



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 38/21 (2006.01)

A61K 38/14 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0085227

(43) 공개일자 2007년08월27일

(21) 출원번호 10-2007-7005432

(22) 출원일자 2007년03월07일

심사청구일자 없음

번역문 제출일자 2007년03월07일

(86) 국제출원번호 PCT/US2005/028165

(87) 국제공개번호 WO 2006/020580

국제출원일자 2005년08월08일

국제공개일자 2006년02월23일

(30) 우선권주장 60/600,134 2004년08월09일 미국(US)
60/600,202 2004년08월09일 미국(US)
60/604,280 2004년08월24일 미국(US)
60/604,415 2004년08월24일 미국(US)

(71) 출원인 앨리오스 바이오파마 인크.
미국 캘리포니아 94080 샌프란시스코 슈트 511 히키 블러바드 101-에이

(72) 발명자 홍, 진
미국 캘리포니아 94005 브리스베인 산 베니토 로오드 72
세이워트, 스코트 디.
미국 캘리포니아 94044 패시피카 록어웨이 비취 애비뉴 828
블라트, 로렌스 엠.
미국 캘리포니아 94121 샌프란시스코 쇼어뷰 10

(74) 대리인 이수완
이 성 규
조진태
윤종섭
이재웅

전체 청구항 수 : 총 59 항

(54) 합성 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 경구 제제 및 이를 이용한 방법

(57) 요약

본 발명은, 하나 이상의 천연 또는 비천연 글리코실화 부위를 포함하는 컨센서스 또는 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 포함하는 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 제공한다. 본 발명은 또한, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 경구 제제를 제공하며, 폴리펩티드 변이체는, 부모 폴리펩티드 내에서 발견되는 하나 이상의 프로테아제 절단 부위를 결여한 것으로서 부모 폴리펩티드에 비해 증가

된 프로테아제 저항성을 나타내고, 추가로, (1) 부모 치료 단백질에서 발견되지 않는 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 또는 (2) 부모 치료 단백질에서 발견되나 글리코실화 되지 않는 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기를 포함하는 것이다. 본 발명은 나아가, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학 조성물 포함 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 포함하는 용기, 장치 및 키트를 제공한다. 본 발명은 또한, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학 조성물의 유효량을 치료가 필요한 개인에게 투여함과 관련된 치료 방법을 제공한다.

대표도

도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

하기를 함유하는 경구 약학 조성물:

(a) 제 1 단위 형태 내의 부모 치료 단백질의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 몰수: 여기에서 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 부모 치료 단백질에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하고 추가로 i) 부모 치료 단백질에 존재하지 않는 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 또는 ii) 부모 치료 단백질에 존재하나 글리코실화 되지 않는 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기를 포함하며; 및

(b) 경구 전달에 적절한 약학 부형제;

상기에서, 제 1 단위 형태 중 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 몰수는, 비경구 약학 조성물 중 부모 치료 단백질의 제 2 몰수를 초과하고, 비경구 약학 조성물은 피하 볼루스 주사에 적절한 즉각 방출 제제이며;

부모 치료 단백질은, 선택된 투여 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 몰수로 환자가 투여 받는 비경구 약학 조성물의 양을 피하 볼루스 주사로 환자에게 투여시 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된 것이고; 그리고

제 1 단위 형태를 환자에게 경구 투여시, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 몰수 방출에 필요한 시간은, 선택된 투여 간격 내 투여 사이 시간 이하이다.

청구항 2.

하기를 함유하는 경구 약학 조성물:

(a) 제 1 단위 형태 내의 부모 치료 단백질의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량: 여기에서 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 부모 치료 단백질에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하고 추가로 i) 부모 치료 단백질에 존재하지 않는 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 또는 ii) 부모 치료 단백질에 존재하나 글리코실화 되지 않는 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기를 포함하며; 및

(b) 경구 전달에 적절한 약학 부형제,

상기에서 부모 치료 단백질은, 선택된 투여 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 투여량을 피하 볼루스 주사로 환자에게 투여시 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된 것이고;

알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량 중의 환자 체중 1kg 당 약물 몰 양은, 제 1 및 제 2 투여량이 질환으로 고생하는 환자의 총 인원수의 평균 환자 체중에 대해 계산될 때, 제 2 투여량 중 환자 체중 1kg에 대한 부모 치료 단백질의 약물 물량을 초과하며; 그리고

제 1 단위 형태로 제 1 투여량을 환자에게 경구 투여시, 제 1 투여량 중 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체 모두의 방출에 필요한 시간은, 선택된 투여 간격 내 투여 사이 시간 이하이다.

청구항 3.

하기를 함유하는 경구 약학 조성물:

(a) 제 1 단위 형태 내의 부모 치료 단백질의 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 몰수: 여기에서, 상기 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 i) 부모 치료 단백질에 존재하지 않는 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 또는 ii) 부모 치료 단백질에 존재하나 글리코실화 되지 않는 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기를 포함하며; 및

(b) 경구 전달에 적절한 약학 부형제,

상기에서, 제 1 단위 투여 형태 중의 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 몰수는, 비경구 약학 조성물 중의 부모 치료 단백질의 제 2 몰수를 초과하고, 비경구 약학 조성물은 피하 볼루스 주사에 적절한 즉각 방출 제제이고;

부모 치료 단백질은, 선택된 투여 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 몰수로 환자가 투여 받는 비경구 약학 조성물의 양을 피하 볼루스 주사로 환자에게 투여시 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된 것이고; 그리고,

제 1 단위 형태를 환자에게 경구 투여시, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 몰수 방출에 필요한 시간은, 선택된 투여 간격 내 투여 사이 시간 이하이다.

청구항 4.

하기를 함유하는 경구 약학 조성물:

(a) 제 1 단위 형태 내의 부모 치료 단백질의 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량: i) 여기에서 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 부모 치료 단백질에 존재하지 않는 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 또는 ii) 부모 치료 단백질에 존재하나 글리코실화 되지 않는 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기를 포함하며; 및

(b) 경구 전달에 적절한 약학 부형제,

상기에서 부모 치료 단백질은, 선택된 투여 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 투여량을 피하 볼루스 주사로 환자에게 투여시 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된 것이고;

알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량 중의 환자 체중 1kg 당 약물 몰 양은, 제 1 및 제 2 투여량이 질환으로 고생하는 환자의 총 인원수의 평균 환자 체중에 대해 계산될 때, 제 2 투여량 중 환자 체중 1kg에 대한 부모 치료 단백질의 약물 몰 양을 초과하며; 그리고

제 1 단위 형태의 제 1 투여량을 환자에게 경구 투여시, 제 1 투여량 중 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체 모두의 방출에 필요한 시간은, 선택된 투여 간격 내 투여 사이 시간 이하이다.

청구항 5.

제 2 항 또는 제 4 항에 있어서, 제 2 투여량이 고정 투여량인 조성물.

청구항 6.

제 2 항 또는 제 4 항에 있어서, 제 2 투여량이 중량 기재 투여량인 조성물.

청구항 7.

제 2 항 또는 제 4 항에 있어서, 제 2 투여량이 층화 (stratified) 투여량인 조성물.

청구항 8.

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위가 *N*-연결 글리코실화 부위인 조성물.

청구항 9.

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위가 *O*-연결 글리코실화 부위인 조성물.

청구항 10.

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 초글리코실화 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 부모 치료 단백질에서 발견되지 않는 2개의 비천연 글리코실화 부위를 포함하는 조성물.

청구항 11.

제 10 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 초글리코실화 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 비천연 글리코실화 부위에 공유연결된 탄수화물 잔기를 포함하는 조성물.

청구항 12.

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 부모 IFN- α 의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체인 조성물.

청구항 13.

제 12 항에 있어서, 부모 IFN- α 가 IFN- $\alpha 2$ 인 조성물.

청구항 14.

제 13 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, [D99N] IFN- α 2a, [D99N, D105N] IFN- α 2a, [D99N] IFN- α 2b, 및 [D99N, D105N] IFN- α 2b 글리코펩티드로부터 선택되며, 변이체는 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159의 임의의 아미노산 위치에서의 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 이에 따라 부모 IFN- α 2 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 변이체가 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단부위를 가지는 조성물.

청구항 15.

제 12 항에 있어서, 부모 IFN- α 가 컨센서스 IFN- α 인 조성물.

청구항 16.

제 15 항에 있어서, 부모 IFN- α 가 인터페론 알파콘-1인 조성물.

청구항 17.

제 16 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, [D99N] 인터페론 알파콘-1, [D99N, D105N] 인터페론 알파콘-1, [D99N, D105N, E134N] 인터페론 알파콘-1, [105N, E134N] 인터페론 알파콘-1, [E134N] 인터페론 알파콘-1, 및 [D99N, E134N] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되며, 변이체는 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159의 임의의 아미노산 위치에서의 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 이에 따라 부모 컨센서스 IFN- α 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 변이체가 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단부위를 가지는 조성물.

청구항 18.

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 IFN- γ 인 부모 치료 단백질의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체인 조성물.

청구항 19.

제 18 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 [S99T]IFN- γ , [E38N]IFN- γ , [E38N, S40T]IFN- γ , [E38N, S99T]IFN- γ , 및 [E38N, S40T, S99T]IFN- γ 글리코펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되며, 변이체는 표3에 개시된 바와 같은 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 이에 따라 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 변이체가 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단부위를 가지는 조성물.

청구항 20.

제 18 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 글리코실화 천연 (야생형) 인간 IFN- γ 의 프로테아제 저항성 변이체인 조성물.

청구항 21.

제 1 항 내지 제 20 항 중 어느 한 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, 폴리펩티드 변이체 중 각 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기를 포함하는 조성물.

청구항 22.

제 1 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, 표 9의 담체 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 임의의 담체 펩티드를 포함하는 조성물.

청구항 23.

제 22 항에 있어서, 담체 펩티드가 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 공유 분자 구조의 일부인 조성물.

청구항 24.

제 23 항에 있어서, 담체 펩티드가 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 N 말단에서 또는 그 부근에 존재하는 조성물.

청구항 25.

다음을 포함하는 환자의 질환 치료 방법으로서:

부모 치료 단백질의 알려진 프로테아제-저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 물수를 포함하는 경구 약학 조성물을, 환자가 제 1 투여 간격으로 알려진 프로테아제-저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 물수를 수용하는 양으로, 환자에게 경구 투여하는 방법인데, 여기서 알려진 프로테아제-저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 치료 단백질 중 발견되는 천연 폴리펩티드 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하며, 추가로 i) 부모 치료 단백질에 존재하지 않는 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위에 공유연결된 탄수화물 잔기 또는 ii) 부모 치료 단백질에 존재하나 글리코실화 되지 않는 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에 공유연결된 탄수화물 잔기를 포함하며;

상기에서 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 물수는, 비경구 약학 조성물 중 부모 치료 단백질의 제 2 물수를 초과하고, 비경구 약학 조성물은 피하 볼루스 주사에 적절한 즉각 방출 제제이며;

부모 치료 단백질은, 선택된 투여 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 물수를 환자가 투여 받는 비경구 약학 조성물의 양을 피하 볼루스 주사로 환자에게 투여시 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된 것이고; 그리고

제 1 투여 간격은 제 2 투여 간격 이하이다.

청구항 26.

다음을 포함하는 환자의 질환 치료 방법으로서:

부모 치료 단백질의 알려진 프로테아제-저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학 조성물을, 환자가 제 1 투여 간격으로 알려진 프로테아제-저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량을 수용하는 양으로, 환자에게 경구 투여하는 방법인데, 여기서, 알려진 프로테아제-저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 치료 단백질 중 발견되는 천연 폴리펩티드 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하며, 추가로 i) 부모 치료 단백질에 존재하지 않는 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위에 공유연결된 탄수화물 잔기 또는 ii) 부모 치료 단백질에 존재하나 글리코실화 되지 않는 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에 공유연결된 탄수화물 잔기를 포함하며;

상기에서, 부모 치료 단백질을 포함하는 비경구 약학 조성물은 환자가 제 2 투여 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 투여량을 수용하게 되는 비경구 약학 조성물의 양을 환자에게 피하 볼루스 주사로 투여할 때 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된 것이고,

알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 몰 투여량은, 제 1 및 제 2 투여량이 동일한 환자 체중에 대해 계산된 것일 때 환자 체중 1kg당 부모 치료 단백질의 제 2 몰 투여량을 초과하고, 그리고,

제 1 투여량을 환자에게 경구 투여시, 제 1 투여량 중 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체 모두를 방출하기에 필요한 시간은, 제 2 투여 간격 내 투여 사이의 시간 이하이다.

청구항 27.

제 26 항에 있어서, 제 1 투여 간격 내 투여 사이의 시간 기간은 제 2 투여 간격 내 투여 사이의 시간 기간 이하인 방법.

청구항 28.

다음을 포함하는 환자의 질환 치료 방법으로서:

부모 치료 단백질의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학 조성물을, 환자가 제 1 투여 간격으로 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량을 환자가 수용하는 양으로, 환자에게 경구 투여하는 방법인데, 여기서, 알려진 프로테아제-저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 단백질 중 발견되는 천연 폴리펩티드 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하며, 추가로 i) 부모 치료 단백질에 존재하지 않는 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위에 공유연결된 탄수화물 잔기 또는 ii) 부모 치료 단백질에 존재하나 글리코실화 되지 않는 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에 공유연결된 탄수화물 잔기를 포함하며;

상기에서, 부모 치료 단백질을 포함하는 비경구 약학 조성물은 환자가 제 2 투여 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 투여량을 수용하게 되는 양으로 환자에게 피하 볼루스 주사로 투여할 때 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된 것이고,

알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 몰 투여량은, 제 1 및 제 2 투여량이 동일한 환자 체중에 대해 계산된 것일 때 환자 체중 1kg당 부모 치료 단백질의 제 2 몰 투여량을 초과하며, 그리고,

제 1 투여 간격 내 투여 사이의 시간 기간은 제 2 투여 간격 내 투여 사이의 시간 기간 이하이다.

청구항 29.

제 26 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 2 투여량이 고정 투여량인 방법.

청구항 30.

제 26 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 2 투여량이 중량 기재 투여량인 방법.

청구항 31.

제 26 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 2 투여량이 증화 투여량인 방법.

청구항 32.

제 26 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 1 투여량이 중량 기재 투여량인 방법.

청구항 33.

제 26 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 1 투여량이 고정 투여량인 방법.

청구항 34.

제 25 항 내지 제 33 항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 제 1 항 내지 제 22 항에서 선택된 항에 기재된 것이고, 경구 약학 조성물은 선택된 항에 기재된 것인 방법.

청구항 35.

질환이 제 1 항 내지 제 24 항에서 선택된 항에 기재된 것이고, 선택된 항에 기재된 경구 약학 조성물의 유효량을 환자에게 경구 투여함을 포함하는, 환자의 질환 치료 방법.

청구항 36.

제 25 항 내지 제 33 항 중 어느 한 항에 있어서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 표 9의 담체 펩티드로 이루어지는 군에서 선택되는 임의의 담체 펩티드를 포함하는 방법.

청구항 37.

제 36 항에 있어서, 담체 펩티드가, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 공유 분자 구조의 일부분인 방법.

청구항 38.

제 37 항에 있어서, 담체 펩티드가, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 N 말단에서 또는 그 부근에 존재하는 방법.

청구항 39.

합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 40.

제 39 항에 있어서, 폴리펩티드 아고니스트가, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하는 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 41.

제 40 항에 있어서, 비천연 글리코실화 부위가 *N*-연결 글리코실화 부위인 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 42.

제 40 항에 있어서, 비천연 글리코실화 부위가 *O*-연결 글리코실화 부위인 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 43.

제 39 항에 있어서, 폴리펩티드 아고니스트가, 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하는 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 44.

하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트인 제 39 항, 40 항 또는 제 43항의 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 45.

제 44 항에 있어서, 인터페론- α 2a (D99N), 인터페론- α 2a (D105N), 및 인터페론- α 2a (D99N, D105N)로부터 선택되는 폴리펩티드.

청구항 46.

제 44 항에 있어서, 인터페론- α 2b (D99N), 인터페론- α 2b (D105N), 및 인터페론- α 2b (D99N, D105N)로부터 선택되는 폴리펩티드.

청구항 47.

제 44 항에 있어서, 인터페론 알파콘-1 (D99N), 인터페론 알파콘-1 (D95N, D105N), 인터페론 알파콘-1 (D99N, D105N, E134N), 인터페론 알파콘-1 (D105N, E134N), 인터페론 알파콘-1 (E134N), 및 인터페론 알파콘-1 (D99N, E134N)로부터 선택되는 폴리펩티드.

청구항 48.

제 44 항에 있어서, 폴리펩티드 아미노산 서열이, 아미노산 동일성 및 인터페론- α 2b, 인터페론- α 14, 인터페론- β 1, 및 인터페론- ω 로부터 선택되는 상이한 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 하부 서열의 개수에 해당하는

별개의 하부 서열을 포함하며, 여기에서 폴리펩티드 아고니스트의 아미노산 서열은, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 인터페론- $\alpha 2b$, 인터페론- $\alpha 14$, 인터페론- $\beta 1$, 및 인터페론- ω 의 아미노산 서열과 상이한, 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 49.

컨센서스 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트인 제 39 항, 40 항 또는 제 43항의 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 50.

제 49 항에 있어서, 폴리펩티드 아고니스트가 SEQ ID No:9-19에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 51.

제 39 항 내지 제 50 항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드 아고니스트가 글리코실화된 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 52.

제 39 항 내지 제 44 항 또는 제 48 항 내지 제 50 항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드 아고니스트가 폴리펩티드 아고니스트 중 비천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된 폴리펩티드 아고니스트.

청구항 53.

제 39 항 내지 제 50 항 중 어느 한 항의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 54.

제 53 항에 있어서, 상기 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 SEQ ID No:9-19 중 어느 하나에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 55.

제 53 항에 있어서, 폴리뉴클레오티드가 인간 코돈 사용 경향에 해당하는 코돈을 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 56.

진핵 세포 내에서 기능성인 프로모터에 작동적으로 연결된 제 53 항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현 벡터.

청구항 57.

제 53 항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 숙주 세포.

청구항 58.

제 56 항의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 59.

제 57 항 또는 제 58 항에 있어서, 숙주 세포가 진핵 세포인 숙주 세포.

명세서**기술분야**

본 발명은 글리코실화, 프로테아제 저항성 및 글리코실화 프로테아제 저항성 단백질 치료제 분야에 관련된다.

배경기술

치료제로 단백질을 사용하는 것은 임상 중요성을 가진다. 그럼에도 불구하고, 면역원성, 숙주에 의해 생성된 효소에 의한 치료 단백질의 파괴, 최적 이하의 약리 동력학 특성, 등을 포함하는 그 사용에 대한 각종 장애 및 문제가 존재한다. 일례로, 치료 단백질의 면역원성은, 치료하는 대상에서 시간에 걸쳐 생성된 중화 항체에 의해 단백질 활성의 중화를 야기한다. 또한, 치료 단백질의 면역원성은 염증 반응(inflammatory response)을 일으킬 수도 있다. 숙주 효소에 의한 치료 단백질의 파괴는, 특정 투여경로의 사용을 제한할 수 있다. 일례로, 치료 단백질의 경구 투여는, 특정 증상의 치료에 바람직할 수 있다; 그러나, 치료 단백질은 치료받는 개인의 위장관 내 효소에 의해 파괴될 수 있다. 나아가, 치료 단백질은 짧은 혈청 반감기를 가질 수 있는데, 이는, 숙주의 망내피계 (reticuloendothelial system)에 의한 단백질의 신속한 제거에 의한 것으로 그 결과, 치료 단백질의 약리 동력학 프로파일, 반복되고 잦은 투여를 필요로 하는 그러한 것이 될 수 있다.

치료능을 가진 많은 단백질은, 하나 이상의 글리코실화 부위, 예컨대, 진핵 세포에 의해 글리코실화되는 아미노산 서열을 포함한다. 다음과 같은 목적을 이루기 위한 치료 단백질의 글리코실화 정도를 증가시키기 위한 각종 보고가 있어 왔다: 1) 감소된 면역원성 2) 단백질의 감소된 빈도로의 투여 3) 증가된 혈청 반감기; 및 4) 염증과 같은 부작용 감소.

숙주 효소에 의한 치료 단백질의 파괴가, 투여의 특정 경로의 사용을 제한할 수 있다. 일례로, 치료 단백질의 경구 투여는, 특정 증상 치료에 바람직할 수 있다; 그러나, 치료 단백질은, 치료받는 개인의 혈청중 및/또는 위장관중 단백질 분해 효소에 의해 파괴될 수 있다. 그러한 단백질 분해 효소는 다음을 포함한다; α-키모트립신, 카복시펩티다제, 엔도프로티나제 Arg-C, 엔도프로티나제 Asp-N, 엔도프로티나제 Glu-C, 엔도프로티나제 Lys-C, 및 트립신. 적절한 약리 동력학 특성을 가지는 경구 투여 형태의 치료 단백질을 당업계에서 필요로 한다. 본 발명은 그러한 필요에 대응하는 것이다.

문헌; U.S. 특허 No. 6,685,933; U.S. 특허 No. 4,695,623 및 4,897,471; U.S. 특허 No. 6,703,225; U.S. 특허 No. 6,569,420, U.S. 특허 No. 6,299,877, U.S. 특허 No. 6,586,398, U.S. 특허 No. 6,531,122; U.S. 특허 No. 6,646,110; Egrie and Brown, Br J Cancer. 2001 Apr;84 Suppl 1:3-10; U.S. 특허 No. 6,127,332; WO 00/26354; WO 02/081507; WO 01/36001; U.S. 특허 No. 5,041,376; U.S. 특허 No. 5,520,911; U.S. 특허 No. 6,673,580; U.S. 특허 No. 5,853,724; 유럽 특허 출원 No. 640,619; WO 04/022747; 및 WO 004/0222593. Nyman et al. (1998) Eur. J: Biochem. 253:485-493; Runkel et al. (1998) Pharmaceutical Research 15:641; Adolf et al. (1990) J. Biol. Chem. 265:9290-9295.

발명의 상세한 설명**발명의 요약**

본 발명은, 비천연 (non-native) 글리코실화 부위, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화(hyperglycosylated) 폴리펩티드 변이체의 경구 제제를 제공하며, 폴리펩티드 변이체는, 부모 폴리펩티드 내에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하

며, 따라서, 부모 폴리펩티드에 비해 증강된 프로테아제 저항성을 나타내며, 폴리펩티드 변이체는 추가로 다음을 포함한다; (1) 부모 치료 단백질에서 발견되지 않는 비천연 글리코실화 부위 하나 이상에 공유 연결된 탄수화물 잔기 또는 (2) 부모 치료 단백질에서 발견되나, 글리코실화되지 않는 천연 글리코실화 부위 하나 이상에 공유 연결된 탄수화물 잔기. 본 발명은 나아가, 글리코실화 또는 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학 조성물을 포함하는, 조성물을 추가로 제공한다. 본 발명은 또한, 대상 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열 포함 핵산; 및 대상 핵산을 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 본 발명은 나아가, 바이러스성 감염 치료 방법, 섬유증(fibrotic) 질환의 치료 방법, 및 증식성(proliferative) 질환의 치료 방법을 제공하며, 이들 방법은 치료가 필요한 개인에게 대상 폴리펩티드 아고니스트의 유효량을 투여함을 보통 포함한다. 본 발명은 나아가, 초글리코실화 또는 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함하는, 용기, 장치, 및 키트를 제공한다. 본 발명은 나아가, 초글리코실화 또는 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학 조성물의 유효량을 치료가 필요한 개인에게 투여함을 포함하는 치료 방법을 제공한다.

발명의 양태

한 면에서, 본 발명은 부모 치료 단백질(parent protein therapeutic)의, 알려진 초글리코실화 또는 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체를 포함하는 경구 약학 조성물을 제공한다.

다른 면에서, 본 발명은, 알려진 초글리코실화 또는 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 제 1 유닛 형태 내에 제 1 몰수만큼 포함한 경구 약학 조성물을 제공하며, 여기에서 부모 치료 단백질의 제 2 몰수를 포함하는 비경구 약학 조성물은, 선택된 투약 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 몰수를 환자에게 투여하는 양으로 피하 볼루스 주사로 환자에게 투여되는, 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된 것이며, 여기에서 제 1 몰수는 제 2 몰수 초과이며, 환자에게 제 1 유닛 형태 경구 투여시 초글리코실화 또는 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 변이체의 제 1 몰수의 방출에 필요한 시간은, 선택된 투약 간격의 시간 기간 이하인 것이다.

다른 면에서, 본 발명은, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 제 1 투여 형태 내에 제 1 투여량으로 포함한 경구 약학 조성물을 제공하며, 여기에서 부모 치료 단백질을 포함하는 비경구 약학 조성물은, 선택된 투약 간격으로 제 2 투여량을 피하 볼루스 주사하여 환자에게 투여할 때 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된 것이며, 여기에서 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량 중의 환자 체중 1kg 당 몰 양은, 제 1 및 제 2 투여량이 질환으로 고생하는 환자의 총 인원수의 평균 환자 체중에 대해 계산될 때, 제 2 투여량 중 환자 체중 1kg에 대한 부모 치료 단백질의 몰량 초과인 것이고, 제 1 투여량을 환자에게 경구 투여시, 제 1 투여량 중 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 변이체 모두의 방출에 필요한 기간은, 선택된 투약 간격 내의 투여 사이 시간 기간 이하인 것이다. 일부 구현에서, 비경구 약학 조성물은, 선택된 투약 간격으로 중량 기재 투여량으로 환자에게 투여시, 즉 제 2 투여량은 중량 기재 투여량이고 비경구 약학 조성물은 중량 기재 투여를 가능하게 하는 형태인 경우, 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된다.

본 발명은 나아가, 치료가 필요한 개인에게 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함한 경구 약학 조성물을 유효량을 투여함과 관련된 치료 방법을 제공한다.

다른 면에서, 본 발명은, 부모 치료 단백질의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학 조성물을 환자에게 투여함을 포함하는 환자의 질환 치료 방법을 제공하며, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량을 제 1 투여 간격으로 환자에게 투여하는 양으로 환자에게 경구 약학 조성물을 투여하며, 부모 치료 단백질을 포함하는 비경구 약학 조성물은, 제 2 투약 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 투여량을 환자에게 투여하는 양으로 환자에게 피하 볼루스 주사하여 투여할 때 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된 것이며, 여기에서 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량의 환자 체중 1kg 당 몰 양은, 제 1 및 제 2 투여량이, 동일한 환자 체중에 대해 계산된 것으로, 환자의 체중 1kg당 부모 치료 단백질의 제 2 투여 몰량을 초과하고, 제 1 투여량을 환자에게 경구 투여시, 제 1 투여량 중 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 변이체 모두의 방출에 필요한 시간은, 제 2 투약 간격 내의 투여 사이 시간 기간 이하인 것이다. 일부 구현에서, 비경구 약학 조성물은, 제 2 투약 간격으로 중량 기재 투여량으로 환자에게 투여시, 즉 제 2 투여량은 중량 기재 투여량이고 비경구 약학 조성물은 중량 기재 투여를 가능하게 하는 형태인 경우, 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된다. 상기 중 일부 구현에서, 제 1 투여량은 중량 기재 투여량이고 경구 약학 조성물은 중량 기재 투여를 가능하게 하는 형태이다.

다른 면에서, 본 발명은, 부모 치료 단백질의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학 조성물을 환자에게 투여함을 포함하는 환자의 질환 치료 방법을 제공하며, 여기에서 경구

약학 조성물은, 제 1 투여 간격으로 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량을 환자에게 투여하는 양으로 경구 투여되며, 여기에서 부모 치료 단백질 포함 비경구 약학 조성물은, 제 2 투여 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 투여량을 환자에게 투여하는 양으로 피하 볼루스 주사에 의해 환자에게 투여될 때 환자의 질환 치료에서 유효한 것으로 입증된 것으로, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 환자 체중 1kg 당 제 1 투여량 물은, 환자 체중 1kg에 대한 부모 치료 단백질의 제 2 투여량 물 초과인 것이고, 이때 제 1 및 제 2 투여량은 동일한 환자의 체중에 대해 계산된 것이고, 제 1 투약 간격 내에서 투여 간의 시간 기간은, 제 2 투약 간격 내에서 투여 간의 시간 기간 이하인 것이다. 일부 구현에서, 비경구 약학 조성물은, 제 2 투약 간격으로 중량 기재 투여량으로 환자에게 투여시, 즉 제 2 투여량은 중량 기재 투여량이고 비경구 약학 조성물은 중량 기재 투여를 가능하게 하는 형태인 경우, 환자의 질환 치료에 유효한 것으로 입증된다. 앞서 구현들 일부에서, 제 1 투여량은 중량 기재 투여량이고 경구 약학 조성물은 중량 기재 투여를 가능하게 하는 형태이다.

다른 면에서, 본 발명은, 부모 치료 단백질의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 물수를 포함하는 제 1 유닛 형태의 경구 약학 조성물을 환자에게 투여함을 포함하는 환자의 질환 치료 방법을 제공하며, 여기에서 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제1 물수는, 비경구 약학 조성물 중의 부모 치료 단백질의 제 2 물수를 초과하고, 비경구 약학 조성물은, 피하 볼루스 주사에 적절한 즉시 방출 제형이며, 제 1 유닛 형태는, 제 2 투약 간격 이하인 제 1 투약 간격으로 환자에게 경구 투여되며, 부모 치료 단백질은, 제 2 투약 간격으로 부모 치료 단백질의 제 2 물수를 환자에게 투여하는 양으로 비경구 약학 조성물을 환자에게 피하 볼루스 주사함에 의해 환자에게 투여하는 환자 질환 치료 방법에서 유효한 것으로 입증된 것이다.

실시예

하기 실시예는 당업자들에게 본 발명을 제조하고 사용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 제공하기 위해 제시되는 것이고, 본 발명자들이 발명으로서 여기는 범위를 제한하려는 의도가 있거나, 하기 실험이 수행된 실험의 전부 또는 단독임을 나타내려는 의도가 있는 것도 아니다. 사용된 숫자 (예를 들면, 양, 온도 등)에 대해 정확성을 보장하려고 노력했지만, 일부 실험 착오 및 편차는 예상되어야 한다. 달리 표시되지 않는 한, 부는 중량부를, 분자량은 중량 평균 분자량을, 온도는 섭씨 온도를, 압력은 대기압 또는 그 근방을 나타낸다. 표준 약어가 사용될 수도 있다; 예를 들면 bp, 염기쌍(들); kb, 킬로베이스(s); pl, 피코리터(들); s 또는 sec, 초(들); min, 분(들); h 또는 hr, 시간(들); aa, 아미노산(들); kb, 킬로베이스(들); bp, 염기쌍(들); nt, 뉴클레오티드(들); i.m., 근육내(로); i.p., 복강내(로); s.c., 피하(적으로); 등.

실시예 1: 비-천연 글리코실화 부위를 가진 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 구축

타입 I 인터페론 중, 두 개의 인터페론 알파 서브타입 (IFN 알파 2b 및 14), IFN 베타 1 및 IFN 오메가 1이 포유류 세포에서 천연적으로 글리코실화된다 (도 24). 도 24는 인페르젠 서열번호:**) 및 천연적으로 글리코실화된 것으로 보고된 타입 I 인터페론 중 (서열번호:**)의 아미노산 서열의 아미노산 서열 비교를 제공한다. 글리코실화가 일어난 아미노산 잔기는 굵게 테두리된 상자로 표시되었다. 아스파라긴 잔기는 N-연결 글리코실화에 대한 앵커링 부위이며, 트레오닌 잔기는 O-연결 글리코실화에 대한 앵커링 부위이다. 서열 대부분은 상기에 나타난 대로이다 (서열번호: **).

인페르젠과 기타 타입 I 인터페론 사이의 고도의 아미노산 서열 동일성을 근거로 하여, 인페르젠과 천연적으로 글리코실화된 타입 I 인터페론과의 아미노산 정렬을 기초로 인페르젠의 글리코실화 부위를 고안하였다 (도 25). 도 25는 인페르젠 (서열번호: **)의 아미노산 61-120 및 대상 글리코실화 돌연변이들(서열번호: **~**)의 다양한 구현예의 아미노산 서열의 아미노산 서열 비교를 제공한다. 부위 1, 2 및 3은 글리코실화 부위가 생성된 위치의 예이다. N-연결 글리코실화 부위만이 부위 1 및 2에서 생성된다. N-연결 및 O-연결 글리코실화 부위 모두가 부위 3에서 생성된다. N-연결 및 O-연결 글리코실화 부위는 인페르젠 내로 조각되었다. N-연결 글리코실화는 Asn-X-Ser/Thr 모티프에서 발견되는 아스파라긴 잔기에 부착된 독특한 올리고당 분지 구조와 관련된다. O-연결 글리코실화는 세린 또는 트레오닌 잔기의 OH 기에 부가된 올리고당 사슬 또는 글리코사미노글리칸 사슬로 구성된다. 서열의 대부분은 상기에 나타난 바와 같다 (서열번호: **).

실험 디자인

인간 세포에서의 발현을 위해 최적화된 인페르젠 유전자의 고안

현재 인페르젠은 *이. 콜라이*에서 생산되므로, 박테리아 발현을 위해 최적화된 코돈을 함유한다. 글리코실화 인페르젠은 포유류 세포주에서 생성되어야만 한다. 포유류 세포에서의 단백질 발현 수준을 증가시키기 위해, 선택되는 각 아미노산에 대해 가장 빈번한 코돈을 사용하여, 인간 코돈 사용 선호도를 갖는 새로운 인페르젠 유전자 (표 8)를 고안 및 합성하였다 (도 26). 도 26은 바람직한 인간 코돈을 사용한 예시적인 합성 포유류 인페르젠 핵산 서열 (서열번호: ** 및 **)를 도시한다. 오

픈 리딩 프레임은 번역된 인페르겐 아미노산 서열 (서열번호: **)로 표시되었다. A 내지 F의 상보 프라이머 6쌍을 교대로 이탤릭체 및 굵은 글씨로 나타낸다. 프라이머 쌍의 상부 센스 가닥은 홀수로, 하부 년센스 가닥은 짝수로 표시한다. 개시 코돈 ATG의 상류 영역에서는, Kozak 컨센서스 서열인 GCCACC 의 짧은 서열을, 진핵 번역 효율 증가를 위해 고안한다. 2개의 탠덤 정지 코돈 TAA 및 TGA 를 사용하여 번역의 완전한 종결을 확실히 한다. 표 8 (상기)은 인간 코돈 사용 선호도를 제공한다. "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" Sambrook J. 및 Russell D.W. 제 3 판 (2001) Cold Spring Harbor Press에서 발췌.

합성 포유류 인페르겐 유전자의 구축을 위한 계획

상기 새로운 포유류 인페르겐 DNA 서열이 천연이 아니라 합성이므로, 상기 유전자의 화학적 합성은 가능한 합성 경로이다. 통상 유전자의 화학적 합성은 짧은 올리고뉴클레오티드의 합성, 이의 어닐링, 결찰 및 플라스미드로의 클로닝을 포함한다. 합성 포유류 인페르겐 유전자를 생산하는 데 총 6쌍의 올리고뉴클레오티드가 사용되었다 (도 26).

각 쌍의 어닐링된 프라이머는 인접한 올리고뉴클레오티드로 어닐링되게 하는 말단 서열을 갖는다. 합성 유전자의 5' 및 3' 말단은 각각 HindIII 및 EcoRI 제한 엔도뉴클레아제 부위를 함유하며, 이들은 플라스미드로의 결찰을 가능하게 한다. 이들 프라이머의 상세한 서열 정보가 주어지 있다 (표 11).

[표 11]

포유류 인페르겐의 화학적 유전자 합성용 프라이머의 서열

프라이머	센스	서열 (5' 에서 3'의 방향으로)
	유	[Phosp]AGCTTGCCACCATGTGCGACCTGCCCCAGACCCA CAGCCTGGGCAACCGCCGCGCCCTGATCCTGCTGGCCC AGATGCGCCGCATCAGCCCC (SEQ ID NO:**))
	부	[Phosp]GCGGCGCATCTGGGCCAGCAGGATCAGGGCGCGGC GGTTGCCCAGGCTGTGGGTCTGGGSCAGGTCGCACAT GGTGGCA (SEQ ID NO:**))
	유	[Phosp]TTCAGCTGCCTGAAGGACCGCCACGACTTCGGCTT CCCCCAGGAGGAGTTCGACGGCAACCAAGTTCAGAAG GCCCAGGCCATCAGCG (SEQ ID NO:**))
	부	[Phosp]CCTGGGCCCTTCTGGAAGTGGTTGCCGTCGAAGTCC TCCTGGGGGAAGCCGAAGTCGTGGCGGTCCTTCAGGC AGCTGAAGGGGCTGAT (SEQ ID NO:**))
	유	[Phosp]TGCTGCACGAGATGATCCAGCAGACCTTCAACCTGT TCAGCACCAAGGACAGCAGCGCCGCTGGGACGAGA GCCTGTGGAGAAG (SEQ ID NO:**))
	부	[Phosp]AGGCTCTCGTCCCAGGCGGCGCTGCTGTCCTTGGTGC TGAACAGGTTGAAGGTCTGCTGGATCATCTCGTGC AGCACGCTGATGG (SEQ ID NO:**))
	유	[Phosp]TTCTACACCGAGCTGTACCAGCAGCTGAACGACCTG GAGGCCTGCGTGATCCAGGAGGTGGGCGTGGAGGAG ACCCCCCTGATGAACGTGG (SEQ ID NO:**))
	부	[Phosp]TCAGGGGGGTCTCCTCCAGCCCCACCTCCTGGATCAC GCAGGCCTCCAGGTCGTTCAGCTGCTGGTACAGCT CGGTGTAGAACTTCTCCAGC (SEQ ID NO:**))
	유	[Phosp]ACAGCATCCTGGCCGTGAAGAAGTACTCCAGCGCAT CACCTGTACCTGACCGAGAAGAAGTACAGCCCCCT GCGCCTGGGAGGTGG (SEQ ID NO:**))
	부	[Phosp]AGGCGCAGGGGCTGTACTTCTTCTCGGTCAGGTACAGG GTGATGCGCTGGAAGTACTTCTTACGCGCCAGGA TGCTGTCCACGTTCA (SEQ ID NO:**))
	유	[Phosp]TGCGCGCCGAGATCATGCGCAGCTTCAGCCTGAGCAC CAACCTGCAGGAGCGCCTGCGCCGCAAGGAGTAAT GAG (SEQ ID NO:**))
	부	[Phosp]AATTCTCATTACTCCTTGCGGCGCAGGCGCTCCTGCA GGTTGGTGCTCAGGCTGAAGCTGCGCATGATCTCG GCGCGCACCACTCCC (SEQ ID NO:**))

포유류 인페르겐 글리코실화 돌연변이유발을 위한 계획

포유류성 글리코실화 가능한 인페르겐을 생산하는 데 필요한 서열 변화는 약소하며, 표준 부위 지향적 돌연변이유발 기법에 의해 상기 합성 유전자 내로 도입될 수 있다 (도 27). 도 27은 포유류 인페르겐 (서열번호: **) 및 그의 글리코실화 돌연

변이체 (서열번호: **~**)의 핵산 서열의 비교를 도시하며; 서열의 대부분은 상기에 나타내었다 (서열번호: **). 상이한 뉴클레오티드는 상자 내에 나타낸다. 사용된 코돈은 포유류에서의 바람직한 코돈 사용에 근거하였다 (도 8). 서열의 대부분과 상이한 뉴클레오티드는 상자 내에 나타낸다.

도 28은 인간 인터페론 베타 1 (서열번호: **) 및 예시적인 IFN-β1 글리코실화 돌연변이체 (서열번호: **~**)의 아미노산 서열 비교를 도시하며; 서열의 대부분 (서열번호: **)은 상기에 나타내었다. 부위 1 및 2는 글리코실화 돌연변이체가 생성된 위치이다. 일반적으로, N-연결 글리코실화 부위만이 부위 1에 생성된다. N-연결 및 O-연결 글리코실화 부위 모두가 부위 2에 생성된다. 인간 IFN-β1 및 돌연변이체에서 천연 발생하는 N-연결 글리코실화 부위는 상자 내에 나타낸다.

도 29는 인간 인터페론 오메가-1 (서열번호: **) 및 예시적인 글리코실화 돌연변이체 (서열번호: **~**)의 아미노산 서열 비교를 도시하며; 서열의 대부분 (서열번호: **)은 상기에 나타내었다. 부위 1 및 2는 글리코실화 돌연변이체가 생성된 위치이다. 일반적으로, N-연결 글리코실화 부위만이 부위 1에서 생성된다. N-연결 및 O-연결 글리코실화 부위 모두가 부위 2에서 생성된다. 인간 IFN-ω1 및 돌연변이체에서 천연 발생하는 N-연결 글리코실화 부위를 상자 내에 나타낸다.

실시예 2: 기타 타입 I 인터페론 신호 펩티드를 가진 포유류 인페르겐 융합 구조물의 고안, 구축, 발현 및 글리코실화 부위 생성

물질 및 방법

융합 유전자의 구축

인페르겐, 및 예시적인 인페르겐 융합 단백질, 인간 인터페론 알파 14 및 베타의 아미노산 정렬을 도 30에 나타내었다. 제시된 융합 단백질을 위한 융합 유전자를 합성하기 위해 2단계 중합효소 연쇄 반응 계획을 고안하였다. PCR 반응에서 사용된 프라이머를 하기 표 12에 기재한다.

[표 12]

프라이머 명칭	서열 (5'에서 3'으로)
IFNa14_ 내부	GCCCTGGTGGTGTCTGAGCTGCAAGAGCAGC-TGCAGCCTGGGCTGCGACCTGCCCCAGACCCACAGC (서열번호: 1350)
IFNa14_ 외부	TATAAAGCTTGCCACCATGGCCCTGCCCTTC-GCCCTGATGATGGCCCTGGTGGTGTCTGAGCTGCAAG (서열번호: 1351)
IFNb_ 내부	GCCCTGCTGCTGTGCTTCAGCACCACCGCCC-TGAGCATGAGCTGCGACCTGCCCCAGACCCACAGC (서열번호: 1352)
IFNb_ 외부	TATAAAGCTTGCCACCATGACCAACAAGTGC-CTGCTGCAGATCGCCCTGCTGCTGTGCTTCAGCACC (서열번호: 1353)
INFERGEN_ 말단	TATAGAATCTCTATTACTCCTTGCGGCGCAGGCG (서열번호: 1354)

포유류 인페르겐 유전자를 합성하고 pcDNA3.1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 플라스미드 내로 클론하고 템플릿으로 사용하였다. 인간 인터페론 알파 14 신호 펩티드를 가진 융합 인페르겐 유전자를 생성하기 위한 제 1차 PCR를 위해, IFNa14_ 내부 프라이머를 INFERGEN_말단 프라이머와 합하여 제 2차 PCR를 위한 PCR 템플릿을 생성하였고, 상기 제 2차 PCR은 INFERGEN_말단 프라이머와 조합된 IFNa14_외부 프라이머를 사용하여 수행되었다. 최종 PCR 생성물은 HindIII 및 EcoRI 모두로 분해하고, 예비분해된 pcDNA3.1 벡터 내로 클론되었다. IFNb_내부 및 외부 프라이머를 사용하여 각각 IFNa14_내부 및 외부 프라이머를 대체한 것을 제외하고는, 동일한 절차를 거쳐 인간 인터페론 베타 신호 펩티드를 갖는 인페르겐 유전자를 생성하였다.

일시적 트랜스펙션 및 웨스턴 분석

인페르겐을 일시적으로 과발현하도록 Cos-7 세포주를 선택하였다. Eugene-6 (Roche Applied Science, Indianapolis, IN)을 트랜스펙션 시약으로서 사용하였고, 제조업자의 프로토콜을 따랐다. 트랜스펙션한지 3일 후, 적응용 배지 (conditioned medium)를 수집한 후, 0.22 μm 조직배양 필터 유닛을 통해 여과하고 Centriplus YM-10 원심분리 필터 유

닛 (Millipore, Billerica, MA)으로 농축하였다. 단백질 농도를 측정하였다. 부착된 세포를 채집하고, 통상적인 방법을 사용하여 제조된 세포용해물을 수집하였다. E.Coli 과발현된 인페르겐에 대해 제조된 토끼 다클론 항체를 웨스턴 분석에서 일차 항체로서 사용하였다.

부위-지향적 돌연변이유발

두 개의 융합 인페르겐 단백질에서의 예시적 글리코실화 부위의 위치를 도 25에 나타내었다. QuikChange 부위-지향적 돌연변이유발 키트 (Stratagene, La Jolla, CA)를 사용하여 상기 돌연변이를 생성하였다.

결과

융합 구조물을 생성시켰고, 서열을 확인하였다. 도 30은 인페르겐 (서열번호: **), 인간 IFN- α 14 (서열번호: **), 인간 IFN- β 1 (서열번호: **), 및 인간 IFN- α 14 및 인간 IFN- β 신호 펩티드 (각각 서열번호: ** 및 **)를 갖는 예시적인 융합 단백질의 아미노산 서열 정렬을 도시한다. 서열의 대부분은 상기에 나타내었다 (서열번호: **).

이어서 구조물을 일시적으로 Cos-7 세포 내로 트랜스펙션시키고, 상기 트랜스펙션 결과를, 인페르겐에 대한 토끼 다클론 항체를 사용한 웨스턴 블랏으로 분석하였다. 결과를 도 32에 나타내었다.

도 32는 일시적 트랜스펙션 결과의 웨스턴 블랏을 도시한다. 레인 1 내지 4는, IFN- α 14 신호 펩티드를 갖는 인페르겐 (레인 1); IFN- β 신호 펩티드를 갖는 인페르겐 (레인 2); 신호 펩티드가 없는 인페르겐 (레인 3); 및 β -갈락토시다제 (레인 4)를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 함유하는 플라스미드로 트랜스펙션된 Cos-7 세포 유래의 적응용 배지가 부하되었다. 레인 5 내지 8은, IFN- α 14 신호 펩티드를 갖는 인페르겐 (레인 5); IFN- β 신호 펩티드를 갖는 인페르겐 (레인 6); 신호 펩티드가 없는 인페르겐 (레인 7); 및 β -갈락토시다제 (레인 8)를 코딩하는 뉴클레오타이드를 함유하는 플라스미드로 트랜스펙션된 Cos-7 세포의 세포용해물이 로딩되었다. 레인 9는, E.Coli에 의해 생산되고 상업적 공급원에서 취득된 30 ng의 인페르겐이 로딩되었다.

결과는, 융합 단백질은 모두가 발현이 잘 되었고 대부분 세포에 의해 적응용 배지 내로 분비된 반면, 신호 펩티드가 없는 인페르겐은 불량하게 발현되었고, 세포내에 존재하였다. 두 개의 융합 유전자를 글리코실화 부위 생성용 템플릿으로서 선택하였다.

본 발명을 그 구체적인 구현예를 참조하여 설명하였으나, 당업자는 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 다양한 변화가 이루어질 수 있고 균등물이 대체될 수 있다는 점을 이해해야 한다. 또한, 특정 상황, 물질, 물질의 조성, 공정, 공정 단계 또는 단계들을 본 발명의 목적, 사상 및 범위에 적응시키기 위해 다수의 변형예가 이루어질 수도 있다. 그러한 모든 변형예는 여기에 첨부된 청구범위의 범위 이내인 것으로 의도된다.

도면의 간단한 설명

도 1 은, 인간 성숙 IFN- α 2a의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 2 은, 인간 성숙 IFN- α 2b 의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 3 은, 인간 성숙 IFN- β 의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 4 은, 인간 성숙 천연의 IFN- γ 의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 5 는 G-CSF 의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 6 는 인간 성장 호르몬의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 7 는 에리트로포이에틴의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 8은 GM-CSF의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 9는 컨센서스 IFN- α 의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 10는 IFN- α c의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 11은 IFN- α 2c의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 12는 IFN- α d의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 13는 IFN- α 5의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 14는 IFN- α 6의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 15는 IFN- α 4의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 16는 IFN- α 4b의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 17는 IFN- α I의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 18는 IFN- α J의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 19는 IFN- α H의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 20는 IFN- α F의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 21는 IFN- α 8의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 22는 IFN- β 1의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 23는 IFN- β 2a의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 24는, 천연으로 글리코실화되어 있다고 보고된 타입 I 인터페론 중 (인간 IFN- α 2b, SEQ ID NO:2; 인간 IFN- α 14, SEQ ID NO:**; 인간 IFN- β 1, SEQ ID NO:**; 인간 IFN- ω 1, SEQ ID NO:**) 및 인페르겐 (SEQ ID NO:**) 의 아미노산 서열 비교를 나타낸다. 글리코실화가 발생하는 아미노산 잔기는 굵게 외곽선 처리한 상자로 레벨링하였다. N-연결 글리코실화의 앵커 부위는 아스파라긴 잔기, O-연결 글리코실화의 앵커 부위는 트레오닌 잔기이다. 도 24는 또한, 비교에 따른 주요 서열을 나타낸다 (SEQ ID NO:**).

도 25는, 인페르겐 (SEQ ID NO:**) 의 아미노산 서열 61-120 및 보기의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 아미노산 서열 비교를 나타낸다. 부위 1, 2, 및 3은, 글리코실화 부위가 생성된 위치의 예를 나타낸다. N-연결 글리코실화 부위는 부위 1 및 2에 생성된다. N-연결 및 O-연결 글리코실화 부위 모두는 부위 3에 생성된다.

도 26은, 바람직한 인간 코돈 사용을 가진 합성 포유류 인페르겐 핵산 서열; 및 번역된 오픈 리딩 프레임 (SEQ ID NO:**) 을 나타낸다. 오픈 리딩 프레임은, 번역된 아미노산 서열과 함께 기재된다 (SEQ ID NO: 1). A 내지 F의 6개의 상보 프라이머 쌍이 교대의 이탤릭 및 굵은 글자로 기재된다.

프라이머 쌍의 상부 센스 가닥은 홀수로, 하부 반센스 가닥은 짝수로 표시한다. 개시 코돈 ATG의 상류 영역에서, Kozak 컨센서스 서열인 GCCACC 의 짧은 서열을, 진행 번역 효율 제고를 위해 고안한다. 2개의 탠덤 종결 코돈 TAA 및 TGA 을 사용하여 번역의 완전 종결을 확실히 한다.

도 27은, 포유류 인페르겐 및 그 글리코실화 돌연변이체의 핵산 서열 비교를 나타낸다. 차이 나는 뉴클레오티드는 상자내에 표시한다. 바람직한 코돈 사용에 따라 사용된 코돈은 표 8에 개시한다.

도 28은, 인간 IFN- β 1 (SEQ ID NO:**)의 아미노산 81-140 및 인간 IFN- β 1의 보기의 글리코실화 변이체의 아미노산 서열 비교를 나타낸다. 부위 1, 및 2는, 글리코실화 돌연변이체가 생성된 위치를 나타낸다. 일반적으로, N-글리코실화 부위만이 부위 1에 생성된다. N-연결 및 O-연결 글리코실화 모두는 부위 2에 생성된다. 인간 IFN- β 1 및 돌연변이체에서 천연 발생하는 N-연결 글리코실화 부위를 상자 내에 나타낸다.

도 29는, 인간 IFN- ω 1 (SEQ ID NO:**)의 아미노산 81-140 및 인간 IFN- ω 1의 보기의 글리코실화 변이체의 아미노산 서열 비교를 나타낸다. 부위 1, 및 2는, 글리코실화 돌연변이체가 생성된 위치를 나타낸다. 일반적으로, N-글리코실화 부위만이 부위 1에 생성된다. N-연결 및 O-연결 글리코실화 모두는 부위 2에 생성된다. 인간 IFN- ω 1 및 돌연변이체에서 천연 발생하는 N-연결 글리코실화 부위를 상자 내에 나타낸다.

도 30은, 인페르겐 (SEQ ID NO:**), 인간 IFN- α 14 (SEQ ID NO:**), 인간 IFN- β 1 (SEQ ID NO:**), 및 보기로서의 인간 IFN- α 14 및 인간 IFN- β 시그널 펩티드의 융합 단백질 (SEQ ID NO:** 및 **, 각각)의 아미노산 서열 배열을 나타낸다. 주요 서열은 위에 나타낸다 (SEQ ID NO:**).

도 31은 성숙, 천연 인간 IFN- γ (SEQ ID NO:**)의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 32는, Cos-7 세포에 의해 합성된 보기의 단백질의 웨스턴 블랏 분석을 나타낸다.

정의

'폴리펩티드'라는 용어는, 아미노산 중합체에 관련되며 생성물의 특정 길이를 나타내지 않는다; 따라서, 펩티드, 올리고펩티드 및 단백질이 폴리펩티드의 정의내에 포함된다. 이 용어는 또한 일례로 글리코실화, 아세틸화, 인산화 등의 폴리펩티드의 번역후 변형을 의미하거나 배제하지는 않는다. '폴리펩티드'라는 용어에 포함된 것으로 일례로, 아미노산 유사체 하나 이상 포함 폴리펩티드 (일례로, 비천연 아미노산, 코딩되지 않은 아미노산 등 포함), 치환된 연결을 가지는 폴리펩티드, 및 당업계 공지의 천연 발생 및 비천연 발생 모두의 기타 변형을 포함한다. '폴리펩티드'라는 용어는, 융합 단백질을 포함하며, 이중 아미노산 서열의 융합 단백질, 이중 및 동종 리더 서열의 융합으로, N-말단 메티오닌 잔기 포함 또는 불포함하는 것; 번역 태깅된 단백질 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다는 것이다.

'폴리뉴클레오티드' 및 '핵산 분자'라는 용어는, 임의 길이의 뉴클레오티드 중합형태를 언급하기 위해 상호 교환적으로 여기에서 사용된다. 폴리뉴클레오티드는, 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 및/또는 그 유사체를 포함 가능하다. 뉴클레오티드는 임의의 3차원 구조를 가질 수 있고, 공지 또는 비공지의 임의의 기능을 수행 가능하다. '폴리뉴클레오티드'라는 용어는, 단일, 2중 가닥, 및 3중 나선 분자를 포함한다. '올리고뉴클레오티드'는, 단일 또는 2중 가닥 DNA의 약 5 - 약 100개 뉴클레오티드의 폴리뉴클레오티드를 보통 말한다. 그러나, 본 개시를 위하여, 올리고뉴클레오티드 길이의 상한은 없다. 올리고머 또는 올리고로 또한 알려진 올리고뉴클레오티드는, 유전자로부터 분리 또는 당업계 공지의 방법으로 화학합성 가능하다. '폴리뉴클레오티드'라는 용어는, 선형 DNA 분자 (즉 절단 단편), 바이러스, 플라스미드 및 염색체 중에서 발견되는 2중 가닥 DNA를 상호 교환적으로 포함한다.

다음은 폴리뉴클레오티드의 비제한적 예이다; 유전자 또는 유전자 단편, 엑손, 인트론, mRNA, tRNA, rRNA, 리보자임, cDNA, 재조합 폴리뉴클레오티드, 분지화 폴리뉴클레오티드, 플라스미드, 벡터, 임의 서열의 분리된 DNA, 임의 서열의 분리된 RNA, 핵산 프로브, 및 프라이머. 핵산 분자는 또한 메틸화 핵산 분자 및 핵산 분자 유사체와 같은 변형 핵산 분자를 포함할 수 있다. 퓨린 및 피리미딘의 유사체는 당업계 공지이다. 핵산은 천연 발생, 즉 DNA 또는 RNA, 또는 당업계 공지의 합성 유사체일 수 있다. 그러한 유사체는, 어세이 조건하에서 탁월한 안정성 때문에 프로브로서의 사용이 바람직하다. 천연 구조의 변형으로, 주쇄, 당 또는 헤테로고리 염기의 변형을 포함하는 것은, 세포내 안정성 및 결합 친화도를 제고하는 것으로 나타나 있다. 주쇄 화학 중 유용한 변화로는, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 (브릿지되지 않은 2개의 산소가 황으로 치환됨), 포스포로아미데이트, 알킬 포스포트리에스터 및 보라노포스페이트이다. 비(非) 키랄성 포스페이트 유도체는, 3'-O'-5'-S'-포스포로티오에이트, 3'-S'-5'-O'-포스포로티오에이트, 3'-CH₂-5'-O-포스포네이트 및 3'-NH-5'-O-포스포로아미데이트를 포함한다. 펩티드 핵산은, 펩티드 결합으로 전체 리보스 포스포디에스터 골격을 대체한다.

폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 다른 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드에 대해 특정 백분율의 '서열 동일성' (sequence identity)을 가지며, 이는, 서로 상호 배열시, 두 서열 비교에서 염기 또는 아미노산이 동일한 백분율이다. 서열 유사성은, 각종 상이한 방법에 의해 측정 가능하다. 서열 동일성 측정을 위해, BLAST를 포함하는 컴퓨터 프로그램 및 방

법을 이용하여 서열을 상호 배열가능하다; world wide web, ncbi.nlm.nih.gov/BLAST에서 이용 가능 (일레로, Altschul et al. (1990), J. Mol. Biol. 215:403- 10 참조). 다른 배열 알고리즘은 FASTA로, Genetics Computing Group (GCG) 패키지로 사용 가능하다 (Madison, Wisconsin, USA, Oxford Molecular Group, Inc.가 전체 소유한 자회사). 배열의 다른 기법은, 문헌에 공지이다; Methods in Enzymology, vol. 266: Computer Methods for Macromolecular Sequence Analysis (1996), ed. Doolittle, Academic Press, Inc., a division of Harcourt Brace & Co., San Diego, California, USA. 특히 흥미있는 배열 프로그램은, 서열간 간극을 허용하는 것이다. Smith-Waterman 는, 서열 배열에서 간극을 허용하는 알고리즘의 한 유형이다 (Meth. Mol. Biol. 70: 173- 187 (1997) 참조). 또한 Needleman 및 Wunsch 배열 법을 이용한 GAP 프로그램을 서열 배열에 이용 가능하다 (J. Mol. Biol. 48: 443-453 (1970) 참조).

