg Thr Leu Lys Ile Pro Ala Met Thr Ile Ala
465 470 475 480

Lys Asn Ala Gly Val Glu Gly Ser Leu Ile Val Glu Lys Ile Met Gln
485 490 495

Ser Ser Ser Glu Val Gly Tyr Asp Ala Met Ala Gly Asp Phe Val Asn
500 505 510

Met Val Glu Lys Gly Ile Ile Asp Pro Thr Lys Val Val Arg Thr Ala
515 520 525

Leu Leu Asp Ala Ala Gly Val Ala Ser Leu Leu Thr Thr Ala Glu Val
530 535 540

Val Val Thr Glu Ile Pro Lys Glu Glu Lys Asp Pro Gly Met Gly Ala
545 550 555 560

Met Gly Gly Met Gly Gly Gly Met Gly Gly Gly Met Phe
565 570

<210> 16

<211> 340

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 16

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

Asp Glu Glu Ile Lys Arg Ala Tyr Arg Arg Gln Ala Leu Arg Tyr His
20 25 30

Pro Asp Lys Asn Lys Glu Pro Gly Ala Glu Glu Lys Phe Lys Glu Ile
35 40 45

Ala Glu Ala Tyr Asp Val Leu Ser Asp Pro Arg Lys Arg Glu Ile Phe

50

55

60

Asp	Arg	Tyr	Gly	Glu	Glu	Gly	Leu	Lys	Gly	Ser	Gly	Pro	Ser	Gly	Gly
65				70				75				80			
Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Asn	Gly	Thr	Ser	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	His	Gly
85				90				95							
Asp	Pro	His	Ala	Met	Phe	Ala	Glu	Phe	Phe	Gly	Gly	Arg	Asn	Pro	Phe
100				105				110							
Asp	Thr	Phe	Phe	Gly	Gln	Arg	Asn	Gly	Glu	Glu	Gly	Met	Asp	Ile	Asp
115				120				125							
Asp	Pro	Phe	Ser	Gly	Phe	Pro	Met	Gly	Met	Gly	Gly	Phe	Thr	Asn	Val
130				135				140							
Asn	Phe	Gly	Arg	Ser	Arg	Ser	Ala	Gln	Glu	Pro	Ala	Arg	Lys	Lys	Gln
145				150				155				160			
Asp	Pro	Pro	Val	Thr	His	Asp	Leu	Arg	Val	Ser	Leu	Glu	Glu	Ile	Tyr
165				170				175							
Ser	Gly	Cys	Thr	Lys	Lys	Met	Lys	Ile	Ser	His	Lys	Arg	Leu	Asn	Pro
180				185				190							
Asp	Gly	Lys	Ser	Ile	Arg	Asn	Glu	Asp	Lys	Ile	Leu	Thr	Ile	Glu	Val
195				200				205							
Lys	Lys	Gly	Trp	Lys	Glu	Gly	Thr	Lys	Ile	Thr	Phe	Pro	Lys	Glu	Gly
210				215				220							
Asp	Gln	Thr	Ser	Asn	Asn	Ile	Pro	Ala	Asp	Ile	Val	Phe	Val	Leu	Lys
225				230				235				240			
Asp	Lys	Pro	His	Asn	Ile	Phe	Lys	Arg	Asp	Gly	Ser	Asp	Val	Ile	Tyr
245				250				255							
Pro	Ala	Arg	Ile	Ser	Leu	Arg	Glu	Ala	Leu	Cys	Gly	Cys	Thr	Val	Asn
260				265				270							
Val	Pro	Thr	Leu	Asp	Gly	Arg	Thr	Ile	Pro	Val	Val	Phe	Lys	Asp	Val
275				280				285							
Ile	Arg	Pro	Gly	Met	Arg	Arg	Lys	Val	Pro	Gly	Glu	Gly	Leu	Pro	Leu
290				295				300							
Pro	Lys	Thr	Pro	Glu	Lys	Arg	Gly	Asp	Leu	Ile	Ile	Glu	Phe	Glu	Val

305 310 315 320
 Ile Phe Pro Glu Arg Ile Pro Gln Thr Ser Arg Thr Val Leu Glu Gln
 325 330 335
 Val Leu Pro Ile
 340
 <210> 17
 <211> 645
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens
 <400> 17
 Met Ser Lys Ala Val Gly Ile Asp Leu Gly Thr Thr Tyr Ser Cys Val
 1 5 10 15
 Ala His Phe Val Asn Asp Arg Val Glu Ile Ile Ala Asn Asp Gln Gly
 20 25 30

 Asn Arg Thr Thr Pro Ser Phe Val Ala Phe Thr Asp Thr Glu Arg Leu
 35 40 45
 Ile Gly Asp Ala Ala Lys Asn Gln Ala Ala Met Asn Pro Ala Asn Thr
 50 55 60
 Val Phe Asp Ala Lys Arg Leu Ile Gly Arg Lys Phe Asp Asp Pro Glu
 65 70 75 80
 Val Gln Asn Asp Ile Lys His Phe Pro Phe Lys Val Val Glu Lys Gly
 85 90 95

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

 Leu Ile Ala Gly Leu Asn Val Leu Arg Ile Ile Asn Glu Pro Thr Ala
 165 170 175

Ala Ala Ile Ala Tyr Gly Leu Asp Lys Lys Glu Gln Gly Lys Gly Glu
180 185 190

Gln Asn Ile Leu Ile Phe Asp Leu Gly Gly Gly Thr Phe Asp Val Ser
195 200 205

Leu Leu Ser Ile Asp Glu Gly Ile Phe Glu Val Lys Ala Thr Ala Gly
210 215 220

Asp Thr His Leu Gly Gly Glu Asp Phe Asp Asn Arg Leu Val Asn His
225 230 235 240

Phe Ala Asn Glu Phe Lys Arg Lys Tyr Lys Lys Asp Leu Thr Thr Asn
245 250 255

Gln Arg Ala Leu Arg Arg Leu Arg Thr Ala Cys Glu Arg Ala Lys Arg
260 265 270

Thr Leu Ser Ser Ser Ala Gln Thr Ser Val Glu Ile Asp Ser Leu Tyr
275 280 285

Glu Gly Ile Asp Phe Tyr Thr Ser Ile Thr Arg Ala Arg Phe Glu Glu
290 295 300

Leu Cys Gln Asp Leu Phe Arg Ser Thr Leu Asp Pro Val Glu Lys Val
305 310 315 320

Met Arg Asp Gly Lys Leu Asp Lys Ser Gln Val Ala Glu Ile Val Leu
325 330 335

Val Gly Gly Ser Thr Arg Ile Pro Lys Ile Gln Lys Leu Val Ser Asp
340 345 350

Phe Phe Asn Gly Lys Glu Pro Asn Lys Ser Ile Asn Pro Asp Glu Ala
355 360 365

Val Ala Tyr Gly Ala Ala Val Gln Ala Ala Ile Leu Thr Gly Asp Thr
370 375 380

Ser Ser Lys Thr Gln Asp Leu Leu Leu Leu Asp Val Ala Pro Leu Ser
385 390 395 400

Leu Gly Ile Glu Thr Ala Gly Gly Val Met Thr Lys Leu Ile Pro Arg
405 410 415

Asn Thr Thr Ile Pro Thr Lys Lys Ser Glu Ile Phe Ser Thr Tyr Ser

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

Asp Ala Asn Gly Ile Leu Asn Val Ser Ala Val Glu Lys Gly Thr Gly
 485 490 495
 Lys Ser Gln Lys Ile Thr Ile Thr Asn Asp Lys Gly Arg Leu Ser Lys
 500 505 510
 Glu Glu Ile Asp Arg Met Val Ala Glu Ala Glu Lys Tyr Lys Glu Glu
 515 520 525
 Asp Glu Lys Glu Ala Ala Arg Ile Ala Ala Lys Asn Gly Leu Glu Ser
 530 535 540