'숙주 세포'라는 용어는, 임의의 재조합 벡터 (들) 또는 합성 또는 외래 폴리뉴클레오티드의 수용자이거나 수용자일 수 있는 개별 세포 또는 세포 배양물을 포함한다. 숙주 세포는 단일 숙주세포의 자손을 포함하며, 자손은, 천연, 우연 또는 고의의 돌연변이 및/또는 변화에 따라 원 부모 세포에 대해 완전히 동일 (형태 또는 총 상보 DNA)할 필요는 없다. 숙주 세포는 재조합 벡터 또는 합성 또는 외래 폴리뉴클레오티드로 생체 내 또는 시험관내 감염 또는 형질감염된 세포를 포함한다. 본 발명의 재조합 벡터 포함 숙주 세포는 '재조합 숙주 세포'이다. 일부 구현에서, 숙주 세포는 원핵세포이다. 다른 구현에서 숙주세포는 진핵세포이다.

'DNA 조절성 서열' 및 '조절 성분'이라는 용어는, 여기에서 상호 교환적으로 사용되며, 프로모터, 인핸서, 폴리아데닐화 시그널, 종결자, 단백질 분해 시그널 등, 코딩 서열을 제공 및/또는 발현 조절, 및/또는 숙주 세포 내에서 코딩된 폴리펩티드의 생성을 제공 및/또는 조절하는 전사 및 번역 조절 서열을 의미한다.

'형질전환'이라는 용어는 여기에서 '유전자 변형'과 상호 교환적으로 사용되며, 새로운 핵산의 도입 (즉, 세포 외래성 DNA)에 따라 세포 내에 유도된 영구 또는 일시적 유전적 변화를 가리킨다. 유전적 변화 ('변형')은, 숙주 세포의 게놈 내로 새로운 DNA의 도입 또는, 에피조말 성분으로 새로운 DNA를 일시 또는 안정적으로 유지함에 의해 달성 가능하다. 세포가 포유류 세포인 경우, 세포 게놈 내로 DNA의 도입에 의해 영구적 유전 변화가 보통 달성된다.

'작동적으로 연결된'이라는 여기에 사용된 용어는, 기재된 성분들이 그 원하는 방식으로 작용하도록 하는 관계인 병렬배치를 의미한다. 일레로, 프로모터가 코딩 서열의 전사 또는 발현에 영향을 미치면 프로모터는 코딩 서열에 작동적으로 연결된 것이다.

여기에 사용된 '구축물'이라는 용어는, 특정 뉴클레오티드 서열 (들)의 발현의 목적으로 생산 또는, 기타 재조합 뉴클레오티드 서열의 구축에 사용되는, 재조합 핵산, 보통 재조합 DNA 를 의미한다.

여기서 사용된 '치료', '치료하는' 등의 용어는, 목적 약학 및/또는 생리 효과를 얻는 것을 의미한다. 효과는, 질환 또는 그 증상의 완전 또는 부분 방지 면에서 예방적이고/이거나, 질환 및/또는 질환에 기인하는 부작용의 완전 또는 부분 치료 면에서 치료적일 수 있다. 여기에 사용된 '치료'라는 용어는, 포유류, 특히 인간 질환의 임의 치료를 포함하며 이는 다음을 포함한다: (a) 생존 기간의 증가; (b) 질환에 따른 사망 위험 감소; (c) 질환을 가지는 것으로 진단되지는 않았으나, 예정된 것일 수 있는 대상에서의 질환 발생 방지; (d) 질환 억제, 즉, 그 발달 저지 (일레로, 질환 발전 속도를 감소시킴) 및; (e) 질환의 경감, 즉, 질환의 퇴행을 초래함.

'개인', '숙주', '대상' 및 '환자'라는 용어들은 여기에서 상호 교환적으로 사용되며, 유인원, 설치류, 가금류, 애완동물, 말, 등을 포함하는 포유류를 가리킨다. 일부 구현에서 개인은 인간이다.

'치료적 유효량'이라는 용어는, 목적 치료 효과 촉진에 유효한 치료제의 전달 정도 또는 치료제의 양을 의미한다. 정확한 목적 치료 효과는, 치료할 증상, 투여할 제제, 및 당업자에게 공지인 기타 각종 인자에 따라 가변이다.

질환 치료용 약물 요법의 의미에서 여기에 사용된 '유효한 것으로 입증된'이라는 용어 또는 유사 의미의 임의의 단어는, 기재된 약물 요법이, $p \leq 0.05$ 의 통계적 유의도로 시도(들)의 기본 임상 시도의 종점 하나 이상을 달성하는, 조절된 임상 시도 또는 임상 시도들의 세트 내에서의 질환 치료를 위해, 단독 또는 하나 이상의 추가의 약학제 (들)과 조합으로, 안전하면서 유효한 것으로 발견되었음을 의미한다. 일반적으로, 약물에 대해 약물 치료가 유효한 것으로 입증되는 것은 다음을 포함한다; (1) 규제 기관에 의해 허용된 약물을 시판할 수 있는 라이선스 내에서 특정된 약물에 대한 임의의 치료 기재 (들); 및 (2) 의학 전문가들의 일반적 인정 실체에 의해 발급된 선언서 내에서 기재된 약물의 임의의 치료 기재 (들) (즉, NIH 컨센서스 선언서).

항체 결합의 내용에서 '특이적으로 결합'이라는 용어는, 특정 폴리펩티드, 즉 폴리펩티드의 에피토프, 일례로, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에 대한 항체의 높은 친화 및/또는 높은 결합을 의미한다. 일례로, 특정의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 또는 그 단편 상의 에피토프에 대한 항체 결합은, 임의의 다른 에피토프, 특히 특정 관심 폴리펩티드로서 동일 샘플과 함께 또는 샘플과 조합된 분자내에 존재 가능한 것들에 대한 동일 항체의 결합보다 강한데, 즉, 특정 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 에피토프에 대해서, 임의의 다른 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 에피토프보다 더 강하게 결합하여, 결합 조건을 조절함에 따라, 특정 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 에피토프에만 거의 전적으로 항체가 결합하고, 임의의 다른 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 에피토프 또는 에피토프를 포함하지 않는 임의의 기타 폴리펩티드에는 결합하지 않는다. 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체는, 다른 폴리펩티드에 약하지만 측정할 수 있는 수준으로 결합 가능하다 (즉, 관심 폴리펩티드에 대한 결합의 10% 이하). 이와 같은 약한 결합 또는 기본 결합은, 대상 폴리펩티드에 대한 특이적 항체 결합으로부터 용이하게 구별가능하며, 일례로, 적절한 대조군의 사용에 의한다. 일반적으로, 주어진 폴리펩티드에 대한 특이적 항체 결합은 결합 친화도가 10^{-7} M 이상, 일례로 10^{-8} M 이상이다 (일례로, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M 등). 보통, 10^{-6} M 이하의 결합 친화도를 가지는 항체는 현재 사용되는 통상의 방법에 의해 측정 수준으로 항원과 결합하지 않아 유용하지 않다.

'섬유성 증상', '섬유성 질병' 및 '섬유성 질환'은 여기에서 상호교환적으로 사용되며, 항섬유 활성을 가진 화합물의 투여에 의해 치료되는 증상, 질병 또는 질환을 의미한다. 섬유성 질환은, 폐섬유증으로, 특발성 폐섬유증 (IPF) 및 알려진 병인학의 폐섬유증, 간섬유증, 및 신장 섬유증을 포함하며 이에 제한되지는 않는다. 기타예의 섬유성 증상은, 근골격 섬유증, 심장섬유증, 수술후 부착, 피부경화증, 녹내장, 및 켈로이드와 같은 피부장애를 포함한다.

'증식성 질환' 및 '증식성 질병'이라는 용어는, 여기에서 상호교환적으로 사용되며, 병리적 세포 성장 또는 증식, 특히 암으로 특징지어지는 임의의 질병 또는 증상을 의미한다.

'암', '신생(neoplasm)' 및 '종양'이라는 용어는 여기에서 상호교환적으로 사용되며, 상대적으로 자동 성장을 나타내는 세포를 의미하고, 따라서 세포 증식 조절의 상당한 손실에 의해 특징지어지는 비정상 성장 표현형을 나타내게 된다. 암세포는 양성 또는 악성일 수 있다.

'간염 바이러스 감염'이라는 용어는 하나 이상의 간염 바이러스, B, C, D, 또는 E 로 감염된 것으로, 혈액으로 인한 간염 바이러스 감염, 특히 간염 바이러스 C 감염이 특히 중요하다.

'지속된 바이러스 반응'이라는 여기에 사용된 용어는 (SVR; '지속된 반응' 또는 '지구적 반응'이라고도 또한 언급된), 혈청 HCV 역가의 의미로, HCV 감염 치료계획에 대한 개인의 반응을 의미한다. 보통, '지속된 바이러스 반응'은, 치료 중단 이후, 약 1개월 이상, 약 2개월 이상, 약 3개월 이상, 약 4개월 이상, 약 5개월 이상, 또는 약 6개월 이상의 기간동안 환자의 혈청내에서, 검출할 수 있을 정도의 HCV RNA (즉 혈청 1밀리리터 당, 약 500 미만, 약, 200 미만, 또는 약 100 미만의 게놈 카피)가 발견되지 않음을 의미한다.

여기에 사용된 '치료 실패 환자'라는 용어는 (또는 '치료 실패'), HCV에 대한 이전의 치료에 대한 반응에 실패 ('무반응자'로 언급), 또는, 이전의 치료에 초기에 반응하였으나, 치료 반응이 유지되지 않은 HCV 감염 환자 ('재발자'로 언급)을 보통 의미한다. 이전의 치료는 보통, IFN- α 단일치료 또는 IFN- α 조합치료의 치료를 포함하며, 조합 치료는, IFN- α 및 리바비린과 같은 항바이러스제의 투여를 포함할 수 있다.

'투여 사건(dosing event)'이라는 용어는, 여기에서, 약물 분배 장치로부터 항바이러스제 1회 이상을 방출함을 포함하는 사건으로서, 투여가 필요한 환자에게 항바이러스제를 투여함을 의미한다. 따라서 여기에 사용된 '투여 사건'은 지속적 전달 장치의 설치 (즉, 펌프 또는 기타 조절된 주사 가능 방출 시스템); 및 단일 피하 주사 이후 지속적 전달 장치 시스템의 설치를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

약물 전달과 관련하여 사용된 '패턴화된' 또는 '임시의'라는 용어는 패턴, 보통 실질적으로 규칙적 패턴으로 미리 선택된 시간 기간 동안 약물을 전달함을 의미한다 (즉, 일례로 볼루스 주사와 연관된 시간 이외). '패턴화된' 또는 '임시의' 약물 전달은, 증가, 감소, 실질적으로 일정, 또는 펄스 상, 정도 또는 정도 범위 (즉, 단위 시간당 약물 양 또는 단위 시간당 약물 제제 부피)로 약물을 전달함을 포함하며, 연속 또는 실질적으로 연속 또는 만성의 전달을 또한 포함한다.

'조절된 약물 전달 장치'라는 용어는, 약물 또는 그 안에 포함된 기타 목적 물질의 방출 (즉, 방출 속도, 시간)이, 사용 환경에 의해 실질적으로 영향을 입지 않고, 장치 그 자체에 의해 제어 또는 결정되는 것, 또는 사용 환경 내에서 재현적 속도로 방출되는 것이다.

일례로 '실질적으로 연속 주입' 또는 '실질적으로 연속 전달'의 내용에서, 여기에 사용된 '실질적으로 연속'은, 미리 선택된 약물 전달 기간 동안 실질적으로 중단되지 않는 방식으로 약물을 전달함을 의미하며, 미리 선택된 기간 중 임의의 8시간 간격 동안 환자에게 투여된 약물의 양이 절대로 제로 값으로 감소하지 않음을 의미한다. 나아가, '실질적으로 연속'인 약물 전달은 또한, 미리 선택된 약물 전달 기간 동안 실질적으로 중단되지 않는, 실질적으로 일정한 미리 선택된 약물 전달 속도 또는 속도 범위의 약물 전달을 포함한다 (즉, 단위 시간 동안 약물의 양 또는, 단위 시간 동안 약물 제형의 부피).

여기에서 사용된 '피르페니돈'이라는 용어는, 5-메틸-1-페닐-2-(1H)-피리 돈을 가리킨다. 여기에서 사용된 '피르페니돈 유사체'라는 용어는, 하기 화학식 I, IIA, 또는 IIB의 임의의 화합물을 가리킨다. '특정 피르페니돈 유사체' 및 그 문법상 변형은, 표 10에 기재된 모든 피르페니돈 유사체를 가리키며 그에 국한된다.

'항섬유' 시약, 약물 또는 화합물의 용어는, 하기를 포함하는 섬유증을 방지 또는 감소시키는 시약을 의미한다; 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 (일례로 인터페론- γ); 피르페니돈 및 피르페니돈 유사체; 항신생혈관계 일례로, VEGF 안타고니스트, VEGF 수용체 안타고니스트, bFGF 안타고니스트, bFGF 수용체 안타고니스트, TGF- β 안타고니스트, 및 TGF- β 수용체 안타고니스트; 및 항염증제로, 종양괴사 인자 (TNF) 안타고니스트를 포함하며, 일례로 항-TNF 항체 (즉, REMICADE™ 항-TNF 모노클로날 항체) 및 가용성 TNF 수용체 (일례로 ENBREL™ TNF 수용체-Ig 면역어드히신), 및 IL-1 안타고니스트, 일례로 IL-1Ra를 포함함.

'신생혈관계(angiotonic agent)', '신생혈관 화합물' 및 '신생혈관 인자'라는 용어는, 혈관신생을 촉진하는 인자, 일례로 VEGF, bFGF, 및 TGF- β 를 포함하는 시약을 의미한다.

'항신생혈관성' 또는 '안지오스타틱' 시약, 약물 또는 화합물 또는 '혈관형성 억제제'라는 용어는, 혈관 신생을 감소 또는 방지하는 다음과 같은 시약을 포함하는 의미이다; VEGF 안타고니스트, VEGF 수용체 안타고니스트, bFGF 안타고니스트, bFGF 수용체 안타고니스트, TGF- β 안타고니스트, 및 TGF- β 수용체 안타고니스트.

'뉴클레오시드'라는 여기에 사용된 용어는, 퓨린 (9 위치) 또는 피리미딘 (1 위치)의 천연 위치 또는 유사체의 균등 위치 또는 헤테로고리의 특정 위치에 결합된 임의의 펜토스 또는 변형 펜토스 잔기로 이루어진 화합물을 가리킨다.

여기에 사용된 '뉴클레오타이드'라는 용어는, 뉴클레오시드의 5' 위치 상에 치환된 포스페이트 에스터 치환을 가리킨다.

여기에 사용된 '헤테로고리'라는 용어는, 고리내에 N, O, S, Se 또는 P 와 같은 하나 이상의 헤테로 원자를 가지는 포화 또는 불포화 1가 카보시클릭 라디칼을 의미하며, 고리의 각각 가능한 위치는, 일례로 히드록시, 옥소, 아미노, 이미노, 저급 알킬, 브로모, 클로로, 및/또는 시아노로 임의로 독립적으로 치환 가능하다. '헤테로고리'라는 용어는 퓨린과 피리미딘을 포함한다.

'퓨린'이라는 용어는, 질소성 2 고리 헤테로고리를 의미한다.

'피리미딘'이라는 용어는, 질소성 1 고리 헤테로고리를 의미한다.

여기에 사용된 'L-뉴클레오시드'라는 용어는, L-리보스 당잔기를 가지는 뉴클레오시드 화합물을 의미한다.

'항신생물(antineoplastic)' 시약, 약물 또는 화합물이라는 용어는, 임의의 시약으로, 임의의 화학치료제, 생물 반응 변형제 (제한 없이 (i) 단백질성, 즉, 펩티드성의, 생물 반응을 조절 또는 변화시킬 수 있는 분자 및 (ii) 비단백질성, 즉, 비펩티드성의, 생물 반응을 조절 또는 변화시킬 수 있는 분자 포함), 조직독성제 또는 조직증식억제제로, 신생 세포의 증식을 감소시키는 것을 의미한다.

'항섬유' 시약, 약물 또는 화합물의 용어는, 하기를 포함하는 섬유증을 방지 또는 감소시키는 시약을 의미한다; 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 (일례로 인터페론- γ); 피르페니돈 및 피르페니돈 유사체; 항신생혈관계 일례로, VEGF 안타고니스트, VEGF 수용체 안타고니스트, bFGF 안타고니스트, bFGF 수용체 안타고니스트, TGF- β 안타고니스트, 및 TGF- β

수용체 안타고니스트; 및 항염증제로, 종양괴사 인자 (TNF) 안타고니스트를 포함하며, 일례로 항-TNF 항체 (즉, REMICADE™ 항-TNF 모노클로날 항체) 및 가용성 TNF 수용체 (일례로 ENBREL™ TNF 수용체-Ig 면역어드히신), 및 IL-1 안타고니스트, 일례로 IL-1Ra를 포함함.

'화학치료제' 또는 '화학치료의' (또는, 화학치료제로 치료하는 경우 '화학치료법')의 용어는, 암의 치료에 유용한 비단백질성 (즉, 비 펩티드) 화학물질 임의의 것을 포함한다. 화학치료제의 예는, 다음과 같은 알킬화제를 포함한다; 티오테파 및 시클로포스파미드 (CYTOXAN™); 부술판, 임프로술판 및 피포술판과 같은 알킬 설포네이트; 아지리딘, 일례로, 벤조도파, 카보쿠온, 메투레도파, 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸아멜라민, 일례로, 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포포아미드, 트리에틸렌티오포스포아미드, 및 트리메틸로멜라민; 아세토게닌 (특히, 불라타신 및 불라타시논); 캄토테신 (토포테칸의 합성 유사체 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유도체 포함); 크립토피신 (특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 듀오카르미신 (합성 유사체 KW-2189 및 CBI-TMI 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕티인; 스폰지스타틴; 질소 겨자; 일례로, 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 염산, 멜팔란, 노벤비친, 펜에스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 유라실 겨자; 니트로소유레아, 일례로, 카르무스틴, 클로로조토신, 포레무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 라니무스틴; 항생제, 일례로, 에네딘 항생제 (일례로, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 감마II 및 칼리케아미신 피II (Phil), Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994) 참조; 디네미신 A를 포함하는 디네미신; 비스포스포네이트, 일례로, 클로드로네이트; 에스페라미신; 또한 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 발색단백질 에네이딘 항생 발색단), 아클라시노마이신, 액티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르루신, 독소루비신 (Adramycin™) (모폴리노-독소루비신, 시아노 모폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 디옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마셀로마이신, 미토마이신, 일례로, 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항대사제, 일례로, 메토포트릭세이트 및 5-플루오로유라실 (5-FU); 염산 유사체, 일례로 데모프테린, 메토포트릭세이트, 프테로프테린, 트리메트릭세이트; 퓨린 유사체, 일례로 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 일례로, 안시타빈, 아자시타딘, 6-아자유리딘, 카르모푸어, 시타라빈, 디데옥시유리딘, 독시플루리딘, 에녹시타빈, 플록스유리딘; 안드로젠, 일례로, 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항 아드레날제, 일례로, 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스타틴; 염산 보충제, 일례로, 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트렉세이트; 디포파민; 디메콜친; 다이키쿠온; 엘포르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 히드록시유레아; 렌티난; 로니다민; 마이탄시노이드, 일례로, 마이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미토산트론; 모피다몰; 니트라크린; 펜토스파틴; 페나멧; 피라루비신; 로소잔트론; 포도필린산; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK®; 라족산; 리족산; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리메틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이니딘); 유레탄; 빈테신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 시클로포스파미드; 티오페타; 텍소이드, 일례로 파클리탁셀 (TAXOL®, Bristol Meyers Squibb Oncology, Princeton, NJ) 및 도세탁셀 (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France); 클로람부실; 겔시타빈 (Gemzar™); 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토포트릭세이트; 백금 유사체, 일례로 시스플라틴 및 카보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미트록산트론; 반크리스틴; 비노렐빈 (Navelbine™); 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 제올로다파; 이반드로네이트; CPT-II; 토포아이스머라제 억제제 RFS 2000; 디플루로메틸로르니틴 (DMFO); 레티노이드, 일례로, 레티노산; 카페시타빈; 및 상기 임의의 것의 약학 허용염, 산 또는 유도체. '화학치료제'의 정의에 또한 포함되는 것은, 항호르몬제로, 항에스트로젠 및 선택적 에스트로젠 수용체 조절제 (SERM)와 같은 종양에 대한 호르몬 작용을 조절 또는 억제하도록 작용하는 것으로, 일례로 다음을 포함한다: 타목시펜 (Nolvadex™ 포함), 랄록시펜, 드롤록시펜, 4-히드록시타복시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤 및 토레미펜 (Fareston™); 아드레날선에서의 에스트로젠 생성을 조절하는 아로마타제 효소 억제제, 일례로, 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, 메게스트롤 아세테이트 (Megace™), 에제메스탄, 포르메스탄, 파드로졸, 보로졸 (Rivisor™), 레트로졸 (Femara™), 및 아나스트로졸 (Arimidex™); 및, 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 루프로리드, 및 고세렐린과 같은 항안드로젠; 및 상기 임의의 것의 약학 허용염, 산 또는 유도체.

'항신생성' 시약, 약물 또는 화합물이라는 용어는, 임의의 시약으로, 임의의 화학치료제, 생물 반응 변형제 (제한 없이 (i) 단백질성, 즉, 펩티드성의, 생물 반응을 조절 또는 변화시킬 수 있는 분자 및 (ii) 비단백질성, 즉, 비펩티드성의, 생물 반응을 조절 또는 변화시킬 수 있는 분자 포함), 조직독성제 또는 조직중식억제제로, 신생 세포의 증식을 감소시키는 것을 의미한다.

'생물 반응 변형제'라는 용어는, 임의의 단백질성 (즉, 펩티드성)의 또는 임의의 비단백질성 (즉, 비펩티드성)의 분자로, 암 치료와 관련한 생물 반응을 조절 또는 변화시킬 수 있는 것을 의미한다. 생물 반응 변형제의 예는, 종양 관련 항원의 안타

고니스트, 일례로, 항종양 항원 항체, 세포 증식을 유도할 수 있는 세포 수용체의 안타고니스트, 세포자멸 (apoptosis)를 유도할 수 있는 세포 수용체의 아고니스트, 일례로 Apo-2 리간드, 타입 I 인터페론 수용체 아고니스트, 일례로 인터페론- α 분자 및 인터페론- β 분자, 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트, 일례로 인터페론- γ 분자, Type III 인터페론 수용체 아고니스트, 일례로 IL-28A, IL-28B, 및 IL-29, 염증성 사이토카인의 안타고니스트로 종양 괴사 인자 (TNF) 안타고니스트 포함, 일례로 항-TNF 항체 (일례로 REMICADE™ 항-TNF 모노클로날 항체) 및 가용성 TNF 수용체 (일례로 ENBREL™ TNF 수용체-Ig 면역어드히신), 성장 인자 사이토카인, 일례로, 조혈성 사이토카인으로, 에리트로포이에틴을 포함하며, 일례로 EPOGEN™ 이피오틴-알파, 과립 켈러니 자극 인자 (G-CSFs), 일례로 NEUPOGEN™ 필그라스티프, 과립-대식구 켈러니 자극 인자 (GM-CSFs), 및 트롬보포이에틴, 림프사이트 성장 인자 사이토카인, 일례로, 인터루킨-2, 및 성장 인자 사이토카인의 안타고니스트로, 혈관신생 인자의 안타고니스트를 포함하며, 일례로, 혈관 상피 세포 성장 인자 (VEGF) 안타고니스트, 일례로 AVASTIN™ 베바시주마브 (항-VEGF 모노클로날 항체)를 포함한다.

여기에 사용된 'HCV 효소 억제제'라는 용어는, HCV에 의해 코딩되는 효소의 효소 활성을 억제하는 임의 시약을 가리킨다. 'HCV 효소 억제제'라는 용어는, HCV NS3 프로테아제 활성 억제 시약; HCV NS3 헬리카제 활성 억제 시약; 및 HCV NS5B-RNA 의존성 RNA 폴리머라제 활성을 억제하는 임의의 시약을 포함하며 이에 제한되지 않는다.

여기에 사용된 "HCV NS3 프로테아제 억제제" 및 "NS3 프로테아제 억제제"의 용어는, HCV NS3/NS4A 복합체의 프로테아제 활성을 억제하는 임의의 시약을 가리킨다. 특별히 달리 언급되지 않는 한, 'NS3 억제제'는 "HCV NS3 프로테아제 억제제" 및 "NS3 프로테아제 억제제" 용어와 상호 교환적으로 사용된다.

여기에 사용된 "HCV NS5B 억제제", 'NS5B 억제제', "HCV NS5B RNA-의존성 RNA 폴리머라제 억제제," "HCV RDRP 억제제," 및 "RDRP 억제제"의 용어는, "HCV NS5B RNA-의존성 RNA 폴리머라제 활성을 억제하는 임의의 시약을 가리킨다.

본 발명을 추가로 기재하기 이전에, 본 발명은 기재된 특정 구현에 제한되지 않고, 물론 가변임을 이해하여야 한다. 또한, 여기에 사용된 용어는 특정 구현 설명용일 뿐으로써, 제한을 위한 것이 아니며, 이는 본 발명의 범위가 첨부된 청구범위에 의해서만 제한되는 때문이다.

어떤 범위의 값들이 제공될 때, 내용상 분명히 다르게 기재하지 않는 한 하한 단위의 1/10까지의, 범위의 상한 및 하한 간의 각 사이의 값들 및 기타 다르게 언급 또는 언급된 범위내의 사이 값들은, 본 발명 내에 포함된다. 이들 작은 범위의 상한 및 하한은, 더 작은 범위내에 독립적으로 포함 가능하고, 또한 본 발명 내에 포함되는 것으로, 언급한 범위에서 임의의 특정 배제된 한계일 수 있다. 언급한 범위가 하나 또는 모두의 한계를 포함할 때, 이들 포함된 한계 하나 또는 모두를 배제하는 범위 또한 본 발명 내에 포함된다.

다르게 기재되지 않는 한, 여기 사용된 기술 및 과학 용어는, 본 발명이 속한 당업계의 숙련자에 의해 통상 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 여기 기재된 것과 유사 또는 균등의 임의의 물질 및 방법이 본 발명의 실시 또는 시험에 또한 사용 가능할지라도, 바람직한 방법 및 물질을 이제 기재하고자 한다. 여기 기재된 모든 문헌은, 문헌이 인용된 것과 관련한 방법 또는 물질을 개시하기 위한 참고로 여기 편입된다.

첨가된 청구범위 및 여기에 사용된, "a", "an", 및 "the" 의 단수는, 내용중에 분명히 다른 것으로 언급되지 않는 한 복수 형태를 포함한다. 따라서 일례로, '프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체'라는 것은, 그러한 폴리펩티드 변이체의 복수개를 포함하며, '경구 제제'라는 것은, 하나 이상의 경구 제제들 및, 당업자에게 공지인 균등물 등을 포함하는 것이다.

여기 기재된 문헌들은, 본 출원 출원일 이전의 그들의 개시만을 위해 제공된다. 여기의 어느 것도 선행 발명에 의해 본 발명이 그러한 문헌을 앞서갈 수 없다는 것을 인정하는 것으로 이해되어서는 안 된다. 나아가, 문헌 일자, 실제 출판 일자와 상이할 수 있어서, 독립적 확인이 필요할 수 있다.

발명의 상세한 설명

본 발명은, 부모 치료 단백질의, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학 조성물을 제공한다. 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 다음을 포함한다; (1) 부모 치료 단백질에서 발견되지 않는 비천연 글리코실화 부위 하나 이상에 공유 연결된 탄수화물 잔기 또는 (2) 부모 치료 단백질에서 발견되나, 글리코실화되지 않는 천연 글리코실화 부위 하나 이상에 공유 연결된

탄수화물 잔기. 나아가, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 치료 단백질에서 발견되는 천연 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하며 따라서, 부모 치료 단백질에 비해 증가된 프로테아제 저항성을 나타낸다.

본 발명은 나아가, 투여당 더 많은 약물 (몰 기준) 및 비경구 투여 형태 내의 부모 폴리펩티드의 피하 볼루스 주사에 의한 질병 치료에 유효한 것으로 입증된 방법에서 적어도 환자가 투여 받는 단위 시간당 많은 투여 이상인 투여 간격 및 경구 투여 형태로, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 환자에게 경구 투여함에 관련된 환자의 질병 치료를 위한 치료 방법을 제공한다.

본 발명은 나아가, 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함한 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트; 및 아고니스트 함유 약학 조성물 포함 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한, 대상 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는, 뉴클레오타이드 서열 함유 핵산; 및 대상 핵산 함유 숙주 세포를 제공한다. 본 발명은 또한, 대상 폴리펩티드 아고니스트 함유 용기 및 키트를 제공한다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 하이브리드 또는 컨센서스 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 포함한다. 글리코실화 부위(들)은, 대상 합성 폴리펩티드 아고니스트 상에 탄수화물 잔기의 결합 부위를 제공하며, 대상 합성 폴리펩티드 아고니스트가 글리코실화할 수 있는 진핵 세포 내에서 생성될 때, 대상 합성 폴리펩티드 아고니스트가 글리코실화된다. 글리코실화는, 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에 비해 또는, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에 비해 대상 합성 폴리펩티드 아고니스트 상에 하나 이상의 장점을 제공한다. 그러한 장점은, 증가된 혈청 반감기, 감소된 면역원성, 증가된 기능성 생체 내 반감기, 위장관내 조건내에서 감소된 분해, 및 장 상피 세포에 의한 증가된 흡수율을 포함한다. 위장관내 조건내에서 감소된 분해, 및 장 상피 세포에 의한 증가된 흡수율은, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 장 (즉, 경구 제제) 제제를 위해 중요하다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 바이러스 감염, 섬유증 질환, 및 증식성 질환을 포함하는 각종 질환 치료에 유용하다. 따라서, 본 발명은, 바이러스 감염 치료 방법, 섬유증 질환 치료 방법, 및 증식성 질환 치료 방법을 제공하며, 이들 방법은, 대상 합성 폴리펩티드 아고니스트의 유효량을 치료를 필요로 하는 개인에게 투여함과 보통 관련된다. 일부 구현에서, 대상 치료 방법은, 바이러스 감염, 섬유증 질환, 또는 증식성 질환의 치료를 위한 하나 이상의 추가 치료제 투여와 추가로 관련된다. 일부 구현에서, 대상 치료 방법은, 하나 이상의 치료제에 의해 유도된 부작용을 감소시키기 위한 부작용 조절제 하나 이상을 투여함에 추가로 관련된다.

다른 구현에서, 본 발명의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 타입 I 인터페론 수용체의 검출 및 분리용 시약 용도를 가지며, 일례로, 각종 세포 타입 및 조직에서의 타입 I 인터페론 수용체 발현의 검출로, 세포 군에서의 타입 I 인터페론 수용체의 밀도 및 분포 측정, 및 타입 I 인터페론 수용체 발현에 따른 세포 분리를 포함한다. 다른 면에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 아고니스트는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체의 그것과 유사한 타입 I 인터페론 수용체와의 결합 또는 활성 패턴을 가지는 시약의 개발에 유용하다. 본 발명의 합성 타입 I 인터페론 수용체 아고니스트는, 타입 I 인터페론 수용체 시그널링의 소분자 아고니스트 또는 안타고니스트를 스크리닝하는, 타입 I 인터페론 수용체 신호 전달 어세이에 사용 가능하다.

폴리펩티드 변이체

본 발명은 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체에 연관된다. 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 치료 단백질에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하고, 따라서 부모 치료 단백질에 비해 증가된 프로테아제 저항성을 가진다.

부모 치료 단백질에서 발견되는 프로테아제 절단 부위 자리이면서, 더 이상 절단되지 않거나, 부모 단백질에서 프로테아제 절단 부위를 절단하는 프로테아제에 의한 절단에 대해 증가된 저항성을 나타내도록 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체에서 돌연변이된 절단 부위 (즉, 단백질분해 과정에 대한 천연 부위보다 열악한 기질)는, 여기에서 '돌연변이된 프로테아제 절단 부위', 또는 '절단 부위 돌연변이체'로 언급된다. 부모 치료 단백질에서 발견되는 프로테아제 절단 부위는, 여기에서 '천연 프로테아제 절단 부위'라고 불린다.

나아가, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 다음을 포함한다; (1) 부모 치료 단백질에서 발견되지 않는 비천연 글리코실화 부위 하나 이상에 공유 연결된 탄수화물 잔기 또는 (2) 부모 치료 단백질에

서 발견되나, 글리코실화되지 않는 천연 글리코실화 부위 하나 이상에 공유 연결된 탄수화물 잔기. 부모 치료 단백질에서 발견되지 않는 글리코실화 부위는, 여기에서 '비천연 글리코실화 부위'로 불린다. 부모 치료 단백질에서 발견되나, 글리코실화되지 않는 글리코실화 부위는, 여기에서 '천연 글리코실화 부위'로 불린다. 따라서, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 다음을 포함한다; (1) 비천연 글리코실화 부위 하나 이상에 공유 연결된 탄수화물 잔기 및/또는 (2) 천연 글리코실화 부위 하나 이상에 공유 연결된 탄수화물 잔기. 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체로, (1) 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 또는 (2) 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기를 포함하고, 부모 치료 단백질 내에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단부위를 포함하는 것은, 여기에서 "프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체"로 불린다.

'알려진' 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 임의의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체로 다음과 같이 이미 존재 또는 다음과 같도록 생성된 것이다; (1) 부모 치료 단백질의 목적 약학 활성을 유지하고 (2) 유사한 형태 및 유사한 투여량, 투여 빈도 및 투여 경로로 환자에게 투여시, 부모 치료 단백질에 의해 나타나는 것과 비교하여 시간 함수로서의 혈청중 약물 농도 곡선의 면적 (AUC)이 크거나 또는 긴 혈청 반감기를 나타냄. 본 발명은, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함하는, 경구 약학 조성물을 포괄하는 조성물을 제공한다.

알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는 경구 전달에 적절한 제제 내에 제공된다. 부모 치료 단백질은 피하 볼루스 주사에 적당한 즉각 방출 제제로 보통 투여된다. 보통, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 경구 투여 형태는, 제 1 물수를 포함하고; 부모 치료 단백질은, 제 2의 물수를 포함하는 비경구 투여 형태 내에 있다. 일반적으로, 제 1 물수는 제 2 물수 초과이다. 그럼에도 불구하고, 경구 투여 형태의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 환자의 질병치료를 위해 유효한 것으로 입증된 투여계획에서 부모 치료 단백질의 투여에 사용된 투약 간격 이하인 시간 기간에 걸쳐 방출된다.

부모 단백질은, 보통, 피하 볼루스 주사에 의해 투여되는 비경구 투여 형태로, 이는, 주사 부위 주위의 조직으로부터 약물 확산에 따라 치료 단백질을 혈류내로 서서히 방출하는 '정거장' (depot) 효과를 제공하는 것이다.

본 발명의 대상 방법은, 지속적 방출 또는 정거장 제제가 아닌 장기간 작용 시약 (자신의 부모 단백질보다 높은 혈청 반감기 및/또는 AUC를 가지는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체)의 경구 전달에 의해 달성되는 상응하는 약리동력학 프로파일로, 피하 볼루스 주사 '정거장' 효과를 대체한다. 즉, 경구 투여시, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 제 1 물수 방출에 필요한 시간은, 질병의 치료에 유효한 것으로 입증된 방법에서 피하 볼루스 주사에 의해 투여시 부모 치료 단백질의 투여간의 시간 간격 이하이다. 따라서, 일부 구현에서, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 부모 치료 단백질과 적어도 같은 빈도, 또는 많은 경우에서 더 많은 빈도 및 높은 투여량 (물 기준)으로 투여된다.

구조적 측면

프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 해당 부모 치료 단백질에서 발견되는 천연 글리코실화 부위 (들) 자리에, 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하는 아미노산 서열을 가지며, (1) 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위 및/또는 (2) 하나 이상의 천연 글리코실화 부위를 포함하는 아미노산 서열을 가진다. 따라서, 일례로 목적 폴리펩티드 변이체는, 해당 부모 치료 단백질에서 발견되는 천연 글리코실화 부위 (들) 자리에, 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하는 아미노산 서열을 가지며, 부모 치료 단백질에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위 또는, 부모 치료 단백질에서 발견되는 하나 이상의 글리코실화 부위 포함 아미노산 서열을 가진다. 일부구현에서 부모 치료 단백질은, 해당 천연 발생 폴리펩티드이다. 다른 구현에서, 부모 치료 단백질은, 비천연 발생 폴리펩티드이다 (즉, 합성 폴리펩티드, 하이브리드 폴리펩티드, 컨센서스 폴리펩티드, 융합 폴리펩티드, 재조합 폴리펩티드, 또는 천연 발생 폴리펩티드의 기타 변이체). 여기에서 사용된 '폴리펩티드 변이체' 및 '변이체 폴리펩티드'라는 용어는, 모두, 해당 부모 치료 단백질에서 발견되는 천연 글리코실화 부위 (들) 자리에, 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하며, (1) 부모 치료 단백질에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위 또는 (2) 부모 치료 단백질에서 발견되나 글리코실화 되지 않은 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 임의의 폴리펩티드를 가리킨다.

비천연 및 천연 글리코실화 부위는, N-연결 글리코실화 부위, 및 O-연결 글리코실화 부위를 포함한다. N-연결 글리코실화 부위는, 일례로 Asn-X-Ser/Thr 를 포함하며, 여기에서 아스파라긴 잔기는 N-연결 글리코실화 부위를 제공하고, X는 임의의 아미노산이다. O-연결 글리코실화 부위는, 하나 이상의 세린 및 트레오닌 잔기를 포함한다. 당업계에는 다수의 O-

연결 글리코실화 부위가 공지이며, 문헌에 보고된 바 있다. 문헌을 참조한다; Ten Hagen et al. (1999) J Biol. Chem. 274 (39):27867-74; Hanisch et al. (2001) Glycobiology 11:731-740; 및 Ten Hagen et al. (2003) Glycobiology 13:1R-16R.

모든 구현에서, 폴리펩티드 변이체는 초글리코실화되며, 즉 폴리펩티드 변이체는 다음을 포함한다; (1) 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 및/또는 (2) 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기. 많은 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 및 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기를 포함한다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 O-연결 글리코실화를 포함한다. 다른 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 N-연결 글리코실화를 포함한다. 다른 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 O-연결 및 N-연결 글리코실화 모두를 포함한다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 탄수화물 잔기를 포함하며, 이들 각각은 상이한 글리코실화 부위에 연결된 것이다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 비천연 글리코실화 부위에 글리코실화 된 것이다. 이들 구현 일부에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 단일 비천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다. 다른 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 하나 초과와 비천연 글리코실화 부위에서 글리코실화, 즉, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 2, 3, 또는 4개의 비천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다.

다른 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다. 이들 구현 일부에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 단일 천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다. 다른 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 하나 초과와 천연 글리코실화 부위에서 글리코실화, 즉, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 2, 3, 또는 4개의 천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다.

다른 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 천연 글리코실화 부위 (들) 및 비천연 글리코실화 부위 (들) 모두에서 글리코실화된다.

알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, N- 및/또는 O-연결 단백질 글리코실화 가능한 진핵 세포내에서 각각 합성될 때, 부모 치료 단백질에서 발견되지 않는 하나 이상의 추가 탄수화물 잔기를 포함 가능하다. 따라서, 부모 치료 단백질과 비교하여, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 추가의 탄수화물 잔기를 하나 이상, 2 이상, 3 이상 또는 4 이상 또 그 이상으로 포함 가능하다. 일례로, 부모 치료 단백질이 하나의 공유 연결된 탄수화물 잔기를 가지는 경우, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 2, 3, 4, 또는 그 이상의 공유 연결된 탄수화물 잔기를 가질 수 있다. 일부 구현에서 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기가 없고; 그대신 하나 이상, 2 이상, 3 이상 또는 4 이상 또 그 이상의, 천연 글리코실화 부위에 연결된 추가의 탄수화물 잔기를 가진다. 다른 구현에서 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기가 없고; 그대신, 2 이상, 3 이상 또는 4 이상 또 그 이상의, 비천연 글리코실화 부위에 연결된 탄수화물 잔기를 가진다.

글리코실화 타입 I 인터페론

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하는 컨센서스 또는 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열을 포함 가능하다. 즉, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에서 발견되지 않는, 즉 알려진 천연 발생 IFN- α , IFN- β , 또는 IFN- ω 어디서도 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 아미노산 서열을 포함 가능하다. 여기에 사용된 '비천연 글리코실화 부위'라는 용어는, 그 글리코실화 부위/위치가, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열에 존재하는 글리코실화 부위/위치와 유사하지 않은(no homologous), 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열 중의 위치에 존재하는 글리코실화 부위로 정의된다.

이와 다르게, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 컨센서스 또는 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열로, 하나 이상의 천연 발생 또는 천연글리코실화 부위를 가질 수 있다. 여기에 사용된 '천연 글리코실화 부위'라는 용어는, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열 중의 위치에 존재하며, 그 글리코실화 부위/위치가, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열 중 적어도 하나에 존재하는 글리코실화 부위/위치와 유사한(homologous), 글리코실화 부위로 정의된다.

여기서 사용된 '합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트'라는 용어는, 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 임의의 컨센서스 또는 하이브리드 타입 I 인터페론 폴리펩티드 아고니스트로 정의된다. 따라서, '합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트'는, 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 임의의 컨센서스 또는 하이브리드 타입 I 인터페론 폴리펩티드 아고니스트를 포괄하며, 이는, 하나 이상의 천연 글리코실화 부위 및/또는 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하는, 임의의 컨센서스 또는 하이브리드 타입 I 인터페론 폴리펩티드 아고니스트를 포함한다.

'부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트'는, 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트로, 비교를 위한 참고점으로 작용하는 것이다. 일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에서 발견되지 않는 하나 이상의 추가의 글리코실화 부위를 포함한다. 일례로, 일부 구현에서, 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 Infergen® 컨센서스 IFN- α (InterMune, Inc., Brisbane, Calif.)이다. 도 25에 나타난 바와 같이, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 부모 Infergen® 컨센서스 IFN- α 에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함한다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 약 150개 아미노산 내지 약 200개 아미노산, 즉, 약 150개 아미노산 내지 약 155개 아미노산, 약 155개 아미노산 내지 약 160개 아미노산, 약 160개 아미노산 내지 약 165개 아미노산, 약 165개 아미노산 내지 약 170개 아미노산, 약 170개 아미노산 내지 약 175개 아미노산, 약 175개 아미노산 내지 약 180개 아미노산, 약 180개 아미노산 내지 약 185개 아미노산, 약 185개 아미노산 내지 약 190개 아미노산, 약 190개 아미노산 내지 약 195개 아미노산, 또는 약 195개 아미노산 내지 약 200개 아미노산의 길이를 가진다.

일부 구현에서, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 아미노산 서열은, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 가지도록 변형된다. 하나의 비제한적인 예로서, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 아미노산 서열 KDSS를 가질 때, KDSS 서열은 KNSS 로 변형된다. 다른 비제한적인 예로서, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 아미노산 서열 WDET 를 가질 때, WDET 서열은 WNET 로 변형된다. 다른 비제한적인 예로서, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 아미노산 서열 VEET 를 가질 때, VEET 서열은 VTET 로 변형된다. 다른 비제한적인 예로서, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 아미노산 서열 VEET 를 가질 때, VEET 서열은 VNET 로 변형된다.

많은 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 글리코실화된다. 일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 O-연결 글리코실화를 포함한다. 다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 N-연결 글리코실화를 포함한다. 다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 O-연결 및 N-연결 글리코실화 모두를 포함한다.

일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 비천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다. 이들 중, 일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 단일 비천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다. 다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 하나 초과와 비천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다; 즉, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 2, 3, 또는 4개의 비천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다.

다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다. 이들 중, 일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 단일 천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다. 다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 하나 초과와 천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다; 즉, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 2, 3, 또는 4개의 천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다.

다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 비천연 글리코실화 부위 (들) 및 천연 글리코실화 부위 (들) 모두에서 글리코실화된다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 N-연결 및/또는 O-연결 글리코실화 포함 여부는, 표준기법을 사용하여 쉽게 측정된다; 일례로, "Techniques in Glycobiology" R. Townsend and A. Hotchkiss, eds. (1997) Marcel Dekker; 및 "Glycoanalysis Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol. 76)" E. Hounsell, ed. (1998) Humana Press 참조. 화학 또는 효소 탈글리코실화 (일례로, 엔도글리코시다제 및/또는 엑소글리코시다제 이용) 처리 전후의 단백질의 전기 영동 이동상의 변화는, 단백질의 글리코실화 상태 측정에 보통 이용된다. 효소 탈글리코실화는, 임의의 각종 효소를 이용하여 실행 가능하며, 이는 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는다; 펩티드-N4-(N-아세틸-β-D-글루코사미닐) 아스파라긴 아미다제 (PNGase F); 엔도글리코시다제 F1, 엔도글리코시다제 F2, 엔도글리코시다제 F3, α(2→3,6,8,9) 뉴라미니다제 등. 일례로, 소듐 도데실 설페이트 폴리아크릴아미드 젤 전기영동 (SDS-PAGE) 으로, PNGase F 로 미리 처리 또는 처리되지 않은 단백질 분석을 실시한다. PNGase F 처리 이후 이동 위치의 변화 및 밴드 두께의 현저한 감소는, N-연결 글리코실화의 진단으로 여겨진다. 글리코실화 단백질의 탄수화물 함량은, 또한 단백질 블랏 (일례로, SDS-PAGE 에 의해 분리된 단백질을 나일론 막과 같은 지지체에 이동시킴)의 액틴 분석으로 측정 가능하다. 각종 식물 조직의 탄수화물 결합 단백질인 액틴은, 당단백질 글리칸 상에 발견되는 규정된 광범위한 당 에피토프에 대해 높은 친화도 및 좁은 선택도 모두를 가진다; Cummings (1994) Methods in Enzymol. 230:66-86. 액틴은 측정가능하도록 레벨링 (직접 또는 비직접적으로) 되어, 글리코실화 단백질 상의 탄수화물에 대한 액틴 결합의 측정을 가능하게 한다. 일례로, 비오틴 또는 디옥시게닌과 공액시, 글리코실화 단백질에 결합된 액틴은 알칼리 포스파타제, β-갈락토시다제, 루시페라제, 또는 호스 래디시퍼옥시다제와 같은 효소에 공액된 아비딘 또는 항 디옥시게닌 항체를 이용한 반응으로 검출 가능한 생물물 생산을 통해 막 블랏 상에서 용이하게 검출 가능하다. 잘 규정된 특이성을 가진 액틴 패널을 이용한 스크리닝으로, 당단백질의 탄수화물 상보물에 대한 상당한 정보를 얻을 수 있다.

비천연 글리코실화 부위 (들)을 가지는 컨센서스 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트

일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 컨센서스 아미노산 서열 및 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 가진다. 다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 컨센서스 아미노산 서열 및 하나 이상의 천연 글리코실화 부위를 가진다

컨센서스 서열은 3개 이상의 아미노산 서열 배열화 및, 2개 이상의 서열간에 공유된 아미노산을 확인함에 의해 유도된다. 일부 구현에서, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 천연 발생 인간 IFN-α2b, 천연 발생 인간 IFN-α14, 및 천연 발생 인간 IFN-β1 의 컨센서스 서열을 검증하여 유도된 컨센서스 서열을 포함한다. 다른 구현에서, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 천연 발생 인간 IFN-α2b, 천연 발생 인간 IFN-α14, 및 천연 발생 인간 IFN-ω1 의 컨센서스 서열을 검증하여 유도된 컨센서스 서열을 포함한다. 다른 구현에서, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 천연 발생 인간 IFN-α2b, 천연 발생 인간 IFN-β1, 및 천연 발생 인간 IFN-ω1 의 컨센서스 서열을 검증하여 유도된 컨센서스 서열을 포함한다. 다른 구현에서, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 천연 발생 인간 IFN-α14, 천연 발생 인간 IFN-β1, 및 천연 발생 인간 IFN-ω1 의 컨센서스 서열을 검증하여 유도된 컨센서스 서열을 포함한다. 다른 구현에서, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 천연 발생 인간 IFN-α2b, 천연 발생 인간 IFN-α14, 천연 발생 인간 IFN-β1, 및 천연 발생 인간 IFN-ω1 의 컨센서스 서열을 검증하여 유도된 컨센서스 서열을 포함한다. 다른 구현에서, 비교는, Infergen® 컨센서스 IFN-α 의 아미노산 서열을 비교함을 추가로 포함하는 것이다.

이들 구현 일부에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 컨센서스 서열을 유도하기 위해 사용된 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열 하나 이상으로부터 유도된 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 컨센서스 서열이다. 추가의 구현에서, 컨센서스 서열은, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하도록 추가로 변형된다.

한 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 도 24 (SEQ ID NO:**)에 개시된 주요 서열에 해당하는 아미노산 서열을 포함하며, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하도록 추가로 변형된다.

다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 도 24 (SEQ ID NO:**)에 개시된 주요 서열에 해당하는 아미노산 서열을 포함하며, IFN-α2b의 VTET 글리코실화 부위, IFN-α14 의 KNSS글리코실화 부위, IFN-β1 의 WNET 글리코실화 부위, 및 IFN-ω1 의 WNMT 글리코실화 부위의 군으로부터의, 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하도록 추가로 변형된다. 다른 구현에서, 주요 서열은, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하도록 추가로 변형된다.

다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트로부터 유래한 글리코실화 부위를 갖지 않는 컨센서스 서열로부터 수득된다. 이들 구현에서, 컨센서스 서열은, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 수득하기 위해, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하

도록 추가로 변형된다. 일례로, 일부 구현에서, 컨센서스 서열이 KDSS 포함시, KDSS 서열은 KNSS 또는 KNST로 변형된다. 기타 비제한적인 예로, 컨센서스 서열이 WDET 포함시, WDET 서열은 WNET 또는 WNES로 변형된다. 기타 비제한적인 예로, 컨센서스 서열이 VEET 포함시, VEET 서열은 VTET, VNES 또는 VNET로 변형된다.

특정 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 도 24에서 '주요' (majority)로 표시된 아미노산 서열을 가지며, 추가로 하나 이상의 하기 변형을 포함한다; KDSS가 KNST로 변형; WDET가 WNES로 변형; VEET가 VNES 또는 VNET로 변형.

일부 특정 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 도 25에 개시된 바와 같은 SEQ ID NO:*** 중 임의의 것과 같은 아미노산 서열을 포함한다.

한 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 도 28 (SEQ ID NO:**)에 개시된 바와 같은 주요 서열에 해당하는 아미노산 서열을 포함하며, 이는, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위 하나 이상을 포함하도록 변형된 것이다. 일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 도 28에 개시된 바와 같은 SEQ ID NO:*** 중 임의의 것과 같은 아미노산 서열을 포함한다.

한 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 도 29 (SEQ ID NO:**)에 개시된 바와 같은 주요 서열에 해당하는 아미노산 서열을 포함하며, 이는, 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위 하나 이상을 포함하도록 변형된 것이다. 일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 도 29에 개시된 바와 같은 SEQ ID NO:*** 중 임의의 것과 같은 아미노산 서열을 포함한다.

비천연 글리코실화 부위 (들)을 가지는 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트

일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 하나 이상의 글리코실화 부위를 가지는 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 포함한다. 다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 어느 것에서도 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 가진 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 포함한다. 여기에서 사용된 '하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트'는 아미노산 동일성 및 상이한 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 하부서열의 갯수면에서 대응하는 별개의 하부 서열 함유 아미노산 서열을 가지는 폴리펩티드로, 여기에서 대상 합성 폴리펩티드 아고니스트의 아미노산 서열은, 임의의 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 아미노산 서열과 상이한 것이다. 일부 구현에서, 별개의 하부 서열은, IFN- α 2b, IFN- α 14, IFN- β 1, 및 IFN- ω 로부터 선택되며, 폴리펩티드 아고니스트의 아미노산 서열은, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 IFN- α 2b, IFN- α 14, IFN- β 1, 및 IFN- ω 의 아미노산 서열과 상이한 것이다.

다른 구현에서, 별개의 하부 서열은 IFN- α 2b, IFN- α 14, IFN- β 1, Infergen® 컨센서스 IFN- α , 및 IFN- ω 로부터 선택 가능하며, 폴리펩티드 아고니스트의 아미노산 서열은, 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 IFN- α 2b, IFN- α 14, IFN- β 1, Infergen® 컨센서스 IFN- α , 및 IFN- ω , 각각의 아미노산 서열과 상이하다.

이들 구현 중 일부에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열로, 하이브리드 서열을 유도하기 위해 사용된 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열 하나 이상에서 유래한 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 것이다. 추가의 구현에서, 하이브리드 서열은, 하나 이상의 추가의 비천연 글리코실화 부위를 포함하도록 추가 변형된다 (부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열에서 유래한 임의의 비천연 글리코실화 부위 (들)에 추가하여).

본 발명의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 다른 부모 IFN- α 아미노산 서열 중의 유사 위치에서 천연 글리코실화 부위를 형성하는 아미노산 잔기 또는 잔기들로 부모 IFN- α 아미노산 서열 중 하나 이상의 아미노산 잔기를 치환함에 의해 형성되는 하이브리드 타입 I 인터페론 폴리펩티드 아고니스트를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

하나의 비제한적 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파-2a 서열 또는 인터페론 알파-2b 서열 중의 천연 KDSS 잔기를 KNSS로 치환함에 의해 형성되는 하이브리드 서열을 포함하는 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트이다. 이들 합성 타입 I 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 각각 여기에서 IFN- α 2a (D99N) 및 IFN- α 2b (D99N)로 불리며, 아미노산 서열 번호매김은 도 24에 개시되어 있다.

다른 비제한적 예에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파-2a 서열 또는 인터페론 알파-2b 서열 중의 천연 WDET 잔기를 WNET 로 치환함에 의해 형성되는 하이브리드 서열을 포함하는 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트이다. 이들 합성 타입 I 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 각각 여기에서 IFN- α 2a (D105N) 및 IFN- α 2b (D105N)로 불리며, 아미노산 서열 번호매김은 도 24에 개시되어 있다.

다른 비제한적 예에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파-2a 서열 또는 인터페론 알파-2b 서열 중의 천연 KDSS 및 WDET 잔기를 KNSS 및 WNET 로 치환함에 의해 형성되는 하이브리드 서열을 포함하는 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트이다. 이들 합성 타입 I 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 각각 여기에서 IFN- α 2a (D99N, D 105N) 및 IFN- α 2b (D99N, D 105N)로 불리며, 아미노산 서열 번호매김은 도 24에 개시되어 있다.

다른 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 아미노산 서열에서 유래한 임의의 글리코실화 부위(들)을 가지지 않는 하이브리드 서열로부터 유도된다. 이들 구현에서, 하이브리드 서열은, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 수득하기 위해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하도록 이후 추가 변형된다. 일례로, 일부 구현에서, 하이브리드 서열이 KDSS를 포함할 때, KDSS 서열은 KNSS로 변형된다. 다른 비제한적 예에서, 하이브리드 서열이 WDET 를 포함할 때, WDET 서열은 WNET 로 변형된다. 다른 비제한적 예에서, 하이브리드 서열이 VEET 를 포함할 때, VEET 서열은 VTET 또는 VNET 로 변형된다.

일부 구현에서 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 N 말단에서 C 말단 순서로, 약 2 내지 약 90, 일례로, 약 2 내지 약 5, 약 5 내지 약 7, 약 7 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 55, 약 55 내지 약 60, 약 60 내지 약 65, 약 65 내지 약 70, 약 75 내지 약 80, 약 80 내지 약 85, 또는 약 85 내지 약 90개의, IFN- α 2b (SEQ ID NO:*) , 천연 발생 인간 IFN- α 14 (SEQ ID NO:*) , 천연 발생 인간 IFN- β 1 (SEQ ID NO:*) , 및 천연 발생 인간 IFN- ω 1 (SEQ ID NO:*) 으로부터 선택되는 제 1 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 인접(contiguous) 아미노산; 및 약 2 내지 약 90, 일례로, 약 2 내지 약 5, 약 5 내지 약 7, 약 7 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 55, 약 55 내지 약 60, 약 60 내지 약 65, 약 65 내지 약 70, 약 75 내지 약 80, 약 80 내지 약 85, 또는 85 내지 약 90 개의 천연 발생 인간 IFN- α 2b, 인간 IFN- α 14, 인간 IFN- β 1, 및 인간 IFN- ω 1 으로부터 선택되는 제 2 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 인접 아미노산을 포함하며, 제 1 및 제 2 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 상이하다.

일부 구현에서 하이브리드 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 약 2 내지 약 90, 일례로 약 2 내지 약 5, 약 5 내지 약 7, 약 7 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 55, 약 55 내지 약 60, 약 60 내지 약 65, 약 65 내지 약 70, 약 75 내지 약 80, 약 80 내지 약 85, 또는 약 85 내지 약 90 개의 천연 발생 인간 IFN- α 2b, 인간 IFN- α 14, 인간 IFN- β 1, 및 인간 IFN- ω 1 으로부터 선택되는 제 3 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 인접 아미노산을 추가로 포함하며, 제 3 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 제 1 및 제 2 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트와 상이하다.

다른 구현에서 하이브리드 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 약 2 내지 약 90, 일례로 약 2 내지 약 5, 약 5 내지 약 7, 약 7 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 55, 약 55 내지 약 60, 약 60 내지 약 65, 약 65 내지 약 70, 약 75 내지 약 80, 약 80 내지 약 85, 또는 약 85 내지 약 90 개의 천연 발생 인간 IFN- α 2b, 인간 IFN- α 14, 인간 IFN- β 1, 및 인간 IFN- ω 1 으로부터 선택되는 제 4 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 인접 아미노산을 추가로 포함하며, 제 4 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 제 1, 제 2 및 제 3 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트와 상이하다.