Tyr Ala Tyr Ser Leu Lys Gln Thr Ala Ser Glu Lys Gln Phe Glu Glu
 545 550 555 560
 Lys Val Asp Ala Ser Lys Arg Glu Ser Leu Asn Lys Ala Ile Glu Glu
 565 570 575
 Thr Ile Ser Trp Leu Asp Asn Asn Gln Ser Ala Thr Thr Asp Glu Tyr
 580 585 590
 Glu Asp Lys Arg Lys Glu Leu Glu Gly Ile Ala Asn Asp Ala Leu Lys
 595 600 605

Asp Leu Tyr Ala Ala Gly Gly Val Pro Gly Gly Ala Ala Pro Gly Gly
 610 615 620
 Phe Pro Gly Ala Gly Gly Ala Ala Pro Gly Ala Asp Gln Gly Pro Ser
 625 630 635 640
 Val Glu Glu Val Asp
 645

<210> 18
 <211> 854
 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 18

Met Pro Pro Cys Ser Gly Gly Asp Gly Ser Thr Pro Pro Gly Pro Ser
1 5 10 15

Leu Arg Asp Arg Asp Cys Pro Ala Gln Ser Ala Glu Tyr Pro Arg Asp
20 25 30

Arg Leu Asp Pro Arg Pro Gly Ser Pro Ser Glu Ala Ser Ser Pro Pro
35 40 45

Phe Leu Arg Ser Arg Ala Pro Val Asn Trp Tyr Gln Glu Lys Ala Gln
50 55 60

Val Phe Leu Trp His Leu Met Val Ser Gly Ser Thr Thr Leu Leu Cys
65 70 75 80

Leu Trp Lys Gln Pro Phe His Val Ser Ala Phe Pro Val Thr Ala Ser
85 90 95

Leu Ala Phe Arg Gln Ser Gln Gly Ala Gly Gln His Leu Tyr Lys Asp
100 105 110

Leu Gln Pro Phe Ile Leu Leu Arg Leu Leu Met Pro Glu Glu Thr Gln
115 120 125

Thr Gln Asp Gln Pro Met Glu Glu Glu Glu Val Glu Thr Phe Ala Phe
130 135 140

Gln Ala Glu Ile Ala Gln Leu Met Ser Leu Ile Ile Asn Thr Phe Tyr
145 150 155 160

Ser Asn Lys Glu Ile Phe Leu Arg Glu Leu Ile Ser Asn Ser Ser Asp
165 170 175

Ala Leu Asp Lys Ile Arg Tyr Glu Ser Leu Thr Asp Pro Ser Lys Leu
180 185 190

Asp Ser Gly Lys Glu Leu His Ile Asn Leu Ile Pro Asn Lys Gln Asp
195 200 205

Arg Thr Leu Thr Ile Val Asp Thr Gly Ile Gly Met Thr Lys Ala Asp
210 215 220

Leu Ile Asn Asn Leu Gly Thr Ile Ala Lys Ser Gly Thr Lys Ala Phe

225 230 235 240
 Met Glu Ala Leu Gln Ala Gly Ala Asp Ile Ser Met Ile Gly Gln Phe
 245 250 255
 Gly Val Gly Phe Tyr Ser Ala Tyr Leu Val Ala Glu Lys Val Thr Val
 260 265 270

 Ile Thr Lys His Asn Asp Asp Glu Gln Tyr Ala Trp Glu Ser Ser Ala
 275 280 285
 Gly Gly Ser Phe Thr Val Arg Thr Asp Thr Gly Glu Pro Met Gly Arg
 290 295 300
 Gly Thr Lys Val Ile Leu His Leu Lys Glu Asp Gln Thr Glu Tyr Leu
 305 310 315 320
 Glu Glu Arg Arg Ile Lys Glu Ile Val Lys Lys His Ser Gln Phe Ile
 325 330 335

 Gly Tyr Pro Ile Thr Leu Phe Val Glu Lys Glu Arg Asp Lys Glu Val
 340 345 350
 Ser Asp Asp Glu Ala Glu Glu Lys Glu Asp Lys Glu Glu Glu Lys Glu
 355 360 365
 Lys Glu Glu Lys Glu Ser Glu Asp Lys Pro Glu Ile Glu Asp Val Gly
 370 375 380
 Ser Asp Glu Glu Glu Glu Lys Lys Asp Gly Asp Lys Lys Lys Lys Lys
 385 390 395 400

 Lys Ile Lys Glu Lys Tyr Ile Asp Gln Glu Glu Leu Asn Lys Thr Lys
 405 410 415
 Pro Ile Trp Thr Arg Asn Pro Asp Asp Ile Thr Asn Glu Glu Tyr Gly
 420 425 430
 Glu Phe Tyr Lys Ser Leu Thr Asn Asp Trp Glu Asp His Leu Ala Val
 435 440 445
 Lys His Phe Ser Val Glu Gly Gln Leu Glu Phe Arg Ala Leu Leu Phe
 450 455 460

 Val Pro Arg Arg Ala Pro Phe Asp Leu Phe Glu Asn Arg Lys Lys Lys
 465 470 475 480

Asn Asn Ile Lys Leu Tyr Val Arg Arg Val Phe Ile Met Asp Asn Cys
 485 490 495
 Glu Glu Leu Ile Pro Glu Tyr Leu Asn Phe Ile Arg Gly Val Val Asp
 500 505 510
 Ser Glu Asp Leu Pro Leu Asn Ile Ser Arg Glu Met Leu Gln Gln Ser
 515 520 525

 Lys Ile Leu Lys Val Ile Arg Lys Asn Leu Val Lys Lys Cys Leu Glu
 530 535 540
 Leu Phe Thr Glu Leu Ala Glu Asp Lys Glu Asn Tyr Lys Lys Phe Tyr
 545 550 555 560
 Glu Gln Phe Ser Lys Asn Ile Lys Leu Gly Ile His Glu Asp Ser Gln
 565 570 575
 Asn Arg Lys Lys Leu Ser Glu Leu Leu Arg Tyr Tyr Thr Ser Ala Ser
 580 585 590

 Gly Asp Glu Met Val Ser Leu Lys Asp Tyr Cys Thr Arg Met Lys Glu
 595 600 605
 Asn Gln Lys His Ile Tyr Tyr Ile Thr Gly Glu Thr Lys Asp Gln Val
 610 615 620
 Ala Asn Ser Ala Phe Val Glu Arg Leu Arg Lys His Gly Leu Glu Val
 625 630 635 640
 Ile Tyr Met Ile Glu Pro Ile Asp Glu Tyr Cys Val Gln Gln Leu Lys
 645 650 655

 Glu Phe Glu Gly Lys Thr Leu Val Ser Val Thr Lys Glu Gly Leu Glu
 660 665 670
 Leu Pro Glu Asp Glu Glu Glu Lys Lys Lys Gln Glu Glu Lys Lys Thr
 675 680 685
 Lys Phe Glu Asn Leu Cys Lys Ile Met Lys Asp Ile Leu Glu Lys Lys
 690 695 700
 Val Glu Lys Val Val Val Ser Asn Arg Leu Val Thr Ser Pro Cys Cys
 705 710 715 720

 Ile Val Thr Ser Thr Tyr Gly Trp Thr Ala Asn Met Glu Arg Ile Met

725 730 735
 Lys Ala Gln Ala Leu Arg Asp Asn Ser Thr Met Gly Tyr Met Ala Ala
 740 745 750
 Lys Lys His Leu Glu Ile Asn Pro Asp His Ser Ile Ile Glu Thr Leu
 755 760 765
 Arg Gln Lys Ala Glu Ala Asp Lys Asn Asp Lys Ser Val Lys Asp Leu
 770 775 780

 Val Ile Leu Leu Tyr Glu Thr Ala Leu Leu Ser Ser Gly Phe Ser Leu
 785 790 795 800
 Glu Asp Pro Gln Thr His Ala Asn Arg Ile Tyr Arg Met Ile Lys Leu
 805 810 815
 Gly Leu Gly Ile Asp Glu Asp Asp Pro Thr Ala Asp Asp Thr Ser Ala
 820 825 830
 Ala Val Thr Glu Glu Met Pro Pro Leu Glu Gly Asp Asp Asp Thr Ser
 835 840 845

 Arg Met Glu Glu Val Asp
 850
 <210> 19
 <211> 732
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens
 <400> 19
 Met Pro Glu Glu Thr Gln Thr Gln Asp Gln Pro Met Glu Glu Glu Glu
 1 5 10 15
 Val Glu Thr Phe Ala Phe Gln Ala Glu Ile Ala Gln Leu Met Ser Leu
 20 25 30
 Ile Ile Asn Thr Phe Tyr Ser Asn Lys Glu Ile Phe Leu Arg Glu Leu
 35 40 45

 Ile Ser Asn Ser Ser Asp Ala Leu Asp Lys Ile Arg Tyr Glu Ser Leu
 50 55 60
 Thr Asp Pro Ser Lys Leu Asp Ser Gly Lys Glu Leu His Ile Asn Leu
 65 70 75 80

Ile Pro Asn Lys Gln Asp Arg Thr Leu Thr Ile Val Asp Thr Gly Ile
85 90 95

Gly Met Thr Lys Ala Asp Leu Ile Asn Asn Leu Gly Thr Ile Ala Lys
100 105 110

Ser Gly Thr Lys Ala Phe Met Glu Ala Leu Gln Ala Gly Ala Asp Ile
115 120 125

Ser Met Ile Gly Gln Phe Gly Val Gly Phe Tyr Ser Ala Tyr Leu Val
130 135 140

Ala Glu Lys Val Thr Val Ile Thr Lys His Asn Asp Asp Glu Gln Tyr
145 150 155 160

Ala Trp Glu Ser Ser Ala Gly Gly Ser Phe Thr Val Arg Thr Asp Thr
165 170 175

Gly Glu Pro Met Gly Arg Gly Thr Lys Val Ile Leu His Leu Lys Glu
180 185 190

Asp Gln Thr Glu Tyr Leu Glu Glu Arg Arg Ile Lys Glu Ile Val Lys
195 200 205

Lys His Ser Gln Phe Ile Gly Tyr Pro Ile Thr Leu Phe Val Glu Lys
210 215 220

Glu Arg Asp Lys Glu Val Ser Asp Asp Glu Ala Glu Glu Lys Glu Asp
225 230 235 240

Lys Glu Glu Glu Lys Glu Lys Glu Glu Lys Glu Ser Glu Asp Lys Pro
245 250 255

Glu Ile Glu Asp Val Gly Ser Asp Glu Glu Glu Glu Lys Lys Asp Gly
260 265 270

Asp Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ile Lys Glu Lys Tyr Ile Asp Gln Glu
275 280 285

Glu Leu Asn Lys Thr Lys Pro Ile Trp Thr Arg Asn Pro Asp Asp Ile
290 295 300

Thr Asn Glu Glu Tyr Gly Glu Phe Tyr Lys Ser Leu Thr Asn Asp Trp
305 310 315 320

Glu Asp His Leu Ala Val Lys His Phe Ser Val Glu Gly Gln Leu Glu

325 330 335
 Phe Arg Ala Leu Leu Phe Val Pro Arg Arg Ala Pro Phe Asp Leu Phe
 340 345 350
 Glu Asn Arg Lys Lys Lys Asn Asn Ile Lys Leu Tyr Val Arg Arg Val
 355 360 365

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

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

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

 Gln Glu Glu Lys Lys Thr Lys Phe Glu Asn Leu Cys Lys Ile Met Lys
 565 570 575

Asp Ile Leu Glu Lys Lys Val Glu Lys Val Val Val Ser Asn Arg Leu
580 585 590

Val Thr Ser Pro Cys Cys Ile Val Thr Ser Thr Tyr Gly Trp Thr Ala
595 600 605

Asn Met Glu Arg Ile Met Lys Ala Gln Ala Leu Arg Asp Asn Ser Thr
610 615 620

Met Gly Tyr Met Ala Ala Lys Lys His Leu Glu Ile Asn Pro Asp His
625 630 635 640

Ser Ile Ile Glu Thr Leu Arg Gln Lys Ala Glu Ala Asp Lys Asn Asp
645 650 655

Lys Ser Val Lys Asp Leu Val Ile Leu Leu Tyr Glu Thr Ala Leu Leu
660 665 670

Ser Ser Gly Phe Ser Leu Glu Asp Pro Gln Thr His Ala Asn Arg Ile
675 680 685

Tyr Arg Met Ile Lys Leu Gly Leu Gly Ile Asp Glu Asp Asp Pro Thr
690 695 700

Ala Asp Asp Thr Ser Ala Ala Val Thr Glu Glu Met Pro Pro Leu Glu
705 710 715 720

Gly Asp Asp Asp Thr Ser Arg Met Glu Glu Val Asp
725 730

<210> 20

<211> 198

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 20

Met Pro Leu Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly Ala Leu
1 5 10 15

His Ala Gln Ala Gln Asp Ser Thr Ser Asp Leu Ile Pro Ala Pro Pro
20 25 30

Leu Ser Lys Val Pro Leu Gln Gln Asn Phe Gln Asp Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Gly Lys Trp Tyr Val Val Gly Leu Ala Gly Asn Ala Ile Leu Arg Glu

50 55 60
Asp Lys Asp Pro Gln Lys Met Tyr Ala Thr Ile Tyr Glu Leu Lys Glu
65 70 75 80