특별한 구현에서, 상기한 구현 임의의 것 중 대상 하이브리드 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 약 4 내지 약 90, 일례로 약 4 내지 약 7, 약 7 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 55, 약 55 내지 약 60, 약 60 내지 약 65, 약 65 내지 약 70, 약 75 내지 약 80, 약 80 내지 약 85, 또는 약 85 내지 약 90개의, 천연 발생 인간 IFN- α 14의 KNSS 아미노산 서열을 적어도 포함하는 인간 IFN- α 14 폴리펩티드 단편의 인접 아미노산을 포함한다.

특별한 구현에서, 상기한 구현 임의의 것 중 대상 하이브리드 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 약 4 내지 약 90, 일례로 약 4 내지 약 7, 약 7 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 55, 약 55 내지 약 60, 약 60 내지 약 65, 약 65 내지 약 70, 약 75 내지 약 80, 약 80 내지 약 85, 또는 약 85 내지 약 90개의, 천연 발생 인간 IFN- β 1의 WNET 아미노산 서열을 적어도 포함하는 인간 IFN- β 1 폴리펩티드 단편의 인접 아미노산을 포함한다.

특별한 구현에서, 상기한 구현 임의의 것 중 대상 하이브리드 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 약 4 내지 약 90, 일례로 약 4 내지 약 7, 약 7 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 55, 약 55 내지 약 60, 약 60 내지 약 65, 약 65 내지 약 70, 약 75 내지 약 80, 약 80 내지 약 85, 또는 약 85 내지 약 90개의, 천연 발생 인간 IFN- ω 1의 WNMT 아미노산 서열을 적어도 포함하는 인간 IFN- ω 1 폴리펩티드 단편의 인접 아미노산을 포함한다.

특별한 구현에서, 상기한 구현 임의의 것 중 대상 하이브리드 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 약 4 내지 약 90, 일례로 약 4 내지 약 7, 약 7 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 55, 약 55 내지 약 60, 약 60 내지 약 65, 약 65 내지 약 70, 약 75 내지 약 80, 약 80 내지 약 85, 또는 약 85 내지 약 90개의, 천연 발생 인간 IFN- α 2b의 VTET 아미노산 서열을 적어도 포함하는 인간 IFN- α 2b 폴리펩티드 단편의 인접 아미노산을 포함한다.

기능적 면

대상 합성 폴리펩티드는 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트로, 즉, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 타입 I 인터페론 수용체에 결합하여 그를 통한 신호 전달을 야기한다. 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가, 타입 I 인터페론 수용체 아고니스트로 작용하는가의 여부는, 임의의 공지 어세이에 의해 용이하게 측정 가능하다. 그러한 어세이는, 인터페론 반응성 유전자의 활성화 검출을 위한 시험관 내 세포 기재 어세이 등을 포함한다 (즉, 하나 이상의 인터페론 반응성 요소를 함유하는 프로모터에 작동적으로 연결된 리포터 유전자 사용). 그러한 어세이는 다음 '진단 용도'로 기재된 바와 같은 타입 I 인터페론 수용체 활성화 활성도를 위한 KIRA 어세이를 또한 포함한다.

일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 다음 활성 하나 이상을 나타낸다; 항증식 활성, 항바이러스 활성, 및 항섬유 활성. 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가, 항바이러스 활성을 나타내는가의 여부는, 임의의 공지 어세이에 의해 용이하게 측정 가능하다; 즉, 바이러스 복제 어세이의 시험관 내 세포 기재 억제 포함 (일례로, Patick et al. (1999) Antimicrobial Agents and Chemotherapy 43:2444-2450 참조). 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가, 항증식 활성을 나타내는가의 여부는, 임의의 공지 어세이에 의해 용이하게 측정 가능하다; 즉, 증식 어세이의 시험관 세포 내 기재 억제.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 다음 활성 하나 이상을 나타낸다; 증가된 혈청 반감기, 감소된 생체내 면역원성, 증가된 생체내 기능성 반감기, 증가된 안정성, 위장관 조건하 분해의 감소, 및 개선된 수용성.

일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 또는 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에 비해 증가된 혈청 반감기를 가진다. '혈청 반감기'라는 용어는, 여기에서 '혈장 반감기' 및 '순환 반감기'와 상호교환적으로 사용된다. 일부 구현에서, 대상 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 혈청 반감기는, 비천연 글리코실화 부위를 가지지 않는 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 또는 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100% (또는 2배), 적어도 약 2.5 배, 적어도 약 3 배, 적어도 약 3.5 배, 적어도 약 4 배, 적어도 약 4.5 배, 또는 적어도 약 5 배 크다. 일부 구현에서 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 혈청 반감기는, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 아고니스트와 동일한 아미노산 서열을 가지는 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 또는 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100% (또는 2 배), 적어도 약 2.5 배, 적어도 약 3 배, 적어도 약 3.5 배, 적어도 약 4 배, 적어도 약 4.5 배, 또는 적어도 약 5 배 크다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 혈청 반감기는, 공지의 방법에 의해 쉽게 측정된다. 일례로, 대상 타입 I 인터페론 수용체 아고니스트를 측정가능하도록 레벨링하고, 개인에게 투여하고 (즉, 실험용 비인간 동물 또는 인간 대상), 아고니스트 투여 이후 다양한 시점에서 혈액 샘플을 채취하고 혈액 중 측정가능하게 레벨링된 합성 타입 I 인터페론 수용체 아고니스트의 양을 측정한다.

일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 또는 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에 비해 위장관 조건에 의한 분해에 대한 증가된 저항성을 가진다. 일부 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 비천연 글리코실화 부위(들)을 가지지 않는 부모 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 또는 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 분해 수준에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90% 또는 그 이상의 위장관내 분해 감소를 나타낸다.

위장관내 조건하 분해에 대하여 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 증가된 저항성을 나타내는가의 여부는, 공지의 방법에 의해 쉽게 측정 가능하다. 일례로, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 위장관에서 발견되는 소화 효소로 시험관내에서 접촉시키고, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 구조 및 기능 완전성에 대한 효소 효과를 검증한다. 위장관 조건에 의한 분해에 대한 저항성 검증을 위한 생체내 방법도 사용 가능하다.

여기에 사용하기 적합한 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 치료 단백질의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체로, 부모 치료 단백질은, 환자에게 투여시 환자의 질병 또는 상태의 치료에 유효한 임의의 치료 단백질이다. 치료 단백질 예의 리스트는 하기한다. 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 해당 부모 치료 단백질에서와 같이 환자의 동일한 질병 또는 증상 치료에 유효하다.

프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체

알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 치료 단백질의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체로, 많은 구현에서 제 1 유닛 형태로 제공된다. 제 1 유닛 형태는, 경구 약학 조성물 내에 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 물수를 포함한다. 많은 구현에서 부모 치료 단백질은 피하 볼루스 주사를 위해 적절한 즉각 방출성 제제일 수 있고 (즉, 제 2 유닛 형태), 여기에서 제 1 유닛 형태 중의 제 1 물수는, 제 2 유닛 형태 내의 치료 단백질의 제 2 물수 초과이다. 일례로, 제 1 물수는, 제 2 물수의 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 또는 적어도 약 50%, 또는 적어도 약 75%, 또는 적어도 약 100%, 또는 적어도 약 3 배, 또는 적어도 약 4 배, 또는 적어도 약 5 배, 또는 적어도 약 6 배, 또는 적어도 약 7 배, 또는 적어도 약 8배, 또는 적어도 약 9 배, 또는 적어도 약 10 배, 또는 그 초과이다.

많은 구현에서, 제 1 유닛 형태를 환자에게 경구 투여할 때, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 물수의 방출에 필요한 시간은, 환자의 질병 또는 증상 치료에 유효한 것으로 입증된 치료 계획에서의 선택된 투여 빈도로 피하 볼루스 주사에 의한 제 2 유닛 단위로 투여되는 부모 치료 단백질의 투여들 사이에 경과되는 시간 기간 이하이다. 따라서, 제 1 유닛 형태의 경구 투여로 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 제 1 물수 방출에 필요한 시간은, 선택된 투여 빈도로 피하 볼루스 주사에 의한 제 2 유닛 단위로 투여되는 부모 치료제의 투여들 사이의 시간 간격보다 적어도 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 또는 적어도 약 50% 또는 그 이상 적다. 일부 구현에서, 제 1 유닛 형태는 경구 전달에 적절한 즉각 방출 제제이다.

알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 피하 볼루스 주사에 의해 투여되는 해당 부모 폴리펩티드에 비해 더 자주 구강 투여 가능하다. 일례로, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 구강을 통해, 해당 부모 폴리펩티드가 피하 볼루스 주사에 의해 투여되는 것보다 2 배 이상 자주, 2 1/3 배 이상 더 자주, 2.5 배 이상 더 자주, 3 배 이상 더 자주, 3.5 배 이상 더 자주, 4 배 이상 더 자주, 또는 5 배 이상 더 자주, 또는 6 배 이상 더 자주, 또는 더 자주, 투여 가능하다. 따라서, 즉, 부모 치료 폴리펩티드가 1주에 1회 투여되는 경우, 해당 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 1주 2회, 1주 3회, 매일 1회, 매일 2회, 매일 3회 또는 매일 3회 초과로 투여 가능하다.

비제한적인 한 예로, 부모 치료 단백질은, IFN- γ Ib이고, IFN- γ Ib은, 매주 3회 피하로 1×10^6 International Units (IU)/ m^2 (또는 $50 \mu g/m^2$ 또는 3.0×10^{-9} mol./ m^2 의 투여량으로 피하 주사에 적당한 유닛 투여 형태로 주사되며, 주당 총 투여량은 $150 \mu g/m^2$ (또는 3×10^6 IU/ m^2 또는 9.0×10^{-9} mol./ m^2)이다. 목적하는 IFN- γ Ib 의 초글리코실화 프로테아제 저항성 변이체는, 경구 투여에 적절한 유닛 투여 형태 내이다; 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- γ Ib 변이체는 주당 3회 초과로 경구 투여되고 (즉, 주당 4회, 주당 5회, 주당 6회, 매일 1회, 매일 2회 또는 매일 3회); 투여되는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- γ Ib 변이체의 총 주당 투여량은, 9.0×10^{-9} mol./ m^2 이상, 즉, 약 9.0×10^{-9} mol./ m^2 내지 약 1.0×10^{-8} mol./ m^2 , 약 1.0×10^{-8} mol./ m^2 내지 약 2.5×10^{-8} mol./ m^2 , 약 2.5×10^{-8} mol./ m^2 내지 약 5.0×10^{-8} mol./ m^2 , 또는 약 5.0×10^{-8} mol./ m^2 내지 약 7.5×10^{-8} mol./ m^2 , 또는 약 7.5×10^{-8} mol./ m^2 내지 약 1.0×10^{-7} mol./ m^2 , 또는 약 1.0×10^{-7} mol./ m^2 내지 약 1.0×10^{-6} mol./ m^2 의 총 주당 투여량이다.

다른 면에서, 투여되는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- γ Ib 변이체의 총 주당 투여량은, 500 μg 이상, 즉, 약 500 μg 내지 약 750 μg , 약 750 μg 내지 약 1,000 μg , 약 1,000 μg 내지 약 1,500 μg , 또는 약 1,500 μg 내지 약 2,000 μg 이다.

알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 해당 부모 폴리펩티드에 비해 증가된 프로테아제 저항성을 나타낸다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 인간 혈액, 인간 혈청, 또는 하나 이상의 프로테아제 함유 시험관내 혼합물 중의 해당 부모 치료 단백질에 비해, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100% (또는 2배), 적어도 약 2.5 배, 적어도 약 3 배, 적어도 약 3.5 배, 적어도 약 4 배, 적어도 약 4.5 배, 적어도 약 5 배 (적어도 약 5 배), 적어도 약 6 배, 적어도 약 7 배, 적어도 약 8 배, 적어도 약 9 배, 적어도 약 10 배, 적어도 약 20 배, 적어도 약 30 배, 적어도 약 40 배, 적어도 약 50 배, 적어도 약 60 배, 적어도 약 70 배, 적어도 약 80 배, 적어도 약 90 배, 적어도 약 100 배, 적어도 약 200 배, 적어도 약 300 배, 적어도 약 400 배, 적어도 약 500 배, 적어도 약 600 배, 적어도 약 700 배, 적어도 약 800 배, 적어도 약 900 배, 또는 적어도 약 1000 배 또는 그 초과 혈청 프로테아제에 대한 저항성을 나타낸다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 해당 부모 치료 단백질에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100% (또는 2배), 적어도 약 2.5 배, 적어도 약 3 배, 적어도 약 3.5 배, 적어도 약 4 배, 적어도 약 4.5 배, 적어도 약 5 배 (적어도 약 5 배), 적어도 약 6 배, 적어도 약 7 배, 적어도 약 8 배, 적어도 약 9 배, 적어도 약 10 배, 적어도 약 20 배, 적어도 약 30 배, 적어도 약 40 배, 적어도 약 50 배, 적어도 약 60 배, 적어도 약 70 배, 적어도 약 80 배, 적어도 약 90 배, 적어도 약 100 배, 적어도 약 200 배, 적어도 약 300 배, 적어도 약 400 배, 적어도 약 500 배, 적어도 약 600 배, 적어도 약 700 배, 적어도 약 800 배, 적어도 약 900 배, 또는 적어도 약 1000 배 또는 그 이상의, 하나 이상의 α -키모트립신, 엔도프로티나제 Arg-C, 엔도프로티나제 Asp-N, 엔도프로티나제 Glu-C, 엔도프로티나제 Lys-C, 및 트립신에 대한 저항성을 나타낸다.

일부 구현에서, 폴리펩티드 변이체의 프로테아제 저항성 증가 정도는, 시험관내 인간 혈액 또는 인간 혈청, 또는 하나 이상의 혈청 프로테아제 함유 시험관 내 조성물 중의 해당 부모 치료 단백질의 반감기에 대해 폴리펩티드 변이체의 반감기를 비교함으로써 결정된다. 일례로, 프로테아제 절단에 대한 저항성은, 해당 부모 치료 단백질 및 폴리펩티드 변이체 각각을 프로테아제와 인간 혈청, 또는 인간 혈액과의 혼합물과 별도로 접촉시킴으로써 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 생활성 정도를 측정하고, 이후, 해당 부모 치료 단백질에 대한 폴리펩티드 변이체의 활성을 비교하여 결정한다. 폴리펩티드 변이체의 생활성이 인간 혈청, 인간 혈액 또는 하나 이상의 프로테아제와 인큐베이션된 해당 부모 치료 단백질의 그것보다 높으면, 폴리펩티드 변이체는, 부모 치료 단백질에 비해 증가된 프로테아제 저항성을 가지는 것이다.

다음은, 프로테아제 저항성 측정을 위한 시험관내 어세이의 한 비제한적 예이다. 별도의 용기 내에, 폴리펩티드 변이체 및 해당 부모 치료 단백질을, α -키모트립신, 카복시펩티다제, 엔도프로티나제 Arg-C, 엔도프로티나제 Asp-N, 엔도프로티나제 Glu-C, 엔도프로티나제 Lys-C, 및 트립신을 각각 1.5pg 으로 함유하는 프로테아제 혼합물에 가하여 반응 혼합물을 형성하고; 반응 혼합물을 30분간 25°C에서 보관한다. 30분 반응시간 종결시, 프로테아제 활성 억제 시약을 가하고, 폴리펩티드 변이체 및 해당 부모 치료 단백질의 생활성을 측정한다. 다음은, 프로테아제 저항성 측정을 위한 다른 비제한적 시험관내 어세이의 예이다. 별도의 용기 내에, 폴리펩티드 변이체 및 해당 부모 치료 단백질을, 인간 혈청 또는 인간 혈액의 용출

물 (lysate)에 가하여, 반응 혼합물을 형성하고; 반응 혼합물을 적절한 시간 동안 37°C 에서 보관한다 (즉, 5분, 10분, 15분, 30분, 또는 60분 등). 이후 프로테아제 활성 억제 시약을 가하고, 폴리펩티드 변이체 및 해당 부모 치료 단백질의 생활성을 측정한다.

해당 부모 치료 단백질은, 적절한 투여 빈도로 제 2 투여 유닛 형태의 피하 볼루스 주사에 의한 즉각 방출 제제로 환자에게 투여시, 환자의 질병 또는 증상의 치료에 유효한 것으로 입증된 임의의 부모 치료 단백질일 수 있다. 이들 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 치료 단백질 치료계획 이상의 투여 빈도로 제 1 투여 형태로 환자에게 경구 투여시, 환자의 동일 질병 또는 증상의 치료에 유효하다.

많은 구현에서, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 포유류 숙주에서 목적 약학 활성을 나타낸다; 즉, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 해당 부모 치료 단백질의 목적 약학 활성의 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95%를 나타낸다. 비제한적 예로, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 다음 활성중 하나 이상을 나타낼 수 있으며, 활성은, 해당 부모 치료 단백질에서 목적되는 것이다; 항증식 활성, 항바이러스 활성, 항섬유 활성, 조혈활성, 혈관신생 활성, 효소 활성, 성장인자 활성, 키모카인 활성, 수용체 아고니스트 활성, 수용체 안타고니스트 활성, 및 항혈관신생 활성.

알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 유사한 조건하에 투여된 부모 치료 단백질에 비해 증가된 혈청 반감기 또는 증가된 AUC를 나타낸다.

일부 구현에서 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 해당 부모 치료 폴리펩티드에 비해, 증가된 혈청 반감기를 가진다. '혈청 반감기'라는 용어는 여기에서 '혈장 반감기' 및 '순환 반감기'의 용어와 상호 교환적으로 사용된다. 일부 구현에서 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 혈청 반감기는, 해당 부모 치료 단백질의 혈청 반감기에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100% (또는 2 배), 적어도 약 2.5 배, 적어도 약 3 배, 적어도 약 3.5 배, 적어도 약 4 배, 적어도 약 4.5 배, 적어도 약 5 배 (적어도 약 5 배), 적어도 약 6 배, 적어도 약 7 배, 적어도 약 8 배, 적어도 약 9 배, 적어도 약 10 배, 적어도 약 20 배, 적어도 약 30 배, 적어도 약 40 배, 적어도 약 50 배, 적어도 약 60 배, 적어도 약 70 배, 적어도 약 80 배, 적어도 약 90 배, 적어도 약 100 배, 적어도 약 200 배, 적어도 약 300 배, 적어도 약 400 배, 적어도 약 500 배, 적어도 약 600 배, 적어도 약 700 배, 적어도 약 800 배, 적어도 약 900 배, 또는 적어도 약 1000 배, 또는 그 초과이다. 일부 구현에서, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 반감기의 증가 정도는, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 반감기를, 생체내 인간 혈청 또는 인간 혈액 중 해당 부모 치료 단백질의 반감기와 비교함에 의해 결정된다.

일부 구현에서, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 반감기 증가 정도는, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 반감기를, 시험관내 인간 혈청 또는 인간 혈액 중, 또는 시험관내 하나 이상의 혈청 프로테아제를 포함한 조성물 중 해당 부모 치료 단백질의 반감기와 비교하여 측정한다. 일례로, 프로테아제 절단에 대한 저항성은, 해당 부모 치료 단백질 및 폴리펩티드 변이체 각각을 프로테아제와 인간 혈청, 또는 인간 혈액과의 혼합물과 별도로 접촉시킴으로써 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 생활성 정도를 측정하고, 이후, 해당 부모 치료 단백질에 대한 폴리펩티드 변이체의 활성을 비교하여 결정한다. 폴리펩티드 변이체의 생활성이 인간 혈청, 인간 혈액 또는 하나 이상의 프로테아제와 인큐베이션된 해당 부모 치료 단백질의 그것보다 높으면, 폴리펩티드 변이체는, 부모 치료 단백질에 비해 증가된 반감기를 가지는 것이다.

일부 구현에서, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 AUC는, 유사한 조건에서 투여된 해당 부모 치료 단백질 AUC의 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100% (또는 2 배), 적어도 약 2.5 배, 적어도 약 3 배, 적어도 약 3.5 배, 적어도 약 4 배, 적어도 약 4.5 배, 또는 적어도 약 5 배 초과이다.

알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 혈청 반감기 또는 AUC는, 공지의 방법을 통해 쉽게 결정된다. 일례로, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 측정가능하도록 레벨링하고, 개인에게 투여하고 (즉, 실험용 비인간 동물 또는 인간 대상), 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 투여 이후 다양한 시점에서 혈액 샘플을 채취하고 혈액 샘플중 측정가능하게 레벨링된 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 양을 측정한다.

3차원 스캐닝방법

부모 치료 단백질의 글리코실화 또는 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 3차원 스캐닝법 (구조 유사성)을 토해 생성 가능하다. 구조 유사성은, 2개의 단백질간 위상 및 3차원 구조간의 유사성을 가리킨다. 3차원 구조상 유사한 단백질들의 구조상 관련 아미노산 위치의 확인을 위해 당업계에는 많은 방법이 공지이다. 예의 방법은 다음을 포함하며 이에 제한되는 것은 아니다; CATH (Class, Architecture, Topology and Homologous superfamily), 4개의 상이한 등급에 기초한 단백질 도메인 구조의 순위적 분류 (Orengo et al., Structure, 5(8): 1093-1108, 1997); CE (Combinatorial Extension of the optimal path), 1쌍의 구조적 배열화를 계산하는 방법 (Shindyalov et al., Protein Engineering, 11 (9):739- 747, 1998); FSSP (Fold classification based on Structure-Structure alignment of Proteins), Protein Data Bank (PDB)에 현재 존재하는 3차원 단백질 구조 모두를 완전 비교함에 기초하는 데이터 베이스 (Holm et al., Science, 273:595-602, 1996); SCOP (Structural Classification of Proteins), 구조가 공지된 모든 단백질들간의 구조 및 진화적 관계에 기초한 기술적 데이터 베이스를 제공함 (Murzin et al., J. Mol. Biol, 247:536-540, 1995); 및 VAST (Vector Alignment Search Tool), MMDB/PDB 데이터 베이스에서 발견되는 구조 좌표와 새로이 발견한 3차원 단백질 구조 좌표를 비교함 (Gibrat et al., Current Opinion in Structural Biology, 6:377-385, 1995).

하나의 비제한적인 예로, 단백질분해에 증가된 저항성을 가지는 IFN- α 2b 돌연변이는, 2차원 논리 스캐닝법에 의해 생성되며, IFN- α 2b 에 대한 구조적 유사성을 지니는 사이토카인 패밀리 멤버상의 해당 잔기를 규명하고, 다른 사이토카인 상의 규명된 잔기를 유사하게 변형하여, 단백질 분해에 대한 증가된 저항성을 가지는 사이토카인을 생산한다; 예로써 WO 04/022593 참조.

치료 단백질

알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 포유류 숙주 내에서 질병 또는 증상의 치료를 위한 포유류 숙주 내 치료 기능을 가지는 폴리펩티드 ('부모 치료 단백질')의 변이체이다. 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 치료 단백질과 같이 숙주 내에서 동일한 질병 또는 증상을 치료한다.

부모 치료 단백질의 프로테아제 저항성 변이체 생성을 위한 아미노산 대체의 의미에서, 프로테아제 절단 부위를 변경하기 위한 아미노산 대체를 설명하기 위해 사용된 아미노산 번호는, 도 1-23에 개시된 아미노산 번호와 일치함을 주의해야 한다. 부모 치료 단백질의 초글리코실화 변이체 생성을 위한 아미노산 대체의 의미에서, 글리코실화 부위를 생성하기 위한 아미노산 대체를 설명하기 위해 사용된 아미노산 번호는, 도 24-30에 개시된 아미노산 번호와 일치함을 주의해야 한다. 즉 도 1 및 도 24에 개시된 IFN- α 의 해당 아미노산 위치는 바로 식별된다. 일례로, 도 24에 개시된 IFN- α 2b의 D99는, 도 2에 개시된 IFN- α 2b의 D71에 해당하고, 도 1에 개시된 IFN- α 2a의 D71에 해당함이 당업자에게는 명백할 것이다. 따라서, 도 24에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 D99 및 D105는, 도 1에 개시된 IFN- α 2a 아미노산 서열과, 도 2에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 D71 및 D77에 각각 해당하고; 도 24에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 R50는, 도 2에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 R23에 해당하고; 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 D99, D 105, 및 E134 는, 도 9에 개시된 컨센서스 IFN- α 아미노산 서열의 D71 및 D77 및 D106에 각각 해당하고; 도 24에 개시된 IFN- β 아미노산 서열 S99, E134, 및 F136 아미노산 위치는, 도 3에 개시된 IFN- β 아미노산 서열의 S74, E109, 및 F111에 각각 해당하고; 그리고, 도 31에 개시된 IFN- γ 아미노산 서열 E38, S40, 및 S99 아미노산 위치는, 도 4에 개시된 IFN- γ 아미노산 서열의 E41, S43, 및 S102에 각각 해당한다.

적절한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 포유류 숙주를 필요로 하는 임의의 부모 치료 단백질의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 형태를 포함하며, 이는 다음을 포함하나 그에 제한되지는 않는다: 인터페론 (일례로, IFN- γ , IFN- α , IFN- β , IFN- ω ; IFN- τ ; 하기에 더 상세히 기재됨); 인슐린 (일례로 Novolin, Humulin, Humalog, Lantus, Ultralente, 등); 에리트로포이에틴 (일례로 Procrit®, Eprex®, 또는 Epogen® (에포에틴- α); Aranesp® (다르베포이에틴- α); NeoRecormon®, Epogin® (에포에틴- β); 등); 항체 (일례로 모노클로날 항체) (일례로 Rituxan® (리톡시맵; rituximab); Remicade® (인플릭시마브; infliximab); Herceptin® (트라스투주맵; trastuzumab); Humira™ (아달리무마브; adalimumab); Xolair® (오말리주맵; omalizumab); Bexxar® (토시투모맵; tositumomab); Raptiva™ (에팔리주맵; efalizumab); Erbitux™ (세툽시맵; cetuximab); 등), 모노클로날 항체의 항원 결합 단편 포함; 혈액 인자 (일례로 Activase® (알테플라제; alteplase) 조직 플라스미노겐 활성화자; NovoSeven® (재조합 인간 인자 VIIa); 인자 VIIa; 인자 VIII (일례로 Kogenate®); 인자 IX; β 글로빈; 헤모글로빈; 등); 킬러나 자극 인자 (일례로 Neupogen® (필그라스티; filgrastim; G-CSF); Neulasta (페그필그라스티; pegfilgrastim); 과립구 킬러나 자극 인

자 (G-CSF), 과립구-단구 켈러니 자극 인자, 대식세포 켈러니 자극 인자, 거핵세포 켈러니 자극 인자; 등); 성장 호르몬 (일례로 소마트로핀, 일례로 Genotropin®, Nutropin®, Norditropin®, Saizen®, Serostim®, Humatrope®, 등; 인간 성장 호르몬; 등); 인터루킨 (일례로 IL-1; IL-2 일례로 Proleukin® 포함; IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9; 등); 성장 인자 (일례로 Regranex® (베클라페르민; PDGF); Fibblast® (트라페르민; bFGF); Stemgen® 안세스탐; 줄기 세포 인자); 케라티노사이트 성장 인자; 산성 파이프롭라스트 성장 인자, 줄기 세포 인자, 염기성 파이프롭라스트 성장 인자, 간세포 성장 인자; 등); 가용성 수용체 (일례로 TNF- α -결합 가용성 수용체, 일례로 Enbrel® (에타네르셉트); 가용성 VEGF 수용체; 가용성 인터루킨 수용체; 가용성 γ/δ T 세포 수용체; 등); 효소 (일례로 α -글루코시다제; Cerazyme® (이미 글루카라제; β -글루코세레브로시다제, Ceredase® (알글루세라제;); 효소 활성화자 (일례로 조직 플라스미노겐 활성화자); 케모카인 (일례로 IP-10; Mig; Gro α /IL-8, RANTES; MIP-1 α ; MIP-1 β ; MCP-1; PF-4; 등); 혈관신생제 (일례로 혈관 상피 성장 인자 (VEGF) ; 항혈관신생제 (일례로 가용성 VEGF 수용체); 단백질 백신; 신경활성 펩티드, 일례로, 브래드키닌, 콜레스티스토 키닌, 개스틴, 세크레틴, 옥시토신, 고나도트로핀 방출 호르몬, β -엔도르핀, 엔케팔린, 물질 P, 소마토스타틴, 프로락틴, 갈라닌, 성장 호르몬 방출 호르몬, 봄베신, 와파린, 디노르핀, 뉴로텐신, 모틸린, 싸이로트로핀, 신경펩티드 Y, 황체 형성 호르몬, 칼시토닌, 인슐린, 글루카곤, 바소프레신, 안지오텐신 II, 싸이로트로핀 방출 호르몬, 혈관활성 소장 펩티드, 수면 펩티드 등; 기타 단백질, 일례로, 혈전용해제, 심장 나트륨배설 펩티드, 골 형성 단백질, 트롬보포이에틴, 릴렉신, 신경교 근원섬유 산성 단백질, 소낭 자극 호르몬, 인간 α -1 항트립신, 백혈병 억제 인자, 전환 성장 인자, 조직 인자, 유사인슐린 성장인자, 황체 형성 호르몬, 소낭 자극 호르몬, 대식구 활성화 인자, 종양 괴사 인자, 호중구 주화성 인자, 신경 성장 인자, 금속프로티나제의 조직 억제제; 혈관 활성화 소장 펩티드, 안지오텐신, 안지오토로핀, 피브린; 히루딘, 백혈병 억제 인자; IL-1 수용체 안타고니스트 (일례로 Kineret® (anakinra)); 등. 또한 사용에 적합한 것은, 상기 단백질 임의의 것중 전체 또는 일부를 포함하는 융합 단백질이다.

상기한 바와 같이, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 단백질 변이체는, 해당 부모 단백질의 목적 약학 활성 하나 이상을 나타낸다. 특정 치료 단백질의 어세이에 유용한 방법은 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는다; GM-CSF (Eaves, A. C. and Eaves C. J., Erythropoiesis in culture. In: McCulloch E A (edt) Cell culture techniques; Clinics in hematology. W B Saunders, Eastbourne, pp 371-91 (1984); Metcalf, D., International Journal of Cell Cloning 10: 116-25 (1992); Testa, N. G., et al., Assays for hematopoietic growth factors. In: Balkwill F R (edt) Cytokines A practical Approach, pp 229-44; IRL Press Oxford 1991) EPO (바이오어세이: Kitamura et al., J. Cell. Physiol. 140 p323 (1989)); Hirudin (혈소관 응고 어세이: Blood Coagul Fibrinolysis 7(2):259-61 (1996)); IFN α (항바이러스 어세이: Rubinstein et al., J. Virol. 37(2):755-8 (1981); 항증식 어세이: Gao Y, et al MoI Cell Biol. 19(11):7305-13 (1999); 및 bioassay: Czarniecki et al., J. Virol. 49 p490 (1984)); G-CSF (바이오어세이: Shirafuji et al., Exp. Hematol. 17 p116 (1989); 쥐과 NFS-60 세포의 증식 (Weinstein et al, Proc Natl Acad Sci 83:5010-4 (1986)); 인슐린 (3 H-글루코스 흡수 어세이: Steppan et al., Nature 409(6818):307-12 (2001)); hGH (Ba/F3-hGHR 증식 어세이: J Clin Endocrinol Metab 85(11):4274-9 (2000); International standard for growth 호르몬: Horm Res, 51 Suppl 1 :7-12 (1999)); 인자 X (인자 X 활성화 어세이: Van Wijk et al. Thromb Res 22:681-686 (1981)); 인자 VII (프로트롬빈 응고 시간을 이용한 응고 어세이: Belaaouaj et al., J. Biol. Chem. 275:27123-8(2000); Diaz-Collier et al., Thromb Haemost 71:339-46 (1994)).

인터페론

일부 구현에서, 부모 치료 단백질은 인터페론이며, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 다음을 포함하고; (1) 부모 인터페론에서 발견되지 않는 비천연 글리코실화 부위 하나 이상에 공유 연결된 탄수화물 잔기 또는 (2) 부모 인터페론에서 발견되나, 글리코실화되지 않는 천연 글리코실화 부위 하나 이상에 공유 연결된 탄수화물 잔기; 및, 부모 치료 단백질에서 발견되는 천연 글리코실화 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함함.

일부 구현에서, 부모 폴리펩티드는, 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트이다. 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, IFN- α , IFN- β , IFN- τ , 및 IFN- ω 를 포함한다. 따라서, 일례로 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 변이체로, 이는 부모 단백질에서 발견되는 하나 이상의 프로테아제 절단 부위가 결여된 초글리코실화 IFN- α , IFN- β , IFN- τ , 및 IFN- ω 변이체를 포함한다.

다른 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 임의의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트로 미국 조약 특허 출원에 기재된 것으로 ("합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트" (USSN 60/600,202), 2004.8.9 출원) 이 출원의 전체 내용은 여기 참조로 편입된다.

다른 구현에서, 부모 폴리펩티드는, 타입 II 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트이다. 타입 II 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론- γ (IFN- γ)를 포함한다. 따라서, 일례로 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 타입 II 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 변이체로, 이는 부모 단백질에서 발견되는 하나 이상의 프로테아제 절단 부위가 결여된 초글리코실화 IFN- γ 를 포함한다.

IFN- α

임의의 알려진 IFN- α 아미노산 서열은, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 생성하도록 변형 가능하다. 여기에 사용된 '인터페론- α '라는 용어는, 바이러스 복제 및 세포 증식을 억제하고 면역 반응을 조절하는 관련 폴리펩티드 패밀리를 일컫는다.

적절한 α 인터페론은 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는다; 천연 발생 IFN- α (천연 발생 IFN- α 2a, IFN- α 2b, 및 IFN- α 14를 포함하나 이에 제한되지는 않음); 미국 특허 번호 6,704,225에 기재된 IFN- α ; 재조합 인터페론 α -2b, 일례로 Schering Corporation, Kenilworth, N.J.에서 시판하는 인트론-A 인터페론; 재조합 인터페론 α -2a, 일례로 Hoffmann-La Roche, Nutley, N. J.에서 시판되는 Roferon 인터페론; 재조합 인터페론 α -2C, 일례로 Boehringer Ingelheim Pharmaceutical, Inc., Ridgefield, Conn 에서 시판하는 Beroferon α 2 인터페론; 인터페론 α -n1, 천연 α 인터페론의 정제된 배합물, 일례로 Sumitomo, Japan 에서 시판하는 Sumiferon, 또는 Glaxo-Wellcome Ltd., London, Great Britain 에서 시판하는 Wellferon 인터페론 α -n1 (INS); 및 인터페론 α -n3, 즉 Alferon Tradename 의 이름으로 Purdue Frederick Co., Norwalk, Conn 에서 시판하고 Interferon Sciences 에서 제조하는 천연 α 인터페론의 혼합물; 및 IFN- α 14.

적절한 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 임의의 부모 α 인터페론 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 형태를 포함한다. 한 면에서, 부모 α 인터페론 폴리펩티드의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체는, 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 상이한 아미노산 서열을 가지며; 부모 단백질에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 추가로 포함한다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 IFN- α 2a이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N]IFN- α 2a 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N]IFN- α 2a 글리코펩티드는, 다음을 가지는 IFN- α 2a 변이체이다; (a) IFN- α 2a 아미노산 서열의 아미노산 위치 99의 천연 아스파르트산 잔기 자리에 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기. IFN- α 2a의 아미노산 서열은, 도 1에 개시된 아미노산 서열 IFN- α 2b의 아미노산 서열과 동일하며, 단 IFN- α 2a 서열은, 도 1의 IFN- α 2b 서열중 아미노산 위치 50 아르기닌 잔기 자리에 라이신 잔기를 가진다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 IFN- α 2a이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, D105N]IFN- α 2a 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N, D105N]IFN- α 2a 글리코펩티드는, 다음을 가지는 IFN- α 2a 변이체이다; (a) IFN- α 2a 아미노산 서열의 아미노산 각각의 위치 99 및 105의 천연 아스파르트산 잔기 자리에 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기들 각각에 공유연결된 탄수화물기. IFN- α 2a의 아미노산 서열은, 도 1에 개시된 아미노산 서열 IFN- α 2b의 아미노산 서열과 동일하며, 단 IFN- α 2a 서열은, 도 1의 IFN- α 2b 서열중 아미노산 위치 50 아르기닌 잔기 자리에 라이신 잔기를 가진다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 IFN- α 2b이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N]IFN- α 2b 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N]IFN- α 2b 글리코펩티드는, 다음을 가지는 IFN- α 2b 변이체이다; (a) 도 1에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 아미노산 위치 99의 천연 아스파르트산 잔기 자리에 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 IFN- α 2 b 이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, D105N]IFN- α 2 b 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N, D105N]IFN- α 2 b 글리코펩티드는, 다음을 가지는 IFN- α 2b 변이체이다; (a) 도 1에 개시된 IFN- α 2 b 아미노산 서열의 아미노산 각각의 위치 99 및 105의 천연 아스파르트산 잔기 자리에 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기들 각각에 공유연결된 탄수화물기.

적절한 α 인터페론은 추가로 컨센서스 IFN- α 를 포함한다. 컨센서스 IFN- α ("CIFN" 및 "IFN-con" 및 "컨센서스 인터페론"으로 또한 언급됨)은, 미국 특허 번호 4,695,623 및 4,897,471에 기재되고, IFN-con₁, IFN-con₂ 및 IFN-con₃로 표시된 아미노산 서열; 천연 발생 인터페론 α 의 컨센서스 서열의 검증에 의해 정의된 컨센서스 인터페론 (일례로 Infergen®, InterMune, Inc., Brisbane, Calif)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. IFN-con₁는 Infergen® 알파콘-1 (alfacon-1) 제품 중의 컨센서스 인터페론 시약이다. Infergen® 컨센서스 인터페론 제품은, 여기에서 그 상품명 (Infergen®) 또는 그 유사명 (인터페론 알파콘-1)으로 불린다.

적절한 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 임의의 부모 컨센서스 IFN- α 폴리펩티드의 초글리코실화 형태를 포함하며; 여기에서 변이체는, 부모 단백질에서 발견되는 하나 이상의 프로테아제 절단 부위를 결여하는 것이다. 한 면에서, 부모 컨센서스 IFN- α 폴리펩티드의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체는, 변이체가 부모 단백질에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 추가로 포함하고, 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 상이한 아미노산 서열을 가진다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는, 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로서, [D99N] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드의 변이체이다; (a) 도 1에 개시된 인페르겐 (인터페론 알파콘-1) 아미노산 서열의 아미노산 위치 99의 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기 R 기에 공유 결합된 탄수화물 잔기.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, D105N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로서, [D99N, D105N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체이다; (a) 도 1에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 아미노산 위치 99 및 105 각각의 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기 R 기들 각각에 공유 결합된 탄수화물 잔기.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, D105N, E134N] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로서, [D99N, D105N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체이다; (a) 도 1에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 아미노산 위치 99 및 105 및 134 각각의 천연 아스파르트산, 아스파르트산, 및 글루탐산 대신 치환된 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기 R 기들 각각에 공유 결합된 탄수화물 잔기.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, E134N] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로서, [D99N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체이다; (a) 도 1에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 아미노산 위치 99 및 134 각각의 천연 아스파르트산, 및 글루탐산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기 R 기들 각각에 공유 결합된 탄수화물 잔기.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D105N, E134N] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로서, [D105N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체이다; (a) 도 1에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 아미노산 위치 105 및 134 각각의 천연 아스파르트산, 및 글루탐산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기 R 기들 각각에 공유 결합된 탄수화물 잔기.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, D105N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로서, [D99N, D105N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체이다; (a) 도 1에 개

시된 인페르겐 아미노산 서열의 아미노산 위치 99 및 105 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, (b) 도 1에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 아미노산 위치 134 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기, 및 (c) 상기 아스파라긴 및 트레오닌 잔기 R 기들 각각에 공유 결합된 탄수화물 잔기.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로서, [D99N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체이다; (a) 도 1에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 아미노산 위치 99 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, (b) 도 1에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 아미노산 위치 134 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기, 및 (c) 상기 아스파라긴 및 트레오닌 잔기 R 기들 각각에 공유 결합된 탄수화물 잔기.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D105N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로서, [D105N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체이다; (a) 도 1에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 아미노산 위치 105 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, (b) 도 1에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 아미노산 위치 134 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기, 및 (c) 상기 아스파라긴 및 트레오닌 잔기 R 기들 각각에 공유 결합된 탄수화물 잔기.

부모 치료 단백질의 초글리코실화 변이체 생성을 위한 아미노산 대체의 의미에서, 아미노산 번호매김은, 도 24에 개시된 타입 I 인터페론 아미노산 서열을 개시하기 위해 사용한 아미노산 번호와 일치한다. 부모 치료 단백질의 프로테아제 저항성 변이체 생성을 위한 아미노산 대체의 의미에서, IFN- α 변이체를 기재하기 위한 아미노산 번호매김은, 도 1에 개시된 아미노산 번호와 일치한다.

다른 면에서, 부모 인터페론- α 치료제의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, (1) 부모 인터페론- α 치료제에서 발견되지 않는 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 및/또는 (2) 부모 인터페론- α 치료제에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하는 정도로 부모 인터페론 α 치료와 상이하다.

IFN- β

임의의 알려진 IFN- β 의 아미노산 서열은, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 생성하도록 변형 가능하다. 인터페론- β ("IFN- β ") 라는 용어는, IFN- β 폴리펩티드로, 천연 발생; 및 비천연 발생 IFN- β 폴리펩티드를 포함한다. 적절한 β 인터페론은 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는다; 천연 발생 IFN- β ; IFN- β 1a, 일례로 Avonex® (Biogen, Inc.), 및 Rebif® (Serono, SA); IFN- β 1b (Betaseron®; Berlex); 등. IFN- β 의 아미노산 서열은 공지이다: 일례로, 인간 IFN- β 1 아미노산 서열은 GenBank 수탁 번호 NP_002167로 알려져 있고, 도 24에 개시된다 (SEQ ID NO:**). 인간 IFN- β 아미노산 서열은 또한 도 3에 개시된다.

적절한 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 임의의 부모 IFN- β 폴리펩티드의 초글리코실화 형태를 포함한다. 한 면에서, 부모 IFN- β 폴리펩티드의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체는, 변이체가, 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 상이하고; 그리고 부모 IFN- β 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 부모 치료 단백질의 초글리코실화 변이체 생성을 위한 아미노산 대체의 의미에서, 아미노산의 번호매김은, 도 24에 개시된 타입 I 인터페론 아미노산 서열을 개시하기 위해 사용한 아미노산 번호와 일치한다.

부모 치료 단백질의 프로테아제 저항성 변이체 생성을 위한 아미노산 대체의 의미에서, IFN- β 변이체를 기재하기 위한 아미노산 번호매김은, 도 3에 개시된 아미노산 번호와 일치한다.

다른 면에서, 부모 인터페론 β 치료제의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, (1) 부모 인터페론- β 치료제에서 발견되지 않는 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 및/또는 (2) 부모 인터페론- β 치료제에서 발견되

나 글리코실화 되지 않는 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기를 포함하는 정도로 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 상이하고; 그리고 부모 IFN- β 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

IFN- τ

임의의 알려진 IFN- τ 의 아미노산 서열은 변형되어, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 생성할 수 있다. 인터페론- τ 라는 용어는, 천연 발생 인터페론- τ 폴리펩티드를 포함하고; 비천연 발생 인터페론- τ 폴리펩티드를 포함한다. 적절한 인터페론- τ 는, 다음을 포함하나 제한되지 않는 것이다; 천연 발생 인터페론- τ ; Tauferon® (Pepgen Corp.); 등. 인터페론- τ 는, GenBank 수탁 번호 P15696; P56828; P56832; P56829; P56831; Q29429; Q28595; Q28594; S08072; Q08071; Q08070; Q08053; P56830; P28169; P28172; 및 P28171 중 임의의 것에 개시된 아미노산 서열을 포함 가능하다. IFN- τ 의 목적 약학 활성을 가지는 임의의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- τ 폴리펩티드 변이체는, 본 발명의 방법 또는 조성물에 사용 가능하다.

적절한 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 임의의 부모 IFN- τ 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 형태를 포함한다. 한 면에서, 부모 IFN- τ 폴리펩티드의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체는, 변이체가, 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 상이하고; 그리고 부모 IFN- τ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

IFN- ω

임의의 알려진 IFN- ω 아미노산 서열은 변형되어, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 생성할 수 있다. 인터페론- ω ("IFN- ω ")라는 용어는, 천연 발생 IFN- ω 폴리펩티드를 포함하고; 비천연 발생 IFN- ω 폴리펩티드를 포함한다. 적절한 IFN- ω 는, 다음을 포함하나 제한되지 않는 것이다; 천연 발생 IFN- ω ; 재조합 IFN- ω , 일례로 Biomed 510 (BioMedicines); 등. IFN- ω 는 GenBank 수탁번호 NP_002168; 또는 AAA70091에 기재된 아미노산 서열을 포함 가능하다.

적절한 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 임의의 부모 IFN- ω 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 형태를 포함한다. 한 면에서, 부모 IFN- ω 폴리펩티드의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체는, 변이체가, 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하고, 그리고 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하는 정도로 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 상이하다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는, IFN- ω 1이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [R99N] IFN- ω 1 글리코폴리펩티드로서, [R99N] IFN- ω 1 글리코폴리펩티드는, 다음을 가지는 IFN- ω 1의 변이체이고; (a) IFN- ω 1 아미노산 서열의 아미노산 위치 99의 천연 아르기닌 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기 R 기에 공유 결합된 탄수화물 잔기; 상기 변이체는, 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는, IFN- ω 1이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [G134N] IFN- ω 1 글리코폴리펩티드로서, [G134N] IFN- ω 1 글리코폴리펩티드는, 다음을 가지는 IFN- ω 1의 변이체이고; (a) IFN- ω 1 아미노산 서열의 아미노산 위치 134의 천연 글리신 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기 R 기에 공유 결합된 탄수화물 잔기; 상기 변이체는, 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는, IFN- ω 1이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [G134T] IFN- ω 1 글리코폴리펩티드로서, [G134T] IFN- ω 1 글리코폴리펩티드는, 다음을 가지는 IFN- ω 1의 변이체이고; (a) IFN- ω 1 아미노산 서열의 아미노산 위치 134의 천연 글리신 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기, 및 (b) 상기 트레오닌 잔기 R 기에 공유 결합된 탄수화물 잔기; 상기 변이체는, 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 IFN- ω 1이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [S99N, G134N] IFN- ω 1 글리코폴리펩티드로서, [S99N, G134N] IFN- ω 1 글리코폴리펩티드는, 다음을

가지는 IFN- ω 1의 변이체이고; (a) IFN- ω 1 아미노산 서열의 아미노산 위치 99 및 134 각각의 천연 세린, 및 글리신 잔기들 대신 치환된 아스파라긴 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기 R 기들 각각에 공유 결합된 탄수화물 잔기; 상기 변이체는, 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 IFN- ω 1이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [S99N, G134T] IFN- ω 1 글리코폴리펩티드로서, [S99N, G134T]IFN- ω 1 글리코폴리펩티드는, 다음을 가지며 IFN- ω 1의 변이체이고; (a) IFN- ω 1 아미노산 서열 (도 24에 개시된 바와 같이)의 아미노산 위치 99 및 134 각각의 천연 세린, 및 글리신 잔기들 대신 치환된 아스파라긴 및 트레오닌 잔기, 및 (b) 상기 아스파라긴 및 트레오닌 잔기 R 기들 각각에 공유 결합된 탄수화물 잔기; 상기 변이체는, 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

부모 치료 단백질의 초글리코실화 변이체 생성을 위한 아미노산 대체의 의미에서, 아미노산의 번호매김은, 도 24에 개시된 타입 I 인터페론 아미노산 서열을 개시하기 위해 사용한 아미노산 번호와 일치한다. 부모 치료 단백질의 프로테아제 저항성 변이체 생성을 위한 아미노산 대체의 의미에서, IFN- ω 변이체를 기재하기 위한 아미노산 번호매김은, 도 1에 개시된 아미노산 번호와 일치한다.

다른 면에서, 부모 인터페론-오메가 치료제의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, (1) 부모 인터페론-오메가 치료제에서 발견되지 않는 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 및/또는 (2) 부모 인터페론-오메가 치료제에서 발견되나 글리코실화 되지 않는 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기; 그리고 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하는 정도로 부모 인터페론-오메가 치료제와 상이하다.

인터페론- γ

IFN- γ 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열은 일례로 GenBank 및 저널 문헌과 같은 공지 데이터베이스를 통해 접근 가능하다. 각종 포유류 IFN- γ 폴리펩티드가 관심대상이지만, 인간 질병 치료를 위해서는, 보통 인간 단백질이 사용되어진다. 인간 IFN- γ 코딩 서열은, Genbank 수탁 번호 X13274; V00543; 및 NM_000619로 발견 가능하다. 해당 게놈 서열은 Genbank 수탁 번호 J00219; M37265; 및 V00536에서 발견 가능하다. 일례로, Gray et al. (1982) Nature 295:501 (Genbank X13274); 및 Rinderknecht et al. (1984) J. B.C. 259:6790 참조. 일부 구현에서, IFN- γ 는 글리코실화된다.

IFN- γ lb (Actimmune®; 인간 인터페론)는, 140개 아미노산의 단일쇄 폴리펩티드이다. 이는 대장균 내에서 재조합 생산되며 비글리코실화된 것이다 (Rinderknecht et al. 1984, J Biol. Chem. 259:6790-6797). 미국 특허 번호 6,497,871에 개시된 것과 같은 재조합 IFN- γ 또한 여기에서의 사용에 적절하다.

"IFN- γ "라는 단어는, 임의의 IFN- γ , 재조합 IFN- γ 및 이들이 IFN- γ 활성, 특히 인간 IFN- γ 활성을 나타내는 한, 그 유도체를 포함한다. 인간 IFN- γ 는, 인터페론의 특성인 항바이러스 및 항증식 성질을 나타내며, 당업계에서 알려진 다수의 다른 면역조절 활성을 나타낸다. IFN- γ 가 상기한 서열들에 기초한다 하더라도, 단백질의 제조 및 단백질 분해 처리는 그 처리 변이체를 생성할 수 있다. 상기한 Gray et al.에 의해 제공된 비처리 서열은, 166개의 아미노산(aa)로 이루어져있다. 대장균에서 제조된 재조합 IFN- γ 는 처음에는 146개 아미노산인 것으로 믿어졌으나 (아미노산 20에서 시작), 천연 인간 IFN- γ 는 잔기 23 이후 절단되어, 143aa 단백질 또는, 박테리아에서의 발현에 필요한 말단 메티오닌이 존재하는 경우 144aa 단백질을 생성한다. 정제중, 성숙 단백질은 잔기 162 이후 C 말단에서 추가로 절단되어, 139개 아미노산 단백질 또는, 일례로 박테리아 발현에 필요한 경우 초기 메티오닌이 존재하면 140개의 아미노산 단백질을 생산한다. N-말단 메티오닌은, mRNA 번역 '개시' 신호 AUG에 의해 코딩되는 인공물로, 이는 대장균 발현의 특정 경우 가공되어 버려지지 않는 것이다. 다른 미생물 시스템 또는 진핵 시스템에서, 메티오닌은 제거될 수 있다.

천연 IFN- γ 펩티드, 그 변형물 및 변이체 또는 하나 이상 펩티드의 조합의 임의의 것은, 본 방법 및/또는 조성물 관련하여 부모 폴리펩티드 참고물로 작용 가능하다. 관심 IFN- γ 펩티드는 단편을 포함하며, 전체 서열에 대해 카복시 말단에서 다양하게 감축가능하다. 그러한 단편은, 아미노산 24 내지 약 149가 존재하지만 한다면 (비가공 폴리펩티드의 잔기 번호매김), 인간 γ 인터페론의 특성을 계속 나타낸다. 활성 손실 없이 아미노산 155 이후에서 아미노산 서열에 대해 외래 서열로 치환가능하다. 일례로 다음을 참조한다; 미국 특허 번호 5,690,925. 천연 IFN- γ 잔기는, 다음의 아미노산 잔기로부터 뺄어 나가는 각종 분자를 포함한다; 24-150; 24-151, 24-152; 24-153, 24-155; 및 24-157.

부모 IFN- γ 폴리펩티드의 목적 약학 활성을 유지하는 임의의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- γ 폴리펩티드 변이체를 본 발명 방법 및/또는 조성물에 사용가능하다.

다른 면에서, 부모 인터페론- γ 치료제의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체는, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, (1) 부모 인터페론- γ 치료제에서 발견되지 않는 비천연 글리코실화 부위에 공유 결합된 탄수화물 기를 포함하고, 및/또는 (2) 그리고 부모 인터페론- γ 치료제에서 발견되나 글리코실화 되지않는 천연 글리코실화 부위에 공유 결합된 탄수화물 기를 포함하는 정도로 부모 인터페론- γ 치료제와 상이하고; 그리고, 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 치료 단백질은 인터페론 γ -1b이고, 부모 인터페론 γ -1b 치료제의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 천연 글리코실화 (야생형) 인간 IFN- γ 의 프로테아제 저항성 변이체이다. 천연 글리코실화 (야생형) 인간 IFN- γ 는 WO 02/081507에 기재되어 있다.

에리트로포이에틴

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 에리트로포이에틴 폴리펩티드와 비교하여 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 가지는 에리트로포이에틴 아미노산 서열을 포함하며, 부모 EPO 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 에리트로포이에틴 폴리펩티드는, 인간 에리트로포이에틴의 생활성을 가지는 것을 포함하며, 일례로, 에리트로포이에틴 유사체; 에리트로포이에틴 이소폼 (isoform); 에리트로포이에틴 단편; 하이브리드 에리트로포이에틴 단백질; 융합 단백질 및 상기 임의의 것의 올리고머 및 멀티머 (multimer)이다.

에리트로포이에틴의 특징에는 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는다; 인간 에리트로포이에틴 (참조, 일례로 Jacobs et al. (1985) Nature 313:806-810; 및 Lin et al. (1985) Proc Natl Acad Sci USA 82:7580-7584); 다음의 미국 특허에 기재된 에리트로포이에틴 폴리펩티드 - 미국 특허 6,696,056 및 6,585,398; GenBank 수탁번호 NP_00790 및 CAA26095로 제공된 아미노산 서열; Epoetin 알파 (EPREX®; ERYPO®); 신규한 적혈구 조혈작용 자극 단백질 (NESP) (재조합 인간 에리트로포이에틴 (Epoetin)의 초글리코실화 유사체, 유럽 특허 출원 EP 640619에 기재); 인간 에리트로포이에틴 유사체-인간 혈청 알부민 융합 단백질, 국제 특허 출원 WO9966054에 기재; 국제 특허 출원 WO9938890에 기재된 에리트로포이에틴 돌연변이체; 에리트로포이에틴 ω , 미국 특허 출원 5,688,679에 기재된 인간 에리트로포이에틴 유전자의 Apa I 절단 단편으로부터 생성 가능한 것; 국제특허 출원WO9911781에 기재된 변형 글리코실화된 인간 에리트로포이에틴; WO9805363 또는 미국 특허 5,643,575에 기재된 PEG 공액 에리트로포이에틴 유사체. 내재성 인간 에리트로포이에틴의 발현을 위해 변형된 세포주의 특수예는, 문헌에 공지이다; WO9905268 및 WO9412650.

한 면에서, 부모 에리트로포이에틴 폴리펩티드의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체는, 환자의 적혈구용적의 모니터링 및 측정에 의해 검출된 부모 에리트로포이에틴의 조혈활성을 유지한다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 EPOGEN® 이포에틴 알파이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, ARANESP® 다르베포에틴 알파의 프로테아제 저항성 변이체이다.

인슐린

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 인슐린 폴리펩티드와 비교하여 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 가지는 인슐린 아미노산 서열을 포함하며, 부모 인슐린 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 인슐린 폴리펩티드는, 다음을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다; 다음 문헌에 공지된 프로인슐린, 프리프로인슐린, 및 인슐린들: 미국 특허 4,992,417; 4,992,418; 5,474,978; 5,514,646; 5,504,188; 5,547,929; 5,650,486; 5,693,609; 5,700,662; 5,747,642; 5,922,675; 5,952,297; 6,034,054; 및 6,211,144; 및 출판된 PCT 출원 WO 00/121197; WO 09/010645; 및 WO 90/12814. 인슐린 유사체는, 다음을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다: 초활성 인슐린 유사체, 모노머성 인슐린 및 간특이적 인슐린 유사체. 각종 형태의 인슐린은 다음을 포함한다: Humalog®; Humalog® Mix 50/50™; Humalog® Mix 75/25™; Humulin® 50/50; Humulin® 70/30; Humulin® L; Humulin® N; Humulin® R; Humulin®

Ultralente; Laiirus®; Lente® Iletin® II; Lente® 인슐린; Lente® L; Novolin® 70/30; Novolin® L; Novolin® N; Novolin® R; NovoLog™; NPH Iletin® I; NPH-N; Pork NPH Iletin® II; Pork Regular Iletin® II; Regular (농축된 것); Iletin® II U-500; Regular Iletin® I; 및 Velosulin® BR 인간 (완충화된 것).

본 발명에 따른 사용 및 변형에 적합한 인슐린 폴리펩티드는, 다음을 포함한다: 위치 B28가 Asp, Lys, Leu, Val 또는 Ala 및 위치 B29 가 Lys 또는 Pro인 인간 인슐린의 유사체; des(B28-B30) 인간 인슐린; des(B27) 인간 인슐린; des(B30) 인간 인슐린; 인간 인슐린 유사체로, 위치 B28 가 Asp이고 위치 B29 가 Lys 또는 Pro; 인간 인슐린 유사체로, 위치 B28 가 Lys이고, 위치 B29 가 Lys 또는 Pro; Asp^{B28} 인간 인슐린; Lys^{B28} Pro^{B29} 인간 인슐린; B29-N^ε-미리스토일-des(B30) 인간 인슐린; B29-N^ε-팔미토일-des(B30) 인간 인슐린; B29-N^ε-미리스토일 인간 인슐린; B29-N^ε-팔미토일 인간 인슐린; B28-N^ε-미리스토일 Lys^{B28} Pro^{B29} 인간 인슐린; B28-N^ε-팔미토일 Lys^{B28} Pro^{B29} 인간 인슐린; B30-N^ε-미리스토일-Thr^{B29} Lys^{B30} 인간 인슐린; B30-N^ε-팔미토일-Thr^{B29} Lys^{B30} 인간 인슐린; B29-N^ε-(N-팔미토일-γ-글루타밀)-des(B30) 인간 인슐린; B29-N^ε-(N-리토콜릴-γ-글루타밀)-des(B30) 인간 인슐린; B29-N^ε-(ω-카복시헵타데카노일)-des(B30) 인간 인슐린 및 B29-N^ε-(ω-카복시헵타데카노일) 인간 인슐린.