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

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

<210> 21

<211> 154

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400

> 21

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

50											55											60						
His	Gly	Ala	Thr	Val	Leu	Thr	Ala	Leu	Gly	Gly	Ile	Leu	Lys	Lys	Lys													
65											70											75						80
Gly	His	His	Glu	Ala	Glu	Ile	Lys	Pro	Leu	Ala	Gln	Ser	His	Ala	Thr													
					85						90						95											
Lys	His	Lys	Ile	Pro	Val	Lys	Tyr	Leu	Glu	Phe	Ile	Ser	Glu	Cys	Ile													
					100						105						110											
Ile	Gln	Val	Leu	Gln	Ser	Lys	His	Pro	Gly	Asp	Phe	Gly	Ala	Asp	Ala													
					115						120						125											
Gln	Gly	Ala	Met	Asn	Lys	Ala	Leu	Glu	Leu	Phe	Arg	Lys	Asp	Met	Ala													
					130						135						140											
Ser	Asn	Tyr	Lys	Glu	Leu	Gly	Phe	Gln	Gly																			
145											150																	
<210>	22																											
<211>	352																											
<212>	PRT																											
<213>	Rattus norvegicus																											
<400>	22																											
Met	Lys	Ser	Leu	Val	Leu	Leu	Leu	Cys	Phe	Ala	Gln	Leu	Trp	Ser	Cys													
1					5					10					15													
Gln	Ser	Ala	Pro	Gln	Gly	Ala	Gly	Leu	Gly	Phe	Arg	Glu	Leu	Ala	Cys													
					20						25						30											
Asp	Asp	Pro	Glu	Thr	Glu	His	Val	Ala	Leu	Ile	Ala	Val	His	Tyr	Leu													
					35						40						45											
Asn	Lys	His	Leu	Leu	Gln	Gly	Phe	Arg	Gln	Ile	Leu	Asn	Gln	Ile	Asp													
					50						55						60											
Lys	Val	Lys	Val	Trp	Ser	Arg	Arg	Pro	Phe	Gly	Gln	Val	Tyr	Glu	Leu													
65						70						75						80										
Glu	Ile	Asp	Thr	Leu	Glu	Thr	Thr	Cys	His	Ala	Leu	Asp	Pro	Thr	Pro													
					85						90						95											
Leu	Ala	Asn	Cys	Ser	Val	Arg	Gln	Gln	Ala	Glu	His	Ala	Val	Glu	Glu													

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

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

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

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

<210> 23

<211> 360

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 23

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

1 5 10 15

Phe Thr Pro Glu Leu Glu Ser Ile Ile Pro Val Pro Ser Asn Lys Thr

20 25 30

Thr Cys Glu Asn Trp Arg Glu Ile His His Leu Val Phe His Val Ala

35 40 45

Asn Ile Cys Phe Ala Val Gly Leu Val Ile Pro Thr Thr Leu His Leu

50 55 60

His Met Ile Phe Leu Arg Gly Met Leu Thr Leu Gly Cys Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Ile Val Trp Ala Thr Leu Tyr Arg Cys Ala Leu Asp Ile Met Ile Trp

85 90 95

Asn Ser Val Phe Leu Gly Val Asn Ile Leu His Leu Ser Tyr Leu Leu

100 105 110

Tyr Lys Lys Arg Pro Val Lys Ile Glu Lys Glu Leu Ser Gly Met Tyr

115 120 125

Arg Arg Leu Phe Glu Pro Leu Arg Val Pro Pro Asp Leu Phe Arg Arg

130 135 140

Leu Thr Gly Gln Phe Cys Met Ile Gln Thr Leu Lys Lys Gly Gln Thr

145 150 155 160

Tyr Ala Ala Glu Asp Lys Thr Ser Val Asp Asp Arg Leu Ser Ile Leu

165 170 175

Leu Lys Gly Lys Met Lys Val Ser Tyr Arg Gly His Phe Leu His Asn

180 185 190

Ile Tyr Pro Cys Ala Phe Ile Asp Ser Pro Glu Phe Arg Ser Thr Gln

195 200 205

Met His Lys Gly Glu Lys Phe Gln Val Thr Ile Ile Ala Asp Asp Asn

210 215 220
 Cys Arg Phe Leu Cys Trp Ser Arg Glu Arg Leu Thr Tyr Phe Leu Glu
 225 230 235 240
 Ser Glu Pro Phe Leu Tyr Glu Ile Phe Arg Tyr Leu Ile Gly Lys Asp

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

 305 310 315 320
 Val Ser Ser Pro His Gln Arg Ala Ser Ala Lys Met Lys Pro Ile Glu
 325 330 335
 Glu Gly Ala Glu Asp Asp Asp Asp Val Phe Glu Pro Ala Ser Pro Asn
 340 345 350
 Thr Leu Lys Val His Gln Leu Pro
 355 360
 <210> 24
 <211> 724
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens
 <400> 24
 Met Pro Glu Glu Val His His Gly Glu Glu Glu Val Glu Thr Phe Ala

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

Leu Asp Ser Gly Lys Glu Leu Lys Ile Asp Ile Ile Pro Asn Pro Gln

65 70 75 80

Glu Arg Thr Leu Thr Leu Val Asp Thr Gly Ile Gly Met Thr Lys Ala

85 90 95

Asp Leu Ile Asn Asn Leu Gly Thr Ile Ala Lys Ser Gly Thr Lys Ala

100 105 110

Phe Met Glu Ala Leu Gln Ala Gly Ala Asp Ile Ser Met Ile Gly Gln

115 120 125

Phe Gly Val Gly Phe Tyr Ser Ala Tyr Leu Val Ala Glu Lys Val Val

130 135 140

Val Ile Thr Lys His Asn Asp Asp Glu Gln Tyr Ala Trp Glu Ser Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Arg Gly Thr Lys Val Ile Leu His Leu Lys Glu Asp Gln Thr Glu Tyr

180 185 190

Leu Glu Glu Arg Arg Val Lys Glu Val Val Lys Lys His Ser Gln Phe

195 200 205

Ile Gly Tyr Pro Ile Thr Leu Tyr Leu Glu Lys Glu Arg Glu Lys Glu

210 215 220

Ile Ser Asp Asp Glu Ala Glu Glu Glu Lys Gly Glu Lys Glu Glu Glu

225 230 235 240

Asp Lys Asp Asp Glu Glu Lys Pro Lys Ile Glu Asp Val Gly Ser Asp

245 250 255

Glu Glu Asp Asp Ser Gly Lys Asp Lys Lys Lys Lys Thr Lys Lys Ile

260 265 270

Lys Glu Lys Tyr Ile Asp Gln Glu Glu Leu Asn Lys Thr Lys Pro Ile

275 280 285

Trp Thr Arg Asn Pro Asp Asp Ile Thr Gln Glu Glu Tyr Gly Glu Phe

290 295 300

Tyr Lys Ser Leu Thr Asn Asp Trp Glu Asp His Leu Ala Val Lys His

305 310 315 320
 Phe Ser Val Glu Gly Gln Leu Glu Phe Arg Ala Leu Leu Phe Ile Pro

 325 330 335
 Arg Arg Ala Pro Phe Asp Leu Phe Glu Asn Lys Lys Lys Lys Asn Asn
 340 345 350
 Ile Lys Leu Tyr Val Arg Arg Val Phe Ile Met Asp Ser Cys Asp Glu
 355 360 365
 Leu Ile Pro Glu Tyr Leu Asn Phe Ile Arg Gly Val Val Asp Ser Glu
 370 375 380
 Asp Leu Pro Leu Asn Ile Ser Arg Glu Met Leu Gln Gln Ser Lys Ile

 385 390 395 400
 Leu Lys Val Ile Arg Lys Asn Ile Val Lys Lys Cys Leu Glu Leu Phe
 405 410 415
 Ser Glu Leu Ala Glu Asp Lys Glu Asn Tyr Lys Lys Phe Tyr Glu Ala
 420 425 430
 Phe Ser Lys Asn Leu Lys Leu Gly Ile His Glu Asp Ser Thr Asn Arg
 435 440 445
 Arg Arg Leu Ser Glu Leu Leu Arg Tyr His Thr Ser Gln Ser Gly Asp

 450 455 460
 Glu Met Thr Ser Leu Ser Glu Tyr Val Ser Arg Met Lys Glu Thr Gln
 465 470 475 480
 Lys Ser Ile Tyr Tyr Ile Thr Gly Glu Ser Lys Glu Gln Val Ala Asn
 485 490 495
 Ser Ala Phe Val Glu Arg Val Arg Lys Arg Gly Phe Glu Val Val Tyr
 500 505 510
 Met Thr Glu Pro Ile Asp Glu Tyr Cys Val Gln Gln Leu Lys Glu Phe

 515 520 525
 Asp Gly Lys Ser Leu Val Ser Val Thr Lys Glu Gly Leu Glu Leu Pro
 530 535 540
 Glu Asp Glu Glu Glu Lys Lys Lys Met Glu Glu Ser Lys Ala Lys Phe
 545 550 555 560

Glu Asn Leu Cys Lys Leu Met Lys Glu Ile Leu Asp Lys Lys Val Glu
565 570 575

Lys Val Thr Ile Ser Asn Arg Leu Val Ser Ser Pro Cys Cys Ile Val

580 585 590
Thr Ser Thr Tyr Gly Trp Thr Ala Asn Met Glu Arg Ile Met Lys Ala
595 600 605

Gln Ala Leu Arg Asp Asn Ser Thr Met Gly Tyr Met Met Ala Lys Lys
610 615 620

His Leu Glu Ile Asn Pro Asp His Pro Ile Val Glu Thr Leu Arg Gln
625 630 635 640

Lys Ala Glu Ala Asp Lys Asn Asp Lys Ala Val Lys Asp Leu Val Val

645 650 655
Leu Leu Phe Glu Thr Ala Leu Leu Ser Ser Gly Phe Ser Leu Glu Asp
660 665 670

Pro Gln Thr His Ser Asn Arg Ile Tyr Arg Met Ile Lys Leu Gly Leu
675 680 685

Gly Ile Asp Glu Asp Glu Val Ala Ala Glu Glu Pro Asn Ala Ala Val
690 695 700

Pro Asp Glu Ile Pro Pro Leu Glu Gly Asp Glu Asp Ala Ser Arg Met

705 710 715 720
Glu Glu Val Asp

<210> 25

<211> 1196

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 25

Met Asn Thr Asp Ser Gly Gly Cys Ala Arg Lys Arg Ala Ala Met Ser
1 5 10 15

Val Thr Leu Thr Ser Val Lys Arg Val Gln Ser Ser Pro Asn Leu Leu
20 25 30

Ala Ala Gly Arg Glu Ser Gln Ser Pro Asp Ser Ala Trp Arg Ser Tyr

35 40 45
 Asn Asp Arg Asn Pro Glu Thr Leu Asn Gly Asp Ala Thr Tyr Ser Ser
 50 55 60
 Leu Ala Ala Lys Gly Phe Arg Ser Val Arg Pro Asn Leu Gln Asp Lys
 65 70 75 80
 Arg Ser Pro Thr Gln Ser Gln Ile Thr Ile Asn Gly Asn Ser Gly Gly
 85 90 95
 Ala Val Ser Pro Val Ser Tyr Tyr Gln Arg Pro Phe Ser Pro Ser Ala
 100 105 110

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

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

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

Asp Pro Pro Asp Arg Lys Val Asp Thr Arg Lys Phe Arg Ser Glu Pro
290 295 300

Arg Ser Ile Phe Glu Tyr Glu Pro Gly Lys Ser Ser Ile Leu Gln His
305 310 315 320

Glu Arg Pro Val Ser Ile Tyr Gln Ser Ser Ile Asp Arg Ser Leu Glu
325 330 335

Arg Pro Ser Ser Ser Ala Ser Met Ala Gly Asp Phe Arg Lys Arg Arg
340 345 350

Lys Ser Glu Pro Ala Val Gly Pro Leu Arg Gly Leu Gly Asp Gln Ser
355 360 365

Ser Ser Arg Thr Ser Pro Gly Arg Ala Asp Leu Pro Gly Ser Ser Ser
370 375 380

Thr Phe Thr Lys Ser Phe Ile Ser Ser Ser Pro Ser Ser Pro Ser Arg
385 390 395 400

Ala Gln Gly Gly Asp Asp Ser Lys Met Cys Pro Pro Leu Cys Ser Tyr
405 410 415

Ser Gly Leu Asn Gly Thr Pro Ser Gly Glu Leu Glu Cys Cys Asn Ala
420 425 430

Tyr Arg Gln His Leu Asp Val Pro Gly Asp Ser Gln Arg Ala Ile Thr
435 440 445

Phe Lys Asn Gly Trp Gln Met Ala Arg Gln Asn Ala Glu Ile Trp Ser
450 455 460

Ser Thr Glu Glu Thr Val Ser Pro Lys Ile Lys Ser Arg Ser Cys Asp
465 470 475 480

Asp Leu Leu Asn Asp Asp Cys Asp Ser Phe Pro Asp Pro Lys Thr Lys
485 490 495

Ser Glu Ser Met Gly Ser Leu Leu Cys Glu Glu Asp Ser Lys Glu Ser
500 505 510

Cys Pro Met Thr Trp Ala Ser Pro Tyr Ile Gln Glu Val Cys Gly Asn
515 520 525

Ser Arg Ser Arg Leu Lys His Arg Ser Ala His Asn Ala Pro Gly Phe

530 535 540
 Leu Lys Met Tyr Lys Lys Met His Arg Ile Asn Arg Lys Asp Leu Met
 545 550 555 560

 Asn Ser Glu Val Ile Cys Ser Val Lys Ser Arg Ile Leu Gln Tyr Glu
 565 570 575
 Lys Glu Gln Gln His Arg Gly Leu Leu His Gly Trp Ser Gln Ser Ser
 580 585 590
 Thr Glu Glu Val Pro Arg Asp Val Val Pro Thr Arg Ile Ser Glu Phe
 595 600 605
 Glu Lys Leu Ile Gln Lys Ser Lys Ser Met Pro Asn Leu Gly Asp Glu
 610 615 620

 Met Leu Ser Pro Ile Thr Leu Glu Pro Pro Gln Asn Gly Leu Cys Pro
 625 630 635 640
 Lys Arg Arg Phe Ser Ile Glu Ser Leu Leu Glu Glu Glu Thr Gln Val
 645 650 655
 Arg His Pro Ser Gln Gly Gln Arg Ser Cys Lys Ser Asn Thr Leu Val
 660 665 670
 Pro Ile His Ile Glu Val Thr Ser Asp Glu Gln Pro Arg Thr His Met
 675 680 685

 Glu Phe Ser Asp Ser Asp Gln Asp Gly Val Val Ser Asp His Ser Asp
 690 695 700
 Tyr Val His Val Glu Gly Ser Ser Phe Cys Ser Glu Ser Asp Phe Asp
 705 710 715 720
 His Phe Ser Phe Thr Ser Ser Glu Ser Phe Tyr Gly Ser Ser His His
 725 730 735
 His His His His His His His His Arg His Leu Ile Ser Ser Cys Lys
 740 745 750