각종 인슐린 폴리펩티드의 아미노산 서열은 공지로, 일례로, GenBank, 저널 문헌, 특허 및 출판 특허 출원 등과 같은 공공 데이터 베이스에 공지이다. 일례로, 인간 인슐린의 아미노산 서열은, 다음과 같은 수탁번호로 GenBank에서 발견된다: CAA00714; CAA00713; CAA00712; CAA01254; IHISA 및 IHISB; 1 HIQA 및 1 HIQB; IHITA 및 IHITB; 1 HLSA 및 IHLSB; IVKTA 및 IVKTB.

추가로, 인슐린 유도체 및 그 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 형태는, 본 발명의 방법 및/또는 조성물에서, 부모 폴리펩티드 및 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체로 각각 사용 가능하다. 인슐린 유도체는, 아실화 인슐린, 글리코실화 인슐린 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 아실화 인슐린의 예는 미국 특허 번호 5,922,675에 공지된 것, 일례로 C₆-C₂₁ 지방산 (일례로 미리스트산, 펜타데실산, 팔미트산, 헵타데실산, 또는 스테아르산) 으로, 글리신, 페닐알라닌 또는 라이신의 α- 또는 ε-아미노산에서 유도체화된 인슐린을 포함한다.

항체

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 항체 폴리펩티드 아미노산 서열을 포함하며, 추가로, 부모 항체 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하고; 추가로, 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 항체는 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는다: 각종 이소형태의 항체 (일례로 IgG1, IgG3 및 IgG4); 임의의 방법으로 생산된 모노클로날 항체; 인간화 항체; 키메라 항체; 단쇄 항체; 항체 단편, 일례로 Fv, F(ab')₂, Fab', Fab, Facb, 등; 등으로, 여기에서 항체는, 항원에 결합 가능한 것이다. 적절한 모노클로날 항체는, 세포 표면 수용체에 특이적이고, 수용체에 대해 안타고니스트로 작용하는 것을 포함하며, 이는 다음을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다: TGF-β 수용체에 대한 항체, TNF-α 수용체에 대한 항체, VEGF 수용체에 대한 항체, (일례로 미국 특허 번호 6,617,160, 6,448,077, 및 6,365,157 참조), 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체, 등; 수용체 리간드 특이적 항체로 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는 것, 일례로 TGF-β 에 대한 항체, TNF-α 에 대한 항체, VEGF 에 대한 항체 등; 종양 관련 항원에 특이적인 항체; CD20에 특이적인 항체; 상피 성장 인자 수용체-2에 특이적인 항체; IgE의 수용체 결합 도메인에 특이적인 항체; 접착 분자에 특이적인 (일례로 LFA-I α 하부단위 (CD11a) 에 특이적인 항체; α4β7에 특이적인 항체; 등); 등.

혈액 인자

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 혈액 인자 폴리펩티드 아미노산 서열을 포함하며, 추가로, 부모 혈액 인자 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하고; 추가로, 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 혈액 인자 폴리펩티드는 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는다: 조직 플라스미노겐 활성자 (TPA); 인자 VIIa; 인자 VIII; 인자 IX; β-글로빈; 헤모글로빈; 등. 각종 혈액 인자의 아미노산 서열은 공지로, 일례로, GenBank, 저널 문헌, 특허 및 출판 특허 출원 등과 같은 공공 데이터 베이스에 공지이다. 일례로, 인간 TPA 아미노산 서열은, 다음과 같은 수탁번호로 GenBank에서 발견된다: P0070, NP_127509, 및 NP-000921; 인간 인자 VIIa 의 아미노

산 서열은, GenBank 수탁번호 KFHU7로 발견되고; 인간 인자 IX 의 아미노산 서열은, GenBank 수탁번호 P00740 및 NP_000124로 발견되고; 인간 인자 VIII 의 아미노산 서열은, GenBank 수탁번호 AAH64380, AAH22513, 및 P00451로 발견된다.

한 면에서, 부모 폴리펩티드는, ACTIVASE® 알테플라제이고, 프로테아제 저항성, 폴리펩티드 변이체는, TNKase™ 테넥테플라제의 프로테아제 저항성 변이체이다.

컬러니 자극 인자

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 컬러니 자극 인자 폴리펩티드 아미노산 서열을 포함하고, 추가로, 부모 컬러니 자극 인자 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하고; 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 컬러니 자극 인자 폴리펩티드는 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는다: 과립구 컬러니 자극 인자 (G-CSF), 일레로 NEUPOGEN® filgrastim 및 NEULASTA™ pegfilgrastim, 과립구-단구 컬러니 자극 인자 (GM-CSF), 일레로 LEUKINE® sargramostim, 대식구 컬러니 자극 인자, 거핵세포 컬러니 자극 인자; IL-3; 줄기세포 인자 (SCF); 등.

각종 혈액 인자의 아미노산 서열은 공지이다. 일례로, GenBank, 저널 문헌, 특허 및 출판 특허 출원 등과 같은 공공 데이터 베이스에 공지이다. 일례로, 인간 IL-3 아미노산 서열은, 미국 특허 번호 4,877,729 및 4,959,455, 및 국제 출원 No. WO 88/00598에 개시되어 있고; 인간 G-CSF의 아미노산 서열은, 미국 특허 번호 4,810,643 에 개시되어 있고; WO 91/02754 및 WO 92/04455 는, IL-3를 포함하는 융합 단백질의 아미노산 서열을 개시하며; WO 95/21197, WO 95/21254, 및 미국 특허 번호 6,730,303은, 다기능 조혈 성질을 가지는 융합 단백질을 개시하고; 인간 G-CSF 의 아미노산 서열은 다음과 같은 수탁번호로 GenBank에서 발견되고 - NP_757374, P09919, FQHUGL, 및 NP_000750; 및 인간 GM-CSF 의 아미노산 서열은 다음과 같은 수탁번호로 GenBank에서 발견되고 - NP_000749 및 P04141; IL-3 의 아미노산 서열은 다음과 같은 수탁번호로 GenBank에서 발견된다 - AAH66272, AAH66273, 및 AAH66276; 등.

성장 호르몬

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 성장 호르몬 폴리펩티드 아미노산 서열을 포함하고, 추가로, 부모 성장 호르몬 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하고; 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 성장 호르몬 폴리펩티드는 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는다: 소마토트로핀; 인간 성장 호르몬; 미국 특허 번호 6,143,523, 6,136,563, 6,022,711, 및 5,688,666에 기재된 성장 호르몬 임의의 변이체; 성장 호르몬 포함 융합 단백질, 일례로 미국 특허 번호 5,889,144에 기재된 것; 성장 호르몬 활성을 유지한 성장 호르몬 단편; 미국 특허 번호 6,387,879에 기재된 성장 호르몬 수용체 폴리펩티드; 등. 성장 호르몬은, 알려진 성장 호르몬의 다른 형태, 일례로, 인간 성장 호르몬 (hGH)의 다른 형태로, 천연 발생 유도체, 변이체 및 대사 산물, 주로 생합성 hGH의 분해 산물 및 재조합방법에 의해 생성된 hGH의 엔지니어링된 변이체 (일례로 미국 특허 번호 6,348,444 참조).

성장 인자

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 부모 성장 호르몬 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하는 성장 인자 아미노산 서열을 포함하고; 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 성장 인자 폴리펩티드는 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는다: 케라티노사이트 성장 인자; 산성 섬유아세포 성장 인자, 줄기 세포 인자, 염기성 섬유아세포 성장 인자, 간세포 성장 인자, 유사인슐린 성장 인자 등.; 성장 인자의 활성 단편; 성장 인자 포함 융합 단백질; 등. 각종 성장 인자의 아미노산 서열은 공지이다. 일례로, GenBank, 저널 문헌, 특허 및 출판 특허 출원 등과 같은 공공 데이터 베이스에 공지이다. 일례로, bFGF 아미노산 서열은, GenBank 수탁번호 AAB20640, AAA57275, A43498, 및 AAB20639로 발견되고; aFGF 아미노산 서열은, GenBank 수탁번호 AAB29059, CAA46661, 및 1605206A로 발견되고; 줄기 세포 인자의 아미노산 서열은, GenBank 수탁번호 AAH69733, AAH69783, 및 AAH69797로 발견되고; 케라티노사이트 성장 인자의 아미노산 서열은, GenBank 수탁번호 035565, AAL05875, 및 P21781로 발견되고; 간세포 성장인자 아미노산 서열은, 수탁번호 AAA64239, AAB20169, 및 CAA40802로 발견된다.

가용성 수용체

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 가용성 수용체 폴리펩티드 아미노산 서열을 포함하고, 추가로, 부모 가용성 수용체 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하고; 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 수용체 폴리펩티드는 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는다: TNF- α -결합 가용성 수용체; 가용성 VEGF 수용체; 가용성 인터루킨 수용체; 가용성 IL-I 수용체; 가용성 타입 II IL-I 수용체; 가용성 γ/δ T 세포 수용체; 가용성 수용체의 리간드 결합 단편; 등. 적절한 가용성 수용체는, 정상의 생리 조건하에서, 해당 막 결합 또는 세포 표면 수용체에 결합하여 활성화시키는 리간드에 결합한다. 따라서, 적절한 가용성 수용체는, 천연 형태 (일례로 막결합된)의 수용체에 보통 결합하는 리간드에 결합함으로써, 수용체 안타고니스트로 작용하는 것이다.

각종 가용성 수용체의 아미노산 서열은 공지이다. 일례로, GenBank, 저널 문헌, 특허 및 출판 특허 출원 등과 같은 공공 데이터 베이스에 공지이다. 일례로 가용성 VEGF 수용체 아미노산 서열은, GenBank 수탁번호 AAC50060, 및 NP_002010 으로 발견되고; 가용성 VEGF 수용체는, 미국 특허 번호 6,383,486, 6,375,929, 및 6,100,071에 기재되어 있고; 가용성 IL-4 수용체는, 미국 특허 번호 5,599,905에 기재되어 있고; 가용성 IL-1 수용체는, 미국 특허 출원 번호 20040023869; 등에 기재되어 있다.

키모카인

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 키모카인 폴리펩티드 아미노산 서열을 포함하고, 추가로, 부모 키모카인 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하고; 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 키모카인 폴리펩티드는 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는다: IP-10; Mig; Groa/IL-8, RANTES; MIP-1 α ; MIP-1 β ; MCP-1; PF-4; 등; 또한, 키모카인 함유 융합 단백질. 각종 키모카인의 아미노산 서열은 공지이다. 일례로, GenBank, 저널 문헌, 특허 및 출판 특허 출원 등과 같은 공공 데이터 베이스에 공지이다. 일례로 IP-10 아미노산 서열은, 미국 특허 번호 6,491,906, 5,935,567, 6,153,600, 5,728,377, 및 5,994,292에 기재되어 있고; Mig 아미노산 서열은, 미국 특허 번호 6,491,906, 및 Farber (1993) Biochemical and Biophysical Research Communications 192(1):223-230 에 기재되어 있고; RANTES 아미노산 서열은, 6,709,649, 6,168,784, 및 5,965,697; 등에 기재되어 있다.

혈관형성제

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 혈관형성 폴리펩티드 아미노산 서열을 포함하고, 추가로, 부모 혈관형성 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하고; 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 혈관형성 폴리펩티드는 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는다: VEGF 폴리펩티드로, 다음을 포함하는 것, VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF-C, VEGF-2, 등; 형질전환 성장 인자- β ; 염기성 섬유아세포 성장 인자; 신경교종 유도된 성장 인자; 안지오팀닌; 안지오팀닌-2; 등. 각종 혈관형성제의 아미노산 서열은 공지이다. 일례로, GenBank, 저널 문헌, 특허 및 출판 특허 출원 등과 같은 공공 데이터 베이스에 공지이다. 일례로 VEGF 폴리펩티드 아미노산 서열은, 미국 특허 번호 5,194,596, 5,332,671, 5,240,848, 6,475,796, 6,485,942, 및 6,057,428에 기재되어 있고; VEGF-2 폴리펩티드 아미노산 서열은, 미국 특허 번호 5,726,152 및 6,608,182에 기재되어 있고; 신경교종 유도된 성장인자의 아미노산 서열은 미국 특허 번호 5,338,840 및 5,532,343에 기재되어 있고; 안지오팀닌의 아미노산 서열은 GenBank 수탁번호 AAA72611, AAA51678, AAA02369, AAL67710, AAL67711, AAL67712, AAL67713, 및 AAL67714; 등으로 발견된다.

신경활성 펩티드

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 신경활성 폴리펩티드 아미노산 서열을 포함하고, 추가로, 부모 신경활성 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하고; 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 적절한 신경활성 폴리펩티드는 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는다: 신경 성장 인자, 브래드키닌, 콜레스티스토키닌, 개스틴, 세크레틴, 옥시토신, 고나도트로핀 방출 호르몬, β -엔도르핀, 엔케팔린, 물질 P, 소마토스타틴, 프로락틴, 갈라닌, 성장 호르몬-방출 호르몬, 볼베신, 디노르핀, 뉴로텐신, 모틸린, 타이로트로핀, 신경펩티드 Y, 황체 형성 호르몬, 칼시토닌, 인슐린, 글루카곤, 바소프레신, 안지오팀닌 II, 타이로트로핀 방출 호르몬, 혈관활성 소장 펩티드, 수면 펩티드 등.

추가 단백질

가장 넓은 의미로, 본 발명의 조성물 및 방법은, 관심상 약학적인 부모 폴리펩티드에서 유도된 아미노산 서열을 포함하고; 그리고 부모 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위 하나 이상을 포함하고; 그리고, 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하는, 임의의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 용도에 관련된다. 다른 관심상 약학 단백질은, 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는다; 혈전용해제, 심장 나트륨 배설 펩티드, 골형성 단백질, 트롬보포이에틴, 신경교 원섬유성 산성 단백질, 소낭 자극 호르몬, 인간 α -1 항트립신, 백혈병 억제 인자, 형질전환 성장 인자, 유사 인슐린 성장인자, 황체 형성 호르몬, 대식구 활성화 인자, 종양 괴사 인자, 중성구 키모택틱 인자, 신경 성장 인자, 금속프로티나제의 조직 억제자; 혈관작용성 소장 펩티드, 안지오프로틴, 피브린; 히루딘; 백혈병 억제 인자; 등. 각종 치료 단백질의 아미노산 서열은, 공지이며, 일례로, GenBank, 저널 문헌, 특허 및 출판 특허 출원 등과 같은 공공 데이터 베이스에 공지이다. 일례로 조직 플라스미노겐 활성화자의 아미노산 서열은, GenBank 수탁번호 P00750, AAA01895, AAA01378, AAB06956, 및 CAA00642에 기재되어 있다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 릴렉신 아미노산 서열을 포함하고, 추가로, 부모 릴렉신 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위를 포함하고; 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 릴렉신 폴리펩티드는 천연 발생 릴렉신 또는 합성 릴렉신일 수 있다. 천연 발생 생물 활성 릴렉신은 인간, 쥐 (즉, 래트 또는 마우스), 돼지, 또는 기타 포유류 원에서 유도된 것일 수 있다. '릴렉신'이라는 용어는, 인간 H1 프리프로릴렉신, 프로릴렉신, 및 릴렉신; H2 프리프로릴렉신, 프로릴렉신, 및 릴렉신; 및 재조합 인간 릴렉신 (rhRLX); 및 H3 프리프로릴렉신, 프로릴렉신, 및 릴렉신을 포함한다. H3 릴렉신은, 당업계에 공지이다; 다음을 참조 - 일례로 Sudo et al. (2003) J Biol Chem. 7:278 (10):7855-62. 인간 릴렉신의 아미노산 서열은 문헌에 공지이다, 일례로, 인간 릴렉신 아미노산 서열은 다음의 GenBank 수탁번호에서 발견된다: Q3WXF3, 인간 H3 프로릴렉신; P04808, 인간 H1 프로릴렉신; NP_604390 및 NP_005050, 인간 H2 프로릴렉신; AAH05956, 인간 릴렉신 1 프리프로단백질; NP_008842, 인간 H1 프리프로릴렉신; 등. 릴렉신 폴리펩티드는 N- 및/또는 C-말단이 감축된 A 및 B쇄 포함 릴렉신 폴리펩티드일 수 있다. 일례로, H2 릴렉신에서, A쇄는 A(1-24)부터 A(10-24)까지 가변이며, B쇄는 B(1-33)부터 B(10-22)까지 가변이고; H1 릴렉신에서, A쇄는 A(1-24)부터 A(10-24)까지 가변이며, B쇄는 B(1-32)부터 B(10-22)까지 가변이다. 변형에 또한 적절한 것은 야생형 (일례로 천연 발생) 서열과 상이한 아미노산 서열을 가지는 릴렉신 유도체이며 이는 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는다; 미국 특허 번호 5,811,395, 및 미국 특허 번호 6,200,953에 개시된 릴렉신 유사체. 다른 적절한 릴렉신 및 릴렉신 제제는 미국 특허 번호 5,945,402에서 발견된다. 기타 가능한 릴렉신 폴리펩티드는, 상이한 아미노산 (천연 아미노산의 D형 포함)으로 B 및/또는 A쇄의 천연 아미노산 하나 이상이 대체된 아미노산을 포함하며, 제한이 아닌 그 예는, B24의 Met 잔기를 노르루신 (Nle), 발린 (Val), 알라닌 (Ala), 글리신 (Gly), 세린 (Ser), 또는 호모세린 (HomoSer)으로 대체하는 것을 포함한다. 기타 가능한 릴렉신 폴리펩티드는, 프로릴렉신의 B/C 및 C/A 연결 부위에서 아미노산 치환을 가짐으로 인해 그 변형이 프로릴렉신으로부터 C쇄의 절단을 촉진하는 릴렉신; 및 일례로 미국 특허 번호 5,759,807에 기재된, 비천연 발생 C펩티드를 포함하는 변이체 릴렉신을 포함한다.

부모 사이토카인 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 부모 치료 단백질의 변이체이며, 부모 치료 단백질은 사이토카인이다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 비변형 부모 사이토카인에 비해 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하고, 이는 다음 중 임의에 개시된 아미노산 서열에 개시된 바와 같고: SEQ ID NO:2-181 (IFN- α 2b 변이체), 233-289 (IFN- β 변이체), 290-311 (IFN- γ 변이체), 362-400 (GM-CSF 변이체), 631-662 (G-CSF 변이체), 850-895 (hGH 변이체), 940-977 (EPO 변이체), 978-988 (IFN- α 변이체), 및 989-1302 (IFN- β 변이체); 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 초글리코실화를 생성하기 위한 일례의 아미노산 대체는, 도 23-30에 개시된다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 다음 중 임의의 것에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 단백질의 구조적 유사체이며: SEQ ID NO:2-181 (IFN- α 2b 변이체), 233-289 (IFN- β 변이체), 290-311 (IFN- γ 변이체), 362-400 (GM-CSF 변이체), 631-662 (G-CSF 변이체), 850-895 (hGH 변이체), 940-977 (EPO 변이체), 978-988 (IFN- α 변이체), 및 989-1302 (IFN- β 변이체); 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 비변형 부모 사이토카인에 비해 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하고, 이는 다음 중 임의에 개시된 아미노산 서열에 개시된 바와 같고:

SEQ ID NO: 87, 89, 90, 93, 96, 101, 103, 107, 124, 979, 980, 983, 984, 986, 및 987; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 SEQ ID NO:87, 89, 90, 93, 96, 101, 103, 107, 124, 979, 980, 983, 984, 986, 및 987 중 임의의 것과 3차원 구조상 유사성에 기초하여 변형된 사이토카인으로; 여기에서 변이체는 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는, 다음의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체들로부터 선택된다: 인터루킨-10 (IL-10), 인터페론 β (IFN β), 인터페론 α -2a (IFN- α 2a), 인터페론 α -2b (IFN- α 2b), 인터페론 γ (IFN- γ), 과립구 콜러니 자극 인자 (G-CSF), 백혈병 억제 인자 (LIF), 인간 성장 호르몬 (hGH), 췌모성 호중구 인자 (CNTF), 랩틴, 온코스타틴 M, 인터루킨-6 (IL-6), 인터루킨-12 (IL-12), 에리트로포이에틴 (EPO), 과립구-대식구 콜러니 자극 인자 (GM-CSF), 인터루킨-2 (IL-2), 인터루킨-3 (IL-3), 인터루킨-4 (IL-4), 인터루킨-5 (IL-5), 인터루킨-13 (IL-13), Flt3 리간드 및 줄기 세포 인자 (SCF). 특별한 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는, IFN β , IFN- α 2a, IFN- α 2b, IFN- γ , G-CSF, hGH, EPO, 및 GM-CSF의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체들로부터 선택된다. 특별한 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 사이토카인 변이체는 인터페론이다.

부모 사이토카인의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 단백질분해에 대한 증가된 저항성을 나타낸다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 인터페론 변이체이다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 IFN- α 2a 변이체이다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 IFN- α 2b 변이체이다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 IFN- β 변이체이다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 IFN- γ 변이체이다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 도 9 또는 도 24에 개시된 또는 SEQ ID NO:232로 정의된 아미노산 서열 함유 컨센서스 인터페론 변이체이다.

IFN- α 폴리펩티드 변이체

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 도 1에 나타난 돌연변이 하나 이상을 포함하며, 여기에서 아미노산 번호는, 도 1에 개시된 아미노산 번호와 일치하고; 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 변이체가 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

[표 1]

IFN- α LEAD	SEQ ID N°	돌연변이(들)
1	983	K121Q / P109A
2	987	E159H / Y89H
3	124	E159Q
4	90	E58H
5	89	E58Q
6	979	E41H / Y89H / N45D
7	103	L117I
8	986	R125H / M111V
9	96	E107H
10	101	E113H
11	87	E41Q
12	107	R125Q
13	985	L117V / A139G
14	980	E41Q / D94G
15	93	E78H
16	984	K133Q / K121Q / P109A / G102R

한 면에서, 부모 폴리펩티드는 IFN- α 2a 또는 IFN- α 2b이고 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 도 1에 개시된 IFN- α 2a 아미노산 서열 또는 도 2에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 하나 이상의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 이는 다음의 대체에 해당하는 것이다: L을 V로 위치 3에서; L을 I로 위치 3에서; P를 S로 위치 4에서; P를 A로 위치 4에서; R을 H로 위치 12에서; R을 Q로 위치 12에서; R을 H로 위치 13에서; R을 Q로 위치 13에서; M을 V로 위치 16에서; M을 I로 위치 16에서; R을 H로 위치 22에서; R을 Q로 위치 22에서; R 또는 K를 H로 위치 23에서; R 또는 K를 Q로 위치 23에서; F를 I로 위치 27에서; F를 V로 위치 27에서; L을 V로 위치 30에서; L을 I로 위치 30에서; K를 Q로 위치 31에서; K를 T로 위치 31에서; R을 H로 위치 33에서; R을 Q로 위치 33에서; E를 Q로 위치 41에서; E를 H로 위치 41에서; K를 Q로 위치 49에서; K를 T로 위치 49에서; E를 Q로 위치 58에서; E를 H로 위치 58에서; K를 Q로 위치 70에서; K를 T로 위치 70에서; E를 Q로 위치 78에서; E를 H로 위치 78에서; K를 Q로 위치 83에서; K를 T로 위치 83에서; Y를 H로 위치 89에서; Y를 I로 위치 89에서; E를 Q로 위치 96에서; E를 H로 위치 96에서; E를 Q로 위치 107에서; E를 H로 위치 107에서; P를 S로 위치 109에서; P를 A로 위치 109에서; L을 V로 위치 110에서; L을 I로 위치 110에서; M을 V로 위치 111에서; M을 I로 위치 111에서; E를 Q로 위치 113에서; E를 H로 위치 113에서; L을 V로 위치 117에서; L을 I로 위치 117에서; R을 H로 위치 120에서; R을 Q로 위치 120에서; K를 Q로 위치 121에서; K를 T로 위치 121에서; R을 H로 위치 125에서; R을 Q로 위치 125에서; L을 V로 위치 128에서; L을 I로 위치 128에서; K를 Q로 위치 131에서; K를 T로 위치 131에서; E를 Q로 위치 132에서; E를 H로 위치 132에서; K를 Q로 위치 133에서; K를 T로 위치 133에서; K를 Q로 위치 134에서; K를 T로 위치 134에서; Y를 H로 위치 135에서; Y를 I로 위치 135에서; P를 S로 위치 137에서; P를 A로 위치 137에서; M을 V로 위치 148에서; M을 I로 위치 148에서; R을 H로 위치 149에서; R을 Q로 위치 149에서; E를 Q로 위치 159에서; E를 H로 위치 159에서; L을 V로 위치 161에서; L을 I로 위치 161에서; R을 H로 위치 162에서; R을 Q로 위치 162에서; K를 Q로 위치 164에서; K를 T로 위치 164에서; E를 Q로 위치 165에서; 및 E를 H로 위치 165에서이며, 여기에서 잔기 1은, 도 1에 개시된 성숙 IFN- α 2a단백질의 잔기 1에 해당하거나 또는, 잔기 1은 도 2에 개시된 성숙 IFN- α 2b 단백질의 잔기 1에 해당하고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 IFN- α 2a 또는 IFN- α 2b이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 도 1에 개시된 IFN- α 2a 아미노산 서열 또는 도 2에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 하나 이상의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 이는 다음의 대체에 해당하는 것이다: F를 V로 위치 27에서; R을 H로 위치 33에서; E를 Q로 위치 41에서; E를 H로 위치 41에서; E를 Q로 위치 58에서; E를 H로 위치 58에서; E를 Q로 위치 78에서; E를 H로 위치 78에서; Y를 H로 위치 89에서; E를 Q로 위치 107에서; E를 H로 위치 107에서; P를 A로 위치 109에서; L을 V로 위치 110에서; M을 V로 위치 111에서; E를 Q로 위치 113에서; E를 H로 위치 113에서; L을 V로 위치 117에서; L을 I로 위치 117에서; K를 Q로 위치 121에서; K를 T로 위치 121에서; R을 H로 위치 125에서; R을 Q로 위치 125에서; K를 Q로 위치 133에서; K를 T로 위치 133에서; E를 Q로 위치 159에서 그리고 E를 H로 위치 159에서이며, 여기에서 잔기 1은, 도 1에 개시된 성숙 IFN- α 2a단백질의 잔기 1에 해당하거나 또는, 잔기 1은 도 2에 개시된 성숙 IFN- α 2b 단백질의 잔기 1에 해당하고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 IFN- α 2a 또는 IFN- α 2b이고, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 도 1에 개시된 IFN- α 2a 아미노산 서열 또는 도 2에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 2중 아미노산 치환의 하나 이상의 세트를 포함하며, 이는 다음의 대체에 해당하는 것이다:

D를 N으로 위치 2에서 그리고 P를 S로 위치 4에서;

D를 N으로 위치 2에서 그리고 P를 T로 위치 4에서;

L을 N으로 위치 3에서 그리고 Q를 S로 위치 5에서;

L을 N으로 위치 3에서 그리고 Q를 T로 위치 5에서;

P를 N으로 위치 4에서 그리고 T를 S로 위치 6에서;

P를 N으로 위치 4에서 그리고 T를 T로 위치 6에서;

Q를 N으로 위치 5에서 그리고 H를 S로 위치 7에서;

Q를 N으로 위치 5 에서 그리고 H를 T로 위치 7 에서;
T를 N으로 위치 6 에서 그리고 S를 S로 위치 8 에서;
T를 N으로 위치 6 에서 그리고 S를 T로 위치 8 에서;
H를 N으로 위치 7 에서 그리고 L을 S로 위치 9 에서;
H를 N으로 위치 7 에서 그리고 L을 T로 위치 9 에서;
S를 N으로 위치 8 에서 그리고 G를 S로 위치 10 에서;
S를 N으로 위치 8 에서 그리고 G를 T로 위치 10 에서;
L을 N으로 위치 9 에서 그리고 S를 S로 위치 11 에서;
L을 N으로 위치 9 에서 그리고 S를 T로 위치 11 에서;
M을 N으로 위치 21 에서 그리고 K를 S로 위치 23 에서;
M을 N으로 위치 21 에서 그리고 K를 T로 위치 23 에서;
R을 N으로 위치 22 에서 그리고 I를 S로 위치 24 에서;
R을 N으로 위치 22 에서 그리고 I를 T로 위치 24 에서;
R 또는 K를 N으로 위치 23 에서 그리고 S를 S로 위치 25 에서;
R 또는 K를 N으로 위치 23 에서 그리고 S를 T로 위치 25 에서;
I를 N으로 위치 24 에서 그리고 L을 S로 위치 26 에서;
I를 N으로 위치 24 에서 그리고 L을 T로 위치 26 에서;
S를 N으로 위치 25 에서 그리고 F를 S로 위치 27 에서;
S를 N으로 위치 25 에서 그리고 F를 T로 위치 27 에서;
L을 N으로 위치 26 에서 그리고 S를 S로 위치 28 에서;
L을 N으로 위치 26 에서 그리고 S를 T로 위치 28 에서;
S를 N으로 위치 28 에서 그리고 L을 S로 위치 30 에서;
S를 N으로 위치 28 에서 그리고 L을 T로 위치 30 에서;
L을 N으로 위치 30 에서 그리고 D를 S로 위치 32 에서;
L을 N으로 위치 30 에서 그리고 D를 T로 위치 32 에서;
K를 N으로 위치 31 에서 그리고 R을 S로 위치 33 에서;
K를 N으로 위치 31 에서 그리고 R을 T로 위치 33 에서;

D를 N으로 위치 32 에서 그리고 H를 S로 위치 34 에서;
D를 N으로 위치 32 에서 그리고 H를 T로 위치 34 에서;
R을 N으로 위치 33 에서 그리고 D를 S로 위치 35 에서;
R을 N으로 위치 33 에서 그리고 D를 T로 위치 35 에서;
H를 N으로 위치 34 에서 그리고 F를 S로 위치 36 에서;
H를 N으로 위치 34 에서 그리고 F를 T로 위치 36 에서;
D를 N으로 위치 35 에서 그리고 G를 S로 위치 37 에서;
D를 N으로 위치 35 에서 그리고 G를 T로 위치 37 에서;
F를 N으로 위치 36 에서 그리고 F를 S로 위치 38 에서;
F를 N으로 위치 36 에서 그리고 F를 T로 위치 38 에서;
G를 N으로 위치 37 에서 그리고 P를 S로 위치 39 에서;
G를 N으로 위치 37 에서 그리고 P를 T로 위치 39 에서;
F를 N으로 위치 38 에서 그리고 Q를 S로 위치 40 에서;
F를 N으로 위치 38 에서 그리고 Q를 T로 위치 40 에서;
P를 N으로 위치 39 에서 그리고 E를 S로 위치 41 에서;
P를 N으로 위치 39 에서 그리고 E를 T로 위치 41 에서;
Q를 N으로 위치 40 에서 그리고 E를 S로 위치 42 에서;
Q를 N으로 위치 40 에서 그리고 E를 T로 위치 42 에서;
E를 N으로 위치 41 에서 그리고 F를 S로 위치 43 에서;
E를 N으로 위치 41 에서 그리고 F를 T로 위치 43 에서;
E를 N으로 위치 42 에서 그리고 G를 S로 위치 44 에서;
E를 N으로 위치 42 에서 그리고 G를 T로 위치 44 에서;
F를 N으로 위치 43 에서 그리고 N을 S로 위치 45 에서;
F를 N으로 위치 43 에서 그리고 N을 T로 위치 45 에서;
G를 N으로 위치 44 에서 그리고 Q를 S로 위치 46 에서;
G를 N으로 위치 44 에서 그리고 Q를 T로 위치 46 에서;
N을 N으로 위치 45 에서 그리고 F를 S로 위치 47 에서;

N을 N으로 위치 45 에서 그리고 F를 T로 위치 47 에서;
 Q를 N으로 위치 46 에서 그리고 Q를 S로 위치 48 에서;
 Q를 N으로 위치 46 에서 그리고 Q를 T로 위치 48 에서;
 F를 N으로 위치 47 에서 그리고 K를 S로 위치 49 에서;
 F를 N으로 위치 47 에서 그리고 K를 T로 위치 49 에서;
 Q를 N으로 위치 48 에서 그리고 A을 S로 위치 50 에서;
 Q를 N으로 위치 48 에서 그리고 A을 T로 위치 50 에서;
 K를 N으로 위치 49 에서 그리고 E를 S로 위치 51 에서;
 K를 N으로 위치 49 에서 그리고 E를 T로 위치 51 에서;
 A을 N으로 위치 50 에서 그리고 T를 S로 위치 52 에서;
 A을 N으로 위치 50 에서 그리고 T를 T로 위치 52 에서;
 S를 N으로 위치 68 에서 그리고 K를 S로 위치 70 에서;
 S를 N으로 위치 68 에서 그리고 K를 T로 위치 70 에서;
 K를 N으로 위치 70 에서 그리고 S를 S로 위치 72 에서;
 K를 N으로 위치 70 에서 그리고 S를 T로 위치 72 에서;
 A을 N으로 위치 75 에서 그리고 D를 S로 위치 77 에서;
 A을 N으로 위치 75 에서 그리고 D를 T로 위치 77 에서;
 D를 N으로 위치 77 에서 그리고 T를 S로 위치 79 에서;
 D를 N으로 위치 77 에서 그리고 T를 T로 위치 79 에서;
 I를 N으로 위치 100 에서 그리고 G를 S로 위치 102 에서;
 I를 N으로 위치 100 에서 그리고 G를 T로 위치 102 에서;
 Q를 N으로 위치 101 에서 그리고 V를 S로 위치 103 에서;
 Q를 N으로 위치 101 에서 그리고 V를 T로 위치 103 에서;
 G를 N으로 위치 102 그리고 G를 S로 위치 104 에서;
 G를 N으로 위치 102 그리고 G를 T로 위치 104 에서;
 V를 N으로 위치 103 그리고 V를 S로 위치 105 에서;
 V를 N으로 위치 103 그리고 V를 T로 위치 105 에서;

G를 N으로 위치 104 그리고 T를 S로 위치 106 에서;
 G를 N으로 위치 104 그리고 T를 T로 위치 106 에서;
 V를 N으로 위치 105 에서 그리고 E를 S로 위치 107 에서;
 V를 N으로 위치 105 에서 그리고 E를 T로 위치 107 에서;
 T를 N으로 위치 106 에서 그리고 T를 S로 위치 108 에서;
 T를 N으로 위치 106 에서 그리고 T를 T로 위치 108 에서;
 E를 N으로 위치 107 에서 그리고 P를 S로 위치 109 에서
 E를 N으로 위치 107 에서 그리고 P를 T로 위치 109 에서;
 T를 N으로 위치 108 에서 그리고 I를 S로 위치 110 에서;
 T를 N으로 위치 108 에서 그리고 I를 T로 위치 110 에서;
 K를 N으로 위치 134 그리고 S를 S로 위치 136 에서;
 K를 N으로 위치 134 그리고 S를 T로 위치 136 에서;
 S를 N으로 위치 154 그리고 N을 S로 위치 156 에서;
 S를 N으로 위치 154 그리고 N을 T로 위치 156 에서;
 T를 N으로 위치 155 에서 그리고 L을 S로 위치 157 에서;
 T를 N으로 위치 155 에서 그리고 L을 T로 위치 157 에서;
 N을 N으로 위치 156 에서 그리고 Q를 S로 위치 158 에서;
 N을 N으로 위치 156 에서 그리고 Q를 T로 위치 158 에서;
 L을 N으로 위치 157 에서 그리고 E를 S로 위치 159 에서;
 L을 N으로 위치 157 에서 그리고 E를 T로 위치 159 에서;
 Q를 N으로 위치 158 에서 그리고 S를 S로 위치 160 에서;
 Q를 N으로 위치 158 에서 그리고 S를 T로 위치 160 에서;
 E를 N으로 위치 159 에서 그리고 L을 S로 위치 161 에서;
 E를 N으로 위치 159 에서 그리고 L을 T로 위치 161 에서;
 S를 N으로 위치 160 에서 그리고 R을 S로 위치 162 에서;
 S를 N으로 위치 160 에서 그리고 R을 T로 위치 162 에서;
 L을 N으로 위치 161 에서 그리고 S를 S로 위치 163 에서;

L을 N으로 위치 161 에서 그리고 S를 T로 위치 163 에서;

R을 N으로 위치 162 그리고 K를 S로 위치 164 에서;

R을 N으로 위치 162 그리고 K를 T로 위치 164 에서;

S를 N으로 위치 163 그리고 E를 S로 위치 165 에서;

S를 N으로 위치 163 그리고 E를 T로 위치 165 에서이며, 여기에서 잔기 1은, 도 1에 개시된 성숙 IFN- α 2a 단백질 또는, 도 2에 개시된 성숙 IFN- α 2b 단백질의 잔기 1에 해당하고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

다른 면에서, 부모 폴리펩티드는 IFN- α 2a 또는 IFN- α 2b이고 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 도 1에 개시된 IFN- α 2a 아미노산 서열 또는 도 2에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 2중 아미노산 치환의 하나 이상의 세트를 포함하며, 이는 다음의 대체에 해당하는 것이다:

Q를 N으로 위치 5 에서 그리고 H를 S로 위치 7 에서;

P를 N으로 위치 39 에서 그리고 E를 S로 위치 41 에서;

P를 N으로 위치 39 에서 그리고 E를 T로 위치 41 에서;

Q를 N으로 위치 40 에서 그리고 E를 S로 위치 42 에서;

Q를 N으로 위치 40 에서 그리고 E를 T로 위치 42 에서;

E를 N으로 위치 41 에서 그리고 F를 S로 위치 43 에서;

E를 N으로 위치 41 에서 그리고 F를 T로 위치 43 에서;

F를 N으로 위치 43 그리고 N을 S로 위치 45 에서;

G를 N으로 위치 44 그리고 Q를 T로 위치 46 에서;

N을 N으로 위치 45 에서 그리고 F를 S로 위치 47 에서;

N을 N으로 위치 45 에서 그리고 F를 T로 위치 47 에서;

Q를 N으로 위치 46 에서 그리고 Q를 S로 위치 48 에서;

F를 N으로 위치 47 에서 그리고 K를 S로 위치 49 에서;

F를 N으로 위치 47 에서 그리고 K를 T로 위치 49 에서;

I를 N으로 위치 100 에서 그리고 G를 S로 위치 102 에서;

I를 N으로 위치 100 에서 그리고 G를 T로 위치 102 에서;

V를 N으로 위치 105 에서 그리고 E를 S로 위치 107 에서;

V를 N으로 위치 105 에서 그리고 E를 T로 위치 107 에서;

T를 N으로 위치 106 에서 그리고 T를 S로 위치 108 에서;

T를 N으로 위치 106 에서 그리고 T를 T로 위치 108 에서;

E를 N으로 위치 107 에서 그리고 P를 S로 위치 109 에서;

E를 N으로 위치 107 에서 그리고 P를 T로 위치 109 에서;

L을 N으로 위치 157 에서 그리고 E를 S로 위치 159 에서;

L을 N으로 위치 157 에서 그리고 E를 T로 위치 159 에서;

E를 N으로 위치 159 에서 그리고 L을 S로 위치 161 에서; 및

E를 N으로 위치 159 에서 그리고 L을 T로 위치 161 에서이며, 여기에서 잔기 1은, 도 1에 개시된 성숙 IFN- α 2a 단백질 또는 도 2에 개시된 성숙 IFN- α 2b 단백질의 잔기 1에 해당하고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 IFN- α 2a, IFN- α 2b 또는 IFN-2c 변이체로, 이는 다음에 해당하는 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 것이다: N을 D로 위치 45 에서; D를 G로 위치 94 에서; G를 R로 위치 102 에서; A를 G로 위치 139 에서; 또는 그 임의의 조합으로, 아미노산 번호는 도 1에 개시된 바와 같다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 IFN- α 2a, IFN- α 2b 또는 IFN-2c 변이체로, 이는 다음에 해당하는 SEQ ID No. 1, 182, 185 또는 232 중 어느 하나에서 (일례로 도 2, 1, 11 및 9에 각각 개시된 임의의 서열) 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 것이다: L을 V로 위치 3 에서; L을 I로 위치 3 에서; P를 S로 위치 4 에서; P를 S로 위치 4 에서; P를 A로 위치 4 에서; R을 H로 위치 12 에서; R을 Q로 위치 12 에서; R을 H로 위치 13 에서; R을 Q로 위치 13 에서; M을 V로 위치 16 에서; M을 I로 위치 16 에서; R을 H로 위치 22 에서; R을 Q로 위치 22 에서; R 또는 K를 H로 위치 23 에서; R 또는 K를 Q로 위치 23 에서; F를 I로 위치 27 에서; F를 V로 위치 27 에서; L을 V로 위치 30 에서; L을 I로 위치 30 에서; K를 Q로 위치 31 에서; K를 T로 위치 31 에서; R을 H로 위치 33 에서; R을 Q로 위치 33 에서; E를 Q로 위치 41 에서; E를 H로 위치 41 에서; K를 Q로 위치 49 에서; K를 T로 위치 49 에서; E를 Q로 위치 58 에서; E를 H로 위치 58 에서; K를 Q로 위치 70 에서; K를 T로 위치 70 에서; E를 Q로 위치 78 에서; E를 H로 위치 78 에서; K를 Q로 위치 83 에서; K를 T로 위치 83 에서; Y를 H로 위치 89 에서; Y를 I로 위치 89 에서; E를 Q로 위치 96 에서; E를 H로 위치 96 에서; E를 Q로 위치 107 에서; E를 H로 위치 107 에서; P를 S로 위치 109 에서; P를 A로 위치 109 에서; L을 V로 위치 110 에서; L을 I로 위치 110 에서; M을 V로 위치 111 에서; M을 I로 위치 111 에서; E를 Q로 위치 113 에서; E를 H로 위치 113 에서; L을 V로 위치 117 에서; L을 I로 위치 117 에서; R을 H로 위치 120 에서; R을 Q로 위치 120 에서; K를 Q로 위치 121 에서; K를 T로 위치 121 에서; R을 H로 위치 125 에서; R을 Q로 위치 125 에서; L을 V로 위치 128 에서; L을 I로 위치 128 에서; K를 Q로 위치 131 에서; K를 T로 위치 131 에서; E를 Q로 위치 132 에서; E를 H로 위치 132 에서; K를 Q로 위치 133 에서; K를 T로 위치 133 에서; K를 Q로 위치 134 에서; K를 T로 위치 134 에서; Y를 H로 위치 135 에서; Y를 I로 위치 135 에서; P를 S로 위치 137 에서; P를 A로 위치 137 에서; M을 V로 위치 148 에서; M을 I로 위치 148 에서; R을 H로 위치 149 에서; R을 Q로 위치 149 에서; E를 Q로 위치 159 에서; E를 H로 위치 159 에서; L을 V로 위치 161 에서; L을 I로 위치 161 에서; R을 H로 위치 162 에서; R을 Q로 위치 162 에서; K를 Q로 위치 164 에서; K를 T로 위치 164 에서; E를 Q로 위치 165 에서; 또는 E를 H로 위치 165 에서; 또는 그 임의의 조합이며, 잔기 1은, 아미노산 번호는 SEQ ID NO :1 또는 182 (또는 도 2 및 1에 각각 개시된 바와 같은)에 개시된 성숙 IFN- α 2b 또는 IFN- α 2a 사이토카인의 잔기 1에 해당하고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 IFN- α 2a, IFN- α 2b 또는 IFN-2c 변이체로, 이는 다음에 해당하는 SEQ ID No. 1, 182, 185 또는 232 중 어느 하나에서 (일례로 도 2, 1, 11 및 9에 각각 개시된 임의의 서열) 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 것이다: L을 V로 위치 3 에서; L을 I로 위치 3 에서; P를 S로 위치 4 에서; P를 A로 위치 4 에서; R을 H로 위치 12 에서; R을 Q로 위치 12 에서; R을 H로 위치 13 에서; R을 Q로 위치 13 에서; M을 V로 위치 16 에서; M을 I로 위치 16 에서; R을 H로 위치 22 에서; R을 Q로 위치 22 에서; R 또는 K를 H로 위치 23 에서; R 또는 K를 Q로 위치 23 에서; F를 I로 위치 27 에서; F를 V로 위치 27 에서; L을 V로 위치 30 에서; L을 I로 위치 30 에서; K를 Q로 위치 31 에서; K를 T로 위치 31 에서; R을 H로 위치 33 에서; R을 Q로 위치 33 에서; E를 Q로 위치 41 에서; E를 H로 위치 41 에서; K를 Q로 위치 49 에서; K를 T로 위치 49 에서; E를 Q로 위치 58

에서; E를 H로 위치 58 에서; K를 Q로 위치 70 에서; K를 T로 위치 70 에서; E를 Q로 위치 78 에서; E를 H로 위치 78 에서; K를 Q로 위치 83 에서; K를 T로 위치 83 에서; Y를 H로 위치 89 에서; Y를 I로 위치 89 에서; E를 Q로 위치 96 에서; E를 H로 위치 96 에서; E를 Q로 위치 107 에서; E를 H로 위치 107 에서; P를 S로 위치 109 에서; P를 A로 위치 109 에서; L을 V로 위치 110 에서; L을 I로 위치 110 에서; M을 V로 위치 111에서; M을 I로 위치 111 에서; E를 Q로 위치 113 에서; E를 H로 위치 113 에서; L을 V로 위치 117 에서; L을 I로 위치 117 에서; R을 H로 위치 120 에서; R을 Q로 위치 120 에서; K를 Q로 위치 121 에서; K를 T로 위치 121 에서; R을 H로 위치 125 에서; R을 Q로 위치 125 에서; L을 V로 위치 128 에서; L을 I로 위치 128 에서; K를 Q로 위치 131 에서; K를 T로 위치 131 에서; E를 Q로 위치 132 에서; E를 H로 위치 132 에서; K를 Q로 위치 133 에서; K를 T로 위치 133 에서; K를 Q로 위치 134 에서; K를 T로 위치 134 에서; Y를 H로 위치 135 에서; Y를 I로 위치 135 에서; P를 S로 위치 137 에서; P를 A로 위치 137 에서; M을 V로 위치 148 에서; M을 I로 위치 148 에서; R을 H로 위치 149 에서; R을 Q로 위치 149 에서; E를 Q로 위치 159 에서; E를 H로 위치 159 에서; L을 V로 위치 161 에서; L을 I로 위치 161 에서; R을 H로 위치 162 에서; R을 Q로 위치 162 에서; K를 Q로 위치 164 에서; K를 T로 위치 164 에서; E를 Q로 위치 165 에서; E를 H로 위치 165 에서; N을 D로 위치 45 에서; D를 G로 위치 94 에서; G를 R로 위치 102 에서; 또는 A를 G로 위치 139 에서; 또는 그 임의의 조합이며, 잔기 1은, 아미노산 번호는 SEQ ID NO :1 또는 182의 성숙 IFN- α 2b 또는 IFN- α 2a 사이토카인의 잔기 1에 해당하고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 상기한 임의의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- α 2a 변이체는, [D99N] IFN- α 2a 글리코펩티드이며, [D99N] IFN- α 2a 글리코펩티드는 다음을 포함하는 IFN- α 2a 변이체이다; (a) IFN- α 2a 서열의 아미노산 위치 99의 천연 아스파르트산 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 것과 같고; 도 1에 개시된 D71에 해당함) 대신 아스파라긴 잔기; 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유 결합된 탄수화물 잔기를 포함한다. 일부 구현에서 IFN- α 2a 서열은 도 24에 개시된 IFN- α 2b 서열의 아미노산 위치 50(도 2에 개시된 IFN- α 2b 서열의 아미노산 위치 23에 해당)의 아르기닌 잔기 대신 라이신 잔기를 가진다.

일부 구현에서, 상기한 임의의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- α 2a 변이체는, [D99N, D105N] IFN- α 2a 글리코펩티드이며, [D99N, D105N] IFN- α 2a 글리코펩티드는 다음을 포함하는 IFN- α 2a 변이체이다; (a) IFN- α 2a 서열의 아미노산 위치 99 및 105의 천연 아스파르트산 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 것과 같고; 도 24의 D99 및 D105는, 도 1에 개시된 D71 및 D77에 각각 해당함) 각각 대신 아스파라긴 잔기; 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기 각각의 R기에 공유 결합된 탄수화물 잔기를 포함한다. 일부 구현에서 IFN- α 2a 서열은 도 24에 개시된 IFN- α 2b 서열의 아미노산 위치 50(도 2에 개시된 IFN- α 2b 서열의 Arg 23에 해당)의 아르기닌 잔기 대신 라이신 잔기를 가진다.

일부 구현에서, 상기한 임의의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- α 2b 변이체는 [D99N] IFN- α 2b 글리코펩티드이며, [D99N] IFN- α 2b 글리코펩티드는 다음을 포함하는 IFN- α 2b 변이체이다; (a) IFN- α 2b 서열의 아미노산 위치 99의 천연 아스파르트산 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 것과 같고; 도 24의 D99는 도 1 및 도 2에 개시된 D71에 해당함) 대신 아스파라긴 잔기; 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유 결합된 탄수화물 잔기를 포함한다.

일부 구현에서, 상기한 임의의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- α 2b 변이체는 [D99N, D105N] IFN- α 2b 글리코펩티드이며, [D99N, D105N] IFN- α 2b 글리코펩티드는 다음을 포함하는 IFN- α 2b 변이체이다; (a) 도 24의 IFN- α 2b 서열의 아미노산 위치 99 및 105의 천연 아스파르트산 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 것과 같고; 도 24의 D99 및 D105는, 도 1에 개시된 D71 및 D77에 각각 해당함) 각각 대신 아스파라긴 잔기; 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기 각각의 R기에 공유 결합된 탄수화물 잔기를 포함한다.

다른 면에서, 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- α 2a 또는 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체는, 하나 이상의 슈도 야생형 돌연변이를 추가로 포함한다. 특정 구현에서, 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- α 2a 폴리펩티드 변이체는 도 1에 개시된 바와 같은 9, 10, 17, 20, 24, 25, 35, 37, 41, 52, 54, 56, 57, 58, 60, 63, 64, 65, 76, 89, 및 90 아미노산 잔기 하나 이상의 슈도 야생형 타입 돌연변이 하나 이상을 추가로 포함하며, 여기에서 돌연변이(들)는, 천연 아미노산 잔기의 대체, 결실 및 첨가 하나 이상이다.

다른 특정 구현에서, 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체는 도 2에 개시된 바와 같은 9, 10, 17, 20, 24, 25, 35, 37, 41, 52, 54, 56, 57, 58, 60, 63, 64, 65, 76, 89, 및 90 아미노산 잔기 하나 이상의 슈도 야생형 타입 돌연변이 하나 이상을 추가로 포함하며, 여기에서 돌연변이(들)는, 천연 아미노산 잔기의 대체, 결실 및 첨가 하나 이상이다.

슈도 야생형 대체의 예는, 도 1에 개시된 IFN- α 2a 아미노산 서열, 또는 도 2에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열 내의 다음과 같은 하나 이상의 돌연변이이다: P를 A로 위치 4에서; Q를 A로 위치 5, T를 A로 위치 6에서; L을 A로 위치 9에서, L를 A로 위치 10에서; L을 A로 위치 17에서, Q를 A로 위치 20에서; I를 A로 위치 24에서, S를 A로 위치 25에서; D를 A로 위치 35에서, G를 A로 위치 37에서; G를 A로 위치 39에서; E를 A로 위치 41에서; E를 A로 위치 42에서, E를 A로 위치 51에서; T를 A로 위치 52에서, P를 A로 위치 54에서; V를 A로 위치 55에서, L을 A로 위치 56에서; H를 A로 위치 57에서, E를 A로 위치 58에서; I를 A로 위치 60에서, I를 A로 위치 63에서; F를 A로 위치 64에서, N을 A로 위치 65에서; W를 A로 위치 76에서, D를 A로 위치 77에서; E를 A로 위치 78에서, L을 A로 위치 81에서; Y를 A로 위치 85에서, Y를 A로 위치 89에서; Q를 A로 위치 90에서, G를 A로 위치 104에서; L을 A로 위치 110에서, S를 A로 위치 115에서 그리고 E를 A로 위치 146에서 대체함.

다른 면에서, 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- α 2a 또는 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체는, 하나 이상의 슈도 야생형 돌연변이를 추가로 포함한다. 특정 구현에서, 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- α 2a 폴리펩티드 변이체는 도 1에 개시된 바와 같은 4, 5, 6, 9, 10, 17, 20, 24, 25, 35, 37, 39, 41, 42, 51, 52, 54, 56, 57, 58, 60, 63, 64, 65, 76, 77, 78, 81, 85, 89, 90, 104, 110, 115 및 146 아미노산 잔기 하나 이상의 슈도 야생형 타입 돌연변이 하나 이상을 추가로 포함하며, 여기에서 돌연변이 (들)는, 천연 아미노산 잔기의 대체, 결실 및 첨가 하나 이상이다. 다른 특정 구현에서, 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체는 도 2에 개시된 바와 같은 4, 5, 6, 9, 10, 17, 20, 24, 25, 35, 37, 39, 41, 42, 51, 52, 54, 56, 57, 58, 60, 63, 64, 65, 76, 77, 78, 81, 85, 89, 90, 104, 110, 115 및 146 아미노산 잔기 하나 이상의 슈도 야생형 타입 돌연변이 하나 이상을 추가로 포함하며, 여기에서 돌연변이 (들)는, 천연 아미노산 잔기의 대체, 결실 및 첨가 하나 이상이다.

슈도 야생형 대체의 예는, 도 1에 개시된 IFN- α 2a 아미노산 서열, 또는 도 2에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열 내에 다음과 같은 하나 이상의 돌연변이이다: P를 A로 위치 4에서; Q를 A로 위치 5에서; T를 A로 위치 6에서; L을 A로 위치 9에서; LG를 A로 위치 10에서; L을 A로 위치 17에서; Q를 A로 위치 20에서; I를 A로 위치 24에서; S를 A로 위치 25에서; D를 A로 위치 35에서; G를 A로 위치 37에서; G를 A로 위치 39에서; E를 A로 위치 41에서; E를 A로 위치 42에서; E를 A로 위치 51에서; T를 A로 위치 52에서; P를 A로 위치 54에서; V를 A로 위치 55에서; L을 A로 위치 56에서; H를 A로 위치 57에서; E를 A로 위치 58에서; I를 A로 위치 60에서; I를 A로 위치 63에서; F를 A로 위치 64에서; N을 A로 위치 65에서; W를 A로 위치 76에서; D를 A로 위치 77에서; E를 A로 위치 78에서; L을 A로 위치 81에서; Y를 A로 위치 85에서; Y를 A로 위치 89에서, Q를 A로 위치 90에서; G를 A로 위치 104에서; L을 A로 위치 110에서; S를 A로 위치 115에서, 그리고 E를 A로 위치 146에서 대체함.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 항바이러스 활성을 나타내는 부모 사이토카인의 변이체이다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 항바이러스 사이토카인 (일례로 IFN- α 2a 폴리펩티드, IFN- α 2b 폴리펩티드, 또는 IFN- γ 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체)는, 해당 비변형 (부모) 사이토카인과 비교하여, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%까지의 항바이러스 활성 유지 정도를 나타낸다 (일례로 부모 IFN- α 2a 폴리펩티드, IFN- α 2b 폴리펩티드, 또는 IFN- γ 폴리펩티드와 비교시).

항바이러스 활성은 임의의 공지 어세이를 사용하여 용이하게 검증된다. 일례로, IFN- α 2a 폴리펩티드의 항바이러스 활성은 하기의 방식으로 시험관내에서 테스트 된다. 인터페론 민감성 HeLa 세포주 (일례로 ATCC 수탁번호 CCL-2)를, 시험관내에서 IFN- α 2a 폴리펩티드와 접촉시키고; 이어서 세포를 뇌심근염 바이러스 (EMCV)와 접촉시킨다. 세포변성 효과 (CPE)를 측정; 또는 역전사 중합효소 연쇄 반응 (RT-PCR)에 의해 감염 세포 추출물 중 EMCV mRNA의 양을 측정함에 의하여 항바이러스 활성을 검출한다.

어세이는 정량적일 수 있다. 일례로, 일부 구현에서, 어세이는 역전사 정량 중합효소 연쇄 반응 (RT- qPCR)에 의해 평가 가능하다. 일례로, 컨플루언트 세포는 (일례로 ATCC 수탁 번호 CCL-2) 적절한 배양 매질 (일례로 DMEM 5% SVF 매질) 내에 2×10^4 세포/웰의 밀도로 도달된다. 세포를 이후 500 U/ml의 농도로 37°C에서 24시간 동안 IFN- α 2b와 인큐베이션하고, 24시간 동안 IFN- α 2b와 인큐베이션 이후 세포를 EMCV (MOI = 100)로 챌린지한다. 바이러스와 인큐베이션 16시간 이후, 또는 IFN- α 2b로 처리되지 않은 대조군 세포에서의 바이러스 유도 CPE가 거의 최대치일 때, 각 웰 내의 EMCV 입자의 개수를 세포 용해물 중 EMCV mRNA의 RT-PCR 정량화에 의해 측정한다. RNA는 세포 용해물로부터 분리하며, 일례로 미국 특허 출원 번호 2004/0132977를 참조한다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 개인의 바이러스 부하 (load) 감소에 효과적이다. 바이러스 부하는, 혈청중 바이러스의 수준 또는 역가를 측정하여 측정한다. 이들 방법은 정량적 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 및 분지화 DNA (bDNA) 테스트를 포함하나 이에 제한되지 않는다. HCV RNA 바이러스 부하 (역가)를 측정하는 정량적 어세이는 개발된 바 있다. 그러한 많은 어세이들이 시판중이며 다음을 포함한다: 정량적 역전사 PCR (RT-PCR) (Amplicor HCV Monitor™, Roche Molecular Systems, New Jersey); 및 분지화 DNA (deoxyribonucleic acid) 신호 증폭 어세이 (Quantiplex™ HCV RNA Assay (bDNA), Chiron Corp., Emeryville, California). 일례로 문헌을 참고한다 (Gretch et al. (1995) Ann. Intern. Med. 123:321-329). 또한 핵산 테스트가 흥미를 끈다 [NAT, Gen-Probe Inc. (San Diego) 및 Chiron Corporation 개발, Chiron Corporation 시판, 상표명 Procleix®, NAT는 HIV-I 및 HCV 의 존재를 동시에 테스트함]. 일례로 Vargo et al. (2002) Transfusion 42:876-885 을 참조한다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 항바이러스 사이토카인 변이체 (일례로 IFN-α2a 폴리펩티드, IFN-α2b 폴리펩티드, IFN-γ 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 변이체)는, 비변형 (부모) 사이토카인 치료 단백질과 비교하여 항증식 활성의 유지를 나타낸다.