 Gly Arg Cys Pro Ala Ser Tyr Thr Arg Phe Thr Thr Met Leu Lys His
 755 760 765
 Glu Arg Ala Lys His Glu Asn Met Asp Arg Pro Arg Arg Gln Glu Met
 770 775 780

Asp Pro Gly Leu Ser Lys Leu Ala Phe Leu Val Ser Pro Val Pro Phe
 785 790 795 800
 Arg Arg Lys Lys Ile Leu Thr Pro Gln Lys Gln Thr Glu Lys Ala Lys
 805 810 815

Cys Lys Ala Ser Val Val Glu Ala Leu Asp Ser Ala Leu Lys Asp Ile
 820 825 830
 Cys Asp Gln Ile Lys Ala Glu Lys Arg Arg Gly Ser Leu Pro Asp Asn
 835 840 845
 Ser Ile Leu His Arg Leu Ile Ser Glu Leu Leu Pro Gln Ile Pro Glu
 850 855 860
 Arg Asn Ser Ser Leu His Ala Leu Lys Arg Ser Pro Met His Gln Pro
 865 870 875 880

Phe His Pro Leu Pro Pro Asp Gly Ala Ser His Cys Pro Leu Tyr Gln
 885 890 895
 Asn Asp Cys Gly Arg Met Pro His Ser Ala Ser Phe Pro Asp Val Asp
 900 905 910
 Thr Thr Ser Asn Tyr His Ala Gln Asp Tyr Gly Ser Ala Leu Ser Leu
 915 920 925
 Gln Asp His Glu Ser Pro Arg Ser Tyr Ser Ser Thr Leu Thr Asp Leu
 930 935 940

Gly Arg Ser Ala Ser Arg Glu Arg Arg Gly Thr Pro Glu Lys Glu Val
 945 950 955 960
 Lys Leu Pro Ala Lys Ala Val Tyr Asp Phe Lys Ala Gln Thr Ser Lys
 965 970 975
 Glu Leu Ser Phe Lys Lys Gly Asp Thr Val Tyr Ile Leu Arg Lys Ile
 980 985 990
 Asp Gln Asn Trp Tyr Glu Gly Glu His His Gly Arg Val Gly Ile Phe
 995 1000 1005

Pro Ile Ser Tyr Val Glu Lys Leu Thr Pro Pro Glu Lys Ala Gln
 1010 1015 1020
 Pro Ala Arg Pro Pro Pro Pro Val Gln Pro Gly Glu Ile Gly Glu

1025 1030 1035
Ala Ile Ala Lys Tyr Asn Phe Asn Ala Asp Thr Asn Val Glu Leu
1040 1045 1050
Ser Leu Arg Lys Gly Asp Arg Ile Ile Leu Leu Lys Arg Val Asp
1055 1060 1065

Gln Asn Trp Tyr Glu Gly Lys Ile Pro Gly Thr Asn Arg Gln Gly
1070 1075 1080
Ile Phe Pro Val Ser Tyr Val Glu Val Val Lys Arg Asn Ala Lys
1085 1090 1095
Gly Ala Glu Asp Tyr Pro Asp Pro Pro Leu Pro His Ser Tyr Ser
1100 1105 1110
Ser Asp Arg Ile Tyr Thr Leu Ser Ser Asn Lys Pro Gln Arg Pro
1115 1120 1125

Gly Phe Ser His Glu Asn Ile Gln Gly Gly Gly Glu Pro Phe Gln
1130 1135 1140
Ala Leu Tyr Asn Tyr Thr Pro Arg Asn Glu Asp Glu Leu Glu Leu
1145 1150 1155
Arg Glu Ser Asp Val Val Asp Val Met Glu Lys Cys Asp Asp Gly
1160 1165 1170
Trp Phe Val Gly Thr Ser Arg Arg Thr Lys Phe Phe Gly Thr Phe
1175 1180 1185

Pro Gly Asn Tyr Val Lys Arg Leu
1190 1195

<210> 26

<211> 1196

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 26

Met Asn Thr Asp Ser Gly Gly Cys Ala Arg Lys Arg Ala Ala Met Ser
1 5 10 15
Val Thr Leu Thr Ser Val Lys Arg Val Gln Ser Ser Pro Asn Leu Leu
20 25 30

Ala Ala Gly Arg Glu Ser His Ser Pro Asp Ser Ala Trp Arg Ser Tyr
35 40 45

Asn Gly Arg Asn Pro Glu Thr Leu Asn Gly Asp Ala Thr Tyr Ser Ser
50 55 60

Leu Ala Ala Lys Gly Phe Arg Ser Val Arg Pro Asn Leu Gln Asp Lys
65 70 75 80

Lys Ser Pro Thr Gln Ser His Ile Thr Ile Asn Gly Asn Ser Gly Gly
85 90 95

Ala Val Ser Pro Val Ser Tyr Tyr Gln Arg Pro Phe Ser Pro Ser Ala
100 105 110

Tyr Ser Leu Pro Ala Ser Leu Asn Ser Ser Ile Ile Met Pro His Gly
115 120 125

Arg Ser Leu Asp Ser Ala Glu Thr Tyr Ser Gln His Ala Gln Ser Leu
130 135 140

Asp Gly Thr Met Gly Ser Ser Ile Pro Leu Tyr Arg Ser Ser Glu Glu
145 150 155 160

Glu Lys Arg Val Thr Val Ile Lys Ala Pro His Tyr Pro Gly Ile Gly
165 170 175

Pro Val Asp Glu Ser Gly Ile Pro Thr Ala Ile Arg Thr Thr Val Asp
180 185 190

Arg Pro Lys Asp Trp Tyr Lys Thr Met Phe Lys Gln Ile His Met Val
195 200 205

His Lys Pro Asp Glu Asp Thr Asp Met Tyr Asn Thr Pro Tyr Thr Tyr
210 215 220

Asn Ala Gly Leu Tyr Asn Ser Pro Tyr Ser Ala Gln Ser His Pro Ala
225 230 235 240

Ala Lys Thr Gln Thr Tyr Arg Pro Leu Ser Lys Ser His Ser Asp Asn
245 250 255

Gly Thr Asp Ala Phe Lys Glu Ala Pro Ser Pro Val Pro Pro Pro His
260 265 270

Val Pro Pro Arg Pro Arg Asp Gln Ser Ser Thr Glu Lys His Asp Trp

275 280 285
 Asp Pro Pro Asp Arg Lys Val Asp Thr Arg Lys Phe Arg Ser Glu Pro
 290 295 300

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

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

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

 Ser Glu Ser Met Gly Ser Leu Leu Cys Asp Glu Gly Ser Lys Glu Ser
 500 505 510
 Asp Pro Met Thr Trp Thr Ser Pro Tyr Ile Pro Glu Val Cys Gly Asn
 515 520 525

Ser Arg Ser Arg Leu Lys His Arg Ser Ala His Asn Ala Pro Gly Phe
530 535 540
Leu Lys Met Tyr Lys Lys Met His Arg Ile Asn Arg Lys Asp Leu Met
545 550 555 560

Asn Ser Glu Val Ile Cys Ser Val Lys Ser Arg Ile Leu Gln Tyr Glu
565 570 575
Lys Glu Gln Gln His Arg Gly Leu Leu His Gly Trp Ser Gln Ser Ser
580 585 590
Thr Glu Glu Val Pro Arg Asp Val Val Pro Thr Arg Ile Ser Glu Phe
595 600 605
Glu Lys Leu Ile Gln Lys Ser Lys Ser Met Pro Asn Leu Gly Asp Glu
610 615 620

Met Leu Ser Pro Val Thr Leu Glu Pro Pro Gln Asn Gly Leu Cys Pro
625 630 635 640
Lys Arg Arg Phe Ser Ile Glu Ser Leu Leu Glu Glu Glu Thr Gln Val
645 650 655
Arg His Pro Ser Gln Gly Gln Arg Ser Cys Lys Ser Asn Thr Leu Val
660 665 670
Pro Ile His Ile Glu Val Thr Ser Asp Glu Gln Pro Arg Thr His Met
675 680 685

Glu Phe Ser Asp Ser Asp Gln Asp Gly Val Val Ser Asp His Ser Asp
690 695 700
Asn Val His Val Glu Arg Ser Ser Phe Cys Ser Glu Ser Asp Phe Asp
705 710 715 720
His Phe Ser Phe Thr Ser Ser Glu Ser Phe Tyr Gly Ser Ser His His
725 730 735
His His His His His His His His Gly His Phe Ile Ser Ser Cys Lys
740 745 750

Gly Arg Cys Pro Ala Ser Tyr Thr Arg Phe Thr Thr Met Leu Lys His
755 760 765
Glu Arg Ala Lys His Glu Asn Ile Asp Arg Pro Arg Arg Gln Asp Met

770	775	780	
Asp Pro Gly Leu Ser Lys Leu Ala Phe Leu Val Ser Pro Val Pro Phe			
785	790	795	800
Arg Arg Lys Lys Val Leu Thr Pro Gln Lys Gln Thr Glu Gln Ala Lys			
	805	810	815
Cys Lys Ala Ser Val Val Glu Ala Leu Asp Ser Ala Leu Lys Asp Ile			
	820	825	830
Cys Asp Gln Ile Lys Ala Glu Lys Arg Arg Gly Ser Leu Pro Asp Asn			
	835	840	845
Ser Ile Leu His Arg Leu Ile Ser Glu Leu Leu Pro Gln Ile Pro Lys			
	850	855	860
Arg Asn Ser Ser Leu Asn Ala Leu Lys Arg Ser Pro Met His Gln Pro			
865	870	875	880
Phe His Pro Leu Pro Gln Asp Gly Ala Ile His Cys Pro Leu Tyr Gln			
	885	890	895
Asn Asp Cys Gly Arg Met Pro His Ser Ala Ser Phe Pro Asp Val Asp			
	900	905	910
Thr Thr Ser Ser Tyr His Ala Gln Asp Tyr Gly Ser Val Leu Ser Leu			
	915	920	925
Gln Asp His Glu Ser Pro Arg Ser Tyr Ser Ser Thr Leu Thr Asp Leu			
	930	935	940
Gly Arg Ser Val Ser Arg Glu Arg Arg Gly Thr Pro Glu Lys Glu Val			
945	950	955	960
Lys Leu Pro Ala Lys Ala Val Tyr Asp Phe Lys Ala Gln Thr Ser Lys			
	965	970	975
Glu Leu Ser Phe Lys Lys Gly Asp Thr Val Tyr Ile Leu Arg Lys Ile			
	980	985	990
Asp Gln Asn Trp Tyr Glu Gly Glu His His Gly Arg Val Gly Ile Phe			
	995	1000	1005
Pro Ile Ser Tyr Val Glu Lys Leu Thr Pro Pro Glu Lys Ala Gln			
1010	1015	1020	

Pro Ala Arg Pro Pro Pro Pro Val Gln Pro Gly Glu Ile Gly Glu
1025 1030 1035

Ala Ile Ala Lys Tyr Asn Phe Asn Ala Asp Thr Asn Val Glu Leu
1040 1045 1050

Ser Leu Arg Lys Gly Asp Arg Ile Ile Leu Leu Lys Arg Val Asp
1055 1060 1065

Gln Asn Trp Tyr Glu Gly Lys Ile Pro Gly Thr Asn Arg Gln Gly
1070 1075 1080

Ile Phe Pro Val Ser Tyr Val Glu Val Val Lys Arg Asn Thr Lys
1085 1090 1095

Gly Ser Glu Asp Tyr Pro Asp Pro Pro Leu Pro His Ser Tyr Ser
1100 1105 1110

Ser Asp Arg Ile Tyr Ser Leu Ser Ser Asn Lys Pro Gln Arg Pro
1115 1120 1125

Val Phe Ser His Glu Asn Ile Gln Gly Gly Gly Glu Pro Phe Gln
1130 1135 1140

Ala Leu Tyr Asn Tyr Thr Pro Arg Asn Glu Asp Glu Leu Glu Leu
1145 1150 1155

Arg Glu Ser Asp Val Val Asp Val Met Glu Lys Cys Asp Asp Gly
1160 1165 1170

Trp Phe Val Gly Thr Ser Arg Arg Thr Lys Phe Phe Gly Thr Phe
1175 1180 1185

Pro Gly Asn Tyr Val Lys Arg Leu
1190 1195

<210> 27

<211> 600

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 27

Met Ser Arg Val Ala Lys Tyr Arg Arg Gln Val Ser Glu Asp Pro Asp
1 5 10 15

Ile Asp Ser Leu Leu Glu Thr Leu Ser Pro Glu Glu Met Glu Glu Leu

20 25 30
 Glu Lys Glu Leu Asp Val Val Asp Pro Asp Gly Ser Val Pro Val Gly
 35 40 45

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

 Leu Gly Pro Arg Arg Asp Ser Asp Leu Gly Lys Glu Pro Lys Arg Gly
 115 120 125
 Gly Leu Lys Lys Ser Phe Ser Arg Asp Arg Asp Glu Ala Gly Gly Lys
 130 135 140
 Ser Gly Glu Lys Pro Lys Glu Glu Lys Ile Ile Arg Gly Ile Asp Lys
 145 150 155 160
 Gly Arg Val Arg Ala Ala Val Asp Lys Lys Glu Ala Gly Lys Asp Gly
 165 170 175

 Arg Gly Glu Glu Arg Ala Val Ala Thr Lys Lys Glu Glu Glu Lys Lys
 180 185 190
 Gly Ser Asp Arg Asn Thr Gly Leu Ser Arg Asp Lys Asp Lys Lys Arg
 195 200 205
 Glu Glu Met Lys Glu Val Ala Lys Lys Glu Asp Asp Glu Lys Val Lys
 210 215 220
 Gly Glu Arg Arg Asn Thr Asp Thr Arg Lys Glu Gly Glu Lys Met Lys
 225 230 235 240

 Arg Ala Gly Gly Asn Thr Asp Met Lys Lys Glu Asp Glu Lys Val Lys
 245 250 255
 Arg Gly Thr Gly Asn Thr Asp Thr Lys Lys Asp Asp Glu Lys Val Lys
 260 265 270

Lys Asn Glu Pro Leu His Glu Lys Glu Ala Lys Asp Asp Ser Lys Thr
 275 280 285
 Lys Thr Pro Glu Lys Gln Thr Pro Ser Gly Pro Thr Lys Pro Ser Glu
 290 295 300

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

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

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

 Glu Val Pro Lys Ala Gly Ala Val Ala Lys Gly Ser Pro Lys Pro Ser
 500 505 510
 Pro Gln Pro Ser Pro Lys Pro Ser Pro Lys Asn Ser Pro Lys Lys Gly