항증식 활성은, 임의의 공지 방법을 사용하여 용이하게 검증된다. 일례로, 항증식 활성은, 프로테아제 저항성 항바이러스 사이토카인 변이체의 존재하에 세포 증식을 측정하여 평가 가능하며, 여기에서 세포 증식은 임의의 간편한 어세이로 측정된다. 세포 증식은 ³H-티미딘 혼입; 티미딘 유사체 BrdU의 혼입; 테트라졸륨염의 절단; DNA-염료 복합체 형성; 등에 기초한 어세이로 측정된다. 세포 증식에 적절한 어세이의 한 비제한적인 예는, CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega)이다. CellTiter 96® Aqueous Assay는, 화학민감성 또는 증식 어세이에서의 생존 가능 세포의 개수를 측정하는 발색 방법이다. CellTiter 96® Aqueous Assay 는, 테트라졸륨 화합물 (3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-5-(3-카복시메톡시페닐)-2-(4-설포페닐)-2H-테트라졸륨, 내부염; MTS) 및 전자 커플링 시약 (페나진 메토설페이트; PMS)의 용액들로 구성된다. MTS는, 조직 세포 매질 내에서 가용성인 포르마잔 생성물내로 세포내에서 생물 환원된다. 490nm 에서 포르마잔의 흡수는, 추가의 처리 없이 96 웰 어세이 플레이트에서 직접 측정 가능하다. 수성, 가용성 포르마잔으로 MTS가 전환되는 것은, 대사적으로 활성인 세포 내에서 발견되는 탈수소 효소에 의해 달성된다. 490nm 흡광량에 의해 측정된 포르마잔 생성물의 양은, 배양 중 생존 세포의 개수에 직접 비례한다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 항바이러스 사이토카인 변이체 (일례로 IFN-α2a 폴리펩티드, IFN-α2b 폴리펩티드, 및 IFN-γ 폴리펩티드의 초글리코실화, 프로테아제 저항성 변이체)는, 인터페론 수용체에 결합하나 비변형 (부모) 사이토카인 치료 단백질에 비해 감소된 항바이러스 활성을 나타내거나, 또는, 부모 사이토카인 치료 단백질에 비해 감소된 항증식 활성을 나타낸다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 항바이러스 사이토카인 변이체 (일례로 IFN-α2a 폴리펩티드, IFN-α2b 폴리펩티드, IFN-γ 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 변이체)는, 2개 이상의 돌연변이를 포함한다. 일례로, 프로테아제 저항성 항바이러스 사이토카인 변이체는, 해당 부모 사이토카인에 비해, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 단일 아미노산 변화를 포함한다. 일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 항바이러스 사이토카인 변이체는 IFN-α2a 폴리펩티드의 변이체이다. 다른 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 항바이러스 사이토카인 변이체는 IFN-α2a 폴리펩티드의 변이체이다. 다른 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 항바이러스 사이토카인 변이체는 IFN-γ 폴리펩티드의 변이체이다.

일부 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 사이토카인 변이체는, SEQ ID No. 2-181 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 여기에서 위치 23의 아르기닌이 라이신으로 대체되고, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 다른 구현에서, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 사이토카인 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 단백질분해에 대해 더 큰 저항성을 나타내고, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 사이토카인 변이체는, 도 9에 개시된 IFN-α2a 폴리펩티드, IFN-α2b 폴리펩티드, IFN-α2c 폴리펩티드, 또는 컨센서스 IFN-α 의 3차원 구조 내에 관련 구조 변형된 아미노산 위치에 해당하는, 사이토카인 상의 하나 이상의 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함한다. 일부 구현에서, 단백질분해에 대한 저항성은, 상기한 바와 같이 폴리펩티드 변이체를 시험관 내에서 접촉시켜 측정한다. 다른 구현에서, 시험

관내 또는 생체내의 폴리펩티드 변이체를 혈액 (예를 들어 인간 혈액)과 접촉시켜 단백질분해에 대한 저항성을 측정한다. 다른 구현에서, 상기한 바와 같이, 시험관내의 폴리펩티드 변이체를 혈청 (예를 들어 인간 혈청)과 접촉시켜 단백질분해에 대한 저항성을 측정한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 IFN- α 2b 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 적절한 세포 내에서 세포 증식을 억제 또는 바이러스 복제를 억제하는 잔류 생활성을 측정하여 평가한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 IFN- α 2b 변이체는 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가지고, 여기에서, 활성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 적절한 세포 내에서 세포 증식을 억제 또는 적절한 세포 내에서 바이러스 복제를 억제하는 능력을 측정하여 평가한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 IFN- α 2a 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 적절한 세포 내에서 세포 증식을 억제 또는 바이러스 복제를 억제하는 잔류 생활성을 측정하여 평가한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 IFN- α 2a 변이체는 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가지고, 여기에서, 활성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 적절한 세포 내에서 세포 증식을 억제 또는 적절한 세포 내에서 바이러스 복제를 억제하는 능력을 측정하여 평가한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 IFN-2c 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 IFN- α 2c 변이체는 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

3차원 구조 유사체

일부 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는 변형된 사이토카인이다. 일부 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 사이토카인 변이체는 변형된 인터페론이다. 일부 구현에서, IFN- α 2b 의 구조 유사체인 상기한 임의의 초글리코실화, 프로테아제 저항성 사이토카인 변이체는, 도 9에 개시된 바와 같은 변형 IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 2c, 또는 컨센서스 IFN- α 의 3차원 구조 내에 3차원 구조상 유사한 변형된 위치에 해당하는 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함한다. 일부 구현에서, 구조 유사체는, 비변형 (부모) 사이토카인 대응물과 비교하여 단백질분해에 대해 증가된 저항성을 가지며, 여기에서 단백질분해에 대한 저항성은, 상기한 바와 같이 시험관내 프로테아제의 혼합물을 혈액과 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션하여 측정한다.

일부 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 사이토카인 변이체는 IFN- α 사이토카인의 구조 유사체이다. 일부 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 IFN- α 2b 사이토카인의 구조 유사체이다. 이들 구현 일부에서, IFN- α 사이토카인은, IFN- α 2a, IFN- α 2c, IFN- α c, IFN- α d, IFN- α 5, IFN- α 6, IFN- α 4, IFN- α 4b, IFN- α I, IFN- α J, IFN- α H, IFN- α F, IFN- α 8, 및 컨센서스 IFN- α 의 변이체들로부터 선택된다. 따라서 일부 구현에서, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는, 상기한 IFN- α 2b 변형 단백질의 3차원 구조 내에서 구조 연관 개질 아미노산의 위치에 해당하는, IFN- α 2a, IFN- α 2c, IFN- α c, IFN- α d, IFN- α 5, IFN- α 6, IFN- α 4, IFN- α 4b, IFN- α I, IFN- α J, IFN- α H, IFN- α F, IFN- α 8, 또는 컨센서스 IFN- α 의 아미노산 서열 중 하나 이상의 목적 위치에 아미노산 이상의 아미노산 대체를 포함한다. 이러한 대체는, 일례로 부모 IFN- α 2a, 또는 IFN- α 2b 폴리펩티드에 비해, 비변형 부모 IFN- α 에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는, 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다.

일부 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α 2a 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 도 1에 개시된 아미노산 서열 (또는 SEQ ID NO: 182) 의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체 (들)은 비변형 부모 IFN- α 2a에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다.

일부 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 2a 변이체는, 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 182 (또는 도 1에 개시된 아미노산 서열)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α c 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 183 (도 10에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체 (들)은 비변형 IFN- α c에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- α c 는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 183 (도 10에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α 2c 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 185 (도 11에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체 (들)은 비변형 IFN- α 2c에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- α 2c 는, 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159 아미노산 위치의 임의에 해당하는 또는, 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 185 (도 11에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 2c 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 2c 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α d 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 186 (도 12에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체 (들)은 비변형 IFN- α d에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- α d는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치 또는 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 186 (도 12에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α d 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는

혈청과 인큐베이션후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α 5 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 187 (도 13에 개시된 아미노산 서열과 같이)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체 (들)은 비변형 IFN- α 5에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- α 5는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치 또는 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 187 (도 13에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 5 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 5 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α 6 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 188 (도 14에 개시된 아미노산 서열과 같이)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체 (들)은 비변형 IFN- α 6에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- α 6는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치 또는 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 188 (도 14에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 6 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 6 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α 4 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 189 (도 15에 개시된 아미노산 서열과 같이)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체 (들)은 비변형 IFN- α 4에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- α 4는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치 또는 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 189 (도 15에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 4 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 4 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α 4b 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 190 (도 16에 개시된 아미노산 서열과 같이)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체 (들)은 비변형 IFN- α 4b에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- α 4b는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치 또는 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 190 (도 16에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 4b 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 4b 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α I 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 191 (도 17에 개시된 아미노산 서열과 같이)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체 (들)은 비변형 IFN- α I에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- α I는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치 또는 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 191 (도 17에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α I 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α I 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α J 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 192 (도 18에 개시된 아미노산 서열과 같이)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체 (들)은 비변형 IFN- α J에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- α J는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치 또는: 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 192 (도 18에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α J 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α J 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- α 변이체는 변형된 IFN- α H 사이토카인으로, 상기한 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 193 (도 19에 개시된

아미노산 서열과 같이)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체(들)은 비변형 부모 IFN-αH에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는(상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN-αH는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치 또는: 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 193 (도 19에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-αH 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-αH 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-α 변이체는 변형된 IFN-αF 사이토카인으로, 상기한 IFN-α2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 194 (도 20에 개시된 아미노산 서열과 같이)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체(들)은 비변형 IFN-αF에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는(상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN-αF는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치 또는: 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 194 (도 20에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-αF 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-αF 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-α 변이체는 변형된 IFN-α8 사이토카인으로, 상기한 IFN-α2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 195 (도 21에 개시된 아미노산 서열과 같이)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체(들)은 비변형 IFN-α8에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는(상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN-α8는, 41, 59, 79, 108, 118, 126, 134 및 160 아미노산 위치 또는: 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 195 (도 21에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-α8 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-α8 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

컨센서스 IFN-α 폴리펩티드 변이체

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-α 변이체는 변형된 컨센서스 IFN-α 사이토카인으로, 상기한 IFN-α2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 이내에 구조 관련 변형된 아미노산의 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 232 (도 9에 개시된 아미노산 서열과 같이)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 이러한 대체

(들)은 비변형 컨센서스 IFN- α 에 비해, 혈청과 인큐베이션 또는 혈액 용해물과 또는 프로테아제와의 인큐베이션에 의해 평가되는 (상기한 바와 같은), 프로테아제에 대한 더 큰 저항성을 도모한다. 이들 일부 구현에서, 변형된 컨센서스 IFN- α 변이체는, 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159 아미노산 위치 또는: 27, 33, 41, 59, 79, 90, 108, 110, 111, 112, 114, 118, 122, 126, 134, 및 160 아미노산 위치의 임의에 해당하는, SEQ ID NO: 232 (도 9에 개시된 아미노산 서열과 같은)의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 컨센서스 IFN- α 변이체는, [D99N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드 변이체이다; (a) 도 24에 개시된 인페르겐 (인터페론 알파콘-1) 아미노산 서열의 위치 99 아미노산인 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 24의 D99는 도 9의 D71에 해당함), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 컨센서스 IFN- α 변이체는, [D99N, D105N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N, D105N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드 변이체이다; (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99 및 105의 아미노산인 천연 아스파르트산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 24의 D99 및 D107는 도 9의 D71 및 D77에 각각 해당함), 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 컨센서스 IFN- α 변이체는, [D99N, D105N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N, D105N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드 변이체이다; (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99, 105 및 134의 아미노산인 천연 아스파르트산, 아스파르트산 및 글루탐산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 24의 D99, D105, 및 E134는 도 9의 D71, D77 및 E106에 각각 해당함), 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 컨센서스 IFN- α 변이체는, [D99N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드 변이체이다; (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99 및 134의 아미노산인 천연 아스파르트산 및 글루탐산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 24의 D99 및 E134는 도 9의 D71 및 E106에 각각 해당함), 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 컨센서스 IFN- α 변이체는, [D105N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드이며, 여기에서 [D105N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드 변이체이다; (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 105 및 134의 아미노산인 천연 아스파르트산 및 글루탐산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 24의 D105 및 E134는 도 9의 D77 및 E106에 각각 해당함), 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 컨센서스 IFN- α 변이체는, [D99N, D105N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N, D105N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드 변이체이다; (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99, 105의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기; (b) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 24의 D99, D105, 및 E134는 도 9의 D71, D77 및 E106에 각각 해당함), 및 (c) 상기 각각의 아스파라긴 및 트레오닌 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 컨센서스 IFN- α 변이체는, [D99N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드 변이체이다; (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기; (b) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 24의 D99, 및 E134는 도 9의 D71, 및 E106에 각각 해당함), 및 (c) 상기 각각의 아스파라긴 및 트레오닌 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 컨센서스 IFN- α 변이체는, [D105N, E134T] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드이며, 여기에서 [D105N, E134T] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는, 다음을 가지는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드 변이체이다; (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 105의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기; (b) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 24의 D105, 및 E134는 도 9의 D77, 및 E106에 각각 해당함), 및 (c) 상기 각각의 아스파라긴 및 트레오닌 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트

여기에 사용된 "하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트"는, 그 아미노산 동일성 및 개수에 있어 상이한 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 아고니스트 하부 서열에 해당하는 별개의 하부 서열들을 포함하는 아미노산 서열 포함 폴리펩티드로써, 대상 폴리펩티드 아고니스트의 아미노산 서열은, 임의의 천연 발생 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 그것과 상이하다. 일부 구현에서, 폴리펩티드 변이체는, IFN- α 2b, IFN- α 14, IFN- β 1, 및 IFN- ω 로부터 선택되는 별개의 하부서열들로 이루어지며, 폴리펩티드 변이체 아고니스트의 아미노산 서열은, IFN- α 2b, IFN- α 14, IFN- β 1, 및 IFN- ω 의 아미노산 서열들과 상이하다. 다른 구현에서, 폴리펩티드 변이체는, IFN- α 2b, IFN- α 14, IFN- β 1, 인페르겐® 컨센서스 IFN- α , 및 IFN- ω 로부터 선택되는 별개의 하부서열들로 이루어지며, 폴리펩티드 변이체의 아미노산 서열은, IFN- α 2b, IFN- α 14, IFN- β 1, 인페르겐® 컨센서스 IFN- α , 및 IFN- ω 의 아미노산 서열들과 상이하다.

적절한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 임의의 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 형태를 포함한다. 한 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체는, 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 가지고; 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 절단 부위를 포함한다.

한 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, [D99N] IFN- α 2a 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N] IFN- α 2a 글리코펩티드는, IFN- α 2a 아미노산 서열의 위치 99 아미노산에서의 천연 아스파르트산 잔기 대신 아스파라긴 잔기를 가지는 IFN- α 2a 변이체이고; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 프로테아제 저항성 [D99N, D105N] IFN- α 2a 글리코펩티드로 프로테아제 저항성 [D99N, D105N] IFN- α 2a 글리코펩티드는 다음을 포함하며, (a) IFN- α 2a 아미노산 서열의 위치 99 및 105의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (D99, 및 D105 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고, 이는 도 1에 개시된 IFN- α 2a 아미노산 서열의 D71 및 D77 각각에 해당함), 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다. IFN- α 2a의 아미노산 서열은, 도 24에 개시된 IFN- α 2b의 아미노산 서열과 동일함을 인지하여야 하며, 단, IFN- α 2a 서열은, 도 24에 개시된 IFN- α 2b 서열의 위치 50 아미노산에서의 아르기닌 잔기 (도 2의 IFN- α 2b 서열에서 R50에 해당) 대신 라이신 잔기를 가지는 것이다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, [D99N] IFN- α 2b 글리코펩티드이며, 여기에서 [D99N] IFN- α 2b 글리코펩티드는, 도 24의 IFN- α 2b 아미노산 서열의 위치 99 아미노산에서의 천연 아스파르트산 잔기 대신 아스파라긴 잔기를 가지는 IFN- α 2b 변이체이고; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 프로테아제 저항성 [D99N, D105N] IFN- α 2b 글리코펩티드로, 프로테아제 저항성 [D99N, D105N] IFN- α 2b 글리코펩티드는 다음을 포함하는 IFN- α 2b의 변이체이고, (a) 도 24에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 위치 99 및 105의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (D99, 및 D105 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고, 이는 도 2에 개시된 IFN- α 2b 아미노산 서열의 D71 및 D77 각각에 해당함), 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로, [D99N] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는 다음을 포함하는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체이고, (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스

파라긴 잔기 (D99 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고, 이는 도 9에 개시된 컨센서스 IFN- α 아미노산 서열의 D71에 해당함), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 절단 부위에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이며; 여기에서 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, D105N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로 [D99N, D105N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는 다음을 포함하는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체로, (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99 및 105의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (D99, 및 D105 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고, 이는 도 9에 개시된 컨센서스 IFN- α 아미노산 서열의 D71 및 D77 각각에 해당함), 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 절단 부위에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 [D99N, D105N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로, [D99N, D105N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는 다음을 포함하는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체로, (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99, 105 및 134의 아미노산 천연 아스파르트산, 아스파르트산, 및 글루탐산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (D99, D105 및 D134 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고, 이는 도 9에 개시된 컨센서스 IFN- α 아미노산 서열의 D71, D77 및 E106 각각에 해당함), 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 절단 부위에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로, [D99N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체로, 다음을 포함하며, (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99 및 134의 아미노산 천연 아스파르트산 및 글루탐산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (D99, 및 D134 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고, 이는 도 9에 개시된 컨센서스 IFN- α 아미노산 서열의 D71 및 E106 각각에 해당함), 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 절단 부위에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D105N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로, [D105N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체로, 다음을 포함하며, (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 105 및 134의 아미노산 천연 아스파르트산 및 글루탐산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (D105 및 E134 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고, 이는 도 9에 개시된 컨센서스 IFN- α 아미노산 서열의 D77 및 E106 각각에 해당함), 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 절단 부위에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 [D99N, D105N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로, [D99N, D105N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드의 변이체로, 다음을 포함하며, (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99, 105의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기; (b) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기 (D99, D105, 및 E134 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고, 도 9에 개시된 컨센서스 IFN- α 의 아미노산 서열의 D71, D77 및 E106에 각각 해당함), 및 (c) 상기 각각의 아스파라긴 및 트레오닌 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 절단 부위에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 [D99N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로, [D99N, E134T]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체로, 다음을 포함하며, (a) 도 24에 개시된 인페르겐 아미노산 서열의 위치 99의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기 대

신 치환된 아스파라긴 잔기; (b) 도 24에 개시된 인페르젠 아미노산 서열의 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기 (D99, 및 E134 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고, 도 9에 개시된 컨센서스 IFN- α 의 아미노산 서열의 D71, 및 E106에 각각 해당함), 및 (c) 상기 각각의 아스파라긴 및 트레오닌 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 [D105N, E134T] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드로, [D105N, E134T] 인터페론 알파콘-1 글리코펩티드는 인터페론 알파콘-1 폴리펩티드의 변이체로, 다음을 포함하며, (a) 도 24에 개시된 인페르젠 아미노산 서열의 위치 105의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기; (b) 도 24에 개시된 인페르젠 아미노산 서열의 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기 (D105, 및 E134 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고, 도 9에 개시된 컨센서스 IFN- α 의 아미노산 서열의 D77, 및 E106에 각각 해당함), 및 (c) 상기 각각의 아스파라긴 및 트레오닌 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 도 24에 개시된 '주요' 컨센서스 타입 I 인터페론 아미노산 서열이고; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드로, [D99N] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드는 다음을 포함하는 도 24에 개시된 "주요" 아미노산 서열이고, (a) "주요" 아미노산 서열의 위치 99의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 도 24에 개시된 "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 아미노산 서열이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, D105N] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드로, [D99N, D105N] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드는 도 24에 개시된 "주요" 아미노산 서열로 다음을 포함하며, (a) "주요" 아미노산 서열의 위치 99 및 105의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 도 24에 개시된 "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 아미노산 서열이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, D105N, E134N] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드로, [D99N, D105N, E134N] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드는 도 24에 개시된 "주요" 아미노산 서열로 다음을 포함하며, (a) "주요" 아미노산 서열의 위치 99, 105, 및 134의 아미노산 천연 아스파르트산, 아스파르트산 및 글루탐산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 도 24에 개시된 "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 아미노산 서열이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, E134N] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드로, [D99N, E134N] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드는 도 24에 개시된 "주요" 아미노산 서열로 다음을 포함하며, (a) "주요" 아미노산 서열의 위치 99, 및 134의 아미노산 천연 아스파르트산, 및 글루탐산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (여기에서 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음) 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 도 24에 개시된 "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 아미노산 서열이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D105N, E134N] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드로, [D105N, E134N] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드는 도 24에 개시된 "주요" 아미노산 서열로 다음을 포함하며, (a) "주요" 아미노산 서열의 위치 105 및 134의 아미노산 천연 아스파르트산, 및 글루탐산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (여기에서 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음) 및 (b) 상기 각각의 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 도 24에 개시된 "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 아미노산 서열이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, D105N, E134T] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드로, [D99N, D105N, E134T] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드는 도 24에 개시된 "주요" 아미노산 서열로 다음을 포함하며, (a) "주요" 아미노산 서열의 위치 99, 및 105의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기들 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기, (b) "주요" 아미노산 서열의 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기 및 (c) 상기 각각의 아스파라긴 및 트레오닌 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 도 24에 개시된 "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 아미노산 서열이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D99N, E134T] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드로, [D99N, E134T] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드는 도 24에 개시된 "주요" 아미노산 서열로 다음을 포함하며, (a) "주요" 아미노산 서열의 위치 99의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, (b) "주요" 아미노산 서열의 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기 및 (c) 상기 각각의 아스파라긴 및 트레오닌 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 도 24에 개시된 "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 아미노산 서열이며; 부모 폴리펩티드의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, [D105N, E134T] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드로, [D105N, E134T] "주요" 컨센서스 타입 I 인터페론 글리코펩티드는 도 24에 개시된 "주요" 아미노산 서열로 다음을 포함하며, (a) "주요" 아미노산 서열의 위치 105의 아미노산 천연 아스파르트산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기, (b) "주요" 아미노산 서열의 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음) 및 (c) 상기 각각의 아스파라긴 및 트레오닌 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 자리에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

부모 하이브리드 타입 I 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 기술하기 위해 사용된 아미노산 대체 번호는 (부모 치료 단백질의 초글리코실화 변이체 생성 내용과 관련하여 논의됨), 여기에서 도 24에 개시된 타입 I 인터페론 아미노산 서열을 기술하기 위해 사용된 아미노산 번호 매김과 동일하다.

다른 면에서, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 치료 아고니스트의 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 치료 아고니스트와 비교하여, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 다음을 포함하는 정도로 상이하다; (1) 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 치료 아고니스트에서 발견되지 않는 비천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기 및/또는, (2) 부모 하이브리드 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 치료 아고니스트에서 발견되거나 글리코실화되지 않는 천연 글리코실화 부위에 공유 연결된 탄수화물 잔기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 컨센서스 IFN- α 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 컨센서스 IFN- α 변이체는, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

IFN- β 폴리펩티드 변이체

일부 구현에서, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 사이토카인 변이체는 IFN- β 변이체이다. 일부 구현에서, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- β 변이체는 다음 중 하나 이상에 해당하는 대체로, SEQ ID NO: 196 (또는 도 3에 개시된 아미노산 서열) 중 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함한다: M을 V로 위치 1에서, M을 I로 위치 1에서, M을 T로 위치 1에서, M을 Q로 위치 1에서, M을 A로 위치 1에서, L을 V로 위치 5에서, L을 I로 위치 5에서, L을 T로 위치 5에서, L을 Q로 위치 5에서, L을 H로 위치 5에서, L을 A로 위치 5에서, F를 I로 위치 8에서, F를 V로 위치 8에서, L을 V로 위치 9에서, L을 I로 위치 9에서, L을 T로 위치 9에서, L을 Q로 위치 9에서, L을 H로 위치

[illegible]

을 E로 위치 90에서, N을 K로 위치 90에서, N을 Q로 위치 90에서, N을 R로 위치 90에서, N을 S로 위치 90에서, N을 T로 위치 90에서, V를 D로 위치 91에서, V를 E로 위치 91에서, V를 K로 위치 91에서, V를 N로 위치 91에서, V를 Q로 위치 91에서, V를 R로 위치 91에서, V를 S로 위치 91에서, V를 T로 위치 91에서, Q를 D로 위치 94에서, Q를 E로 위치 94에서, Q를 Q로 위치 94에서, Q를 N로 위치 94에서, Q를 R로 위치 94에서, Q를 S로 위치 94에서, Q를 T로 위치 94에서, I를 D로 위치 95에서, I를 E로 위치 95에서, I를 K로 위치 95에서, I를 N로 위치 95에서, I를 Q로 위치 95에서, I를 R로 위치 95에서, I를 S로 위치 95에서, I를 T로 위치 95에서, H를 D로 위치 97에서, H를 E로 위치 97에서, H를 K로 위치 97에서, H를 N로 위치 97에서, H를 Q로 위치 97에서, H를 R로 위치 97에서, H를 S로 위치 97에서, H를 T로 위치 97에서, L을 D로 위치 98에서, L을 E로 위치 98에서, L을 K로 위치 98에서, L을 N로 위치 98에서, L을 Q로 위치 98에서, L을 R로 위치 98에서, L을 S로 위치 98에서, L을 T로 위치 98에서, V를 D로 위치 101에서, V를 E로 위치 101에서, V를 K로 위치 101에서, V를 N로 위치 101에서, V를 Q로 위치 101에서, V를 R로 위치 101에서, V를 S로 위치 101에서, V를 T로 위치 101에서, M을 C로 위치 1에서, L을 C로 위치 6에서, Q를 C로 위치 10에서, S를 C로 위치 13에서, Q를 C로 위치 16에서, L을 C로 위치 17에서, V를 C로 위치 101에서, L을 C로 위치 98에서, H를 C로 위치 97에서, Q를 C로 위치 94에서, V를 C로 위치 91에서, 또는 N을 C로 위치 90에서, 여기에서, 잔기 1은, SEQ ID NO: 196에 개시된 성숙 IFN- β 사이토카인의 잔기 1에 해당하며; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 추가로 포함한다.

3차원 구조 유사체

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 인터페론 변이체는 변형된 IFN- β 사이토카인으로, 상기 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 내에 구조 관련 변형 아미노산 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 196 (도 3에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서, 대체 (들)은, 비변형 IFN- β 과 비교하여, 프로테아제 또는 혈액 용해물과 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션에 의해 평가할 때 (상기한 바와 같이), 프로테아제에 대한 제고된 저항성을 유도하는 것이다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- β 는 다음 아미노산 위치의 임의의 것에 해당하는, SEQ ID NO: 196 (도 3에 개시된 바와 같은) 중 하나 이상의 목적 아미노산 위치에서 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며: 39, 42, 45, 47, 52, 67, 71, 73, 81, 107, 108, 109, 110, 111, 113, 116, 120, 123, 124, 128, 130, 134, 136, 137, 163 및 165; 여기에서 돌연변이는, 천연 아미노산 잔기 (들)의 대체, 결실 및 첨가를 포함하고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 인터페론 변이체는 변형된 IFN- β 사이토카인으로, 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 대체는, 다음에 해당하는 SEQ ID NO: 196 (도 3에 개시된 바와 같은) 중의 아미노산 치환으로부터 선택된다: D를 Q로 위치 39에서, D를 H로 위치 39에서, D를 G로 위치 39에서, E를 Q로 위치 42에서, E를 H로 위치 42에서, K를 Q로 위치 45에서, K를 T로 위치 45에서, K를 S로 위치 45에서, K를 H로 위치 45에서, L을 V로 위치 47에서, L을 I로 위치 47에서, L을 T로 위치 47에서, L을 Q로 위치 47에서, L을 H로 위치 47에서, L을 A로 위치 47에서, K를 Q로 위치 52에서, K를 T로 위치 52에서, K를 S로 위치 52에서, K를 H로 위치 52에서, F를 I로 위치 67에서, F를 V로 위치 67에서, R을 H로 위치 71에서, R을 Q로 위치 71에서, D를 H로 위치 73에서, D를 G로 위치 73에서, D를 Q로 위치 73에서, E를 Q로 위치 81에서, E를 H로 위치 81에서, E를 Q로 위치 107에서, E를 H로 위치 107에서, K를 Q로 위치 108에서, K를 T로 위치 108에서, K를 S로 위치 108에서, K를 H로 위치 108에서, E를 Q로 위치 109에서, E를 H로 위치 109에서, D를 Q로 위치 110에서, D를 H로 위치 110에서, D를 G로 위치 110에서, F를 I로 위치 111에서, F를 V로 위치 111에서, R을 H로 위치 113에서, R을 Q로 위치 113에서, L을 V로 위치 116에서, L을 I로 위치 116에서, L을 T로 위치 116에서, L을 Q로 위치 116에서, L을 H로 위치 116에서, L을 A로 위치 116에서, L을 V로 위치 120에서, L을 I로 위치 120에서, L을 T로 위치 120에서, L을 Q로 위치 120에서, L을 H로 위치 120에서, L을 A로 위치 120에서, K를 Q로 위치 123에서, K를 T로 위치 123에서, K를 S로 위치 123에서, K를 H로 위치 123에서, R을 H로 위치 124에서, R을 Q로 위치 124에서, R을 H로 위치 128에서, R을 Q로 위치 128에서, L을 V로 위치 130에서, L을 I로 위치 130에서, L을 T로 위치 130에서, L을 Q로 위치 130에서, L을 H로 위치 130에서, L을 A로 위치 130에서, K를 Q로 위치 134에서, K를 T로 위치 134에서, K를 S로 위치 134에서, K를 H로 위치 134에서, K를 Q로 위치 136에서, K를 T로 위치 136에서, K를 S로 위치 136에서, K를 H로 위치 136에서, E를 Q로 위치 137에서, E를 H로 위치 137에서, Y를 H로 위치 163에서, Y를 I로 위치 163에서, R을 H로 위치 165에서, 또는 R을 Q로 위치 165에서; 여기에서 기재된 제 1 아미노산은 표시된 위치에서 제 2의 아미노산으로 치환되며; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈

청과 인큐베이션후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체는 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 인터페론 변이체는 변형된 IFN- β 1 사이토카인으로, 상기 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 내에 구조 관련 변형 아미노산 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 197 (도 22에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서, 대체 (들)은, 비변형 IFN- β 1 과 비교하여, 프로테아제 또는 혈액 용해물과의 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션에 의해 평가할 때 (상기한 바와 같이), 프로테아제에 대한 제고된 저항성을 유도하는 것이다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- β 1은 다음 아미노산 위치의 임의의 것에 해당하는, SEQ ID NO: 197 (도 22에 개시된 바와 같은) 중 하나 이상의 목적 아미노산 위치에서 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며: 39, 42, 45, 47, 52, 67, 71, 73, 81, 107, 108, 109, 110, 111, 113, 116, 120, 123, 124, 128, 130, 134, 136, 137, 163 및 165; 여기에서 돌연변이는, 천연 아미노산 잔기 (들)의 대체, 결실 및 첨가를 포함하고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 1 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 1 변이체는 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 인터페론 변이체는 변형된 IFN- β 2a 사이토카인으로, 상기 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 내에 구조 관련 변형 아미노산 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 198 (도 23에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서, 대체 (들)은, 비변형 IFN- β 2a 과 비교하여, 프로테아제 또는 혈액 용해물과의 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션에 의해 평가할 때 (상기한 바와 같이), 프로테아제에 대한 제고된 저항성을 유도하는 것이다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN- β 2a 는 다음 아미노산 위치의 임의의 것에 해당하는, SEQ ID NO: 198 (도 23에 개시된 바와 같은) 중 하나 이상의 목적 아미노산 위치에서 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며: 39, 42, 45, 47, 52, 67, 71, 73, 81, 107, 108, 109, 110, 111, 113, 116, 120, 123, 124, 128, 130, 134, 136, 137, 163 및 165; 여기에서 돌연변이는, 천연 아미노산 잔기 (들)의 대체, 결실 및 첨가를 포함하고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 2a 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 2a 변이체는 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가진다.

다른 면에서, 본 발명은, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체의 사이토카인 구조 유사체를 제공하며, 여기에서, 유사체는 변형된 IFN- β 의 3차원 구조 내에 3차원 구조적으로 유사하게 변형된 위치에 해당하는 위치에서 하나 이상의 아미노산 대체를 포함한다. 많은 구현에서, 유사체는, 비변형 사이토카인 대응물과 비교하여 단백질분해에 대해 증가된 저항성을 가지며, 여기에서 단백질분해에 대한 저항성은, 상기한 바와 같이 시험관내 프로테아제의 혼합물을 혈액과 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션하여 측정한다. 많은 구현에서 사이토카인은 IFN- β 사이토카인이다.

다른 면에서, 본 발명은, 변형된 IFN- β 사이토카인 (일례로 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체)를 제공하며, 이는, 임의의 상기한 IFN- β 변형된 사이토카인의 3차원 구조 내에 구조 관련 변형 아미노산 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 196 (도 3에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서 대체는, 비변형 IFN- β 와 비교하여, 프로테아제 또는 혈액 용해물과의 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션에 의해 평가할 때 프로테아제에 대한 제고된 저항성을 유도하는 것이다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 적절한 세포 내에서 세포 증식을 촉진 또는 바이러스 복제를 억제하는 잔류 생활성을 측정하여 평가한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 생활성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션후, 적절한 세포 내에서 세포 증식을 억제 또는 적절한 세포 내에서 바이러스 복제를 억제하는 능력을 측정하여 평가한다.

일부 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체 ('변형된 IFN- β 사이토카인')은, 다음의 대체에 해당하는 SEQ ID NO: 196 (도 3에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 단백질 군으로부터 선택된다: M을 V로 위치 1에서, M을 I로 위치 1에서, M을 T로 위치 1에서, M을 Q로 위치 1에서, M을 A로 위치 1에서, L을 V로 위치 5에서, L을 I로 위치 5에서, L을 T로 위치 5에서, L을 Q로 위치 5에서, L을 H로 위치 5에서, L을 A로 위치 5에서, F를 I로 위치 8에서, F를 V로 위치 8에서, L을 V로 위치 9에서, L을 I로 위치 9에서, L을 T로 위치 9에서, L을 Q로 위치 9에서, L을 H로 위치 9에서, L을 A로 위치 9에서, R을 H로 위치 11에서, R을 Q로 위치 11에서, F를 I로 위치 15에서, F를 V로 위치 15에서, K를 Q로 위치 19에서, K를 T로 위치 19에서, K를 S로 위치 19에서, K를 H로 위치 19에서, W를 S로 위치 22에서, W를 H로 위치 22에서, N을 H로 위치 25에서, N을 S로 위치 25에서, N을 Q로 위치 25에서, R을 H로 위치 27에서, R을 Q로 위치 27에서, L을 V로 위치 28에서, L을 I로 위치 28에서, L을 T로 위치 28에서, L을 Q로 위치 28에서, L을 H로 위치 28에서, L을 A로 위치 28에서, E를 Q로 위치 29에서, E를 H로 위치 29에서, Y를 H로 위치 30에서, Y를 I로 위치 30에서, L을 V로 위치 32에서, L을 I로 위치 32에서, L을 T로 위치 32에서, L을 Q로 위치 32에서, L을 H로 위치 32에서, L을 A로 위치 32에서, K를 Q로 위치 33에서, K를 T로 위치 33에서, K를 S로 위치 33에서, K를 H로 위치 33에서, R을 H로 위치 35에서, R을 Q로 위치 35에서, M을 V로 위치 36에서, M을 I로 위치 36에서, M을 T로 위치 36에서, M을 Q로 위치 36에서, M을 A로 위치 36에서, D를 Q로 위치 39에서, D를 H로 위치 39에서, D를 G로 위치 39에서, E를 Q로 위치 42에서, E를 H로 위치 42에서, K를 Q로 위치 45에서, K를 T로 위치 45에서, K를 S로 위치 45에서, K를 H로 위치 45에서, L을 V로 위치 47에서, L을 I로 위치 47에서, L을 T로 위치 47에서, L을 Q로 위치 47에서, L을 H로 위치 47에서, L을 A로 위치 47에서, K를 Q로 위치 52에서, K를 T로 위치 52에서, K를 S로 위치 52에서, K를 H로 위치 52에서, F를 I로 위치 67에서, F를 V로 위치 67에서, R을 H로 위치 71에서, R을 Q로 위치 71에서, D를 Q로 위치 73에서, D를 H로 위치 73에서, D를 G로 위치 73에서, E를 Q로 위치 81에서, E를 H로 위치 81에서, E를 Q로 위치 85에서, E를 H로 위치 85에서, Y를 H로 위치 92에서, Y를 I로 위치 92에서, K를 Q로 위치 99에서, K를 T로 위치 99에서, K를 S로 위치 99에서, K를 H로 위치 99에서, E를 Q로 위치 103에서, E를 H로 위치 103에서, E를 Q로 위치 104에서, E를 H로 위치 104에서, K를 Q로 위치 105에서, K를 T로 위치 105에서, K를 S로 위치 105에서, K를 H로 위치 105에서, E를 Q로 위치 107에서, E를 H로 위치 107에서, K를 Q로 위치 108에서, K를 T로 위치 108에서, K를 S로 위치 108에서, K를 H로 위치 108에서, E를 Q로 위치 109에서, E를 H로 위치 109에서, D를 Q로 위치 110에서, D를 H로 위치 110에서, D를 G로 위치 110에서, F를 I로 위치 111에서, F를 V로 위치 111에서, R을 H로 위치 113에서, R을 Q로 위치 113에서, L을 V로 위치 116에서, L을 I로 위치 116에서, L을 T로 위치 116에서, L을 Q로 위치 116에서, L을 H로 위치 116에서, L을 A로 위치 116에서, L을 V로 위치 120에서, L을 I로 위치 120에서, L을 T로 위치 120에서, L을 Q로 위치 120에서, L을 H로 위치 120에서, L을 A로 위치 120에서, K를 Q로 위치 123에서, K를 T로 위치 123에서, K를 S로 위치 123에서, K를 H로 위치 123에서, R을 H로 위치 124에서, R을 Q로 위치 124에서, R을 H로 위치 128에서, R을 Q로 위치 128에서, L을 V로 위치 130에서, L을 I로 위치 130에서, L을 T로 위치 130에서, L을 Q로 위치 130에서, L을 H로 위치 130에서, L을 A로 위치 130에서, K를 Q로 위치 134에서, K를 T로 위치 134에서, K를 S로 위치 134에서, K를 H로 위치 134에서, K를 Q로 위치 136에서, K를 T로 위치 136에서, K를 S로 위치 136에서, K를 H로 위치 136에서, E를 Q로 위치 137에서, E를 H로 위치 137에서, Y를 H로 위치 138에서, Y를 I로 위치 138에서, R을 H로 위치 152에서, R을 Q로 위치 152에서, Y를 H로 위치 155에서, Y를 I로 위치 155에서, R을 H로 위치 159에서, R을 Q로 위치 159에서, Y를 H로 위치 163에서, Y를 I로 위치 163에서, R을 H로 위치 165에서, R을 Q로 위치 165에서, M을 D로 위치 1에서, M을 E로 위치 1에서, M을 K로 위치 1에서, M을 N로 위치 1에서, M을 R로 위치 1에서, M을 S로 위치 1에서, L을 D로 위치 5에서, L을 E로 위치 5에서, L을 K로 위치 5에서, L을 N로 위치 5에서, L을 R로 위치 5에서, L을 S로 위치 5에서, L을 D로 위치 6에서, L을 E로 위치 6에서, L을 K로 위치 6에서, L을 N로 위치 6에서, L을 R로 위치 6에서, L을 S로 위치 6에서, L을 Q로 위치 6에서, L을 T로 위치 6에서, F를 E로 위치 8에서, F를 K로 위치 8에서, F를 R로 위치 8에서, F를 D로 위치 8에서, L을 D로 위치 9에서, L을 E로 위치 9에서, L을 K로 위치 9에서, L을 N로 위치 9에서, L을 R로 위치 9에서, L을 S로 위치 9에서, Q를 D로 위치 10에서, Q를 E로 위치 10에서, Q를 K로 위치 10에서, Q를 N로 위치 10에서, Q를 R로 위치 10에서, Q를 S로 위치 10에서, Q를 T로 위치 10에서, S를 D로 위치 12에서, S를 E로 위치 12에서, S를 K로 위치 12에서, S를 R로 위치 12에서, S를 D로 위치 13에서, S를 E로 위치 13에서, S를 K로 위치 13에서, S를 R로 위치 13에서, S를 N로 위치 13에서, S를 Q로 위치 13에서, S를 T로 위치 13에서, N을 D로 위치 14에서, N을 E로 위치 14에서, N을 K로 위치 14에서, N을 Q로 위치 14에서, N을 R로 위치 14에서, N을 S로 위치 14에서, N을 T로 위치 14에서, F를 D로 위치 15에서, F를 E로 위치 15에서, F를 K로 위치 15에서, F를 R로 위치 15에서, Q를 D로 위치 16에서, Q를 E로 위치 16에서, Q를 K로 위치 16에서, Q를 N로 위치 16에서, Q를 R로 위치 16에서, Q를 S로 위치 16에서, Q를 T로 위치 16에서, C를 D로 위치 17에서, C를 E로 위치 17에서, C를 K로 위치 17에서, C를 N로 위치 17에서, C를 Q로 위치 17에서, C를 R로 위치 17에서, C를 S로 위치 17에서, C를 T로 위치 17에서, L을 N로 위치 20에서, L을

Q로 위치 20에서, L을 R로 위치 20에서, L을 S로 위치 20에서, L을 T로 위치 20에서, L을 D로 위치 20에서, L을 E로 위치 20에서, L을 K로 위치 20에서, W를 D로 위치 22에서, W를 E로 위치 22에서, W를 K로 위치 22에서, W를 R로 위치 22에서, Q를 D로 위치 23에서, Q를 E로 위치 23에서, Q를 K로 위치 23에서, Q를 R로 위치 23에서, L을 D로 위치 24에서, L을 E로 위치 24에서, L을 K로 위치 24에서, L을 R로 위치 24에서, W를 D로 위치 79에서, W를 E로 위치 79에서, W를 K로 위치 79에서, W를 R로 위치 79에서, N을 D로 위치 80에서, N을 E로 위치 80에서, N을 K로 위치 80에서, N을 R로 위치 80에서, T를 D로 위치 82에서, T를 E로 위치 82에서, T를 K로 위치 82에서, T를 R로 위치 82에서, I를 D로 위치 83에서, I를 E로 위치 83에서, I를 K로 위치 83에서, I를 R로 위치 83에서, I를 N로 위치 83에서, I를 Q로 위치 83에서, I를 S로 위치 83에서, I를 T로 위치 83에서, N을 D로 위치 86에서, N을 E로 위치 86에서, N을 K로 위치 86에서, N을 R로 위치 86에서, N을 Q로 위치 86에서, N을 S로 위치 86에서, N을 T로 위치 86에서, L을 D로 위치 87에서, L을 E로 위치 87에서, L을 K로 위치 87에서, L을 R로 위치 87에서, L을 N로 위치 87에서, L을 Q로 위치 87에서, L을 S로 위치 87에서, L을 T로 위치 87에서, A를 D로 위치 89에서, A를 E로 위치 89에서, A를 K로 위치 89에서, A를 R로 위치 89에서, N을 D로 위치 90에서, N을 E로 위치 90에서, N을 K로 위치 90에서, N을 Q로 위치 90에서, N을 R로 위치 90에서, N을 S로 위치 90에서, N을 T로 위치 90에서, V를 D로 위치 91에서, V를 E로 위치 91에서, V를 K로 위치 91에서, V를 N로 위치 91에서, V를 Q로 위치 91에서, V를 R로 위치 91에서, V를 S로 위치 91에서, V를 T로 위치 91에서, Q를 D로 위치 94에서, Q를 E로 위치 94에서, Q를 K로 위치 94에서, Q를 N로 위치 94에서, Q를 R로 위치 94에서, Q를 S로 위치 94에서, Q를 T로 위치 94에서, I를 D로 위치 95에서, I를 E로 위치 95에서, I를 K로 위치 95에서, I를 N로 위치 95에서, I를 Q로 위치 95에서, I를 R로 위치 95에서, I를 S로 위치 95에서, I를 T로 위치 95에서, H를 D로 위치 97에서, H를 E로 위치 97에서, H를 K로 위치 97에서, H를 N로 위치 97에서, H를 Q로 위치 97에서, H를 R로 위치 97에서, H를 S로 위치 97에서, H를 T로 위치 97에서, L을 D로 위치 98에서, L을 E로 위치 98에서, L을 K로 위치 98에서, L을 N로 위치 98에서, L을 Q로 위치 98에서, L을 R로 위치 98에서, L을 S로 위치 98에서, L을 T로 위치 98에서, V를 D로 위치 101에서, V를 E로 위치 101에서, V를 K로 위치 101에서, V를 N로 위치 101에서, V를 Q로 위치 101에서, V를 R로 위치 101에서, V를 S로 위치 101에서, V를 T로 위치 101에서, M을 C로 위치 1에서, L을 C로 위치 6에서, Q를 C로 위치 10에서, S를 C로 위치 13에서, Q를 C로 위치 16에서, L을 C로 위치 17에서, V를 C로 위치 101에서, L을 C로 위치 98에서, H를 C로 위치 97에서, Q를 C로 위치 94에서, V를 C로 위치 91에서, 또는 N을 C로 위치 90에서 또는 이들 대체의 임의의 조합이며, 여기에서 잔기 1은, SEQ ID NO: 196 (도 3에 개시된 바와 같은)에 개시된 성숙 IFN- β 사이토카인의 잔기 1에 해당하고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체 ('변형된 IFN- β 사이토카인')는, 다음의 대체에 해당하는 SEQ ID NO: 196 (도 3에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 단백질 군으로부터 선택되고: D를 Q로 위치 39에서, D를 H로 위치 39에서, D를 G로 위치 39에서, E를 Q로 위치 42에서, E를 H로 위치 42에서, K를 Q로 위치 45에서, K를 T로 위치 45에서, K를 S로 위치 45에서, K를 H로 위치 45에서, L을 V로 위치 47에서, L을 I로 위치 47에서, L을 T로 위치 47에서, L을 Q로 위치 47에서, L을 H로 위치 47에서, L을 A로 위치 47에서, K를 Q로 위치 52에서, K를 T로 위치 52에서, K를 S로 위치 52에서, K를 H로 위치 52에서, F를 I로 위치 67에서, F를 V로 위치 67에서, R을 H로 위치 71에서, R을 Q로 위치 71에서, D를 H로 위치 73에서, D를 G로 위치 73에서, D를 Q로 위치 73에서, E를 Q로 위치 81에서, E를 H로 위치 81에서, E를 Q로 위치 107에서, E를 H로 위치 107에서, K를 Q로 위치 108에서, K를 T로 위치 108에서, K를 S로 위치 108에서, K를 H로 위치 108에서, E를 Q로 위치 109에서, E를 H로 위치 109에서, D를 Q로 위치 110에서, D를 H로 위치 110에서, D를 G로 위치 110에서, F를 I로 위치 111에서, F를 V로 위치 111에서, R을 H로 위치 113에서, R을 Q로 위치 113에서, L을 V로 위치 116에서, L을 I로 위치 116에서, L을 T로 위치 116에서, L을 Q로 위치 116에서, L을 H로 위치 116에서, L을 A로 위치 116에서, L을 V로 위치 120에서, L을 I로 위치 120에서, L을 T로 위치 120에서, L을 Q로 위치 120에서, L을 H로 위치 120에서, L을 A로 위치 120에서, K를 Q로 위치 123에서, K를 T로 위치 123에서, K를 S로 위치 123에서, K를 H로 위치 123에서, R을 H로 위치 124에서, R을 Q로 위치 124에서, R을 H로 위치 128에서, R을 Q로 위치 128에서, L을 V로 위치 130에서, L을 I로 위치 130에서, L을 T로 위치 130에서, L을 Q로 위치 130에서, L을 H로 위치 130에서, L을 A로 위치 130에서, K를 Q로 위치 134에서, K를 T로 위치 134에서, K를 S로 위치 134에서, K를 H로 위치 134에서, K를 Q로 위치 136에서, K를 T로 위치 136에서, K를 S로 위치 136에서, K를 H로 위치 136에서, E를 Q로 위치 137에서, E를 H로 위치 137에서, Y를 H로 위치 163에서, Y를 I로 위치 163에서, R을 H로 위치 165에서, 또는 R을 Q로 위치 165에서, 또는 이들 대체의 임의의 조합이며, 여기에서 기재된 제 1 아미노산은 지시된 위치에서 제 2 아미노산에 의해 치환되고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

일부 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체 ('변형된 IFN- β 사이토카인')는, 다음의 대체에 해당하는 SEQ ID NO: 196 (도 3에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 단백질 군으로부터 선택되고: M을 V로 위치 1에서, M을 I로 위치 1에서, M을 T로 위치 1에서, M을 Q로 위치 1에서, M을 A로 위치 1에서, L을 V로 위치 5에서, L을 I로 위치 5에서, L을 T로 위치 5에서, L을 Q로 위치 5에서, L을 H로 위치 5에서, L을 A로 위치 5에서, F를 I

[illegible]

위치 87에서, A를 D로 위치 89에서, A를 E로 위치 89에서, A를 K로 위치 89에서, A를 R로 위치 89에서, N을 D로 위치 90에서, N을 E로 위치 90에서, N을 K로 위치 90에서, N을 Q로 위치 90에서, N을 R로 위치 90에서, N을 S로 위치 90에서, N을 T로 위치 90에서, V를 D로 위치 91에서, V를 E로 위치 91에서, V를 K로 위치 91에서, V를 N로 위치 91에서, V를 Q로 위치 91에서, V를 R로 위치 91에서, V를 S로 위치 91에서, V를 T로 위치 91에서, Q를 D로 위치 94에서, Q를 E로 위치 94에서, Q를 Q로 위치 94에서, Q를 N로 위치 94에서, Q를 R로 위치 94에서, Q를 S로 위치 94에서, Q를 T로 위치 94에서, I를 D로 위치 95에서, I를 E로 위치 95에서, I를 K로 위치 95에서, I를 N로 위치 95에서, I를 Q로 위치 95에서, I를 R로 위치 95에서, I를 S로 위치 95에서, I를 T로 위치 95에서, H를 D로 위치 97에서, H를 E로 위치 97에서, H를 K로 위치 97에서, H를 N로 위치 97에서, H를 Q로 위치 97에서, H를 R로 위치 97에서, H를 S로 위치 97에서, H를 T로 위치 97에서, L을 D로 위치 98에서, L을 E로 위치 98에서, L을 K로 위치 98에서, L을 N로 위치 98에서, L을 Q로 위치 98에서, L을 R로 위치 98에서, L을 S로 위치 98에서, L을 T로 위치 98에서, V를 D로 위치 101에서, V를 E로 위치 101에서, V를 K로 위치 101에서, V를 N로 위치 101에서, V를 Q로 위치 101에서, V를 R로 위치 101에서, V를 S로 위치 101에서, V를 T로 위치 101에서, M을 C로 위치 1에서, L을 C로 위치 6에서, Q를 C로 위치 10에서, S를 C로 위치 13에서, Q를 C로 위치 16에서, L을 C로 위치 17에서, V를 C로 위치 101에서, L을 C로 위치 98에서, H를 C로 위치 97에서, Q를 C로 위치 94에서, V를 C로 위치 91에서, N을 C로 위치 90에서, D를 Q로 위치 39에서, D를 H로 위치 39에서, D를 G로 위치 39에서, E를 Q로 위치 42에서, E를 H로 위치 42에서, K를 Q로 위치 45에서, K를 T로 위치 45에서, K를 S로 위치 45에서, K를 H로 위치 45에서, L을 V로 위치 47에서, L을 I로 위치 47에서, L을 T로 위치 47에서, L을 Q로 위치 47에서, L을 H로 위치 47에서, L을 A로 위치 47에서, K를 Q로 위치 52에서, K를 T로 위치 52에서, K를 S로 위치 52에서, K를 H로 위치 52에서, F를 I로 위치 67에서, F를 V로 위치 67에서, R을 H로 위치 71에서, R을 Q로 위치 71에서, D를 H로 위치 73에서, D를 G로 위치 73에서, D를 Q로 위치 73에서, E를 Q로 위치 81에서, E를 H로 위치 81에서, E를 Q로 위치 107에서, E를 H로 위치 107에서, K를 Q로 위치 108에서, K를 T로 위치 108에서, K를 S로 위치 108에서, K를 H로 위치 108에서, E를 Q로 위치 109에서, E를 H로 위치 109에서, D를 Q로 위치 110에서, D를 H로 위치 110에서, D를 G로 위치 110에서, F를 I로 위치 111에서, F를 V로 위치 111에서, R을 H로 위치 113에서, R을 Q로 위치 113에서, L을 V로 위치 116에서, L을 I로 위치 116에서, L을 T로 위치 116에서, L을 Q로 위치 116에서, L을 H로 위치 116에서, L을 A로 위치 116에서, L을 V로 위치 120에서, L을 I로 위치 120에서, L을 T로 위치 120에서, L을 Q로 위치 120에서, L을 H로 위치 120에서, L을 A로 위치 120에서, K를 Q로 위치 123에서, K를 T로 위치 123에서, K를 S로 위치 123에서, K를 H로 위치 123에서, R을 H로 위치 124에서, R을 Q로 위치 124에서, R을 H로 위치 128에서, R을 Q로 위치 128에서, L을 V로 위치 130에서, L을 I로 위치 130에서, L을 T로 위치 130에서, L을 Q로 위치 130에서, L을 H로 위치 130에서, L을 A로 위치 130에서, K를 Q로 위치 134에서, K를 T로 위치 134에서, K를 S로 위치 134에서, K를 H로 위치 134에서, K를 Q로 위치 136에서, K를 T로 위치 136에서, K를 S로 위치 136에서, K를 H로 위치 136에서, E를 Q로 위치 137에서, E를 H로 위치 137에서, Y를 H로 위치 163에서, Y를 I로 위치 163에서, R을 H로 위치 165에서, 또는 R을 Q로 위치 165에서, 또는 이들 대체의 임의의 조합이며, 여기에서 기재된 제 1 아미노산은 지시된 위치에서 제 2 아미노산에 의해 치환되고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

특별한 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체 ('변형된 IFN- β 사이토카인')는, 임의의 SEQ ID No. 234-289 및 989-1302에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 변형된 IFN- β 로 이루어지는 군으로부터 선택되고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

특별한 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- β 변이체 ('변형된 IFN- β 사이토카인')는, 표 2에 개시된 아미노산 대체 (IFN- β) 하나 이상을 포함하며; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

[표 2]

(IFN- β)

1. D39Q	16. D73Q	31. F111I	46. L130I
2. D39N	17. D73N	32. F111V	47. K134Q
3. E42Q	18. E81Q	33. R113H	48. K134N
4. E42N	19. E81N	34. R113Q	49. K136Q
5. E42H	20. E81H	35. L116V	50. K136N
6. K45Q	21. E107Q	36. L116I	51. E137Q
7. K45N	22. E107N	37. L120V	52. E137N
8. L47V	23. E107H	38. L120I	53. E137H
9. L47I	24. K108Q	39. K123Q	54. Y163H
10. K52Q	25. K108N	40. K123N	55. Y163I
11. K52N	26. E109Q	41. R124H	56. R165H
12. F67I	27. E109N	42. R124Q	57. R165Q
13. F67V	28. E109H	43. R128H	
14. R71H	29. D110Q	44. R128Q	
15. R71Q	30. D110N	45. L130V	

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- β 변이체는, IFN- β 1a의 변이체이고, 변이체는, [S99N]IFN- β 1a 글리코펩티드이며, [S99N]IFN- β 1a 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN- β 1a의 변이체이다; (a) IFN- β 1a의 아미노산 서열에서 위치 99의 아미노산 천연 세린 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (S99 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 3의 IFN- β 아미노산 서열 중 S74에 해당함), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- β 변이체는, IFN- β 1a의 변이체이고, 변이체는, [S99N, E134N]IFN- β 1a 글리코펩티드이며, [S99N, E134N]IFN- β 1a 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN- β 1a의 변이체이다; (a) IFN- β 1a의 아미노산 서열에서 위치 99 및 134의 아미노산 천연 세린 및 글루탐산 잔기 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (S99 및 E134 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 3의 IFN- β 아미노산 서열 중 S74 및 E109에 각각 해당함), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- β 변이체는, IFN- β 1a의 변이체이고, 변이체는, [S99N, E134N, F136T]IFN- β 1a 글리코펩티드이며, [S99N, E134N, F136T]IFN- β 1a 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN- β 1a의 변이체이다; (a) IFN- β 1a의 아미노산 서열에서 위치 99, 134 및 136의 아미노산 천연 세린, 글루탐산 및 페닐알라닌 잔기 각각 대신 치환된 아스파라긴, 아스파라긴 및 트레오닌 잔기 (S99 및 E134, F136 아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같고; 도 3의 IFN- β 아미노산 서열 중 S74 및 E109 및 F111에 각각 해당함), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기들의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- β 변이체는, IFN- β 1a의 변이체이고, 변이체는, [E134N]IFN- β 1a 글리코펩티드이며, [E134N]IFN- β 1a 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN- β 1a의 변이체이다; (a) IFN- β 1a의 아미노산 서열에서 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- β 변이체는, IFN- β 1a의 변이체이고, 변이체는, [E134N, F136T]IFN- β 1a 글리코펩티드이며, [E134N, F136T]IFN- β 1a 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN- β 1a의 변이체이다; (a) IFN- β 1a의 아미노산 서열에서 위치 134 및 136의 아미노산 천연 글루탐산 및 페닐알라닌 잔기 각각 대신 치환된 아스파라긴 및 트레오닌 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- β 변이체는, IFN- β 1a의 변이체이고, 변이체는, [E134T]IFN- β 1a 글리코펩티드이며, [E134T]IFN- β 1a 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN- β 1a의 변이체이다; (a) IFN- β 1a의 아미노산 서열에서 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기 (아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 트레오닌 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- β 변이체는, IFN- β 1a의 변이체이고, 변이체는, [S99N, E134T]IFN- β 1a 글리코펩티드이며, [S99N, E134T]IFN- β 1a 글리코펩티드는 다음을

가지는 IFN-β1a의 변이체이다; (a) IFN-β1a의 아미노산 서열에서 위치 99 및 134의 아미노산 천연 세린 및 글루탐산 잔기 각각 대신 치환된 아스파라긴 및 트레오닌 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 아스파라긴 및 트레오닌 잔기 각각의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN-β 변이체는 IFN-β1b의 변이체이고, 변이체는, [S99N]IFN-β1b 글리코펩티드이며, [S99N]IFN-β1b 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN-β1b의 변이체이다; (a) IFN-β1b의 아미노산 서열에서 위치 99의 아미노산 천연 세린 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN-β 변이체는, IFN-β1b의 변이체이고, 변이체는, [S99N, E134N]IFN-β1b 글리코펩티드이며, [S99N, E134N]IFN-β1b 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN-β1b의 변이체이다; (a) IFN-β1b의 아미노산 서열에서 위치 99 및 134의 아미노산 천연 세린 및 글루탐산 잔기 각각 대신 치환된 아스파라긴 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기들 각각의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN-β 변이체는, IFN-β1b의 변이체이고, 변이체는, [S99N, E134N, F136T]IFN-β1b 글리코펩티드이며, [S99N, E134N, F136T]IFN-β1b 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN-β1b의 변이체이다; (a) IFN-β1b의 아미노산 서열에서 위치 99, 134 및 136의 아미노산 천연 세린, 글루탐산 및 페닐알라닌 잔기 각각 대신 치환된 아스파라긴, 아스파라긴 및 트레오닌 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기들 각각의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN-β 변이체는 IFN-β1b의 변이체이고, 변이체는, [E134N]IFN-β1b 글리코펩티드이며, [E134N]IFN-β1b 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN-β1b의 변이체이다; (a) IFN-β1b의 아미노산 서열에서 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 아스파라긴 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN-β 변이체는, IFN-β1b의 변이체이고, 변이체는, [E134N, F136T]IFN-β1b 글리코펩티드이며, [E134N, F136T]IFN-β1b 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN-β1b의 변이체이다; (a) IFN-β1b의 아미노산 서열에서 위치 134 및 136의 아미노산 천연 글루탐산 및 페닐알라닌 잔기 각각 대신 치환된 아스파라긴 및 트레오닌 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 아스파라긴 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN-β 변이체는 IFN-β1b의 변이체이고, 변이체는, [E134T]IFN-β1b 글리코펩티드이며, [E134T]IFN-β1b 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN-β1b의 변이체이다; (a) IFN-β1b의 아미노산 서열에서 위치 134의 아미노산 천연 글루탐산 잔기 대신 치환된 트레오닌 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 트레오닌 잔기의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN-β 변이체는, IFN-β1b의 변이체이고, 변이체는, [S99N, E134T]IFN-β1b 글리코펩티드이며, [S99N, E134T]IFN-β1b 글리코펩티드는 다음을 가지는 IFN-β1b의 변이체이다; (a) IFN-β1b의 아미노산 서열에서 위치 99 및 134의 아미노산 천연 세린 및 글루탐산 잔기 각각 대신 치환된 아스파라긴 및 트레오닌 잔기(아미노산 위치는 도 24에 개시된 바와 같음), 및 (b) 상기 아스파라긴 및 트레오닌 잔기들 각각의 R기에 공유연결된 탄수화물기.