515 520 525
 Gly Ala Pro Ala Ala Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Leu Ala Pro Pro
 530 535 540
 Leu Ile Met Glu Asn Leu Lys Asn Ser Leu Ser Pro Ala Thr Gln Arg
 545 550 555 560

 Lys Met Gly Asp Lys Val Leu Pro Ala Gln Glu Lys Asn Ser Arg Asp
 565 570 575
 Gln Leu Leu Ala Ala Ile Arg Ser Ser Asn Leu Lys Gln Leu Lys Lys
 580 585 590
 Val Glu Val Pro Lys Leu Leu Gln
 595 600

 <210> 28
 <211> 172
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens
 <400> 28
 Met Ser Ser Lys Lys Ala Lys Thr Lys Thr Thr Lys Lys Arg Pro Gln
 1 5 10 15

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

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

Thr Met Gly Asp Arg Phe Thr Asp Glu Glu Val Asp Glu Leu Tyr Arg
130 135 140

Glu Ala Pro Ile Asp Lys Lys Gly Asn Phe Asn Tyr Ile Glu Phe Thr
145 150 155 160

Arg Ile Leu Lys His Gly Ala Lys Asp Lys Asp Asp
165 170

<210> 29

<211> 675

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 29

Met Asn Asp Ile Ser Gln Lys Ala Glu Ile Leu Leu Ser Ser Ser Lys
1 5 10 15

Pro Val Pro Lys Thr Tyr Val Pro Lys Leu Gly Lys Gly Asp Val Lys
20 25 30

Asp Lys Phe Glu Ala Met Gln Arg Ala Arg Glu Glu Arg Asn Gln Arg
35 40 45

Arg Ser Arg Asp Glu Lys Gln Arg Arg Lys Glu Gln Tyr Ile Arg Glu
50 55 60

Arg Glu Trp Asn Arg Arg Lys Gln Glu Ile Lys Glu Met Leu Ala Ser
65 70 75 80

Asp Asp Glu Glu Asp Val Ser Ser Lys Val Glu Lys Ala Tyr Val Pro
85 90 95

Lys Leu Thr Gly Thr Val Lys Gly Arg Phe Ala Glu Met Glu Lys Gln
100 105 110

Arg Gln Glu Glu Gln Arg Lys Arg Thr Glu Glu Glu Arg Lys Arg Arg
115 120 125

Ile Glu Gln Asp Met Leu Glu Lys Arg Lys Ile Gln Arg Glu Leu Ala
130 135 140

Lys Arg Ala Glu Gln Ile Glu Asp Ile Asn Asn Thr Gly Thr Glu Ser
145 150 155 160

Ala Ser Glu Glu Gly Asp Asp Ser Leu Leu Ile Thr Val Val Pro Val
165 170 175

Lys Ser Tyr Lys Thr Ser Gly Lys Met Lys Lys Asn Phe Glu Asp Leu
180 185 190

Glu Lys Glu Arg Glu Glu Lys Glu Arg Ile Lys Tyr Glu Glu Asp Lys
195 200 205

Arg Ile Arg Tyr Glu Glu Gln Arg Pro Ser Leu Lys Glu Ala Lys Cys
210 215 220

Leu Ser Leu Val Met Asp Asp Glu Ile Glu Ser Glu Ala Lys Lys Glu
225 230 235 240

Ser Leu Ser Pro Gly Lys Leu Lys Leu Thr Phe Glu Glu Leu Glu Arg
245 250 255

Gln Arg Gln Glu Asn Arg Lys Lys Gln Ala Glu Glu Glu Ala Arg Lys
260 265 270

Arg Leu Glu Glu Glu Lys Arg Ala Phe Glu Glu Ala Arg Arg Gln Met
275 280 285

Val Asn Glu Asp Glu Glu Asn Gln Asp Thr Ala Lys Ile Phe Lys Gly
290 295 300

Tyr Arg Pro Gly Lys Leu Lys Leu Ser Phe Glu Glu Met Glu Arg Gln
305 310 315 320

Arg Arg Glu Asp Glu Lys Arg Lys Ala Glu Glu Glu Ala Arg Arg Arg
325 330 335

Ile Glu Glu Glu Lys Lys Ala Phe Ala Glu Ala Arg Arg Asn Met Val
340 345 350

Val Asp Asp Asp Ser Pro Glu Met Tyr Lys Thr Ile Ser Gln Glu Phe
355 360 365

Leu Thr Pro Gly Lys Leu Glu Ile Asn Phe Glu Glu Leu Leu Lys Gln
370 375 380

Lys Met Glu Glu Glu Lys Arg Arg Thr Glu Glu Glu Arg Lys His Lys
385 390 395 400

Leu Glu Met Glu Lys Gln Glu Phe Glu Gln Leu Arg Gln Glu Met Gly

405					410					415						
Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Asn	Glu	Thr	Phe	Gly	Leu	Ser	Arg	Glu	Tyr	Glu	
420					425					430						
Glu	Leu	Ile	Lys	Leu	Lys	Arg	Ser	Gly	Ser	Ile	Gln	Ala	Lys	Asn	Leu	
435					440					445						
Lys	Ser	Lys	Phe	Glu	Lys	Ile	Gly	Gln	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Ile	Gln	
450					455					460						
Lys	Lys	Ile	Glu	Glu	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Arg	Ala	Ile	Asp	Leu	Glu	
465					470					475					480	
Ile	Lys	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Asn	Phe	His	Glu	Glu	Asp	Asp	Val	Asp	
485					490					495						
Val	Arg	Pro	Ala	Arg	Lys	Ser	Glu	Ala	Pro	Phe	Thr	His	Lys	Val	Asn	
500					505					510						
Met	Lys	Ala	Arg	Phe	Glu	Gln	Met	Ala	Lys	Ala	Arg	Glu	Glu	Glu	Glu	
515					520					525						
Gln	Arg	Arg	Ile	Glu	Glu	Gln	Lys	Leu	Leu	Arg	Met	Gln	Phe	Glu	Gln	
530					535					540						
Arg	Glu	Ile	Asp	Ala	Ala	Leu	Gln	Lys	Lys	Arg	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	
545					550					555					560	
Glu	Glu	Gly	Ser	Ile	Met	Asn	Gly	Ser	Thr	Ala	Glu	Asp	Glu	Glu	Gln	
565					570					575						
Thr	Arg	Ser	Gly	Ala	Pro	Trp	Phe	Lys	Lys	Pro	Leu	Lys	Asn	Thr	Ser	
580					585					590						
Val	Val	Asp	Ser	Glu	Pro	Val	Arg	Phe	Thr	Val	Lys	Val	Thr	Gly	Glu	
595					600					605						
Pro	Lys	Pro	Glu	Ile	Thr	Trp	Trp	Phe	Glu	Gly	Glu	Ile	Leu	Gln	Asp	
610					615					620						
Gly	Glu	Asp	Tyr	Gln	Tyr	Ile	Glu	Arg	Gly	Glu	Thr	Tyr	Cys	Leu	Tyr	
625					630					635					640	
Leu	Pro	Glu	Thr	Phe	Pro	Glu	Asp	Gly	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys	Lys	Ala	
645					650					655						

Val Asn Asn Lys Gly Ser Ala Ala Ser Thr Cys Ile Leu Thr Ile Glu
660 665 670

Ser Lys Asn
675