IFN-γ 폴리펩티드 변이체

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 인터페론 변이체는 변형된 IFN-γ 사이토카인으로, 상기 IFN-α2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 내에 구조 관련 변형 아미노산 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 199 (도 4에 개시된 바와 같음) 중의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서, 대체 (들)은, 비변형 IFN-γ 과 비교하여, 프로테아제 또는 혈액 용해물과의 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션에 의해 평가할 때 (상기한 바와 같이), 프로테아제에 대한 제고된 저항성을 유도하는 것이다. 이들 일부 구현에서, 변형된 IFN-γ 는 다음 아미노산 위치의 임의의 것에 해당하는, SEQ ID NO: 199 (도 4에 개시된 바와 같음) 중 하나 이상의 목적 아미노산 위치에서 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며: 33, 37, 40, 41, 42, 58, 61, 64, 65 및 66; 여기에서 돌연변이는, 천연 아미노산 잔기 (들)의 대체, 결실 및 첨가를 포함한다. 특별한 구현에서는, 하기 표 3에 개시된 SEQ ID NO: 199 중의 아미노산 대체

로부터 대체가 선택되며, 여기에서 기재된 제 1 아미노산은 표시한 위치에서 제 2 아미노산으로 치환되고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

[표 3]

1.	L33V	12.	E42H
2.	L33I	13.	K58Q
3.	K37Q	14.	K58N
4.	K37N	15.	K61Q
5.	K40Q	16.	K61N
6.	K40N	17.	K64Q
7.	E41Q	18.	K64N
8.	E41N	19.	D65Q
9.	E41H	20.	D65N
10.	E42Q	21.	D66Q
11.	E42N		

다른 구현에서 변형된 IFN- γ 는 SEQ ID NO: 290-311의 임의의 것에 해당하는 아미노산 서열을 포함하며, 추가로 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함한다.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- γ 변이체는, [S99T]IFN- γ 글리코펩티드로서, [S99T]IFN- γ 글리코펩티드는 다음을 가지는 성숙한 천연 IFN- γ 의 변이체이다; (a) 도 31의 IFN- γ 아미노산 서열 위치 99 아미노산에서 천연 세린 잔기 대신 트레오닌 잔기가 치환되고 (도 4에 개시된 IFN- γ 아미노산 서열의 S102에 해당) (b) (a)의 아미노산 서열 위치 97의 아미노산 위치 아스파라긴 잔기의 R 기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단부위 대신 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위.

[S99T]IFN- γ 변이체에서 N97, Y98, S99 에 의해 형성된 글리코실화 부위가 천연 IFN- γ 에서 N97, Y98, T99 에 의해 형성된 글리코실화 부위와 상이하므로, N97, Y98, T99 글리코실화 부위는 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 비천연 글리코실화 부위가 될 자격이 있다. 또한, WO 02/081507에 기재된 바와 같이, 천연 IFN- γ 아미노산 서열 중 S99T 치환은, 천연 IFN- γ 의 N97, Y98, S99 글리코실화 부위에서의 글리코실화 효율에 비해 [S99T]IFN- γ 변이체에서의 N97, Y98, T99 글리코실화 부위에서의 글리코실화 효율의 제고를 도모한다. 따라서, [S99T]IFN- γ 는, 부모 IFN- γ 폴리펩티드의 초글리코실화 폴리펩티드 변이체로서의 자격을 가진다 (도 31에 개시된 IFN- γ 아미노산 서열 중 아미노산 위치 N97, Y98 및 S99는, 도 4에 개시된 IFN- γ 아미노산 서열 중 아미노산 위치 N100, Y101, 및 S102 에 해당한다).

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- γ 변이체는, [E38N]IFN- γ 글리코펩티드로서, [E38N]IFN- γ 글리코펩티드는 다음을 가지는 성숙한 천연 IFN- γ 의 변이체이다; (a) 도 31의 IFN- γ 아미노산 서열 위치 38 아미노산에서 천연 글루탐산 잔기 대신 아스파라긴 잔기가 치환되고 (도 31에 개시된 IFN- γ 의 아미노산 서열 중 E38은, 도 4에 개시된 IFN- γ 의 아미노산 서열 중 E41에 해당) (b) (a)의 아미노산 서열 위치 38의 아미노산 위치 아스파라긴 잔기의 R 기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단부위 대신 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- γ 변이체는, [E38N, S99T]IFN- γ 글리코펩티드로서, [E38N, S99T]IFN- γ 글리코펩티드는 다음을 가지는 성숙한 천연 IFN- γ 의 변이체이다; (a) 도 31의 IFN- γ 아미노산 서열 위치 38 및 99 아미노산에서 천연 글루탐산 및 세린 잔기들 대신 아스파라긴 및 트레오닌 잔기가 치환되고 (도 31에 개시된 IFN- γ 의 아미노산 서열 중 E38 및 S99은, 도 4에 개시된 IFN- γ 의 아미노산 서열 중 E41 및 S102에 각각 해당) (b) (a)의 아미노산 서열 위치 38 및 97의 아미노산 위치 각각의 아스파라긴 잔기 R 기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단부위 대신 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- γ 변이체는, [E38N, S40T]IFN- γ 글리코펩티드로서, [E38N, S40T]IFN- γ 글리코펩티드는 다음을 가지는 성숙한 천연 IFN- γ 의 변이체이다;

(a) 도 31의 IFN- γ 아미노산 서열 위치 38 및 40 아미노산에서 천연 글루탐산 및 세린 잔기들 대신 아스파라긴 및 트레오닌 잔기가 치환되고 (도 31에 개시된 IFN- γ 의 아미노산 서열 중 E38 및 S40은, 도 4에 개시된 IFN- γ 의 아미노산 서열 중 E41 및 S43에 각각 해당) (b) (a)의 아미노산 서열 위치 38의 아미노산 위치 아스파라긴 잔기 R 기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단부위 대신 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단부위.

일부 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- γ 변이체는, [E38N, S40T, S99T]IFN- γ 글리코펩티드로서, [E38N, S40T, S99T]IFN- γ 글리코펩티드는 다음을 가지는 성숙한 천연 IFN- γ 의 변이체이다; (a) 도 31의 IFN- γ 아미노산 서열 위치 38, 40 및 99 아미노산에서 천연 글루탐산, 세린 및 세린 잔기들 각각 대신 아스파라긴, 트레오닌 및 트레오닌 잔기가 치환되고 (도 31에 개시된 IFN- γ 의 아미노산 서열 중 E38 및 S40 및 S99는, 도 4에 개시된 IFN- γ 의 아미노산 서열 중 E41 및 S43 및 S102 각각에 해당) (b) (a)의 아미노산 서열 위치 38의 아미노산 위치 아스파라긴 잔기 R 기에 공유연결된 탄수화물기; 및 임의로 다음을 추가로 포함하며 (c) (a)의 아미노산 서열 위치 97의 아미노산 위치 아스파라긴 잔기 R 기에 공유연결된 탄수화물기; 및 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단부위 대신 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함함.

일부 구현에서, 임의의 상기한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN- γ 변이체는, 비변형 (부모) 사이토카인에 비해 제고된 안정성을 가지고, 여기에서, 안정성은, 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 잔류 생활성을 측정하여 평가한다. 다른 구현에서, 임의의 상기한 프로테아제 저항성 IFN- γ 변이체는 상기한 바와 같이 프로테아제의 혼합물, 개별 프로테아제, 혈액 용해물, 또는 혈청과 인큐베이션 후, 비변형 (부모) 사이토카인과의 인큐베이션 후에 제고된 생활성을 가진다.

에리트로포이에틴 폴리펩티드 변이체

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 사이토카인 변이체는 변형된 에리트로포이에틴 사이토카인으로, 상기 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 내에 구조 관련 변형 아미노산 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 201 (도 7에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서, 대체 (들)은, 비변형 에리트로포이에틴과 비교하여, 프로테아제 또는 혈액 용해물과의 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션에 의해 평가할 때 (상기한 바와 같이), 프로테아제에 대한 제고된 저항성을 유도하는 것이다. 이들 일부 구현에서, 변형된 에리트로포이에틴은, 다음 아미노산 위치의 임의의 것에 해당하는, SEQ ID NO: 201 (도 7에 개시된 바와 같은) 중 하나 이상의 목적 아미노산 위치에서 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며: 43, 45, 48, 49, 52, 53, 55, 72, 75, 76, 123, 129, 130, 131, 162 및 165; 여기에서 돌연변이는, 천연 아미노산 잔기 (들)의 대체, 결실 및 첨가를 포함한다. 특별한 구현에서는, 하기 표 4에 개시된 SEQ ID NO: 201 중의 아미노산 대체로부터 대체가 선택되며, 여기에서 기재된 제 1 아미노산은 표시한 위치에서 제 2 아미노산으로 치환되고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

[표 4]

1. D43Q	14. E55N	27. L130V
2. D43N	15. E55H	28. L130I
3. K45Q	16. E72Q	29. R131H
4. K45N	17. E72N	30. R131Q
5. F48I	18. B72H	31. R162H
6. F48V	19. L75V	32. R162Q
7. Y49H	20. L75I	33. D165Q
8. Y49I	21. R76H	34. D165N
9. K52Q	22. R76Q	35. P121S
10. K52N	23. D123Q	36. P121A
11. R53H	24. D123N	37. P122S
12. R53Q	25. P129S	38. P122A
13. E55Q	26. P129A	

다른 구현에서, 변형된 에리트로포이에틴은, SEQ ID NO: 940-977 중 임의에 해당하는 아미노산 서열을 포함하며, 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 추가로 포함한다.

GM-CSF 폴리펩티드 변이체

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 사이토카인 변이체는 변형된 GM-CSF 사이토카인으로, 상기 에리트로 포이에틴 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 내에 구조 관련 변형 아미노산 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 202 (도 8에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서, 대체 (들)은, 비변형 GM-CSF와 비교하여, 프로테아제 또는 혈액 용해물과의 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션에 의해 평가할 때 (상기한 바와 같이), 프로테아제에 대한 제고된 저항성을 유도하는 것이다. 이들 일부 구현에서, 변형된 GM-CSF는, 다음 아미노산 위치의 임의의 것에 해당하는, SEQ ID NO: 202 (도 8에 개시된 바와 같은) 중 하나 이상의 목적 아미노산 위치에서 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며: 38, 41, 45, 46, 48, 49, 51, 60, 63, 67, 92, 93, 119, 120, 123 및 124; 여기에서 돌연변이는, 천연 아미노산 잔기 (들)의 대체, 결실 및 첨가를 포함한다. 특별한 구현에서는, 하기 표 5에 개시된 SEQ ID NO: 202 중의 아미노산 대체로부터 대체가 선택되며, 여기에서 기재된 제 1 아미노산은 표시한 위치에서 제 2 아미노산으로 치환되고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

[표 5]

1. E38Q	14. L49V	27. P92A
2. E38N	15. L49I	28. E93Q
3. E38H	16. E51Q	29. E93N
4. E41Q	17. E51N	30. E93H
5. E41N	18. E51H	31. F119I
6. E41H	19. E60Q	32. F119V
7. E45Q	20. E60N	33. D120Q
8. E45N	21. E60H	34. D120N
9. E45H	22. K63Q	35. E123Q
10. M46V	23. K63N	36. E123N
11. M46I	24. R67H	37. E123H
12. D48Q	25. R67Q	38. P124S
13. D48N	26. P92S	39. P124A

다른 구현에서, 변형된 GM-CSF는, SEQ ID NO: 362-400중 임의에 해당하는 아미노산 서열을 포함하며, 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 추가로 포함한다.

G-CSF 폴리펩티드 변이체

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 사이토카인 변이체는 변형된 G-CSF 사이토카인으로, 상기 IFN- α 2b 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 내에 구조 관련 변형 아미노산 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 210 (도 5에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서, 대체 (들)은, 비변형 G-CSF와 비교하여, 프로테아제 또는 혈액 용해물과의 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션에 의해 평가할 때 (상기한 바와 같이), 프로테아제에 대한 제고된 저항성을 유도하는 것이다. 이들 일부 구현에서, 변형된 G-CSF는, 다음 아미노산 위치의 임의의 것에 해당하는, SEQ ID NO: 210 (도 5에 개시된 바와 같은) 중 하나 이상의 목적 아미노산 위치에서 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며: 61, 63, 68, 72, 86, 96, 100, 101, 131, 133, 135, 147, 169, 172, 및 177; 여기에서 돌연변이는, 천연 아미노산 잔기 (들)의 대체, 결실 및 첨가를 포함한다. 특별한 구현에서는, 하기 표 6에 개시된 SEQ ID NO: 210 중의 아미노산 대체로부터 대체가 선택되며, 여기에서 기재된 제 1 아미노산은 표시한 위치에서 제 2 아미노산으로 치환되고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

[표 6]

1. W61S	12. E96N	23. P135S
2. W61H	13. E96H	24. P135A
3. P63S	14. P100S	25. F147I
4. P63A	15. P100A	26. F147V
5. P68S	16. E101Q	27. R169H
6. P68A	17. E101N	28. R169Q
7. L72V	18. E101H	29. R172H
8. L72I	19. P131S	30. R172Q
9. F86I	20. P131A	31. P177S
10. F86V	21. L133V	32. P177A
11. E96Q	22. L133I	

다른 구현에서, 변형된 G-CSF는, SEQ ID NO: 631-662 중 임의에 해당하는 아미노산 서열을 포함하며, 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 추가로 포함한다.

인간 성장 호르몬 폴리펩티드 변이체

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 사이토카인 변이체는 변형된 인간 성장 호르몬 (hGH) 사이토카인으로, 상기 G-CSF 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 내에 구조 관련 변형 아미노산 위치에 해당하는 SEQ ID NO: 216 (도 6에 개시된 바와 같은) 중의 하나 이상의 목적 위치에 하나 이상의 아미노산 대체를 포함하며, 여기에서, 대체 (들)은, 비변형 hGH 와 비교하여, 프로테아제 또는 혈액 용해물과의 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션에 의해 평가할 때 (상기한 바와 같이), 프로테아제에 대한 제고된 저항성을 유도하는 것이다. 이들 일부 구현에서, 변형된 hGH 는, 다음 아미노산 위치의 임의의 것에 해당하는, SEQ ID NO: 216 (도 6에 개시된 바와 같은) 중 하나 이상의 목적 아미노산 위치에서 하나 이상의 단일 아미노산 대체를 포함하는 단백질들로부터 선택되며: 56, 59, 64, 65, 66, 88, 92, 94, 101, 129, 130, 133, 134, 140, 143, 145, 146, 147, 183, 및 186; 여기에서 돌연변이는, 천연 아미노산 잔기 (들)의 대체, 결실 및 첨가를 포함한다. 특별한 구현에서는, 하기 표 7에 개시된 SEQ ID NO: 216 중의 아미노산 대체로부터 대체가 선택되며, 여기에서 기재된 제 1 아미노산은 표시한 위치에서 제 2 아미노산으로 치환되고; 변이체가 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 포함하는 정도로, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 변이체가 추가로 포함한다.

[표 7]

1. E56Q	17. F92I	33. K140N
2. E56N	18. F92V	34. Y143H
3. E56H	19. R94H	35. Y143I
4. P59S	20. R94Q	36. K145Q
5. P59A	21. L101V	37. K145N
6. R64H	22. L101I	38. F146I
7. R64Q	23. E129Q	39. F146V
8. E65Q	24. E129N	40. D147Q
9. E65N	25. E129H	41. D147N
10. E65H	26. D130Q	42. R183H
11. E66Q	27. D130N	43. R183Q
12. E66N	28. P133S	44. E186Q
13. E66H	29. P133A	45. E186N
14. E88Q	30. R134H	46. E186H
15. E88N	31. R134Q	
16. E88H	32. K140Q	

다른 구현에서, 변형된 hGH는, SEQ ID NO: 850-895 중 임의에 해당하는 아미노산 서열을 포함하며, 부모 폴리펩티드에서 발견되지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 추가로 포함한다.

다른 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 사이토카인 변이체는 변형된 사이토카인으로, 해당 비변형 (부모) 사이토카인과 비교하여 단백질분해에 대해 더 큰 저항성을 나타내며, 여기에서 변형된 사이토카인은, 상기 IFN- β 폴리펩티드 변이체의 3차원 구조 내에 구조 관련 변형 아미노산 위치에 해당하는 사이토카인 상에서의 하나 이상의 목적 위치에서 하나 이상의 아미노산 대체를 포함한다. 아미노산 대체 (들)은, 비변형 (부모) 사이토카인과 비교하여, 단백질분해에 대해 더 큰 저항성을 나타낸다. 단백질 분해에 대한 증가된 저항성은, 비변형 hGH와 비교하여, 프로테아제 또는 혈액 용해물과의 인큐베이션 또는 혈청과 인큐베이션에 의해 평가한다 (상기한 바와 같음).

추가 변형

보통, 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 부모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 가진다. 일례로, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 부모 폴리펩티드 아미노산 서열과 비교하여, 하나 이상의 아미노산과 상이하고, 2 내지 약 10개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 가질 수 있다. 서열 변화는, 치환, 삽입 또는 결실일 수 있다. 알라닌 또는 기타 잔기를 시스템적으로 도입하는 스캐닝 돌연변이를 사용하여 주요 아미노산을 검증 가능하다. 관심상의 특정 아미노산 치환은 보존성 또는 비보존성 변화를 포함한다. 보존성 아미노산 치환은 보통 다음 군 범위 내의 치환을 포함한다: (글리신, 알라닌); (발린, 이소루신, 루신); (아스파르트산, 글루탐산); (아스파라긴, 글루타민); (세린, 트레오닌); (라이신, 아르기닌); 또는 (페닐알라닌, 트레오닌).

부모 치료 단백질의 1차 아미노산 서열을 변화 또는 변화시키지 않을 수 있는 관심이 되는 추가의 변형은 폴리펩티드의 화학적 유도체화, 일례로 아세틸화 또는 카복시화; 단백질의 PEG화를 용이하게 하는 아미노산 서열 중의 변화; 등을 포함한다. 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 잔기로 변형될 수 있다 (PEG화). 한 구현에서, 본 발명은, 감소된 혈청 소제율 (clearance)을 가지는 PEG-유도체화 폴리펩티드를 제공하도록 엔지니어링된 하나 이상의 비천연 발생 PEG화 부위를 가지는 폴리펩티드 변이체의 용도를 고려한다. 또한, 일례로 포스포타이로신, 포스포세린, 또는 포스포트레오닌인 인산화 아미노산 잔기를 가지는 서열을 포함한다.

본 발명 관련하여 사용에 또한 적당한 것은, 치료제로서 보다 적합하게 하거나 용해성을 최적화하기 위해, 또는 단백질분해에 대한 이들의 저항성이 개선되도록 통상의 화학 기법을 사용하여 변형된 폴리펩티드이다. 일례로, 펩티드 주 골격은, 안정성 제고를 위해 고리화 가능하다 (일례로, 다음을 참조; Friedler et al. 2000, J Biol. Chem. 275:23783-23789). 유사체로서, 일례로 D 아미노산 또는 비천연 발생 합성 아미노산과 같은 천연 발생 L 아미노산 이외의 것을 포함하는 것도 사용 가능하다. 단백질은 안정성 제고를 위해 PEG화 가능하다.

1차 아미노산 서열을 변형 또는 변형하지 않는 관심상의 변형은, 폴리펩티드의 화학적 유도체화를 포함한다: 일례로 아세틸화 또는 카복시화; 단백질의 PEG화 (폴리에틸렌 글리콜 잔기의 첨가)를 용이하게 하는 아미노산 서열 중의 변화; 등. 한 구현에서 본 발명은, 감소된 혈청 소제율 (clearance)을 가지는 PEG-유도체화 폴리펩티드를 제공하도록 엔지니어링된 하나 이상의 비천연 발생 PEG화 부위를 추가로 가지는 합성 타입 I 인터페론 수용체 아고니스트 변이체, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 용도를 고려한다. 따라서 본 발명은, PEG화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 포함한다. 또한 글리코실화 변형, 일례로 합성 및 가공 또는 추가의 가공 단계 동안 폴리펩티드의 글리코실화 패턴을 변형; 일례로 포유류 글리코실화 또는 탈글리코실화 효소와 같은 글리코실화에 영향을 미치는 효소에 대해 폴리펩티드를 노출시킴에 의해 만들어진 것을 포함한다. 본 발명은 임의의 PEG화된 초글리코실화, PEG화된 프로테아제 저항성 및 PEG화된 프로테아제 저항성 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 용도를 고려한다. 또한, 일례로 포스포타이로신, 포스포세린, 또는 포스포트레오닌인 인산화 아미노산 잔기를 가지는 서열을 포함한다.

융합 단백질

일부 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는 이중성 폴리펩티드를 추가로 포함하여 (일례로 융합 파트너), 융합 단백질을 형성한다. 적절한 융합 파트너는, 생체 내에서 증가된 안정성 (일례로 증가된 혈청 반감기)을 제공; 정제의 용이성을 제공, 일례로 (His)_n, 일례로 6His, 등; 세포로부터 융합 단백질의 분비를 제공; 에피토프 태그, 일례로 GST, 헤마글루티닌 (HA; 일례로 CYPYDVDPYA; SEQ ID NO:1304), FLAG (일례로 DYKDDDDK; SEQ ID NO:1305), c-myc (일례로 CEQKLISEEDL; SEQ ID NO:1306), 등을 제공; 측정가능 시그널, 일례로, 측정가능한 생성물을 생산하는 효소 (일례로 β -갈락토시다제, 루시퍼라제), 또는 그 자체로 측정가능한 단백질, 일례로 녹색 형광 단백질 등을 제공; 다중체화 (multimerization) 제공, 일례로 면역글로불린의 Fc 부분과 같은 다중체화 영역; 등을 제공하는 펩티드 및 폴리펩티드 등을 포함한다.

융합 단백질은, 세포로부터 융합 단백질의 분비를 제공하는 아미노산 서열을 포함 가능하다. 당업자는, 그러한 분비 시그널 서열을 알 수 있다. 박테리아에서 사용에 적절한 분비 시그널은, 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는다; E. 콜라이 (E. coli), S. 마르센스 (S. marcescens), E. 아밀로소라 (E. amylosora), M. 모르가니 (M. morganii), 및 P. 미라빌리스 (P. mirabilis)의 브라운 지단백질의 분비 시그널, E. 콜라이 및 살모넬라 (Salmonella)의 TraT 단백질; B. 리체니포르미스 (B. licheniformis) 및 B. 세레우스 (B. cereus) 및 S. 아우레우스 (S. aureus)의 페니실리나제 (PenP) 단백질; 클렙시엘라 뉴모니아 (Klebsiella pneumoniae) 및 클렙시엘라 에로게네스 (Klebsiella aerogenese)의 폴루라나제 단백질; E. 콜라이 지단백질 1pp-28, Pal, RplA, RplB, OsmB, NlpB, 및 Orf17; V. 하르세이 (V. harseyi)의 키토비아제 단백질; 슈도모나스 솔라나세아룸 (Pseudomonas solanacearum)의 β -1,4-엔도글루카나제 단백질, H. 인플루엔자 (H. influenzae)의 Pal 및 Pcp의 단백질; P. 에루기노사 (P. aeruginosa)의 OprI 단백질; S. 뉴모니아 (S. pneumoniae)의 MalX 및 AmiA 단백질; 트레포네마 팔라둠 (Treponema pallidum)의 34 kda 항원 및 TpmA 단백질; 미코플라스마 호르히니스 (Mycoplasma hyorhinis)의 P37 단백질; 바실러스 아밀로리쿠에파시엔스 (Bacillus amyloliquefaciens)의 중성 프로테아제; 및 리케차 리케시 (Rickettsia Rickettsii)의 17 kda 항원. 효모에서 사용 적당한 분비 시그널 서열은 공지로써, 사용 가능하며, 일례로 미국 특허 번호 5,712,113을 참조한다.

일부 구현에서, IFN- α 14의 시그널 펩티드를 사용한다. 다른 구현에서는 IFN- β 시그널 펩티드가 사용된다. IFN- α 14 또는 IFN- β 시그널 펩티드를 포함하는 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 실시예 2에 제공된다. 이들 시그널 펩티드는, 포유류 세포로부터의 분비를 제공한다.

일부 구현에서, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 융합 파트너 및 폴리펩티드 변이체의 나머지 사이에 위치한 프로테아제 절단 부위 및 융합 파트너를 포함한다.

단백질 분해 부위는 당업자에게 공지로서; 다양한 종류가 공지이며 다음을 포함하는 문헌에 광범위하게 기재되어 있다; 일례로 Handbook of Proteolytic Enzymes (1998) AJ Barrett, ND Rawlings, and JF Woessner, eds., Academic Press. 단백질분해 절단 부위는 비제한적으로 다음을 포함한다; 엔테로키나제 절단 부위: (Asp)₄Lys (SEQ ID NO: 1307); 인자 Xa 절단 부위: Ile-Glu-Gly-Arg (SEQ ID NO: 1308); 트롬빈 절단 부위, 일례로 Leu-Val-Pro-Arg-Gly-Ser (SEQ ID NO: 1309); 레닌 절단 부위, 일례로 His-Pro-Phe-His-Leu-Val-Ile-His (SEQ ID NO: 1310); 콜라게나제 절단 부위, 일례로 X-Gly-Pro (식 중 X는 임의의 아미노산임); 트립신 절단 부위, 일례로 Arg-Lys; 바이러스성 프로테아제 절단 부위, 일례로 바이러스성 2A 또는 3C 프로테아제 절단 부위로 비제한적으로 다음을 포함한다: 피코르나바이러스로부터의 프로테아제 2A 절단 부위 (일례로 Sommergruber et al. (1994) Virol. 198:741-745 참조), 간염 A 바이러스 3C 절단 부위 (일례로 Schultheiss et al. (1995) J. Virol. 69:1727-1733 참조), 인간 라이노바이러스 2A 프로테아제 절단 부위 (일례로 Wang et al. (1997) Biochem. Biophys. Res. Comm. 235:562-566 참조), 및 피코르나바이러스 3 프로테아제 절단 부위 (일례로 Walker et al. (1994) Biotechnol. 12:601-605 참조).

초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 제조

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 임의의 공지 방법을 이용하여 간편히 제조되며, 이는, 화학합성법, 표준 재조합 기법을 이용한 제조 및 그 조합을 포함한다. 일례로, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 자동화 고체상 tert-부톡시카보닐 및 벤질 보호 방법을 이용하여 합성 가능하다. 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 천연 화학 결찰에 의해, 일례로, 약 15 내지 약 40 아미노산 길이의 단편 (일례로 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 또는 약 35 내지 약 40 아미노산 길이의 단편)은 화학합성의 표준 방법에 의해 합성하여, 공지된 방법을 사용하여 단편을 결찰하여 합성 가능하다 (Dawson, et al. (1994) Science 266:776-779). 합성된 폴리펩티드의 순도는, 역상 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 및 등전이점 집속에 의해 평가 가능하다. 리간드의 1차 구조는, 에드만 서열 방법에 의해 검증 가능하다.

많은 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터는, 통상의 방법으로 제조되며, 숙주 세포, 특히 단백질 글리코실화 가능한 진핵 세포 내로 도입된다. 발현 벡터는, 합성 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 숙주 세포 내 제조를 제공한다. 따라서, 본 발명은 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 제조 방법을 제공하며, 본 방법은, 대상 재조합 발현 벡터를 포함하는 진핵 숙주 세포를, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 제조를 도모하는 조건하에서 배양하고; 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 배양으로부터 분리함을 포함한다. 대상 폴리펩티드 아고니스트는, 80% 초과, 90% 초과, 95% 초과, 98% 초과, 또는 99% 초과 순도로 분리 및 정제 가능하다.

폴리펩티드는, 발현의 목적에 따라 통상의 방법으로 원핵 또는 진핵생물에서 발현 가능하다. 많은 구현에서 상기한 바와 같이, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 진핵세포 내에서 합성된다. 단백질의 대규모 합성을 위해, *S.세레비시iae* (*S. cerevisiae*)와 같은 단세포 생물, 배칼로바이러스 벡터와 조합된 곤충 세포, 또는 척추동물 특히 포유류와 같은 고등 생물의 세포, 일례로 COS 7 세포, CHO 세포, HEK293 세포, 등을 발현 숙주 세포로 사용 가능하다. 많은 구현에서, 단백질의 천연 폴딩 및 번역 후 변형의 이점을 취할 수 있는 진핵 세포 내의 유전자 발현이 바람직하다.

발현 숙주를 이용하여 단백질, 또는 그 절편을 다량으로 수득함으로써, 단백질은 통상의 방법에 따라 분리 및 정제 가능하다. 발현 숙주의 용해물을 제조하여 용해물을 HPLC, 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC), 음이온 교환 크로마토그래피, 양이온 교환 크로마토그래피, 크기 배척 크로마토그래피, 한외여과, 젤 전기영동, 친화 크로마토그래피, 또는 다른 정제 기법을 사용하여 정제 가능하다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 또한, 통상의 방법을 사용하여 세포 용해물로부터 또는 세포 배양 상층액으로부터 분리 및 정제 가능하다. 일례로, 발현 숙주의 용해물을 제조하여 용해물을 HPLC, 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC), 음이온 교환 크로마토그래피, 양이온 교환 크로마토그래피, 크기 배척 크로마토그래피, 한외여과, 젤 전기영동, 친화 크로마토그래피, 또는 다른 정제 기법을 사용하여 정제 가능하다. 대부분의 경우 사용되는 조성물은, 생성물 제조 및 그 정제의 방법과 관련한 오염물과 관련하여, 목적 생성물을 적어도 20 중량%, 더 일반적으로는 적어도 약 75중량%, 바람직하게는 적어도 약 95중량% 이상, 그리고 치료 목적을 위해서는 보통 적어도 약 99.5중량% 포함하게 된다. 보통, 백분율은 총 단백질을 기준으로 한 것이다.

많은 구현에서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 정제된다. 일례로 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 대상이 아닌 다른 단백질이 없고, 다른 거대분자가 없는 것이다 (일례로, 탄수화물, 지방, 등). 많은 구현에서 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 적어도 약 75% 순도, 적어도 약 80% 순도, 적어도 약 85% 순도, 적어도 약 90% 순도, 적어도 약 95% 순도, 적어도 약 98% 순도 또는 적어도 약 99% 순도, 또는 99% 초과 순도이다. 단백질이 다른 단백질 및 기타 거대분자를 포함하는 여부를 검증하는 방법은 당업계 공지이다.

초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 당업계 공지인 통상의 기법을 사용하여 재조합 방법으로 제조 가능하다. 제조의 특정 순서 및 방식은, 간편성, 경제성, 요구되는 순도 등에 따라 결정된다.

일반적으로, 목적 폴리펩티드 변이체의 아미노산 서열을 코딩하는 올리고뉴클레오티드는, 일례로 올리고뉴클레오티드 합성기를 사용하여 화학 합성으로 제조되며, 여기에서 올리고뉴클레오티드는 목적 폴리펩티드의 아미노산 서열에 따라 디자인되며, 많은 구현에서 재조합 폴리펩티드가 생성되는 숙주 세포 내에서 바람직한 코돈이 선택된다. 일례로, 목적 폴리펩티드의 부분을 코딩하는 다수의 작은 올리고뉴클레오티드를 PCR, 절찰 또는 절찰 쇄 반응 (LCR)에 의해 합성 및 어셈블 가능하다. 개별 올리고뉴클레오티드는, 상보 어셈블리를 위해 보통 5' 또는 3' 오버행 (overhang)을 가진다. 일단 어셈블 되면, 폴리펩티드 변이체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 재조합 벡터 내로 삽입되고, 목적 형질전환 숙주 세포 내에서 목적 핵산의 발현 및 대상 폴리펩티드의 연이은 생산을 위해 필요한 조절 서열에 작동적으로 연결된다.

일부 구현에서, 목적 핵산은 인간 서열에서 바람직한 코돈의 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90%, 또는 그 이상의 코돈이 되도록 생성된다. 일례로 하기 표 8을 참고한다.

[표 8]

표 8 : 인간에서의 코돈 사용. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Sambrook J. and Russell D. W. Third Edition ©2001 by Cold Spring Harbor Press.

아미노산	인간단백질에서의 빈도 (%) ^a	인간단백질에서의 코돈 및 그 사용 (%) ^b	
알라닌	6.99	GCU (28.0) GCA (20.0)	GCC (41.6) GCG (10.3)
아르기닌	5.28	CGU (8.9) CGA (5.4) AGA (9.9)	CGC (21.4) CGG (10.4) AGG (11.1)
아스파라긴	3.92	AAU (42.3)	AAC (57.7)
아스파르트산	5.07	GAU (42.8)	GAC (57.2)
시스테인	2.44	UGU (40.6)	UGC (59.4)
글루타민산	6.82	GAA (39.2)	GAG (60.7)
글루타민	4.47	CAA (24.8)	CAG (75.2)
글리신	7.10	GGU (15.8) GGA (24.1)	GGC (35.8) GGG (24.3)
히스티딘	2.35	CAU (39.6)	CAC (60.4)
이소루신	4.50	AUU (33.1) AUA (12.9)	AUC (54.0)
루신	9.56	UUA (5.5) CUU (11.1) CUA (6.5)	UUG (11.5) CUC (20.8) CUG (44.5)
라이신	5.71	AAA (38.9)	AAG (61.1)
메티오닌	2.23	AUG (100)	
페닐알라닌	3.84	UUU (41.1)	UUC (58.2)
프롤린	5.67	CCU (27.3) CCA (25.7)	CCC (35.2) CCG (11.6)
세린	7.25	UCU (18.3) UCA (12.9) AGU (13.2)	UCC (23.7) UCG (5.9) AGC (25.9)
트레오닌	5.68	ACU (22.4) ACA (25.4)	ACC (40.5) ACG (11.8)
트립토판	1.38	UGG (100)	
타이로신	3.13	UAU (40.0)	UAC (60.0)
발린	6.35	GUU (16.4) GUA (9.3)	GUC (25.7) GUG (48.7)

폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자는 벡터 내에 분자를 위치시킴에 의해 보통 증폭된다. 바이러스 및 비(非)바이러스성 벡터가 사용되며, 플라스미드도 포함된다. 플라스미드의 선택은, 증폭의 목적 및 증폭을 원하는 세포 유형에 의존한다. 목적 DNA 서열의 증폭 및 과량 생산을 위해 특정 벡터가 유용하다.

제조할 발현 벡터는 일례로 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 생성을 위한, 세포 내 폴리펩티드 코딩 핵산 분자의 발현 구현을 위해 유용하다. 적절한 벡터의 선택은, 충분히 당업자 능력 이내이다. 그러한 많은 벡터가 시판된다.

발현 벡터는 배양중 세포의 발현에 적절하다. 이러한 벡터는, 작동적으로 연결된 목적 폴리뉴클레오티드의 발현을 구현하기 위해 필요한 조절 서열 ('조절 서열' 또는 '조절 영역')을 보통 포함한다.

발현 벡터는 일반적으로 프로모터 서열 근처에 위치한, 소망하는 단백질을 코딩하는 핵산 서열의 삽입을 제공하기에 편리한 제한 부위를 갖는다. 발현 숙주 내에서 작동가능한 선택가능한 마커가 존재할 수 있다. 발현 벡터는 융합 단백질의 생산에 사용될 수 있으며, 이때 외인성 융합 펩티드는 부가적 기능성, 즉 증가된 단백질 합성, 안정성, 정의된 항원성과의 반응성, 효소 마커, 예를 들면 β-갈락토시다제, 루시페라제 등을 제공한다.

전사 개시 영역, 프로모터 영역 (예를 들면, 진핵세포에서 기능적인 프로모터), 소망하는 폴리뉴클레오티드, 및 전사 종결 영역을 포함하는 발현 카세트가 존재할 수 있다. DNA의 도입 후에는, 상기 구조물을 함유하는 세포가 선택가능한 마커에 의해 선택될 수 있고, 세포는 확장된 후 발현에 사용될 수 있다.

상기 발현 카세트는 진핵 숙주 세포 발현, 예를 들면 플라스미드, HAC, YAC, 동물 바이러스 유래 벡터, 예를 들면, 몰로니(Moloney) 쥐 백혈병 바이러스, SV40, 백신시아 바이러스(vaccinia virus), 바칼로바이러스, 레트로바이러스, 또는 식물 바이러스, 예를 들면 콜리폴라워 모자이크 바이러스, 담배 모자이크 바이러스 등에 적당한 다양한 벡터 내로 도입될 수 있으며, 이때 벡터는 보통 발현 벡터를 포함하는 세포의 선택을 제공하는 능력에 의해 특징지어진다. 벡터는 특히 플라스미드 또는 바이러스로서 염색체 외의 유지, 또는 숙주 염색체 내로의 통합을 제공한다. 염색체 외의 유지가 소망되는 경우에는, 원래 서열이 플라스미드의 복제를 위해 제공되는데, 이는 카피 수가 적거나 높을 수 있다. 광범위한 마커가 선택에 이용가능하며, 특히 독소에 대해, 보다 특별하게는 항생제에 대해 보호하는 것들이 이용가능하다. 선택된 특정 마커는 숙주의 성질에 따라 선택되며, 이때 일부 경우에는, 영양요구성(auxotrophic) 숙주와의 상보성이 채택될 수 있다. 숙주 세포 내로의 DNA구조물의 도입은 임의의 편리한 방법, 예를 들면 갈슘-침전된 DNA, 전기천공법, 융합, 트랜스펙션, 바이러스성 벡터로의 감염, DNA 입자충법(biolistics) 등이 사용될 수 있다.

본 발명은 또한, 분리된 숙주 세포일 수도 있는, 유전자 변형된 숙주 세포 내에서의 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 생산에 관한 것으로서, 상기 숙주 세포가 상기 폴리펩티드 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하거나, 또는 일부 구현예에서는 그러한 폴리뉴클레오티드를 발현할 수 있는 발현 벡터를 포함하는 것이다. 적당한 숙주 세포로는, 바칼로바이러스와 조합된 곤충 세포, 효모 세포, 예컨대 *사카로마이세스 세레비시애*(*Saccharomyces cerevisiae*), 또는 양서류 (예를 들면, *제노푸스 라에비스*(*Xenopus laevis*) 난자) 및 포유동물, 특히 포유동물을 포함하는 척추동물과 같은 고등생물의 세포, 예를 들면 COS 세포, CHO 세포, HEK293 세포, MA-10 세포 등이 발현 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 특히, 상기 숙주 세포는 단백질의 글리코실화가 가능한 진핵 숙주 세포이다.

초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는 생산 숙주 세포로부터 수확된 후, 재조합 합성의 통상적 방법에 따라 분리 및 정제될 수 있다. 발현 숙주의 용출물이 제조될 수 있으며, 용출물은 고성능 액체 크로마토그래피, 배제 크로마토그래피, 젤 전기영동, 친화성 크로마토그래피, 또는 기타 정제 기법을 사용하여 정제될 수 있다. 대부분, 사용되는 조성물은 소망하는 생성물을, 생성물의 제조 및 정제 방법에 관련된 오염물에 대해 20 중량% 이상, 보다 통상적으로는 약 75 중량% 이상, 바람직하게는 약 95 중량% 이상, 그리고 치료 목적을 위해서는, 보통 약 99.5 중량% 이상으로 포함할 것이다. 보통 백분율은 총 단백질을 기준으로 한다.

PEG화 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트

상기 언급한 바와 같이, 일부 구현예에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 하나 이상의 폴리 에틸렌 글리콜 부분으로 변형된다, 즉, PEG화된(PEGylated). PEG 분자는 대상 폴리펩티드 아고니스트의 하나 이상의 아미노산 측쇄에 공액된다. 일부 구현예에서는, 대상 PEG화 폴리펩티드 아고니스트가 단 하나의 아미노산에만 PEG 부분을 함유한다. 또 다른 구현예에서는, 둘 이상의 아미노산에 PEG 부분을 함유하며, 예를 들어 대상 PEG화 폴리펩티드 아고니스트는 둘, 셋, 넷, 다섯, 여섯, 일곱, 여덟, 아홉 또는 열 개의 상이한 아미노산 잔기에 부착된 PEG 부분을 함유한다.

대상 폴리펩티드는 아미노기, 술폰드릴기, 히드록시기, 또는 카복시기를 통해 PEG에 직접 (즉, 연결기 없이) 커플링될 수 있다.

일부 구현예에서는, PEG화 대상 폴리펩티드가 대상 폴리펩티드의 아미노 말단 (N-말단)에서 또는 그 근처에서 PEG화되며, 예를 들면 PEG 부분이 1번 아미노산 내지 4번 아미노산, 또는 5번 아미노산 내지 약 10번의 하나 이상의 아미노산 잔기에서 대상 폴리펩티드에 공액된다. 또 다른 구현예에서는, PEG화 대상 폴리펩티드가 약 10번 내지 약 28번의 하나 이상의 아미노산 잔기에서 PEG화된다. 또 다른 구현예에서는, PEG화 대상 폴리펩티드가 대상 폴리펩티드의 카복시 말단 (C-말단)에서 또는 그 근처에서, 156-166번 아미노산, 또는 150 내지 155번 아미노산의 하나 이상의 잔기에서 PEG화된다. 또 다른 구현예에서는, PEG화 대상 폴리펩티드가 100 내지 114번 아미노산의 하나 이상의 잔기에서 하나 이상의 아미노산 잔기에서 PEG화된다.

대상 단백질의 수용체 결합 및/또는 활성 부위 도메인의 또는 그 근처의 아미노산 잔기의 폴리 에틸렌 글리콜 유도체화는 이들 도메인의 기능을 붕괴시킬 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서는, PEG화를 피해야 할 아미노산으로서, 30번 아미노산 내지 40번 아미노산의 아미노산 잔기; 및 113번 아미노산 내지 149번 아미노산의 아미노산 잔기가 포함된다.

일부 구현예에서는, PEG가 연결기를 통해 대상 폴리펩티드에 부착된다. 연결기는 임의의 생체적합성 연결기로서, 여기서 “생체적합성(biocompatible)”이란 화합물 또는 기가 비독성이고, 손상, 병세, 질환, 또는 죽음을 유발하지 않으면서 시험관 내 또는 생체내에서 활용될 수 있음을 의미한다. PEG는 연결기에, 예를 들면 에테르 결합, 에스테르 결합, 티올 결합 또는 아마이드 결합을 통해 결합될 수 있다. 적당한 생체적합성 연결기에는 에스테르기, 아마이드기, 이미드기, 카바메이트기, 카복

시기, 히드록시기, 탄수화물, 숙신이미드기 (예를 들면, 숙신이미드 석시네이트 (SS), 숙신이미드 프로피오네이트 (SPA), 숙신이미드 부타노에이트 (SBA), 숙신이미드 카복시메틸레이트 (SCM), 숙신이미드 숙신아미드 (SSA) 또는 N-히드록시 숙신이미드 (NHS) 포함), 에폭시지기, 옥시카보닐이미다졸기 (예를 들면, 카보닐디이미다졸 (CDI) 포함), 니트로페닐기 (예를 들면, 니트로페닐 카보네이트 (NPC) 또는 트리클로로페닐 카보네이트 (TPC) 포함), 트리실레이트기, 알데히드기, 이소시아네이트기, 비닐술폰기, 티로신기, 시스테인기, 히스티딘기 또는 일차 아민이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

숙신이미드 프로피오네이트 (SPA) 및 숙신이미드 부타노에이트 (SBA) 에스테르-활성화 PEG의 제조 방법은 미국특허 제 5,672,662 호 (Harris 등) 및 WO 97/03106 에 기술되어 있다.

PEG를 폴리펩티드에 부착시키는 방법은 당해 분야에 공지되어 있으며, 임의의 공지 방법이 사용될 수 있다. 예를 들면, Park 등, *Anticancer Res.*, 1:373-376 (1981); Zaplisky 및 Lee, *Polyethylene Glycol Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications*, J.M. Harris, 편저., Plenum Press, NY, 제 21 장 (1992); 미국특허 제 5,985,265 호; 미국특허 제 5,672,662 호 (Harris 등) 및 WO 97/03106 호를 참조한다.

다수의 구현예에서는, PEG가 대상 폴리펩티드 상의 일차 아민기와 반응하는 모노메톡시PEG 분자이다. 환원성 알킬화를 통해 폴리펩티드를 모노메톡시PEG로 수식시키는 방법은 당해 분야에 공지되어 있다. 예를 들면, Chamow 등, (1994) *Bioconj. Chem.* 5:133-140을 참조한다.

폴리에틸렌 글리콜

대상 폴리펩티드와의 공액에 적당한 폴리에틸렌 글리콜은 실온에서 수용성이며, 일반식 $R(O-CH_2-CH_2)_nO-R$ [식 중, R은 수소, 또는 알킬 또는 알칸올기와 같은 보호기이고, n은 1 내지 1000의 정수이다]을 갖는다. R이 보호기이면, 그것은 일반적으로 탄소수가 1 내지 8이다.

다수의 구현예에서는, PEG는 하나 이상의 히드록실기, 예를 들면 말단 히드록시기를 가지는데, 이 히드록시기는 아미노기, 예를 들면 라이신 잔기의 엡실론 아미노기, 폴리펩티드의 N-말단에서의 유리 아미노기, 또는 아스파라긴, 글루타민, 아르기닌 또는 히스티딘의 아미노기와 같은 임의의 기타 아미노기와 반응하는 작용기를 생성하도록 변형된 것이다.

또 다른 구현예에서는, PEG가 대상 폴리펩티드 내 유리 카복시기, 예를 들면 대상 폴리펩티드의 카복시 말단의 유리 카복시기와 반응하도록 유도체화된다. 대상 폴리펩티드의 카복시-말단의 유리 카복시기와 반응하는 PEG의 적당한 유도체에는 PEG-아민 및 PEG의 히드라진 유도체 (예를 들면, PEG-NH-NH₂)가 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

또 다른 구현예에서는, PEG가, 아미노기와 선택적으로 반응하여 아미드 유도체를 생성시키는 말단 티오키아복시산기, -COSH를 포함하도록 유도체화된다. 티오산의 반응성 성질로 인해, 다른 것에 비한 특정 아미노기의 선택성이 이루어진다. 예를 들면, -SH는 적절한 pH 조건 하에서 N-말단 아미노기와와의 반응에 있어서 충분한 이탈기 능력을 나타내어, 라이신 잔기 내 ε-아미노기가 양성자첨가되고 비-친핵성으로 남는다. 반면, 적당한 pH 조건 하에서의 반응은 이용가능한 라이신 잔기의 일부가 선택성을 가지고 반응하게 할 수 있다.

또 다른 구현예에서는, PEG가 PEG 사슬의 말단에 N-히드록시 숙신이미데이트와 같은 반응성 에스테르를 포함한다. 그러한 N-히드록시숙신이미데이트-함유 PEG 분자는 중성인 6.5 내지 7.5와 같은 특정 pH 조건 하에서 선택된 아미노기와 반응한다. 예를 들면, N-말단 아미노기는 중성 pH 조건 하에서 선택적으로 변형될 수 있다. 그러나 시약의 반응성이 매우 높다면, 라이신의 이용가능한 NH₂ 기 또한 반응할 수 있다.

PEG는 대상 폴리펩티드에 직접, 또는 연결기를 통해 공액될 수 있다. 일부 구현예에서는, 연결기가 대상 폴리펩티드에 부가되어 연결기-변형된 폴리펩티드를 형성한다. 이와 같은 연결기는 다양한 작용기성, 예를 들면, PEG 시약을 연결기-변형된 폴리펩티드에 커플링시킬 술폰드릴, 아미노, 또는 카복시기와 같은 반응성 기를 제공한다.

일부 구현예에서는, 대상 폴리펩티드에 공액된 PEG가 직쇄이다. 또 다른 구현예에서는, 대상 폴리펩티드에 공액된 PEG가 분지쇄이다. 미국특허 제 5,643,575 호에 기재된 것들과 같은 분지쇄 PEG, "성상(star)-PEG" 및 Shearwater Polymers사의 카탈로그 "폴리에틸렌 글리콜 유도체 1997-1998"에 기재된 것들과 같은 다지(multi-armed) PEG. 성상 PEG는 예를 들면 미국특허 제 6,046,305 호의 것을 포함하여 선행기술에 기술되어 있다.

분자량이 약 2 kDa 내지 약 100 kDa의 범위인 PEG가 일반적으로 사용되는데, 여기서 용어 “약”은 PEG의 맥락에 있어서 폴리에틸렌 글리콜의 제조 중에 일부 분자가 언급된 분자량보다 중량이 더 높거나 일부는 덜 높음을 의미한다. 예를 들면, 대상 폴리펩티드로의 공액에 적당한 PEG는 분자량이 약 2 kDa 내지 약 5 kDa, 약 5 kDa 내지 약 10 kDa, 약 10 kDa 내지 약 15 kDa, 약 15 kDa 내지 약 20 kDa, 약 20 kDa 내지 약 25 kDa, 약 25 kDa 내지 약 30 kDa, 약 30 kDa 내지 약 40 kDa, 약 40 kDa 내지 약 50 kDa, 약 50 kDa 내지 약 60 kDa, 약 60 kDa 내지 약 70 kDa, 약 70 kDa 내지 약 80 kDa, 약 80 kDa 내지 약 90 kDa, 또는 약 90 kDa 내지 약 100 kDa이다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 집단

본 발명은 상술한 바와 같은 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 집단을 포함하는 조성물을 제공한다. 대상 조성물은 대상 폴리펩티드의 집단을 포함하는데, 이때 상기 집단은 둘 이상의 상이한 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 (예를 들면, 아미노산 서열에 있어서 서로 하나 이상의 아미노산의 차이가 나는 폴리펩티드 아고니스트들)를 포함한다.

일반적으로, 주어진 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 한 집단 내에서 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 총 집단의 약 0.5% 내지 약 99.5%를 나타내며, 예를 들면, 주어진 변형된 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 한 집단 내에서 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 총 집단의 약 0.5%, 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99%, 또는 약 99.5%를 나타낸다.

조성물

본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 즉 부모 치료 단백질에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하는 부모 치료 단백질의 폴리펩티드 변이체를 포함하는 것으로서, (1) 부모 치료 단백질에서 발견되지 않는, 하나 이상의 비-천연 글리코실화 부위에 공유 결합된 탄수화물 부분 및/또는 (2) 부모 치료 단백질에서 발견되지만 글리코실화되지 않는 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에 공유 결합된 탄수화물 부분을 포함하는, 약학적 조성물을 포함하는 조성물을 제공한다. 조성물은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체; 및 부분적으로 폴리펩티드 변이체의 용도를 기준으로 선택되는 하나 이상의 부가적 성분을 포함할 것이다. 적당한 부가적 성분에는 염, 완충제, 용화제, 안정화제, 세제, 프로테아제-억제제 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

일부 구현예에서는, 대상 조성물이 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함한다. 광범위한 약학적으로 허용가능한 부형제가 당해 분야에 공지되어 있으며, 본원에서는 상세히 설명할 필요가 없다. 약학적으로 허용가능한 부형제는, 예를 들면, A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy," 제 20 판, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel 등 편저, 제 7 판, Lippincott, Williams, & Wilkins; 및 Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A.H. Kibbe 등 편저, 제 3 판, Amer. Pharmaceutical Assoc.을 포함하는 다양한 문헌에서 충분히 기술되었다.

약학적 투약 형태에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제-저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체가 일부 구현예에서는 약학적으로 허용가능한 염의 형태로서 제공되며, 단독으로 사용되거나 다른 약학적으로 활성인 화합물과 적절하게 공동으로, 그리고 조합되어 사용된다.

주사에 적당한 제형물

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 일부 구현예에서, 상기 아고니스트를 수성 용매 (예를 들면, 식염수 등) 또는 비수성 용매, 예컨대 식물성 또는 기타 유사 오일, 합성 지방산 글리세리드, 고급 지방산 또는 프로필렌 글

리콜의 에스테르에; 그리고 소망하는 경우, 가용화제, 등장화제, 현탁제, 유화제, 안정화제 및 보존제와 같은 통상적인 첨가제와 함께, 용해, 현탁 또는 유화시킴으로써, 주사 (예를 들면, 피하, 근육내, 피부내, 경피, 또는 기타 주사 경로)에 적당한 제제로 제형된다.

장용성 전달용 제형물

경구 제제용으로는, 대상제 (예를 들면, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트)가 단독으로, 또는 정제, 분말, 과립 또는 캡슐을 제조하기 위한 적절한 첨가제와 조합되어, 예를 들면 통상적 첨가제, 예컨대 락토오스, 만니톨, 옥수수 전분 또는 감자 전분과 같은 통상적 첨가제와 조합되어; 결합제, 예컨대 결정성 셀룰로스, 셀룰로스 유도체, 아카시아, 옥수수 전분 또는 젤라틴과 조합되어; 붕괴제, 예컨대 옥수수 전분, 감자 전분, 또는 소듐 카복시메틸셀룰로오스와 조합되어; 윤활제, 예컨대 활석 또는 스테아르산마그네슘과 조합되어; 원하는 경우, 희석제, 완충제, 습윤제, 보존제 및 풍미제와 조합되어, 제형된다.

또한 대상 아고니스트는 유화 기제 또는 수용성 기제와 같은 다양한 기제와 혼합함으로써 좌약으로 제조될 수 있다. 대상 아고니스트는 좌약을 통해 직장 투여될 수 있다. 좌약은 체온에서 녹지만 실온에서는 고체화되는 코코아 버터, 카보왁스 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 운반체를 포함할 수 있다.

시럽, 엘릭시르 및 현탁액과 같은 경구 또는 직장 투여용 단위 투약 형태로서, 각 투약 단위, 예를 들면 작은 한 숟갈, 큰 한 숟갈, 정제 또는 좌약이 하나 이상의 활성제를 함유하는 조성물을 소정량 함유하는 것인 단위 투약 형태가 제공된다. 유사하게, 주사 또는 정맥내 투여용 단위 투약 형태는 조성물 중에 아고니스트를 살균수, 보통 식염수 또는 또 다른 약학적으로 허용가능한 담체 중의 용액으로서 포함할 수 있다.

장용성(enteric) 전달을 위해서는, 일부 구현예에서는 대상 제형물이 장용성-가용성 코팅 물질을 포함할 것이다. 적당한 장용성-가용성 코팅 물질에는 히드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트 (HPMCAS), 히드록시프로필 메틸셀룰로스 프탈레이트 (HPMCP), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트 (CAP), 폴리비닐 프탈릭 아세테이트 (PVPA), 유드라짓(Eudragit™), 및 셀락이 포함된다.

적당한 경구 제형물의 한 비제한적인 예로서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 미국특허 제 6,346,269 호에 기재된 바와 같이 하나 이상의 약학적 부형제와 함께 제형되고 장용성 코팅으로 코팅될 수 있다. 예를 들면, 용매, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 및 안정화제를 포함하는 용액이 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 핵상에 코팅되어, 활성제로 코팅된 핵을 형성하고; 활성제로 코팅된 핵에 서브-코팅층이 도포되고, 이는 다시 장용성 코팅층으로 코팅된다. 핵은 일반적으로 락토오스, 전분, 만니톨, 소듐 카복시메틸 셀룰로스, 소듐 전분 글리콜레이트, 염화소듐, 염화포타슘, 안료, 알긴산 염, 활석, 이산화탄, 스테아르산, 스테아르산염, 미소결정성 셀룰로스, 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜, 트리에틸 시트레이트, 트리부틸 시트레이트, 프로판릴 트리아세테이트, 이염기성 인산칼슘, 삼염기성 인산소듐, 황산칼슘, 시클로텍스트린, 및 피마자유와 같은 약학적으로 불활성인 성분을 포함한다. 활성제에 적당한 용매는 수성 용매를 포함한다. 적당한 안정화제는 알칼리 금속 및 알칼리 토금속, 인산염 및 유기산염의 염기 및 유기 아민을 포함한다. 서브-코팅층은 하나 이상의 점착제, 가소화제, 및 항점착성제(anti-tackiness agent) 중 하나 이상을 포함한다. 적당한 항점착성제에는 활석, 스테아르산, 스테아르산염, 소듐 스테아릴 푸마레이트, 글리세릴 베헤네이트, 카올린 및 에어로실이 포함된다. 적당한 점착제에는 폴리비닐 피롤리돈 (PVP), 젤라틴, 히드록시에틸 셀룰로스 (HEC), 히드록시프로필 셀룰로스 (HPC), 히드록시프로필 메틸 셀룰로스 (HPMC), 비닐 아세테이트 (VA), 폴리비닐 알코올 (PVA), 메틸 셀룰로스 (MC), 에틸 셀룰로스 (EC), 히드록시프로필 메틸 셀룰로스 프탈레이트 (HPMCP), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트 (CAP), 잔탄 검, 알긴산, 알긴산염, 유드라짓(Eudragit™), 메틸아크릴산/메틸 메타크릴레이트와 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트 (PVAP)와의 공중합체가 포함된다. 적당한 가소화제에는 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜, 트리에틸 시트레이트, 트리부틸 시트레이트, 프로판릴 트리아세테이트 및 피마자유가 포함된다. 적당한 장용성-가용성 코팅 물질에는 히드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트 (HPMCAS), 히드록시프로필 메틸 셀룰로스 프탈레이트 (HPMCP), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트 (CAP), 폴리비닐 프탈릭 아세테이트 (PVPA), 유드라짓™ 및 셀락이 포함된다.

적당한 경구 제형물은 또한 하기 중 임의의 것과 함께 제형된 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 포함한다: 미세과립 (예를 들면, 미국특허 제 6,458,398 호 참조); 생분해성 매크로머 (예를 들면, 미국특허 제 6,703,037 호 참조); 생분해성 하이드로겔 (예를 들면, Graham 및 McNeill (1989) *Biomaterials* 5:27-36 참조); 생분해성 입자상 벡터 (예를 들면, 미국특허 제 5,736,371 호 참조); 생체흡수성 락톤 고분자 (예를 들면, 미국특허 제 5,631,015 호 참조); 서방성 단백질 고분자 (예를 들면, 미국특허 제 6,699,504 호 참조; Pelias Technologies, Inc.); 폴리(락티드-코-글리콜리드/폴리에틸렌 글리콜 블록 공중합체 (예를 들면, 미국특허 제 6,630,155 호 참조; Atrix Laboratories, Inc.); 생체적합성

고분자 및 금속 양이온-안정화된 작용제의 입자가 고분자 내에 분산된 조성물 (예를 들면, 미국특허 제 6,379,701 호 참조; Alkermes Controlled Therapeutics, Inc.); 및 미소구체 (예를 들면, 미국특허 제 6,303,148 호 참조; Octoplus, B.V.).

적당한 경구 제형물은 또한 하기 중 임의의 것과 함께 제형된 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 포함한다: 에미스피어(Emisphere®) (Emisphere Technologies, Inc.)와 같은 담체; TIMERx, 텍스트로스의 존재 하에서 수중 강력한 결합제 젤을 형성하는, 잔탄과 로커스트 빈 겔을 합한 친수성 매트릭스 (Penwest); 제미넥스(Geminex™) (Penwest); 프로사이즈(Procise™) (GlaxoSmithKline); 새빗(SAVIT™) (Mistral Pharma Inc.); 링캡(RingCap™) (Alza Corp.); 스마트릭스(Smartrix®) (Smartrix Technologies, Inc.); SQZ젤(SQZgel™) (MacroMed, Inc.); 지오매트릭스(Geomatrix™) (Skye Pharma, Inc.); 오로스 트리-레이어 (Oros® Tri-layer) (Alza Corporation); 등.

또한 사용하기에 적당한 제형물은 미국특허 제 6,296,842 호 (Alkermes Controlled Therapeutics, Inc.); 미국특허 제 6,187,330 호 (Scios, Inc.); 등에 기술된 것들이다.

경구 전달용 제형물

본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체; 및 경구 전달에 적당한 약학적 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

경구 제제를 위해서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체가 단독으로, 또는 정제, 분말, 과립 또는 캡슐을 제조하기에 적합한 첨가제와 조합되어, 예를 들면 통상적 첨가제, 예컨대 락토오스, 만니톨, 옥수수 전분 또는 감자 전분과 조합되어; 결합제, 예컨대 결정성 셀룰로스, 셀룰로스 유도체, 아카시아, 옥수수 전분 또는 젤라틴과 조합되어; 붕괴제, 예컨대 옥수수 전분, 감자 전분 또는 소듐 카복시메틸셀룰로스와 조합되어; 윤활제, 예컨대 활석 또는 스테아르산마그네슘과 조합되어; 그리고 원하는 경우, 희석제, 완충제, 습윤제, 보존제 및 풍미제와 조합되어 제형된다.

시럽, 엘릭시르 및 현탁액과 같은 경구 또는 직장 투여용 단위 투약 형태로서, 각 투약 단위, 예를 들면 작은 한 숟갈, 큰 한 숟갈, 정제가 하나 이상의 활성제를 함유하는 조성물을 소정량 함유하는 것인 단위 투약 형태가 제공된다.

경구 전달을 위해서는, 일부 구현예에서는 대상 제형물이 장용성-가용성 코팅 물질을 포함할 것이다. 적당한 장용성-가용성 코팅 물질에는 히드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트 (HPMCAS), 히드록시프로필 메틸 셀룰로스 프탈레이트 (HPMCP), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트 (CAP), 폴리비닐 프탈릭 아세테이트 (PVPA), 유드라짓™, 및 셀락이 포함된다.

적당한 경구 제형물의 한 비제한적인 예로서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는 미국특허 제 6,346,269 호에 기재된 바와 같이 하나 이상의 약학적 부형제와 함께 제형되고 장용성 코팅으로 코팅될 수 있다. 예를 들면, 용매, 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 및 안정화제를 포함하는 용액이 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 핵상에 코팅되어, 활성제로 코팅된 핵을 형성하고; 활성제로 코팅된 핵에 서브-코팅층이 도포되고, 이는 다시 장용성 코팅층으로 코팅된다. 핵은 일반적으로 락토오스, 전분, 만니톨, 소듐 카복시메틸 셀룰로스, 소듐 전분 글리콜레이트, 염화소듐, 염화포타슘, 안료, 알긴산 염, 활석, 이산화티탄, 스테아르산, 스테아르산염, 미소결정성 셀룰로스, 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜, 트리에틸 시트레이트, 트리부틸 시트레이트, 프로판릴 트리아세테이트, 이염기성 인산칼슘, 삼염기성 인산소듐, 황산칼슘, 시클로텍스트린, 및 피마자유와 같은 약학적으로 불활성인 성분을 포함한다. 활성제에 적당한 용매는 수성 용매를 포함한다. 적당한 안정화제는 알칼리 금속 및 알칼리 토금속, 인산염 및 유기산염의 염기 및 유기 아민을 포함한다. 서브-코팅층은 하나 이상의 점착제, 가소화제, 및 항-점착성제(anti-tackiness agent) 중 하나 이상을 포함한다. 적당한 항-점착성제에는 활석, 스테아르산, 스테아르산염, 소듐 스테아릴 푸마레이트, 글리세릴 베헤네이트, 카올린 및 에어로실이 포함된다. 적당한 점착제에는 폴리비닐 피롤리돈 (PVP), 젤라틴, 히드록시에틸 셀룰로스 (HEC), 히드록시프로필 셀룰로스 (HPC), 히드록시프로필 메틸 셀룰로스 (HPMC), 비닐 아세테이트 (VA), 폴리비닐 알코올 (PVA), 메틸 셀룰로스 (MC), 에틸 셀룰로스 (EC), 히드록시프로필 메틸 셀룰로스 프탈레이트 (HPMCP), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트 (CAP), 잔탄 겔, 알긴산, 알긴산염, 유드라짓™, 메틸 아크릴산/메틸 메타크릴레이트와 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트 (PVAP)와의 공중합체가 포함된다. 적당한 가소화제에는 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜, 트리에틸 시트레이트, 트리부틸 시트레이트, 프로판릴 트리아세테이트 및 피마자유가 포함된다. 적당한 장용

성-가용성 코팅 물질에는 히드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트 (HPMCAS), 히드록시프로필 메틸 셀룰로스 프탈레이트 (HPMCP), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트 (CAP), 폴리비닐 프탈릭 아세테이트 (PVPA), 유드라짓™ 및 셀락이 포함된다.

적당한 경구 제형물은 또한 하기 중 임의의 것과 함께 제형된 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제-저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 포함한다: 미세과립 (예를 들면, 미국특허 제 6,458,398 호 참조); 생분해성 매크로머 (예를 들면, 미국특허 제 6,703,037 호 참조); 생분해성 하이드로젤 (예를 들면, Graham 및 McNeill (1989) *Biomaterials* 5:27-36 참조); 생분해성 입자상 벡터 (예를 들면, 미국특허 제 5,736,371 호 참조); 생체흡수성 락톤 고분자 (예를 들면, 미국특허 제 5,631,015 호 참조); 서방성 단백질 고분자 (예를 들면, 미국특허 제 6,699,504 호 참조; Pelias Technologies, Inc.); 폴리(락티드-코-글리콜리드)/폴리에틸렌 글리콜 블록 공중합체 (예를 들면, 미국특허 제 6,630,155 호 참조; Atrix Laboratories, Inc.); 생체적합성 고분자 및 금속 양이온-안정화된 작용제의 입자가 고분자 내에 분산된 조성물 (예를 들면, 미국특허 제 6,379,701 호 참조; Alkermes Controlled Therapeutics, Inc.); 및 미소구체 (예를 들면, 미국특허 제 6,303,148 호 참조; Octopus, B.V.).

적당한 경구 제형물은 또한 하기 중 임의의 것과 함께 제형된 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제-저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 포함한다: 에미스피어(Emisphere®) (Emisphere Technologies, Inc.)와 같은 담체; TIMERx, 텍스트로스의 존재 하에서 수중 강력한 결합제 젤을 형성하는, 잔탄과 로커스트 빈 검을 합한 친수성 매트릭스 (Penwest); 제미넥스™ (Penwest); 프로사이즈™ (GlaxoSmithKline); 새빗™ (Mistral Pharma, Inc.); 링캡™ (Alza Corp.); 스마트릭스® (Smartrix Technologies, Inc.); SQZ젤™ (MacroMed, Inc.); 지오매트릭스™ (Skye Pharma, Inc.); 오로스 트리-레이어® (Alza Corporation); 등.

또한 사용하기에 적당한 제형물은 미국특허 제 6,296,842 호 (Alkermes Controlled Therapeutics, Inc.); 미국특허 제 6,187,330 호 (Scios, Inc.); 등에 기술된 것들이다.

또한 본원에서 사용하기에 적당한 것은 장관 흡수 증진제를 포함하는 제형물이다. 적당한 장관 흡수 증진제에는 칼슘 킬레이트화제 (예를 들면, 시트레이트, 에틸렌디아민 테트라아세트산); 계면활성제 (예를 들면, 소듐 도데실 술페이트, 담즙산염, 팔미토일카르니틴, 및 지방산의 소듐염); 독소 (예를 들면, 조놀라 오클루덴스(zonula occludens) 독소); 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

한 측면에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체가 경구 전달되는 제형물의 제 1 유닛 형태를 갖는다. 알려진 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는 부모 치료 단백질의 변이체이다. 이들 구현예에서는, 제 1 유닛 형태가 제 1 몰수의 알려진 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 포함한다. 부모 치료 단백질은 제 2 유닛 형태의, 제 2 몰수의 부모 치료 단백질의 투여량으로 통상 투여되는 것으로서, 이때 제 2 유닛 형태는 속방성(immediate release) 제형물, 예를 들면 피하 주사에 적당한 속방성 제형물이다. 부모 치료 단백질은 선택된 투약 횟수로 피하 볼루스 주사에 의해 전달된다. 부모 치료 단백질은 선택된 투약 횟수로 피하 볼루스 주사에 의해 제 2 유닛 형태로 환자에 투여되었을 때, 환자에 있어서 질환의 치료에 효과적임이 입증되어야 한다. 제 1 유닛 형태의 제 1 몰수는 제 2 유닛 형태의 제 2 몰수를 초과한다. 그럼에도 불구하고, 제 1 유닛 형태가 환자에게 경구 투여되는 경우, 제 1 몰수의 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는 선택된 투약 횟수에 있어서 부모 치료 단백질의 투여량 사이의 시간 간격 이하의 기간에 걸쳐 제 1 유닛 형태에 의해 방출된다.

또 다른 측면에서는, 본 발명의 경구 약학적 조성물이 제 1 투여량의 알려진 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 제 1 유닛 형태로 포함한다. 이들 구현예에서는, 부모 치료 단백질이 비경구 약학적 조성물 중 부모 치료 단백질의 제 2 투여량으로 투여되는 것으로서, 이때 비경구 약학적 조성물은 속방성 제형물, 예를 들면 선택된 투약 횟수로 제 2 투여량의 볼루스 주사에 적당한 속방성 제형물이다. 부모 치료 단백질은, 일정량의 비경구 약학적 조성물로서 피하 볼루스 주사에 의해 환자에게 투여됨으로써, 환자가 선택된 투약 횟수로 제 2 투여량의 부모 치료 단백질을 투여받는 경우, 환자에 있어 질환의 치료가 효과적임이 입증되어야 한다. 제 1 투여량의 알려진 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는 환자에게 경구 투여되며, 제 1 투여량에 있어서 알려진 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리

펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제-저항성 폴리펩티드 변이체 모두가 방출되는 데 필요한 시간은 선택된 투약 간격의 투여량 사이의 시간 이하이다. 환자 체중 1 킬로그램 당 약물의 몰수로 표시되는, 제 1 투여량에서의 알려진 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 양은, 질환을 앓고 있는 환자의 총 집단에서의 평균 환자 체중에 대해 제 1 및 제 2 투여량을 계산했을 때, 제 2 투여량에서의 환자 체중 1 킬로그램 당 약물의 몰수로 표시되는 부모 치료 단백질의 양을 초과한다.

일부 구현예에서는, 제 2 투여량이 중량 기준 투여량이며, 약물의 몰수로 표시되는 제 1 투여량은 환자 체중 1 킬로그램 당 약물의 몰수로 표시되는 제 2 투여량을 평균 환자의 체중 (예를 들면, 75 킬로그램)으로 곱한 값 초과이다.

또 다른 구현예에서는, 제 2 투여량이 환자 체중에 의해 계층화된다, 즉 제 2 투여량은 환자 체중에 의해 계층화된 둘 이상의 투여량의 한 세트로부터 선택되고 (예를 들면, 체중이 75 kg 이하인 환자에 대해서는 1,000 mg의 약물, 및 체중이 75 kg 초과인 환자에 대해서는 1,200 mg의 약물), 제 1 투여량은 약물의 몰수로 해서 환자 체중으로 계층화된 투여량 세트에서 최대 투여량을 초과한다.

또 다른 구현예에서는, 제 2 투여량이 고정된 투여량이고, 제 1 투여량이 약물의 몰수로 해서 제 2 투여량을 초과한다.

한 비제한적인 예에서는, 본 발명은, 하기 IFN- α 를 이용한 치료 방법“에 기술된 치료 방법에 있어서 알려진 합성 IFN- α 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 경구 투여하는 데 사용되는 임의의 경구 약학적 조성물을 제공한다.

또 다른 비제한적인 예에서는, 본 발명은 하기 IFN- β 를 이용한 치료 방법“에 기술된 치료 방법에 있어서 알려진 대상 합성 IFN- β 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 경구 투여하는 데 사용되는 임의의 경구 약학적 조성물을 제공한다.

또 다른 비제한적인 예에서는, 본 발명은 하기 IFN- γ 를 이용한 치료 방법“에 기술된 치료 방법에 있어서 알려진 합성 IFN- γ 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 경구 투여하는 데 사용되는 임의의 경구 약학적 조성물을 제공한다.

펩티드 담체를 이용한 경구 제형물

본원에서 사용하기에 적당한 부가적 경구 제형물은 WO 03/066859 에 기재된 바와 같은 경구 전달용 담체와 함께 제형된 알려진 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 변이체, 알려진 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 알려진 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 알려진 초글리코실화, 프로테아제-저항성 폴리펩티드 변이체를 포함한다.

예를 들면, 적당한 경구 제형물은 소망하는 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제-저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체; 및 침투용 (penetrating) 펩티드 (“펩티드 담체”라고도 함)를 포함한다. 침투용 펩티드는 생물학적 배리어, 예를 들면 위장관 내벽을 이루는 상피층을 가로지르는 물질의 이동을 용이하게 하는 임의의 펩티드이다. 적당한 펩티드 담체에는 내재성 막 단백질 (integral membrane protein), 박테리아 독소, 비-병원성 박테리움, 바이러스 단백질, 세포외 단백질 등을 포함하나, 이에 한정되지는 않는 다양한 단백질에서 유래한 것들이 포함된다. 펩티드 담체의 아미노산 서열은 천연 발생 단백질의 아미노산 수열과 동일할 수 있거나, 상기와 같은 펩티드의 변경된 버전 (예를 들면, 천연-발생 펩티드에 비해 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것)일 수 있다.

펩티드 담체는 통상 길이가 약 10 개의 아미노산 내지 약 30 개의 아미노산, 예를 들면 길이가 약 10 개의 아미노산 내지 약 15 개의 아미노산, 약 15 개의 아미노산 내지 약 20 개의 아미노산, 약 20 개의 아미노산 내지 약 25 개의 아미노산, 또는 약 25 개의 아미노산 내지 약 30 개의 아미노산이다.

적당한 펩티드 담체는 하기 표 9에 나타난 것과 같은 펩티드 1번 내지 34번 중 어느 하나를 포함하나, 이에 한정되지는 않는다 (서열번호:1311-1326)

[표 9]

펩티드/생물체	서열
펩티드 1: ORF H10638 <i>Haemophilus influenzae</i> 유래	NYHDI VLALAGVCQSAKL VHQLA
펩티드 2: PM1850 <i>Pasteurella multocida</i> 유래	NYDYI TLALAGVCQA AKLVQQFA
펩티드 3: YCFC <i>Escherichia coli</i> 유래	NYDYI TLALAGI CQSARLVQQLA
펩티드 4: VC1127 <i>Vibrio cholerae</i> 유래	A IYDRT I AFAGI CQAVLVQQVA
펩티드 5: BU262 <i>Buchnera aphidicola</i> 유래	K IHL I TLSLAGI CQSAHLVQQLA
펩티드 6: PA2627 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 유래	DPRQQL I ALGAVFESAALVDKLA
펩티드 7: XF1439 <i>Xylella fastidiosa</i> 유래	L I DNRVLALAGVVQALQQVRQ I A
펩티드 8: MLR0187 <i>Rhizobium loti</i> 유래	NLPP I VLAV I G I CAAVFLQQYV
펩티드 9: 인간 NK-2 수용체 유래	NYF I VNLALADLCMAAFNAAFNF
펩티드 10: CPN0710/C <i>Chlamydia pneumoniae</i> 유래	TAFDFNKMLDGVCTYVKG VQQYL
펩티드 11: MLR4119 <i>Rhizobium loti</i> 유래	RA I L I FLALAGLCQVARAGDISS
펩티드 12: NprB <i>Bacillus subtilis</i> 유래	MRNLTKTSLLLAGLCTAAQMVFVTH
펩티드 13: Pilin <i>Kingella dentrificans</i> 유래	I ELMIVIAI I G I LA A I ALPAYQEYV
펩티드 14: Pilin <i>Eikenella corrodens</i> 유래	I ELMIVIAI I G I LA A I ALPAYQDYV
펩티드 15: 조놀라 오클루덴스(zonula occludens) 독소 (ZOT) 유래	ASFGFC I GR LCVQDGF
펩티드 29: 인간 NK-1 수용체 유래	NYFLVNLAFAEASMAAFNTVVNF
펩티드 30: YCFC <i>Escherichia coli</i> 유래	MNYDYI TLALAGI CQSARLVQQLA
펩티드 31: YCFC <i>Escherichia coli</i> 유래	MYDYI TLALAGI CQSARLVQQLA
펩티드 32: YCFC <i>Escherichia coli</i> 유래	MYDI TLALAGI CQSARLVQQLA
펩티드 33: NprB <i>Bacillus subtilis</i> 유래	MRNLTRTSLLLAGLCTAAQMVFV
펩티드 34: ORF H10638 <i>Haemophilus influenzae</i> 유래	NYHDI VLALAGVCQSAKL VHQLA

적당한 펩티드 담체는 또한 표 9에 나타난 것과 같은 펩티드 1번 내지 34번 중 어느 하나의 변이체, 예를 들면 펩티드 1번 내지 34번 중 어느 하나와 약 1 개의 아미노산 내지 약 5 개의 아미노산이 차이 나는 변이체; 및 펩티드 1번 내지 34번 중 어느 하나의 단편을 포함한다. 펩티드 1번 내지 34번 중 어느 하나의 변이체에는, 펩티드 1번 내지 34번 중 어느 하나의 아미노산 서열에 비해 약 1 개 내지 약 5 개의 보존적 아미노산 치환 및/또는 비-보존적 아미노산 치환을 갖는 것들이 포함된다. 펩티드 1번 내지 34번 중 어느 하나의 단편에는, 펩티드 1번 내지 34번 중 어느 하나의 약 10 개의 인접 아미노산 내지 약 15 개의 인접 아미노산을 함유하는 단편, 약 15 개의 인접 아미노산 내지 약 20 개의 인접 아미노산을 함유하는 단편, 및 약 20 개의 인접 아미노산 내지 약 25 개의 인접 아미노산을 함유하는 단편이 포함된다.

펩티드 담체는 소망하는 합성 타입 I 인터페론 수용체, 초글리코실화, 프로테아제 저항성, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 단백질과, 예를 들면 공유 상호작용, 이온성 상호작용, 소수성 상호작용, 수소결합, 또는 기타 유형의 회합 (예를 들

면 반데르발스 상호작용; 용매 선호성으로 인한 비특이적 회합; 등)을 포함하는 다수의 방식 중 임의의 방식으로 “회합(associated with)” (“융합(fused to)”, “커플링(coupled to)”, “연결(linked to)”, 또는 “부착(attached to)”이라고도 함)될 수 있다. 펩티드 담체의 소망하는 단백질로의 부착은 당해 분야의 숙련자에게 공지된 임의의 화학적, 생화학적, 효소적 또는 유전자 커플링 방법에 의해 달성된다.

펩티드 담체가 소망하는 합성 타입 I 인터페론 수용체, 초글리코실화, 프로테아제 저항성, 또는 초글리코실화 및 프로테아제 저항성 단백질에 커플링되는 경우에는, 통상 소망하는 단백질의 N-말단이 펩티드 담체의 카복시 말단에 커플링된다. 소망하는 합성 타입 I 인터페론 수용체, 초글리코실화, 프로테아제 저항성, 또는 초글리코실화 및 프로테아제 저항성 단백질은 공유 결합을 통해 직접 또는 간접적으로 펩티드 담체에 커플링될 수 있다. 예를 들면, 공유 결합은 펩티드 결합일 수 있거나; 또는 공유 결합은 호모- 또는 헤테로-작용기성 가교 시약(bridging reagent)에 의해 이루어질 수도 있다. 가교 시약은 숙신이미딜-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카복실레이트 (SMCC)-유형 담체일 수 있다. 공유 결합은 펩티드 연결기를 이용하여 이루어질 수도 있다.

일부 구현예에서는, 소망하는 합성 타입 I 인터페론 수용체, 초글리코실화, 프로테아제 저항성, 또는 초글리코실화 및 프로테아제 저항성 단백질이 절단가능할 수도 있는 연결기 펩티드를 통해 펩티드 담체에 커플링된다. 연결기 펩티드는 임의의 다양한 아미노산 서열을 가질 수 있다. 단백질은, 일반적으로 유연성 성질의 스페이서 펩티드에 의해 결합될 수 있으나, 다른 화학적 연결들도 제외되지는 않는다. 현재, 가장 유용한 연결기 서열은 일반적으로 약 6 개 내지 약 40 개의 아미노산 길이, 또는 약 6 개 내지 약 25 개 아미노산 길이의 펩티드일 것으로 추정된다. 이러한 연결기는 일반적으로 합성, 연결기-코딩 올리고뉴클레오타이드를 이용하여 단백질에 커플링시킴으로써 제조된다. 어느 정도의 유연성을 갖는 펩티드 연결기가 일반적으로 바람직하다. 연결 펩티드는 거의 임의의 아미노산 서열을 가질 수 있으나, 바람직한 연결기는 일반적으로 유연한 펩티드를 생성하는 서열을 갖는다는 것을 염두에 두어야 한다. 작은 아미노산, 예컨대 글리신 및 알라닌의 사용은 유연성 펩티드를 생성하는 사용이다. 이와 같은 서열의 생성은 당해 분야의 숙련자에게는 일상적인 것이다. 다양한 연결기가 상업적으로 입수가 가능하며, 본 발명에 따른 사용에 적당한 것으로 여겨진다.

알라닌 및 프롤린 잔기가 풍부한 아미노산 서열은 다중-도메인 단백질 구조에 유연성을 부여하는 것으로 알려져 있다. 예를 들면, 상기와 같은 서열은 2-옥소산 탈수소효소 복합체, 예컨대 파이프루베이트 탈수소효소 복합체 및 2-옥소 글루타레이트 탈수소효소 복합체의 이른바 E2 성분의 도메인들을 연결한다. 알라닌-프롤린 풍부 영역은 경쇄 마이오신에서도 발견된다. 본 발명에서의 사용을 위한 예시적인 연결기는 글리신, 알라닌, 프롤린 및 메티오닌 잔기의 조합, 예컨대 AAAGGM (서열번호: 1332); AAAGGMPP AAAGGM (서열번호: 1333); AAAGGM (서열번호: 1334); and PPAAAGGM₂ (서열번호: 1335)을 갖는다. 기타 예시적인 연결기 펩티드에는 IEGR (서열번호: 1336; 인자 Xa에 의해 절단될 수 있는 것) 및 GGKGGK (서열번호:1337)가 포함된다. 그러나 일반적으로 약 6 개 내지 약 40 개의 아미노산 길이의 임의의 유연성 연결기가 사용될 수 있다. 연결기는 상기 예시된 유형의 알라닌-프롤린 풍부 서열을 포함하여 전반적으로 유연성인 펩티드를 생성하는 거의 임의의 서열을 가질 수 있다.

일부 구현예에서는, 소망하는 합성 타입 I 인터페론 수용체, 초글리코실화, 프로테아제 저항성, 또는 초글리코실화 및 프로테아제 저항성 단백질이 효소에 의해 절단가능한 연결기 펩티드를 통해 펩티드 담체에 커플링된다. 일부 구현예에서는, 효소가 특정 생리학적 조건 하에서 조건적으로 활성화된다.

또 다른 구현예에서는, 소망하는 합성 타입 I 인터페론 수용체, 초글리코실화, 프로테아제 저항성, 또는 초글리코실화 및 프로테아제 저항성 단백질이 비-공유 결합을 통해 펩티드 담체에 커플링되는데, 이때 비-공유 결합은, 소수성 부분이 펩티드 담체가 소망하는 합성타입 I 인터페론 수용체, 초글리코실화, 프로테아제 저항성, 또는 초글리코실화 및 프로테아제 저항성 폴리펩티드가 함유된 소수성 운반체의 계면에서 혼입되게 하도록 소수성 부분이 펩티드 담체에 부착함으로써 이루어진다. 또 다른 구현예에서는, 비-공유 결합이 비-공유, 고친화성 결합, 예컨대 비오틴-아비딘 또는 비오틴-스트렙타비딘 결합이다.

펩티드는 화학적 또는 효소적으로 합성될 수 있거나, 재조합적으로 생성될 수 있거나, 천연 공급원에서 분리될 수 있거나, 또는 상기의 조합으로 마련될 수 있다. 펩티드는, 고성능 크로마토그래피, 배제 크로마토그래피, 젤 전기영동, 친화성 크로마토그래피, 및 기타 정제 기법을 포함하나, 이에 한정되지는 않는 당해 분야에 공지된 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 천연 공급원으로부터 분리될 수 있다. 고체상 펩티드 합성 기법을 채택할 수도 있는데, 그러한 기법은 당해 분야의 숙련자에게 공지되어 있다. Jones, The Chemical Synthesis of Peptides (Clarendon Press, Oxford) (1994)를 참조한다. 일반적으로, 상기와 같은 방법에서는 펩티드가 고체상에 결합된 성장 펩티드 사슬에 활성화 단량체 단위를 순차적으로 부가함으로써 생산된다. 체계화된 재조합 DNA 기법이 펩티드의 생산에 채택될 수 있다.

예시적인 경구 제형물에는 펩티드 담체; 소망하는 합성 타입 I 인터페론 수용체, a 초글리코실화, a 프로테아제 저항성, 또는 a 초글리코실화, 프로테아제 저항성 단백질; 및 a) 희석제, 예컨대 락토오스, 텍스트로스, 수크로스, 만니톨, 소르비톨, 셀룰로스 및/또는 글리신; b) 아프로티닌 또는 트라실올과 같은 프로테아제 저해제; c) 윤활제, 예를 들면 실리카, 탈컴, 스테아르산, 그의 마그네슘 및/또는 칼슘 염, 폴록사머 또는 폴리에틸렌 글리콜; d) 결합제 (예를 들면, 정제용), 예를 들면 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로스, 소듐 카복시메틸셀룰로스 및/또는 폴리비닐피롤리돈; e) 담즙산염과 같은 이온성 표면 활성제; f) 붕괴제, 예를 들면 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 소듐 염, 또는 발포 혼합물; 및 g) 하나 이상의 흡수제, 착색제, 풍미제 및 감미제 중 하나 이상을 포함하는 장용성 코팅된 정제 및 젤라틴 캡슐이 포함된다. 일부 구현예에서는 경구 제형물이 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 용해 촉진제, 염, 및 완충제 중 하나 이상을 추가 포함한다.

일부 구현예에서는 경구 제형물이 비이온성 세제, 이온성 세제, 프로테아제 저해제 및 환원제 중 하나 이상을 추가 포함할 것이다. 비이온성 세제는 플루로닉 F-68과 같은 폴록사머일 수 있고; 이온성 세제는 타우로데옥시콜레이트와 같은 담즙산염일 수 있고; 프로테아제 저해제는 아프로티닌 또는 대두 트립신 저해제일 수 있으며; 환원제는 N-아세틸-1-시스테인일 수 있다.

조함 제형물

본 발명은 글리코실화된 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트; 글리코실화 IFN- γ ; 및 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서는, 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 가 공동-제형된다. 일부 구현예에서는, 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 가 약물 전달 장치에서의 사용을 위해 단일 저장소에 함유된 단일 액체 제형물로 공동-제형된다. 일부 구현예에서는, 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 가 주사에 의한 전달에 적당한 제형물로 된다. 또 다른 구현예에서는, 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 가 경구 전달에 적당한 제형물로 된다. 경구 전달에 적당한 제형물은 상기에 언급한 것들을 포함한다.

본 발명은, 환자의 치료에 있어 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 의 공동-투여를 채택하는, 본원에 기술된 임의의 방법에서 하기에 충분한 단일 투여량의 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 단일 투여량의 글리코실화 IFN- γ 를 포함하는 약학적 제형물을 제공한다. 일부 측면에서는, 본 발명은 액체로 공동제형된 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 를 함유하는 약물 저장소 또는 기타 용기로서, 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 모두가 각각의 단일 투여량에 적당한 양으로 제형물 중에 존재하는 약물 저장소 또는 기타 용기를 제공한다. 투여량은 본원에 기재되어 있다. 상기 저장소는 카트리지, 주사기, 연속적 전달 장치의 저장소 등을 포함하나, 이에 한정되지는 않는 임의의 다양한 형태로 제공될 수 있다.

일부 구현예에서는, 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 폴리펩티드를 포함하는 약학적 조성물이, a) 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 살균수 용액 중에 포함하는 약학적 조성물; 및 b) 살균수 용액 중에 글리코실화 IFN- γ 를 포함하는 약학적 조성물의 혼합물에 의해 형성된다.

폴리뉴클레오타이드, 벡터 및 숙주 세포

본 발명은 또한 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 ("핵산"), 대상 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터, 및 대상 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 대상 폴리뉴클레오타이드는 대상 폴리펩티드 아고니스트의 생산에 유용한 대상 발현 벡터 및 유전적으로 변형된 숙주 세포를 생성하는 데 유용하다.

본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 핵산 조성물을 제공한다. 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "핵산 조성물"은, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하고, 적절한 조건 하에서 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 상기 핵산을 포함하는 숙주 세포 내에서 생산되도록 발현될 수 있는 오픈 리딩 프레임에 갖는 핵산 서열을 포함하는 조성물을 가리킨다. 상기 용어에는 또한 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 핵산과 상동이거나 실질적으로 유사하거나 동일한 핵산도 포함된다.

따라서 본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산, 및 상기와 같은 핵산과 실질적인 뉴클레오티드 서열 동일성을 갖는 핵산 (예를 들면, 상동체)을 제공한다. 다수의 구현예에서는, 대상 핵산이 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하고, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (특히 뉴클레오티드 서열의 대상 폴리펩티드 코딩 영역)과 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 약 98% 이상, 또는 약 99% 이상, 또는 그 이상의 뉴클레오티드 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

일부 구현예에서는, 대상 핵산이 서열번호: 9-19 중 어느 하나에서 기재된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서는, 대상 핵산이 서열번호: 24-34 중 어느 하나에 기재된 바와 같은 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

일부 구현예에서는, 대상 핵산이 서열번호: 48-52 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서는, 대상 핵산이 서열번호: 55-59 중 어느 하나에 기재된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

서열 유사성은 기준 서열을 기초로 계산하는데, 기준 서열은 보다 큰 서열의 서브세트, 예컨대 보존된 모티프, 코딩 영역, 측부(flanking) 영역 등일 수 있다. 기준 서열은 보통 약 18 nt 이상의 길이, 보다 통상적으로는 약 30 nt 이상의 길이이며, 비교되는 완전한 서열로 확장될 수 있다. 서열 분석 알고리즘은 Altschul 등 (1990), *J. Mol. Biol.* 215:403-10에 기재된 BLAST (디폴트 설정 사용, 즉 파라미터 $w=4$ 및 $T=17$)와 같이, 당해 분야에 공지되어 있다.

또한, 엄격한 조건 하에서 상술한 핵산으로 하이브리드 형성하는 핵산이 제공된다. 엄격한 하이브리드 형성 조건의 한 예는 50°C 이상 및 0.1 x SSC (15 mM 염화소듐/1.5 mM 소듐 시트레이트)에서의 하이브리드 형성이다. 엄격한 하이브리드 형성 조건의 또 다른 예는 50% 포름아미드, 5 x SSC (150 mM NaCl, 15 mM 트리소듐 시트레이트), 50 mM 인산소듐 (pH 7.6), 5 x 덴하르트 용액(Denhardt's solution), 10% 텍스트란 술페이트, 및 20 µg/ml 변성, 전단된 연어 정자 DNA의 용액 중에서 42°C에서 밤새 인큐베이션 한 후, 약 65°C에서 0.1 x SSC로 필터를 세척하는 것이다. 엄격한 하이브리드 형성 조건은 적어도 상기의 대표적 조건만큼 엄격한 하이브리드 형성 조건이다. 기타 엄격한 하이브리드 형성 조건은 당해 분야에 공지되어 있으며, 또한 본 발명의 본 특정 구현예의 핵산을 동정하는 데 사용될 수도 있다.

본 발명의 단백질 및 폴리펩티드를 코딩하는 핵산은 다수의 구현예에서 cDNA를 포함한 DNA이다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 “합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 핵산”은 특정 대상 폴리펩티드를 코딩하는 오픈 리딩 프레임에 비롯하여, 발현 제어에 관련된 인접한 5' 및 3' 비-코딩 뉴클레오티드 서열, 예를 들면 코딩 영역 밖의 약 100 bp 내지 약 20 kb이나, 양 방향으로 더 확장될 수도 있는 것을 가리킨다. 핵산은 하기에 더 상세히 기재되는 바와 같이, 염색체의 유지 또는 숙주 게놈으로의 통합에 적합한 벡터 내로 도입될 수 있다.

본 발명의 핵산 조성물은 대상 합성타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 전부 또는 일부를 코딩할 수 있다. 통상적인 방법에 따라 제한효소 분해에 의해, 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 증폭 등에 의해 올리고뉴클레오티드를 화학적으로 합성함으로써 DNA 서열로부터 이중 또는 단일 가닥의 단편이 획득될 수 있다.

일부 구현예에서는, 대상 핵산이 화학적 합성에 의해, 예를 들면 올리고뉴클레오티드 합성기를 사용함으로써 제조되는데, 이때 올리고뉴클레오티드는 소망하는 폴리펩티드의 아미노산 서열을 기준으로 고안되며, 많은 구현예에서는, 재조합 폴리펩티드가 생산될 숙주 세포에서 선호되는 코돈을 선택함으로써 제조된다. 예를 들면, 소망하는 폴리펩티드의 일부를 코딩하는 몇 가지 소형 올리고뉴클레오티드가 합성되고 PCR, 절찰 또는 절찰 연쇄 반응 (LCR)에 의해 조립될 수 있다. 개별 올리고뉴클레오티드는 통상 상보적 어셈블리에 대해 5' 또는 3' 오버행(overhang)을 함유한다. 일단 조립되면, 대상 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열이 재조합 벡터 내로 삽입되고, 소망하는 형질변환된 숙주 세포 내에서의 대상 핵산의 발현, 및 후속의 대상 폴리펩티드 생산에 필요한 제어 서열에 작동가능하게 연결된다.

일부 구현예에서는, 대상 핵산이, 코돈의 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 또는 약 90% 이상, 또는 그 이상이 인간 서열에 바람직한 코돈이 되도록 생성된다. 예를 들면, 하기의 표 8을 참조한다.

대상 핵산 분자는 일반적으로 분자를 벡터 내에 위치시킴으로써 증식된다. 플라스미드를 포함하여, 바이러스성 및 비-바이러스성 벡터가 사용된다. 플라스미드의 선택은 증식이 소망되는 세포의 종류 및 증식의 목적에 의존할 것이다. 소망하는 DNA 서열을 대량 증폭시키고 제조하는 데에는 특정 벡터가 유용하다.

본 발명은 또한 대상 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터 (“구조물”)를 제공한다. 재조합 벡터는 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 증식에 사용되는 벡터, 및 발현 벡터를 포함한다. 재조합 벡터는 대상 폴리뉴클레오티드(클로닝 벡터)의 증식에 유용하다. 대상 재조합 발현 벡터는, 예를 들면 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 생산을 위해 세포 내에서의 대상 폴리뉴클레오티드의 발현을 실시하는 데 유용하다. 적합한 벡터의 선택은 당업자의 능력 범위 내이다. 다수의 상기와 같은 벡터가 상업적으로 입수가 가능하다.

발현 벡터는 배양액 중의 세포에서의 발현에 적당하다. 이러한 벡터는 일반적으로 상기 벡터가 작동가능하게 연결된 대상 폴리뉴클레오티드의 발현을 실시하는 데 필요한 조절 서열 (“제어 서열” 또는 “제어 영역”)을 포함할 것이다. 또 다른 벡터는 전(全) 생물 또는 사람에서 세포 내 전이 및 발현에 적당하다.

발현 벡터는 일반적으로 이중 단백질을 코딩하는 핵산 서열의 삽입을 제공하기에 편리한, 프로모터 서열 근처에 위치한 제한 부위를 갖는다. 발현 숙주 내에서 작동하는 선택가능한 마커가 존재할 것이다. 발현 벡터는 융합 단백질의 생산에 사용될 수 있는데, 이때 외인성 융합 펩티드가 부가적 기능성, 즉 증가된 단백질 합성, 안정성, 정의된 항원성과의 반응성, 효소 마커, 예를 들면 β -갈락토시다제, 루시퍼라제 등을 제공한다.

전사 개시 영역, 프로모터 영역 (예를 들면, 진핵세포 내에서 기능성인 프로모터), 대상 폴리뉴클레오티드, 및 전사 종결 영역을 포함하는 발현 카세트가 제조될 수 있다. DNA의 도입 후에는, 상기 구조물을 함유하는 세포가 선택가능한 마커에 의해 선택될 수 있으며, 세포는 확장된 후 발현에 사용될 수 있다.

발현 카세트는 다양한 벡터, 예를 들면 플라스미드, BAC, HAC, YAC, 람다, P1, M13 등과 같은 박테리오파지, 동물 또는 식물 바이러스 등으로 도입될 수 있는데, 이때 벡터는 보통 발현 벡터를 포함하는 세포의 선택을 제공하는 능력에 의해 특징지어진다. 벡터는 특히 플라스미드 또는 바이러스로서의 염색체의 유지, 또는 숙주 염색체 내로의 통합을 제공할 수 있다. 염색체 외의 유지가 소망되는 경우에는, 원래 서열이 플라스미드의 복제를 위해 제공되는데, 이는 카피 수가 적거나 높을 수 있다. 광범위한 마커가 선택에 이용가능하며, 특히 독소에 대해, 보다 특별하게는 항생제에 대해 보호하는 것들이 이용가능하다. 선택된 특정 마커는 숙주의 성질에 따라 선택되며, 이때 일부 경우에는, 영양요구성 숙주와의 상보성이 채택될 수 있다. 숙주 세포 내로의 DNA구조물의 도입은 임의의 편리한 방법, 예를 들면 칼슘-침전된 DNA, 전기천공법, 융합, 트랜스펙션, 바이러스성 벡터로의 감염, DNA 입자총법(biolistics) 등이 사용될 수 있다.

포유류 세포 숙주 시스템 형질변환의 일반적인 측면이 1983년 8월 16일에 허여된 미국특허 제 4,399,216 호에서 Axel에 의해 기술되었다. 효모로의 형질변환은 통상 Van Solingen 등, *J. Bact.*, 130: 946 (1977) 및 Hsiao 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 76: 3829 (1979)의 방법에 따라 수행된다. 진핵 숙주 세포의 인산칼슘 트랜스펙션을 위한 최적화된 방법은 미국특허 제 5,484,720 호 및 제 5,593,875 호에서 Wurm 및 Jordan에 의해 기술되었다. 그러나 핵 주사, 전기천공법, 또는 프로토플라스트 융합에 의하는 것과 같은, 세포 내로 DNA를 도입하는 다른 방법들도 사용될 수 있다.

본 발명은 또한 분리된 숙주 세포일 수도 있는 유전적으로 변형된 숙주 세포로서, 대상 폴리뉴클레오티드, 또는 일부 구현 예에서는, 대상 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 적당한 숙주 세포는, *이. 콜라이*, *비. 서브틸리스*와 같은 원핵 생물; 바콜로바이러스와 조합된 곤충 세포, 효모 세포, 예컨대 *사카로마이세스 세레비시애*(*Saccharomyces cerevisiae*), 또는 양서류 (예를 들면, *제노푸스 라에비스*(*Xenopus laevis*) 난자) 및 포유동물, 특히 포유동물을 포함하는 척추동물과 같은 고등생물의 세포, 예를 들면 COS 세포, CHO 세포, HEK293 세포, MA-10 세포 등을 포함하는 진핵생물이 발현 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 숙주 세포는 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 생산을 위해 대상 폴리뉴클레오티드의 증식의 목적으로 사용될 수 있다. 다수의 구현예에서는, 숙주 세포가 진핵 숙주 세포이다. 특히, 다수의 구현예에서 숙주 세포는 단백질의 글리코실화가 가능한 진핵 숙주 세포이다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 생산에 사용되는 포유류 숙주 세포는 다양한 배지 중에서 배양될 수 있다. Ham's F10 (Sigma), 최소 필수 배지(Minimal Essential Medium (MEM), Sigma), RPMI-1640 (Sigma), 및 Dulbecco's Modified Eagle's Medium ((DMEM), Sigma)과 같은 상업적으로 입수가 가능한 배지가 숙주 세포의 배양에 적당하다. 또한, 본원에 참고문헌으로 인용된 Ham 및 Wallace, *Meth. Enz.*, 58: 44 (1979), Barnes 및 Sato, *Anal Biochem.*, 102: 255 (1980), 미국특허 제 4,767,704 호; 제 4,657,866 호; 제 4,927,762 호; 또는 미국특허 제 4,560,655 호; WO 90/03430 호; WO 87/00195 호; 미국특허 재등록 제 30,985 호; 또는 미국특허 제 5,122,469 호에 기

재된 배지 중 임의의 것이 숙주 세포를 위한 배양액 배지로서 사용될 수 있다. 이들 배지 중 어느 것이나 필요에 따라 호르몬 및/또는 기타 성장 인자 (예컨대 인슐린, 트랜스퍼린, 또는 표피 성장 인자), 염 (예컨대, 염화소듐, 칼슘, 마그네슘 및 인산염), 완충제 (예컨대 HEPES), 뉴클레오시드 (예컨대, 아데노신 및 티미딘), 항생제 (예컨대 겐타마이신(Gentamycin™) 약물), 미량 원소 (보통 마이크로몰 범위의 최종 농도로 존재하는 무기 화합물로 정의됨), 및 글루코스 또는 대등한 에너지 공급원으로 보충될 수 있다. 임의의 기타 필수 보충물 또한 당해 분야의 숙련자에게 공지된 적절한 농도로 포함될 수도 있다. 배양 조건, 예컨대 온도, pH 등은 발현을 위해 선택된 숙주 세포에 대해 이전에 사용된 것들이며, 당업자에게는 명백할 것이다.

항체 조성물

또한, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트와 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 적당한 항체는 숙주 동물을 대상 단백질의 전부 또는 일부를 포함하는 펩티드로써 면역시켜서 수득한다. 적당한 숙주 동물에는 마우스, 랫트, 양, 염소, 햄스터, 토끼 등이 포함된다. 다수의 구현예에서는, 대상 항체가 분리되고; 다수의 구현예에서는 대상 항체가 정제된다.

면역원은 완전한 단백질, 또는 그의 단편 및 유도체를 포함할 수 있다. 예시적인 면역원은 단백질의 전부 또는 일부를 포함하며, 이때 이러한 잔기는 천연 표적 단백질 상에서 발견되는 번역 후 변형을 함유한다. 면역원은 당해 분야에서 공지된 다양한 방식, 예를 들면 통상적인 재조합 방법을 사용한 클론된 유전자의 발현, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 폴리펩티드의 화학적 합성 등으로 생산된다.

다클론 항체의 제조에 있어서, 제 1 단계는 숙주 동물을 표적 단백질로 면역시키는 것인데, 표적 단백질은 바람직하게는 실질적으로 순수한 형태이며, 약 1% 미만의 오염물을 포함하는 것이다. 면역원은 완전한 표적 단백질, 그의 단편 또는 유도체를 포함할 수 있다. 숙주 동물의 면역 반응을 증가시키기 위해, 표적 단백질은 항원보강제(adjuvant)와 조합될 수 있는데, 이때 적당한 항원보강제에는 알람, 텍스트란, 황산염, 대형 고분자 음이온, 오일 및 물의 에멀전, 예를 들면 프로인트 항원보강제(Freund's adjuvant), 프로인트 완전 항원보강제 등이 포함된다. 표적 단백질은 또한 합성 담체 단백질 또는 합성 항원에 공액될 수도 있다. 다양한 숙주가 다클론 항체를 생산하도록 면역될 수 있다. 이와 같은 숙주에는 토끼, 기니피그, 설치류, 예를 들면 마우스, 랫트, 양, 염소 등이 포함된다. 표적 단백질은 숙주에게, 보통 내피 투여되며, 초기 투약에 이어서 1회 이상, 보통 2회 이상의 부가적 부스터 투약이 이루어진다. 면역화 후에는, 숙주의 혈액을 채집한 후, 혈액 세포로부터 혈청을 분리한다. 수득된 항혈청에 존재하는 Ig는 공지 방법, 예컨대 암모늄염 분획, DEAE 크로마토그래피 등을 이용하여 추가 분획된다.

단일클론 항체는 통상적인 기법에 의해 제조된다. 일반적으로, 면역된 숙주 동물의 비장 및/또는 림프절이 혈장 세포의 공급원을 제공한다. 혈장 세포는 하이브리도마 세포를 생성하도록 골수종 세포와의 융합에 의해 불멸화된다. 개별 하이브리도마의 배양액 상청액은 소망하는 특이성을 갖는 항체를 생산하는 것들을 동정하는 표준 기법을 사용하여 선별된다. 인간 단백질에 대한 단일클론 항체의 생산에 적당한 동물에는 마우스, 랫트, 햄스터 등이 포함된다. 마우스 단백질에 대한 항체를 얻는 데는, 동물은 일반적으로 햄스터, 기니피그, 토끼 등이다. 항체는 통상적 기법, 예를 들면 불용성 지지체, 단백질 A 세파로즈 등에 결합된 단백질을 이용하는 친화성 크로마토그래피에 의해, 하이브리도마 세포 상청액 또는 복수액(ascites fluid)으로부터 정제될 수 있다.

항체는 보통의 다량체 구조 대신에 단쇄로서 제조될 수 있다. 단쇄 항체는 Jost 등 (1994) *J. Biol. Chem.* 269:26267-73 등에 기재되어 있다. 중쇄의 가변 영역 및 경쇄의 가변 영역을 코딩하는 DNA 서열은, 글리신 및/또는 세린을 포함한 작은 중성 아미노산의 약 4 개 이상의 아미노산을 코딩하는 스페이스에 결합된다. 상기 융합에 의해 코딩된 단백질은 원래 항체의 특이성 및 친화성을 유지하는 기능성 가변 영역의 조립을 가능하게 한다.

특정 구현예에서의 관심 대상은 인간화 항체이다. 항체의 인간화 방법은 당해 분야에서 공지되어 있다. 인간화 항체는 유전자도입(transgenic) 인간 면역글로불린 불변 영역 유전자를 갖는 동물의 생성물일 수 있다 (예를 들면, 국제특허출원 WO 90/10077 호 및 WO 90/04036 호 참조). 대안적으로는, 관심대상인 항체가 CH1, CH2, CH3, 경첩(hinge) 도메인, 및/또는 상응하는 인간 서열을 갖는 프레임워크 도메인을 치환하도록 재조합 DNA 기법에 의해 유전자 조작될 수 있다 (WO 92/02190 호 참조).

키메라성 면역글로불린 유전자의 건조를 위한 Ig cDNA의 사용은 당해 분야에 공지되어 있다 (Liu 등 (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439 및 (1987) *J. Immunol.* 139:3521). mRNA는 상기 항체를 생산하는 하이브리도마 또는 기타 세포로부터 분리되고 cDNA를 생성하는 데 사용된다. 관심대상은 cDNA는 특정 프라이머를 사용하는 중합효소 연쇄 반응에 의해 증폭될 수 있다 (미국특허 제 4,683,195 호 및 제 4,683,202 호). 대안적으로는, 라이브러리를 생성하고 선별하여 관

심대상인 서열을 분리할 수 있다. 항체의 가변 영역을 코딩하는 DNA 서열은 그후 인간 불변 영역 서열에 융합된다. 인간 불변 영역 유전자의 서열은 Kabat 등 (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, N.I.H. 출간 제 91-3242 호에서 찾을 수 있다. 인간 C 영역 유전자는 알려진 클론으로부터 쉽게 입수가능하다. 아이소타입(isotype)의 선택은 소망하는 효과기 기능, 예컨대 보체 고정화, 또는 항체-의존성 세포 독성에서의 활성에 따를 것이다. 예시적인 아이소타입은 IgG1, IgG3 및 IgG4이다. 인간 경쇄 불변 영역, 카파 또는 람다 중 하나가 사용될 수 있다. 키메라성 인간화 항체는 이어서 통상적인 방법으로 발현된다.

항체 단편, 예컨대 Fv, F(ab')₂ 및 Fab은 예를 들면 프로테아제 또는 화학적 절단에 의해 온전한 단백질의 절단에 의해 제조될 수 있다. 대안적으로는, 절제된(truncated) 유전자가 고안된다. 예를 들면, F(ab')₂ 단편의 일부를 코딩하는 키메라 유전자는 CH1 도메인 및 H 사슬의 경첩 영역을 코딩하는 DNA 서열을 포함할 것이며, 이어서 절제된 분자를 생성하는 번역 종결 코돈을 포함할 것이다.

H 및 L J 영역의 컨센서스 서열을 사용하여, 후속적으로 인간 C 영역 절편에 V 영역 절편을 연결시키기 위해 J 영역 내로 유용한 제한 부위를 도입하는 프라이머로서 사용될 올리고뉴클레오타이드를 고안할 수 있다. C 영역 cDNA는 인간 서열 내 유사 위치의 제한 부위를 위치시키기 위한 부위 지향적인 돌연변이유발에 의해 변형될 수 있다.

발현 벡터는 플라스미드, 레트로바이러스, YAC, EBV 유래 에피솜 등을 포함한다. 편리한 벡터는, 임의의 VH 또는 VL 서열이 용이하게 삽입 및 발현될 수 있도록 제한 부위가 적절히 조작된, 기능적으로 완전한 인간 CH 또는 CL 면역글로불린 서열을 코딩하는 것이다. 그러한 벡터에서는, 스플라이싱(splicing)이 보통, 삽입된 J 영역 내 스플라이스 공여체 부위와 인간 C 영역 이전의 스플라이스 수용체 부위 사이에서 일어나며, 또한 인간 CH 엑손 내에서 발생하는 스플라이스 영역에서 일어난다. 폴리아데닐화 및 전사 종결은 코딩 영역의 하류에 있는 천연 염색체 부위에서 일어난다. 수득되는 키메라 항체는 임의의 강력한 프로모터, 레트로바이러스 LTR, 예를 들면 SV-40 초기 프로모터 (Okayama 등 (1983) *Mol. Cell. Bio.* 3:280), 라우스(Rous) 육종 바이러스 LTR (Gorman 등 (1982) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79:6777), 및 몰로니 쥐 백혈병 바이러스 LTR (Grosschedl 등 (1985) *Cell* 41:885); 천연 Ig 프로모터 등을 포함하는 프로모터에 결합될 수 있다.

진단용 용도

본 발명의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 화학적 라이브러리 선별에서 사용될 타입 I 인터페론 활성 템플리트를 제공하는 독특한 연구 시약이며, 이때 수행자는 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 타입 I 인터페론 활성 패턴과 유사한 폭넓은 배열의 타입 I 인터페론 활성을 저해하는 작용제에 대한 초기의 고용량 스크린으로서, 신호전달 분석을 이용할 수 있다. 이러한 방식으로, 광범위한 스펙트럼의 타입 I 인터페론 활성 (대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 활성 프로파일과 유사함)을 저해할 것 같은 후보 작용제가 용이하게 수득될 수 있고, 엄청나게 비싸고 논리적으로 불가능한 수의 바이러스 성장 저해 분석 또는 대형 화학적 라이브러리에 대한 세포 증식 저해 분석을 피할 수 있다.

한 구현예에서는, 본 발명의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 사용하여 WO 95/14930 호 (1995년 6월 1일에 공개)에 기재된 바와 같은 키나제 수용체 활성화 (KIRA) 분석에 있어 화학적 라이브러리를 스크리닝한다. KIRA 분석은 본원에서 사용하기에 적당한데, 그 이유는 Platanias 및 Colamonici, *J. Biol. Chem.*, 269: 17761-17764 (1994)에서 교시하는 바와 같이, 상기 수용체를 발현하는 숙주 세포의 표면 상에서 타입 I 인터페론 수용체 복합체와 현장(in situ) 결합하는 리간드가 상기 수용체의 IFNAR1 및 IFNAR2 성분 모두의 세포내 도메인에서의 티로신 잔기의 인산화의 빠른 증가를 유발하기 때문이다. 티로신 인산화의 수준은 신호 전달의 척도로서 사용될 수 있다. KIRA 분석에서 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에 의해 유발되는 티로신 인산화의 수준에 대한 라이브러리 화합물의 효과는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에 의해 모사되는 폭넓은 배열의 타입 I 인터페론에 대한 상기 화합물의 저해 활성의 지표가 된다.

본원에서 사용하기에 적당한 KIRA 분석은 (a) 타입 I 인터페론 수용체 (수용체의 IFNAR1 및 IFNAR2 성분 모두)를 발현하는 숙주 세포, 및 (b) 관심대상인 저해제 프로파일을 정의하는 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 이용한다. 인간 타입 I 인터페론 수용체를 천연적으로 발현하는 세포, 예컨대 Colamonici 및 Domanski, *J. Biol. Chem.* 268: 10895-10899 (1993)에 기재된 인간 다우디(Daudi) 세포 및 U-266 인간 골수종 세포가 사용될 수 있다. 또한, IFNAR1 및 IFNAR2 성분으로 트랜스펙션되고, 타입 I 인터페론 신호 전달에 필요한 세포내 신호 단백질을 함유하는 세포, 예컨대 Domanski 등, *J. Biol. Chem.* 270: 21606-21611 (1995)에 기재된 것과 같은 마우스 1-929 세포가 사용될 수 있다. KIRA 분석에서는, 후보 안타고니스트가 시험할 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트와 함께 인큐베이션되며, 인큐베이션 혼합물은 타입 I 인터페론 수용체 발현 숙주 세포와 접촉된다. 처리된 세포는 용해되며, 세포 용해

물 중의 IFNAR2 단백질은 고체상 항-IFNAR2 항체에 의해 포획되어 고정화된다. 신호 전달은 포획된 IFNAR2의 세포내 도메인(ICD)에 존재하는 티로신 인산화의 양, 및 임의의 공동-포획된 IFNAR1의 세포내 도메인에 존재하는 티로신 인산화의 양을 측정함으로써 분석된다. 대안적으로는, IFNAR1의 공동 포획을 피하고, IFNAR2 티로신 인산화 단독의 측정을 가능하게 하기 위해, 예를 들면 Platanias 등, *J. Biol. Chem.*, 271: 23630- 23633 (1996)에 기재된 바와 같이 세포 용해 및 면역침전을 변성 조건 하에서 수행할 수 있다. 티로신 인산화의 수준은 표지된 항-포스포티로신 항체로써 정확하게 측정될 수 있으며, 상기 항체는 인산화된 티로신 잔기를 동정한다.

또 다른 구현예에서는, IFNAR1, 및 카복시 말단에서 친화성 취급 폴리펩티드에 융합된 IFNAR2를 함유하는 키메라 구조물을 공동발현하는 숙주 세포가 KIRA 분석에 사용된다. 키메라 IFNAR2 구조물은 상기 친화성 취급 폴리펩티드에 특이적인 고체상 포획제(항-IFNAR2 항체 대신으로)를 사용하여, 세포 용해물로부터의 구조물의 포획을 가능하게 한다. 바람직한 구현예에서는, WO 95/14930 호의 실시예 2 및 3에 기재된 바와 같이, 친화성 취급 폴리펩티드가 헤르페스 심플렉스 바이러스 당단백질 D (gD)이며, 포획제가 항-gD 단일클론 항체이다.

상기 시스템에서는, 관심대상인 타입 I 인터페론 활성 프로파일을 보유하는 본 발명의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가, 스크리닝되는 화학적 라이브러리의 구성원에 의해 생성되는 티로신 인산화 저해 패턴 분석을 위한 표준으로서 사용된다. 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 표준에 의해 생성되는 IFNAR2 ICD 티로신 인산화 패턴은, 라이브러리 화합물의 존재 하에서 표준에 의해 생성되는 티로신 인산화 패턴과 비교되고, 티로신 인산화의 저해를 나타내는 것으로 밝혀진 패턴은 표준에 의해 조사되는 타입 I 인터페론 활성 스펙트럼과 유사한 타입 I 인터페론 활성 범위를 저해할 것 같은 후보 작용제를 동정한다. 따라서 본 발명의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 나타내는 특정 스펙트럼의 타입 I 인터페론 활성을 저해할 것 같은 화합물에 대한 대형 화학적 라이브러리를 신속하고 효율적으로 선별하는 데 유용한 수단을 제공한다.

또한, 본 발명의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는, 특정 세포 또는 조직에서의 타입 I 인터페론 수용체 발현에 대한 진단 분석에 유용하다. 이러한 분석에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 하기에 기재된 바와 같이 표지되고/되거나, 샘플 내 타입 I 인터페론 수용체의 검출을 가능하게 하는 불용성 매트릭스 상에 고정화된다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 다수의 잘 알려진 진단 분석 방법 중 어느 하나에서 타입 I 인터페론 수용체의 검출에 사용될 수 있다. 예를 들면, 한 생물학적 샘플은, 상기 샘플을 소망하는 공급원에서 수득하고, 샘플을 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트와 혼합하여 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 혼합물 중에 존재하는 임의의 타입 I 인터페론 수용체와 아고니스트/타입 I 인터페론 수용체 복합체를 형성하게 하고, 혼합물 중에 존재하는 임의의 아고니스트/타입 I 인터페론 수용체 복합체를 검출함으로써, 타입 I 인터페론 수용체에 대해 분석할 수 있다. 상기 생물학적 샘플은 상기 특정 샘플에 적당한, 당해 분야에 공지된 방법에 의해 분석을 위해 제조될 수 있다. 샘플을 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트와 혼합하는 방법, 및 아고니스트/타입 I 인터페론 수용체 복합체를 검출하는 방법은 사용되는 분석의 유형에 따라 선택된다. 상기과 같은 분석은 경쟁적 및 샌드위치 분석, 입체 저해(steric inhibition) 분석을 포함한다. 경쟁적 및 샌드위치 방법은 방법의 통합적 부분으로서 상-분리 단계를 채택하는 반면, 입체 저해 분석은 단일 반응 혼합물에서 수행된다.

타입 I 인터페론 수용체에 대한 분석 방법은 모두 하기 시약 중 하나 이상을 사용한다: 표지된 타입 I 인터페론 수용체 유사체, 고정화된 타입 I 인터페론 수용체 유사체, 표지된 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 고정화된 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 및 입체 공액체. 표지된 시약은 "트레이서(tracer)"로도 알려져 있다.

사용되는 라벨은, 타입 I 인터페론 수용체와 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트와의 결합을 방해하지 않는, 임의의 검출가능한 작용기이다. 수많은 라벨이 면역분석에서 사용하도록 알려져 있으며, 예로는 직접 검출될 수 있는 부분, 예컨대 형광색소(fluorochrome), 화학발광 및 방사성 라벨, 및 효소와 같이, 검출하려면 반응하거나 유도체화되어야만 하는 부분이 포함된다. 이와 같은 라벨의 예에는 방사성 동위원소 ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H , 및 ^{131}I , 희토류 킬레이트 또는 플루오레세인 및 그 유도체와 같은 형광발색단(fluorophore), 로다민 및 그의 유도체, 단실, 움벨리페론, 루시페라제, 예를 들면 만딧불이 루시페라제 및 박테리아 루시페라제 (미국특허 제 4,737,456 호), 루시페린, 2,3-디히드로프탈라진디온, 호스래디시 퍼옥시다제 (HRP), 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제, 글루코아미라제, 라이소자임, 사카라이드 옥시다제, 예를 들면 글루코스 옥시다제, 갈락토스 옥시다제 및 글루코스-6-인산염 데히드로게나제, 과산화수소를 이용하여 HRP와 같은 색소 전구체를 산화시키는 효소와 커플링된, 유리카제 및 잔틴 옥시다제와 같은 헤테로시클릭 옥시다제, 락토퍼옥시다제, 또는 마이크로퍼옥시다제, 비오틴/아비딘, 스핀 라벨, 박테리오파지 라벨, 안정한 자유 라디칼 등이 포함된다.

이러한 라벨을 단백질 또는 폴리펩티드에 공유 결합시키는 데에는 통상적 방법이 이용가능하다. 예를 들면, 디알데하이드, 카보다이미드, 디말레이미드, 비스-이미데이트, 비스-디아조화 벤지딘 등과 같은 커플링제를 사용하여, 항체에 상술한 형광, 화학발광, 및 효소 라벨을 표지할 수 있다. 예를 들면, 미국특허 제 3,940,475 호 (형광계) 및 제 3,645,090 호 (효소); Hunter 등, *Nature*, 144: 945 (1962); David 등, *Biochemistry*, 13: 1014-1021 (1974); Pain 등, *J. Immunol. Methods*, 40: 219-230 (1981); 및 Nygren, *J. Histochem. and Cytochem.*, 30: 407-412 (1982) 를 참조한다. 본원에서 바람직한 라벨은 호스래디시 퍼옥시다제 및 알칼리성 포스파타제와 같은 효소이다.

효소를 포함한 상기와 같은 라벨을 항체에 공액시키는 것은 면역분석 기법의 숙련자에게는 표준 조작 절차이다. 예를 들면, O'Sullivan 등 "Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for Use in Enzyme Immunoassay," *Methods in Enzymology*, J.J. Langone 및 H. Van Vunakis 편저, 제 73 권 (Academic Press, 뉴욕, N.Y., 1981), pp. 147-166을 참조한다.

특정 분석 방법에 있어서는 시약의 고정화가 필요하다. 고정화에는 용액 중에 자유롭게 잔존하는 임의의 타입 I 인터페론 수용체로부터 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 분리하는 것이 따른다. 이는 통상적으로, 분석 절차 전에 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 또는 타입 I 인터페론 수용체 유사체를 수용성 매트릭스 또는 표면에 흡착시키거나 (Bennich 등, 미국특허 제 3,720,760 호), 공유 커플링 (예를 들면, 글루타르알데히드 가교를 이용하여)시켜서 불용화시키거나, 또는 합성타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 또는 타입 I 인터페론 수용체 유사체를 후에, 예를 들면 면역침전에 의해 불용화시킴으로써 달성된다.

경쟁적 또는 샌드위치 분석으로 알려진 기타 분석 방법은 상업적 진단 산업에서 잘 구축되어 있으며 널리 사용되고 있다.

경쟁적 분석은, 트레이서 타입 I 인터페론 수용체 유사체가 한정된 수의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 결합 부위에 대해 시험 샘플 타입 I 인터페론 수용체와 경쟁하는 능력에 의존한다. 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트는 일반적으로 경쟁 전 또는 후에 불용화되고, 이어서 상기 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트에 결합된 트레이서 및 타입 I 인터페론 수용체가 결합되지 않은 트레이서 및 타입 I 인터페론 수용체로부터 분리된다. 이 분리는 경사분리(decanting) (결합 파트너가 예비불용화된 경우) 또는 원심분리 (결합 파트너가 경쟁적 반응 후에 침전된 경우)에 의해 달성된다. 시험 샘플 타입 I 인터페론 수용체의 양은, 마커 물질의 양에 의해 측정되는 결합된 트레이서의 양에 반비례한다. 알려진 양의 타입 I 인터페론 수용체에 대한 투여량-반응 곡선을 제작하고 시험 결과와 비교하여, 시험 샘플에 존재하는 타입 I 인터페론 수용체의 양을 정량적으로 구한다. 이러한 분석은, 효소를 검출가능한 마커로 사용한 경우 ELISA 시스템이라 부른다.

“균질” 분석이라 불리는 또 다른 종류의 경쟁적 분석은 상분리를 필요로 하지 않는다. 여기서는, 효소와 타입 I 인터페론 수용체의 공액체가, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 타입 I 인터페론 수용체와 결합할 때, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 존재가 효소 활성을 변형시키도록 제조되고 사용된다. 이 경우에는, 타입 I 인터페론 수용체 또는 그의 면역학적으로 활성인 단편이 퍼옥시다제와 같은 효소에 이작용기성 유기 다리(bridge)로써 공액된다. 공액체는, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 결합이 라벨의 효소 활성을 저해하거나 증대시키도록, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트와의 사용을 위해 선택된다. 이 방법 자체는 EMIT란 명칭 하에 널리 시행되고 있다.

입체 공액체는 균질 분석을 위한 입체 부자유 방법에서 사용된다. 이들 공액체는, 헵텐에 대한 항체가 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트와 동시에 공액체와 실질적으로 결합할 수 없도록, 저분자량 헵텐을 작은 타입 I 인터페론 수용체 단편에 공유 연결시킴으로써 합성된다. 이 분석 절차 하에서는, 시험 샘플에 존재하는 타입 I 인터페론 수용체가 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트와 결합함으로써, 항-헵텐이 상기 공액체와 결합할 수 있게 하여, 공액체 헵텐의 특징의 변화, 예를 들면 헵텐이 형광발색단인 경우에는 형광의 변화를 초래한다.

샌드위치 분석은 샘플 중의 타입 I 인터페론 수용체의 결정에 특히 유용하다. 순차적 샌드위치 분석에서는, 고정화된 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트가 시험 샘플 타입 I 인터페론 수용체를 흡착하는 데 사용되고, 시험 샘플은 세척에 의해 제거되고, 결합된 타입 I 인터페론 수용체는 표지된 항-타입 I 인터페론 수용체 항체를 흡착하는 데 사용되며, 결합된 물질은 이어서 잔류 트레이서로부터 분리된다. 결합된 트레이서의 양은 시험 샘플 타입 I 인터페론 수용체에 정비례한다. “동시” 샌드위치 분석에서는, 시험 샘플이 표지된 항-타입 I 인터페론 수용체 항체를 첨가하기 전에 분리되지 않는다.

상기는 단순히 예시적인 타입 I 인터페론 수용체의 진단 분석이다. 타입 I 인터페론 수용체의 결정을 위해 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 사용하는 현재 개발되거나 이후에 개발될 기타 방법들은, 상술한 생물학적 분석을 포함하여, 본원의 범위 내에 포함된다.

치료 방법

본 발명은 섬유증 장애의 치료 방법을 제공한다. 대상 방법은 일반적으로 치료가 필요한 개인에게 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 유효한 조합을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 대상 치료 방법이 하나 이상의 부가적 항-섬유증제를 투여하는 것을 추가로 포함한다.

본 발명은 또한 암의 치료 방법을 제공한다. 대상 방법은 일반적으로 치료가 필요한 개인에게 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 대상 방법이 하나 이상의 부가적 항암제를 투여하는 것을 추가로 포함한다.

본 발명은 바이러스 감염의 치료 방법을 부가적으로 제공한다. 대상 방법은 일반적으로 치료가 필요한 개인에게 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 대상 방법이 하나 이상의 부가적 항바이러스제를 투여하는 것을 추가로 포함한다.

일부 구현예에서는, 대상 치료 방법이, 치료제에 의해 유발되는 부작용을 치료하기 위해 부작용 관리 작용제를 투여하는 것을 추가로 포함한다.

섬유증 장애

본 발명은 섬유증 장애를 가진 개인에서의 섬유증 장애의 치료 방법을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 유효 조합을 투여하는 것을 포함한다. 상기 방법은 특발성 폐섬유증과 같이 폐에 영향을 미치는 것, 알려진 병인으로 인한 폐섬유증, 간 섬유증 또는 경화, 심장 섬유증 및 신장 섬유증을 포함하는 섬유증 질환의 치료를 제공한다. 병인은 독소, 신진대사, 유전적 및 감염성 작용제를 포함하는 임의의 급성 또는 만성 상해(insult)로 인한 것일 수 있다.

섬유증은 일반적으로 콜라겐성 결합조직의 병적 또는 과다 축적으로 특징지어진다. 섬유증 장애에는 콜라겐 질환, 간질성 폐질환, 인간 섬유증 폐질환 (예를 들면, 폐쇄성 세기관지염, 특발성 폐섬유증, 알려진 병인으로 인한 폐섬유증, 폐질환에서의 중앙 기질(stroma), 폐에 영향을 미치는 전신성 경화증, Hermansky-Pudlak 증후군, 광부의 진폐증, 석면증, 규폐증, 만성 폐 고혈압, AIDS-관련 폐 고혈압 등), 섬유증 혈관 질환, 동맥경화증, 죽상경화증, 정맥류, 관상동맥 경색, 뇌경색, 심근 섬유증, 근골격 섬유증, 외과수술 후 유착, 인간 신장 질환 (예를 들면, 신염 증후군, 알포트 증후군, HIV-관련 신장병증, 다낭성 신장 질환, 페브리(Fabry) 질환, 당뇨병 신장병증, 만성 사구체신염, 전신성 루푸스에 수반되는 신장염 등), 피부 켈로이드 형성, 진행성 전신성 경화증 (PSS), 원발성 경화성 담관염 (PSC), 간섬유증, 간경화, 신장 섬유증, 폐섬유증, 낭성 섬유증, 만성 이식편 대 숙주 질환, 피부경화증 (국소 및 전신성), 그레이브스(Graves) 안병증, 당뇨병 망막병증, 녹내장, 페이로니(Peyronie)병, 음경 섬유증, 방광경을 사용한 시험 후의 요관협착증, 외과수술 후의 내부 유착, 흉터남음, 골수섬유증, 특발성 복막후 섬유증, 알려진 병인으로 인한 복막 섬유증, 약물 유발 맥각중독(ergotism), 양성 또는 악성 암에 일어나기 쉬운 섬유증, 미생물 감염 (예를 들면, 바이러스, 박테리아, 기생충, 진균 등)에서 일어나기 쉬운 섬유증, 알츠하이머병, 염증성 장질환에 일어나기 쉬운 섬유증 (크론병 및 미시적 대장염에서의 협착 형성 포함), 화학적 또는 환경적 상해 (예를 들면, 암 화학요법, 살충제, 방사선 (예를 들면, 암 방사선요법) 등)에 의해 유발되는 섬유증 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

일부 구현예에서는, 유효량의 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 섬유증 장애를 가진 개인에게 투여되었을 때, 치료 이전의 개인에서의 섬유증의 정도에 비해, 또는 치료의 부재 하에 환자가 경험했을 법한 섬유증의 진행률에 비해, 섬유증을 감소시키거나 섬유증의 진행률을 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 또는 약 50% 이상, 또는 그 이상 감소시키는 데 유효한 임의 조합된 투여량이다.

일부 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 섬유증 장애를 가진 개인에게 투여되었을 때, 치료 이전의 개인에서의 기관 기능의 기선 수준에 비해, 또는 치료의 부재 하에서 개인이 경험했을 법한 기관 기능의 저하율에 비해, 섬유증이 영향을 미치는 기관 (예를 들면, 폐, 간, 신장 등)의 하나 이상의 기능을 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 또는 약 50% 이상, 또는 그 이상 증가시키거나, 상기 기능의 저하율을 감소시키는 데 유효한 임의 조합된 투여량이다.

주어진 기관에서의 섬유증의 정도를 측정하는 방법, 및 임의의 주어진 기관의 기능을 측정하는 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다.

특발성 폐섬유증

본 발명은 특발성 폐섬유증 (IPF)의 치료 방법을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 IPF를 가진 개인에게 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 투여하는 것을 포함한다.

일부 구현예에서는, IPF의 진단이 외과수술적 생검에 의해 수득되는 폐조직의 조직학적 평가 시 통상성 간질성 폐렴 (UIP)의 발견에 의해 확인된다. IPF의 진단에 대한 기준은 공지되어 있다. Ryu 등 (1998) *Mayo Clin. Proc.* 73:1085-1101.

다른 구현예에서는, IPF의 진단이 고해상도 전산화 단층촬영술 (HRCT)에 의해 이루어지는 확정(definite) 또는 추정(probable) IPF이다. HRCT에 의한 진단에서는, 하기 특징의 존재에 주목한다: (1) 근본 및 말초에 지배적인 망상 이상증 및/또는 견인성 기관지확장증의 존재; (2) 근본 및 말초에 지배적인 벌집모양의 존재; 및 (3) 미세결절, 기관지혈관주위 결절, 경화, 분리된 (비-벌집모양) 포낭, 간유리음영(ground glass attenuation) (또는, 있다면, 망상 불투명보다는 덜 광범위함), 및 종격동 선병증(mediastinal adenopathy) (또는, 있다면, 흉부 x-선 촬영으로 보일만큼 충분히 광범위하지 않음)과 같은 비전형적 특징의 부재. 확정 IPF의 진단은 특징 (1), (2) 및 (3)이 충족되는 경우에 이루어진다. 추정 IPF의 진단은 특징 (1) 및 (3)이 충족되는 경우에 이루어진다.

일부 구현예에서는, "유효량"의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 위약 대조군 또는 무처리 대조군에 비해 질환 진행을 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 또는 그 이상 감소시키는 데 유효한 조합된 투여량이다.

질환 진행은 하기 중 하나 이상의 현상이다: (1) 10% 이상의 예측된 FVC의 감소; (2) 5 mm Hg 이상의 A-a 구배의 증가; (3) 15% 이상의 단일 호흡 DL_{CO} 감소. 질환 진행이 일어났는지의 여부는 4 내지 14 주 간격으로 2회 연속적 발생 시 상기 파라미터 중 하나 이상을 측정하고, 그 값을 기선과 비교함으로써 결정된다.

따라서 예를 들면 무처리되거나 위약-처리된 개인이 일정 기간에 걸쳐 FVC의 50% 감소를 나타내는 경우, 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 유효 조합이 투여된 개인은 동일한 기간에 걸쳐 45%, 약 42%, 약 40%, 약 37%, 약 35%, 약 32%, 약 30%, 또는 그 이하의 FVC 감소를 나타낸다.

일부 구현예에서는, "유효량"의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 위약-처리되거나 무처리 대조군의 개인에 비해, 무진행(progression-free) 생존 시간을 증가시키는, 예를 들면 기선 (예를 들면, 치료를 시작하기 1일 내지 28일 전의 시점)으로부터 사망 또는 질환 진행까지의 시간이 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 2 배 이상, 약 3 배 이상, 약 4 배 이상, 약 5 배 이상, 또는 그 이상 증가되는 데 유효한 임의 조합된 투여량이다. 따라서 예를 들면, 일부 구현예에서는 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 위약-처리되거나 무처리 대조군에 비해 무진행 생존 시간을 약 1 주 이

상, 약 2 주 이상, 약 3 주 이상, 약 4 주 이상, 약 2 개월 이상, 약 3 개월 이상, 약 4 개월 이상, 약 5 개월 이상, 약 6 개월 이상, 약 8 개월 이상, 약 10 개월 이상, 약 12 개월 이상, 약 18 개월 이상, 약 2 년 이상, 약 3 년 이상, 또는 그 이상 증가시키는 데 유효한 임의 조합된 투여량이다.

일부 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 무처리된 개인 또는 위약-처리된 대조군의 개인에 비해 폐 기능의 하나 이상의 파라미터를 증가시키는 데 유효한 임의 조합된 투여량, 예를 들면 폐 기능의 하나 이상의 파라미터를 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 2 배 이상, 약 3 배 이상, 약 4 배 이상, 약 5 배 이상, 또는 그 이상 증가시키는 조합된 투여량이다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 폐 기능의 파라미터가 증가되는지의 여부의 결정이, 치료 시작 후, 예를 들면, 치료 시작 후 48 주 후, 또는 치료 시작 후의 두 시점 사이, 예를 들면 약 4 내지 약 14 주 간격 사이의 임의 시점에서의 값을 기선 값과 비교함으로써 이루어진다.

일부 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 4 내지 14 주 간격으로 2회의 연속적 발생 시의 기선에 비해 FVC를 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 2 배 이상, 약 3 배 이상, 약 4 배 이상, 약 5 배 이상, 또는 그 이상 증가시키는 데 유효한 임의 조합된 투여량이다.

일부 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 기선에 비해 폐포 대 동맥 (A-a) 구배를 약 5 mm Hg 이상, 약 7 mm Hg 이상, 약 10 mm Hg 이상, 약 12 mm Hg 이상, 약 15 mm Hg 이상, 또는 그 이상 감소시키는 임의 조합된 투여량이다.

일부 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 기선에 비해 단일 호흡 DL_{CO} 를 약 15 % 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 2 배 이상, 약 3 배 이상, 약 4 배 이상, 약 5 배 이상, 또는 그 이상 증가시키는 임의 조합된 투여량이다. CL_{CO} 는 일산화탄소에 대한 폐 확산 용량이며, mL CO/mm Hg/초로 표시된다.

폐 기능의 파라미터에는 노력성 폐활량(forced vital capacity; FVC); 노력성 호기량(forced expiratory volume; FEV1); 총 폐용량; 정지시 동맥 산소 분압; 최대 운동시 동맥 산소 분압이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

폐 기능은 폐활량측정법(spirometry)를 포함하나, 이에 한정되지는 않는 임의의 공지 방법을 사용하여 측정될 수 있다.

간섭유증

본 발명은 임상적 간섭유증의 감소, 간섭유증이 일어날 가망의 감소, 및 간섭유증에 수반되는 파라미터의 감소를 포함하는 간섭유증의 치료 방법을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 치료가 필요한 개인에게 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 유효량의 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 조합을 투여하는 것을 포함한다. 다수의 구현예에서 특히 관심을 끄는 것은 인간의 치료이다.

간섭유증은 간경화증에 수반되는 합병증, 예컨대 문맥성 고혈압, 진행성 간 기능부족, 및 간세포 암종에 대한 전구체이다. 따라서 간섭유증의 감소는 그러한 합병증의 발생을 감소시킨다. 따라서 본 발명은 개인에게서 간의 경화증에 수반되는 합병증이 발생할 가망을 감소시키는 방법을 추가로 제공한다.

본 발명의 방법은 일반적으로 치료적 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 투여하는 것을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같은, “유효량”의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 간섭유증을 감소시키거나

간염유증의 진행률을 감소시키는 데 유효하고/하거나; 개인에게서 간염유증이 발생할 가망을 감소시키는 데 유효하고/하거나; 간염유증에 수반되는 파라미터를 감소시키는 데 유효하고/하거나; 간의 경화증에 수반되는 장애를 감소시키는 데 유효한 임의 조합된 투여량이다.

본 발명은 또한 개인에서의 간염유증의 치료 방법으로서, 상기 개인의 간염유증의 예방 또는 치료에 효과적인, 예를 들면 생존확률을 증가시키거나, 사망 위험도를 감소시키거나, 질환의 부담을 경감시키거나, 상기 개인에 있어서 질환의 진행을 늦추는 데 효과적인 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 그러한 양의 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 조합을, 상기 개인에게 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 조합을 이용한 치료가 간염유증을 감소시키는 데 효과적이지의 여부는 간염유증 및 간 기능을 측정하기 위한 다수의 잘 구축된 임의 기법에 의해 결정된다. 간염유증이 감소되었는지의 여부는 간 생검 샘플을 분석함으로써 결정된다. 간 생검의 분석은, 심각도 및 진행 중인 질환 활성의 척도로서 “등급”으로 평가되는 괴사성염증, 및 장기 질환 진행을 반영하는 것으로서 “단계”로 평가되는 섬유증의 병변 및 실질조직 및 혈관 리모델링의 두 가지 주요 성분의 평가를 포함한다. 예를 들면, Brunt (2000) *Hepatology* 31:241-246; 및 METAVIR (1994) *Hepatology* 20:15-20을 참조한다. 간 생검 분석을 근거로, 점수가 매겨진다. 섬유증의 정도 및 심각도의 정량적 평가를 제공하는 몇 가지 표준화된 점수체계가 존재한다. 이들에는 METAVIR, Knodell, Scheuer, Ludwig, 및 Ishak 점수체계가 포함된다.

METAVIR 점수체계는, 섬유증 (문맥섬유증, 중심소엽(centrilobular) 섬유증 및 경화증); 괴사 (단편적인 소엽 괴사, 호산성 퇴축, 및 풍선 변성); 염증 (문맥관 염증, 문맥 림프구 응집, 및 문맥 염증의 분포); 담관 변화; 및 Knodell 지표 (문맥주위 괴사, 소엽 괴사, 문맥 염증, 섬유증, 및 전체 질환 활성의 점수)를 포함한 간 생검의 다양한 특징의 분석을 기초로 한다. METAVIR 체계에서의 각 단계의 정의는 다음과 같다: 점수: 0, 괴사 없음; 점수: 1, 문맥관의 성상(stellate) 확대, 그러나 격막 형성은 없음; 점수: 2, 문맥관의 확대 및 드문 격막 형성; 점수: 3, 경화증 없는 다수의 격막; 및 점수: 4, 경화증.

간염 활성 지표로도 불리는 Knodell의 점수체계는 조직상 특징의 네 부류에 대한 점수를 근거로 시편을 분류한다: I. 문맥주위 및/또는 교량성 괴사; II. 소엽내 변성 및 초점성 괴사; III. 문맥 염증; 및 IV. 섬유증. Knodell 단계적 체계에서는, 점수가 하기와 같다: 점수: 0, 섬유증 없음; 점수: 1, 경증 섬유증 (섬유성 문맥 확장); 점수: 2, 중간 정도의 섬유증; 점수: 3, 중증 섬유증 (교량성 섬유증); 및 점수: 4, 경화증. 점수가 높을수록, 간조직 손상이 더 심각하다. Knodell (1981) *Hepatology* 1:431.

Scheuer 점수체계에서는, 점수가 다음과 같다: 점수: 0, 섬유증 없음; 점수: 1, 확장된 섬유증성 문맥관; 점수: 2, 문맥주위 또는 문맥-문맥 격막, 그러나 온전한 구조; 점수: 3, 구조 변형이 수반된 섬유증, 그러나 명백한 경화증은 없음; 점수: 4, 추정 또는 확정 경화증. Scheuer (1991) *J. Hepatology* 13:372.

Ishak 점수체계는 Ishak (1995) *J. Hepatology* 22:696-699에 기재되어 있다. 단계 0, 섬유증 없음; 단계 1, 일부 문맥 부위의 섬유성 확장, 짧은 섬유성 격막 존재 또는 부재; 단계 2, 대부분의 문맥 부위의 섬유성 확장, 짧은 섬유성 격막 존재 또는 부재; 단계 3, 대부분의 문맥 부위의 섬유성 확장, 및 간혈성 문맥 대 문맥 (P-P) 교량형성; 단계 4, 문맥 부위의 섬유성 확장, 및 현저한 교량형성 (P-P)를 비롯하여 문맥-중심 (P-C) 교량형성; 단계 5, 현저한 교량형성 (P-P 및/또는 P-C), 및 간혈적 결절 (불완전 경화증); 단계 6, 경화증, 추정 또는 확정. 항-섬유증 치료의 유의성은 Child-Pugh 점수체계를 이용하여 측정 및 평가될 수도 있는데, 상기 체계는 혈청 빌리루빈 수준, 혈청 알부민 수준, 프로트롬빈 시간, 복수(ascites)의 존재 및 심각도, 및 뇌병증의 존재 및 심각도의 이상을 근거로 하는 다성분점 체계를 포함한다. 이러한 파라미터의 이상의 존재 및 심각도를 근거로, 환자는 A, B 또는 C의 임상적 질환의 증가하는 심각도의 세 부류 중 하나에 속할 수 있다.

일부 구현예에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 치료적으로 유효한 조합이란, 치료전 및 치료후 간 생검을 근거로 한 섬유증 단계에 있어 한 단위 이상의 변화를 초래하는 임의 조합된 투여량이다. 특정 구현예에서는, 치료적으로 유효한 조합 투여량이 간염유증을 상기 METAVIR, Knodell, Scheuer, Ludwig, 또는 Ishak 점수체계에 있어 한 단위 이상 감소시킨다.

간 기능의 이차 또는 간접 지표 또한 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료의 효능을 평가하는 데 사용될 수 있다. 간염유증의 콜라겐 및/또는 혈청 마커의 특

정 염색을 기초로 한, 간섬유증의 정량적 정도의 형태계측적(morphometric) 전산화 반자동화 평가 또한 대상 치료 방법의 효능을 나타내는 것으로서 측정될 수 있다. 간 기능의 이차 지표에는 혈청 트랜스아미나제 수준, 프로트롬빈 시간, 빌리루빈, 혈소판 계수, 문맥압, 알부민 수준 및 Child-Pugh 점수의 평가가 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

또 다른 구현예에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 유효 조합이란, 무처리된 개인 또는 위약-처리된 개인에서의 간 기능 지표에 비해 간 기능 지표를 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 또는 약 80% 이상, 또는 그 이상 증가시키는 데 효과적인 임의 조합된 투여량이다. 당업자는 그러한 간 기능 지표를 표준 평가 방법을 이용하여 용이하게 측정할 수 있으며, 상기 방법은 다수가 상업적으로 이용가능하고 임상적 환경에서 일상적으로 사용된다.

간섬유증의 혈청 마커 또한 대상 치료 방법의 효능의 지표로서 측정될 수 있다. 간섬유증의 혈청 마커에는 히알루론산염, N-말단 프로콜라겐 III 펩티드, 타입 IV 콜라겐의 7S 도메인, C-말단 프로콜라겐 I 펩티드, 및 라미닌이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다. 간섬유증의 부가적 생화학적 마커에는 α-2-매크로글로불린, 헵토글로빈, 감마 글로불린, 아포지질단백질 A, 및 감마 글루타밀 트랜스펩티다제가 포함된다.

또 다른 구현예에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 치료적으로 유효한 조합이란, 무처리된 개인, 또는 위약-처리된 개인에서의 마커의 수준에 비해 간섬유증의 마커의 혈청 수준을 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 또는 약 80% 이상, 또는 그 이상 감소시키는 데 유효한 임의 조합된 투여량이다. 당업자는 표준 평가 방법을 이용하여 그러한 간섬유증의 혈청 마커를 용이하게 측정할 수 있으며, 상기 방법 중 다수가 상업적으로 이용가능하고 임상적 환경에서 일상적으로 사용된다. 혈청 마커의 측정 방법에는 주어진 혈청 마커에 특이적인 항체를 이용하는, 면역학을 기초로 한 방법, 예를 들면 효소 결합 면역흡착제 평가 (ELISA), 방사성 면역평가 등이 포함된다.

간의 기능적 잔기(functional liver reserve)의 정량적 시험 또한 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료의 효능을 평가하는 데 사용될 수 있다. 여기에는: 인도시아닌 그린 제거율 (ICG), 갈락토스 제거율 (GEC), 아미노피린 호흡 시험 (ABT), 안티피린 제거율, 모노에틸글리신-자일리디드 (MEG-X) 제거율, 및 카페인 제거율이 포함된다.

본원에서 사용된 바와 같은 “간의 경화증에 수반되는 합병증”은 대상부전된(decompensated) 간 질환의 후유증이거나, 즉 간섬유증 발생에 뒤이어서 그 결과로 일어나는 장애를 가리키며, 복수의 발생, 정맥류성 출혈, 문맥 고혈압, 황달, 진행성 간 기능부족, 뇌병증, 간세포 암종, 간 이식을 필요로 하는 간부전, 및 간-관련 사망이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

또 다른 구현예에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 치료적으로 유효한 조합이란, 무처리된 개인 또는 위약-처리된 개인에 비해 간의 경화증에 수반되는 장애의 발생률 (예를 들면, 개인에 있어서 발생할 가망)을 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 또는 약 80% 이상, 또는 그 이상 감소시키는 데 효과적인 임의 조합된 투여량이다.

대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 병용요법이 간의 경화증에 수반되는 장애의 발생률을 감소시키는 데 효과적이지의 여부는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

간섬유증의 감소는 간 기능을 증가시킨다. 따라서 본 발명은 간 기능을 증가시키는 방법으로서, 일반적으로 치료적으로 유효한 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 간 기능에는 혈청 단백질 (예를 들면, 알부민, 응고 인자, 알칼리성 포스파타제, 아미노트랜스퍼라제 (예를 들면, 알라닌 트랜스아미나제, 아스파테이트 트랜스아미나제), 5'-뉴클레오시

다제, γ -글루타미닐트랜스펩티다제 등)과 같은 단백질의 합성, 빌리루빈의 합성, 콜레스테롤의 합성, 및 담즙산의 합성; 탄수화물 대사, 아미노산 및 암모니아 대사, 호르몬 대사, 및 지질 대사를 포함하나 이에 한정되지는 않는 간 신진대사 기능; 외인성 약물의 해독; 내장 및 문맥 혈류역학을 포함하는 혈류역학적 기능; 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

간 기능이 증가되었는지의 여부는 간 기능에 대한 잘 구축된 시험을 이용하여 당업자가 용이하게 확인할 수 있다. 따라서 알부민, 알칼리성 포스파타제, 알라닌 트랜스아미나제, 아스파테이트 트랜스아미나제, 빌리루빈 등과 같은 간 기능 마커의 합성은 표준 면역학적 및 효소 분석법을 이용하여 혈청 중의 상기 마커의 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. 내장 순환 및 문맥 혈류역학은 표준 방법을 이용하여 문맥 썬기압(wedge pressure) 및/또는 저항에 의해 측정할 수 있다. 대사 기능은 혈청 중의 암모니아 수준을 측정함으로써 측정될 수 있다.

보통 간에 의해 분비되는 혈청 단백질이 정상 범위 내인지의 여부는 표준 면역학적 및 효소 분석법을 이용하여 상기와 같은 단백질의 수준을 측정함으로써 결정될 수 있다. 당업자는 상기와 같은 혈청 단백질의 정상 범위를 알고 있다. 하기는 비제한적 예이다. 알라닌 트랜스아미나제의 정상 범위는 혈청 1 리터 당 약 7 내지 약 56 단위이다. 아스파테이트 트랜스아미나제의 정상 범위는 혈청 1 리터 당 약 5 내지 약 40 단위이다. 빌리루빈은 표준 분석법을 이용하여 측정된다. 정상 빌리루빈 수준을 보통 약 1.2 mg/dL 미만이다. 혈청 알부민 수준은 표준 분석법을 이용하여 측정된다. 혈청 알부민의 정상 수준은 약 35 내지 약 55 g/L의 범위이다. 프로트롬빈 시간의 연장은 표준 분석법을 이용하여 측정된다. 정상 프로트롬빈 시간은 대조군보다 약 4 초 미만으로 더 길다.

또 다른 구현예에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 치료적으로 유효한 조합이란, 간 기능을 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 또는 그 이상 증가시키는 데 효과적인 임의의 조합된 투여량이다. 예를 들면, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 치료적으로 유효한 조합은 간 기능의 혈청 마커의 상승된 수준을 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 또는 그 이상 감소시키거나, 간 기능의 혈청 마커의 수준을 정상 범위 내로 감소시키는 데 효과적인 임의의 조합된 투여량을 포함한다. 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 치료적으로 유효한 조합은 또한 간 기능의 혈청 마커의 감소된 수준을 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 또는 그 이상 증가시키거나, 간 기능의 혈청 마커의 수준을 정상 범위 내로 증가시키는 데 효과적인 임의의 조합된 투여량을 포함한다.

신장 섬유증

본 발명은 신장 섬유증의 치료 방법을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 신장 섬유증을 가진 개인에게 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 투여하는 것을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같은 “유효량”의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 신장 섬유증을 감소시키는 데 효과적이고/이거나; 개인에 있어서 신장 섬유증이 발생할 가망을 감소시키는 데 효과적이고/이거나; 신장 섬유증에 수반되는 파라미터를 감소시키는 데 효과적이고/이거나; 신장의 섬유증에 수반되는 장애를 감소시키는 데 효과적인 임의의 조합된 투여량이다.

한 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 치료 전의 개인에서의 신장 섬유증의 정도에 비해, 또는 치료의 부재 하에 환자가 경험했을 법한 신장 섬유증의 진행 속도에 비해, 신장 섬유증 또는 신장 섬유증의 진행 속도를 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상 감소시키기에 충분한 임의의 조합된 투여량이다.

섬유증이 신장에서 감소되었는지의 여부는 임의의 공지 방법을 이용하여 결정된다. 예를 들면, ECM 축적 및/또는 섬유증의 정도에 대한 신장 생검 샘플의 조직화학적 분석이 당해 분야에 알려져 있다. Masseroli 등 (1998) *Lab. Invest.* 78:511-522; 미국특허 제 6,214,542 호를 참조한다.

일부 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 치료 전의 개인에 있어서 신장 기능의 기선 수준에 비해 신장 기능을 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상 증가시키는 데 효과적인 임의 조합된 투여량이다.

일부 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트란, 치료의 부재 하에서 일어날 신장 기능의 저하에 비해 신장 기능의 저하를 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상 늦추는 데 효과적인 임의 조합된 투여량이다.

신장 기능은 혈장 크레아티닌 수준 (정상 수준은 일반적으로 약 0.6 내지 약 1.2 mg/dL의 범위이다); 크레아티닌 제거율 (크레아티닌 제거율의 정상 범위는 남성에서는 약 97 내지 약 137 mL/분이고, 여성에서는 약 88 내지 약 128 mL/분이다); 사구체 여과율 (이눌린 제거율 또는 다른 방법으로부터 계산되거나 수득됨), 혈중 요소 질소 (정상 범위는 약 7 내지 약 20 mg/dL이다); 및 요단백질 수준을 포함하나, 이에 한정되지는 않는 임의의 공지 분석법을 이용하여 측정할 수 있다.

부가적 항-섬유증제

섬유증성 장애의 치료를 위한 상술한 병용요법은 어느 것이나 하나 이상의 부가적 항-섬유증제의 공동-투여를 포함하도록 변형될 수 있다. 따라서 본 발명은 섬유증성 장애의 치료 방법으로서, 일반적으로 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 하나 이상의 부가적 항-섬유증제와 함께 병용요법으로 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 적당한 부가적 항-섬유증제에는 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체), TNF 안타고니스트, TGF- β 안타고니스트, 엔도텔린 수용체 안타고니스트 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 TGF- β 안타고니스트 (예를 들면, 글리벡)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은

어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 엔도텔린 수용체 안타고니스트 (예를 들면, 트라클리어)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체) 및 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체) 및 TGF- β 안타고니스트 (예를 들면, 글리벡)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체) 및 엔도텔린 수용체 안타고니스트 (예를 들면, 트라클리어)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브) 및 TGF- β 안타고니스트 (예를 들면, 글리벡)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브) 및 엔도텔린 수용체 안타고니스트 (예를 들면, 트라클리어)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 TGF- β 안타고니스트 (예를 들면, 글리벡) 및 엔도텔린 수용체 안타고니스트 (예를 들면, 트라클리어)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제

제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체), TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브) 및 TGF- β 안타고니스트 (예를 들면, 글리벡)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체), TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브) 및 엔도텔린 수용체 안타고니스트 (예를 들면, 트라클리어)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브), TGF- β 안타고니스트 (예를 들면, 글리벡) 및 엔도텔린 수용체 안타고니스트 (예를 들면, 트라클리어)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체), TGF- β 안타고니스트 (예를 들면, 글리벡) 및 엔도텔린 수용체 안타고니스트 (예를 들면, 트라클리어)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 조합된 투여량의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체), TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브), TGF- β 안타고니스트 (예를 들면, 글리벡) 및 엔도텔린 수용체 안타고니스트 (예를 들면, 트라클리어)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 섬유증성 장애의 치료에 효과적인 조합된 투여량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트를 이용한 치료를 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 하나 이상의 부가적 항-섬유증제(들)의 공동-투여와 함께 또는 공동-투여 없이, 상기 병용요법의 항-섬유증 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 N-아세틸시스테인 (NAC)을 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것으로 포함하도록 추가적으로 변형될 수 있다.

암

본 발명은 증식성 장애 (예를 들면, 암)의 치료 방법으로서, 일반적으로 치료가 필요한 개인에게 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

상기 방법은 적당한 대조군에 비해 종양의 성장률을 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 50% 이상, 약 75% 이상, 약 85% 이상, 또는 약 90% 이상, 종양의 성장의 완전 저해에 이르기까지 감소시키는 데 효과적이다. 따라서

이 구현예들에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 "유효량"이란, 적당한 대조군에 비해 종양 성장률을 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 50% 이상, 약 75% 이상, 약 85% 이상, 또는 약 90% 이상, 종양의 성장의 완전 저해에 이르기까지 감소시키기에 충분한 양이다. 한 실험 동물 시스템에서는, 적당한 대조군은 유전적으로 동일하나 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트로 처리되지 않은 동물일 수 있다. 비-실험적 시스템에서는, 적당한 대조군은 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 투여하기 전에 존재하는 종양 부하(load)일 수 있다. 기타 적당한 대조군은 위약 대조군일 수 있다.

종양의 성장이 저해되는지의 여부는 실시예에 기재된 증식 분석; ^3H -티미딘 흡수율 분석 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는 임의의 공지 방법을 이용하여 결정될 수 있다.

상기 방법은 암종, 육종, 백혈병 및 림프종을 포함한 광범위한 암을 치료하는 데 유용하다.

대상 방법을 이용하여 치료될 수 있는 암종에는 식도 암종, 간세포 암종, 기저 세포 암종 (피부암의 한 형태), 편평상피 세포 암종 (다양한 조직), 이행세포 암종 (방광의 악성 신생물)을 포함한 방광 암종, 기관지유래 암종, 직장 암종, 직장결장 암종, 위장 암종, 폐의 소세포 암종 및 비-소세포 암종을 포함한 폐 암종, 부신피질 암종, 갑상선 암종, 췌장 암종, 유방 암종, 난소 암종, 전립선 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭선암종, 골수 암종, 신장세포 암종, 관상피내 암종(ductal carcinoma in situ) 또는 담관 암종, 용모막 암종, 정상피종, 배아 암종, 빌름스 종양, 자궁경부 암종, 자궁 암종, 고환 암종, 골원성 암종, 상피 암종, 및 비인두 암종 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

대상 방법을 이용하여 치료될 수 있는 육종에는 섬유육종, 점액육종, 지질육종, 연골육종, 척삭종, 골원성 육종, 골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 윤활막종, 중피종, 유잉 육종, 평활근육종, 횡문근육종 및 기타 연조직 육종이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

대상 방법을 이용하여 치료될 수 있는 기타 고체 종양에는 신경아교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 췌지교종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종, 및 망막모세포종이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

대상 방법을 이용하여 치료될 수 있는 백혈병에는 a) 만성 골수증식 증후군 (다능성 조혈간세포의 신생물성 장애); b) 급성 골수성 백혈병 (다능성 조혈간세포 또는 제한된 직계 잠재성 조혈세포의 신생물성 변환); c) B-세포 CLL, T-세포 CLL 전 림프구성 백혈병, 및 모발상세포 백혈병을 포함한 만성 림프구성 백혈병 (CLL; 면역학적으로 미숙하고 기능적으로 무능한 소림프구의 클론 증식); 및 d) 급성 림프모세포 백혈병 (림프모세포의 축적을 특징으로 함)이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다. 대상 방법을 이용하여 치료될 수 있는 림프종에는 B-세포 림프종 (예를 들면, 버킷 림프종); 호지킨 림프종; 등이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

병용요법

일부 구현예에서는, 본 발명은 암의 치료를 위한 병용요법을 제공한다. 따라서 본 발명은 암의 치료 방법으로서, 일반적으로 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 하나 이상의 제 2 치료제와 함께 병용요법으로 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

다른 구현예에서는, 본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 제 2 치료제의 공동상승적 조합을 투여하는 것을 포함하는 암의 치료 방법을 제공한다. 본원에서 사용된 바와 같은, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체 및 제 2 치료제의 "공동상승적(synergistic) 조합"이란, 암의 치료적 또는 예방적 치료에 있어 (i) 단일요법으로서 동일 투여량으로 투여된 경우의 대상 합성타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 치료적 또는 예방적 이익, 및 (ii) 단일요법으로서 동일 투여량으로 투여된 경우의 제 2 치료제의 치료적 또는 예방적 이익의 단순한 부가적 조합으로부터 예측되거나 예상될 수 있는 치료 결과의 증식성 개선에 비해 더 효과적인 조합된 투여량이다.

일부 구현예에서는, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체가 표준 암 치료법에 대한 항원 보강제 요법으로서 투여된다. 표준 암 치료법에는 외과수술 (예를 들면, 암성 조직의 외과수술적 제거), 방사선 요법, 골수 이식, 화학요법 치료, 생물학적 반응 조절물질 치료, 및 상기의 특정 조합이 포함된다.

방사선 요법에는 빔과 같은 외부적으로 적용되는 공급원으로부터, 또는 소형 방사성 공급원의 이식에 의해 전달되는 x-선 또는 감마선이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

화학요법제는 암 세포의 증식을 감소시키고 세포독성제 및 세포증식 억제제를 포함하는 비-펩티드성 (즉, 비-단백질성) 화합물이다. 화학요법제의 비제한적인 예에는 알킬화제, 니트로소유레아, 항대사물질, 항종양 항생제, 식물 (빈카) 알칼로이드, 및 스테로이드 호르몬이 포함된다.

세포 증식을 감소시키도록 작용하는 작용제는 당해 분야에 공지되어 있으며 널리 사용된다. 이와 같은 작용제에는 알킬화제, 예컨대 질소 머스타드, 니트로소유레아, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트, 및 트리아젠이 포함되며, 메클로레타민, 시클로포스파미드 (사이토산(Cytoxan™)), 멜팔란 (1-사르코라이신), 카무스틴 (BCNU), 로무스틴 (CCNU), 세무스틴 (메틸-CCNU), 스트렙토조신, 클로로조토신, 유라실 머스타드, 클로르메틴, 이포스파미드, 클로람부실, 피포브로만, 트리 에틸렌멜라민, 트리에틸렌티오포스포라민, 부술판, 다카르바진 및 테모졸로미드가 포함되나 이에 한정되지는 않는다.

항대사물질제에는 엽산 유사체, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체, 및 아데노신 데아미나제 저해제가 포함되며, 시타라빈 (사이토사-U), 사이토신 아라비노시드, 플루오로유라실 (5-FU), 플록슈리딘 (FudR), 6-티오구아닌, 6-머캅토피린 (6-MP), 펜토스타틴, 5-플루오로유라실 (5-FU), 메토틱세이트, 10-프로파질-5,8-디데아자폴레이트 (PDDF, CB3717), 5,8-디데아자테트라히드로엽산 (DDATHF), 류코보린, 플루다라빈 포스페이트, 펜토스타틴, 및 겐시타빈이 포함되나 이에 한정되지는 않는다.

적당한 천연 생성물 및 그 유도체 (예를 들면, 빈카 알칼로이드, 항종양 항생제, 효소, 림포카인, 및 에피포도필로톡신)에는 아라-C, 파클리탁셀 (탁솔(Taxol®)), 도세탁셀 (탁소티어(Taxotere®)), 데옥시코포르마이신, 마이토마이신-C, 1-아스파라지나제, 아자티오프린; 브레퀴나르; 알칼로이드, 예를 들면 빈크리스틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈데신 등; 포도필로톡신, 예를 들면 에토포시드, 테니포시드 등; 항생제, 예를 들면 안트라시클린, 도노루비신 염산염 (도노마이신, 루비도마이신, 세루비딘), 이다루비신, 독소루비신, 에피루비신 및 모르폴리노 유도체 등; 폐녹시존 비스시클로헥시드, 예를 들면 닥티노마이신; 염기성 글리코펩티드, 예를 들면 블레오마이신; 안트라퀴논 글리코시드, 예를 들면 플리카마이신 (미트라마이신); 안트라센디온, 예를 들면 마이톡산트론; 아지리노피롤로 인돌리온, 예를 들면 마이토마이신; 거대고리형 면역억제제, 예를 들면 사이클로스포린, FK-506 (타크롤리무스, 프로그래프), 라파마이신 등; 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

기타 항증식성 세포독성제는 나벨벤, CPT-11, 아나스트라졸, 레트라졸, 카페시타빈, 텔록사핀, 시클로포스파미드, 이포사미드 및 드롤록사핀이다.

항증식성 활성을 갖는, 미세관에 영향을 미치는 작용제가 또한 사용하기에 적당하며, 알로콜히친 (NSC 406042), 할리콘드린 B (NSC 609395), 콜히친 (NSC 757), 콜히친 유도체 (예를 들면, NSC 33410), 돌스타틴 10 (NSC 376128), 메이텐신 (NSC 153858), 라이족신 (NSC 332598), 파클리탁셀 (탁솔®), 탁솔® 유도체, 도세탁셀 (탁소티어®), 티오콜히친 (NSC 361792), 트리틸 시스템린, 빈블라스틴 술페이트, 빈크리스틴 술페이트, 에포틸론 A, 에포틸론 B, 디스코더몰리드를 포함하나 이에 한정되지는 않는 천연 및 합성 에포틸론; 에스트라무스틴, 노코다졸 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

사용하기에 적당한 호르몬 조절제 및 스테로이드 (합성 유사체 포함)에는 부신피질코르티코스테로이드, 예를 들면 프레드니손, 텍사메타손 등; 에스트로겐 및 프레스테틴, 예를 들면 히드록시프로게스테론 카프로에이트, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 메제스트롤 아세테이트, 에스트라디올, 클로미펜, 타목시펜 등; 및 부신피질 억제제, 예를 들면 아미노글루테티미드; 17 α -에티닐에스트라디올; 디에틸stil베스트롤, 테스토스테론, 플루옥시메스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 테스토락톤, 메틸프레드니솔론, 메틸-테스토스테론, 프레드니솔론, 트리암시놀론, 클로로트리아니센, 히드록시프로게스테론, 아미노글루테티미드, 에스트라무스틴, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 류프롤리드, 플루타미드 (드로게닐), 토레미펜 (파레스톤), 및 졸라덱스(Zoladex®)가 포함되나, 이에 한정되지는 않는다. 에스트로겐은 증식 및 분화를 자극하므로, 에스트로겐 수용체에 결합하는 화합물이 상기 활성을 차단하는 데 사용된다. 코르티코스테로이드는 T 세포 증식을 저해할 수 있다.

기타 화학요법제에는 금속 착체, 예를 들면 시스플라틴 (시스-DDP), 카보플라틴 등; 요소, 예를 들면 히드록시유레아; 및 히드라진, 예를 들면 N-메틸히드라진; 에피도필로톡신; 토포아이소머라제 저해제; 프로카바진; 미톡산트론; 류코보린; 테가푸르; 등이 포함된다. 관심대상인 기타 항-증식제에는 면역억제제, 예를 들면 미코페놀산, 탈리도미드, 데스옥시스피구알린, 아자스포린, 레플루노미드, 미조리빈, 아자스피란 (SKF 105685); 이레사(Iressa®) (ZD 1839, 4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-메톡시-6-(3-(4-모르폴리닐)프로폭시)퀴나졸린); 등이 포함된다.

“탁산”은 파클리탁셀을 비롯하여 임의의 활성 탁산 유도체 또는 전구약물을 포함한다. “파클리탁셀” (본원에서는 유사체, 제형물, 및 예를 들면 도세탁셀, 탁솔(TAXOL™), 탁소티어(TAXOTERE™) (도세탁셀의 제형물), 파클리탁셀의 10-데스아세틸 유사체 및 파클리탁셀의 3'N-테스벤조일-3'N-t-부톡시카보닐 유사체를 포함하는 것으로 이해되어야 함)은 당업자에게 공지된 기법을 이용하여 용이하게 제조되거나 (WO 94/07882, WO 94/07881, WO 94/07880, WO 94/07876, WO 93/23555, WO 93/10076; 미국특허 제 5,294,637 호; 제 5,283,253 호; 제 5,279,949 호; 제 5,274,137 호; 제 5,202,448 호; 제 5,200,534 호; 제 5,229,529 호; 및 EP 590,267 호 또한 참조), 또는 예를 들면 Sigma Chemical Co., St. Louis, MO를 포함한 다양한 상업적 공급원 (*탁수스 브레비폴리아*(*Taxus brevifolia*)로부터 T7402; 또는 *탁수스 얀나넨시스*(*Taxus yannanensis*)로부터 T-1912)으로부터 취득될 수 있다.

파클리탁셀은 파클리탁셀의 흔히 화학적으로 입수가 가능한 형태뿐만 아니라, 유사체 및 유도체 (예를 들면, 상기 언급한 바와 같이 탁소티어™ 도세탁셀) 및 파클리탁셀 공액체 (예를 들면 파클리탁셀-PEG, 파클리탁셀-텍스트란, 또는 파클리탁셀-자일로스를) 또한 가리키는 것으로 이해되어야 한다.

용어 “탁산”에는 또한 친수성 유도체 및 소수성 유도체를 모두 포함하는 다양한 공지의 유도체가 포함된다. 탁산 유도체에는 국제특허출원 제 WO 99/18113 호에 기재된 갈락토스 및 만노스 유도체; WO 99/14209에 기재된 피페라지노 및 기타 유도체; WO 99/09021, WO 98/22451, 및 미국특허 제 5,869,680 호에 기재된 탁산 유도체; WO 98/28288에 기재된 6-티오 유도체; 미국특허 제 5,821,263 호에 기재된 술펜아미드 유도체; 및 미국특허 제 5,415,869 호에 기재된 탁솔 유도체가 포함되나, 이에 한정되지는 않는다. 추가로, WO 98/58927; WO 98/13059; 및 미국특허 제 5,824,701 호에 기재된 것들을 포함하나 이에 한정되지는 않는 파클리탁셀의 전구약물도 포함된다.

본 발명의 방법과 연계하여 사용하기에 적당한 생물학적 반응조절제에는 (1) 티로신 키나제 (RTK) 활성 저해제; (2) 세린/트레오닌 키나제 활성 저해제; (3) 종양-관련 항원 안타고니스트, 예컨대 종양 항원에 특이적으로 결합하는 항체; (4) 세포자멸사 수용체 아고니스트; (5) 인터류킨-2; (6) IFN- α ; (7) IFN- γ ; (8) 집락-자극 인자; 및 (9) 혈관신생 저해제가 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

한 측면에서는, 본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 조합을, 암 환자가 하나 이상의 부가적 항신생물 약물을 이용한 치료를 받는 임의의 요법에 있어서, 이때 부가적 약물이 티로신 키나제 저해제인 요법에 대한 항원보강제로서 고려한다. 일부 구현예에서는, 상기 티로신 키나제 저해제가 수용체 티로신 키나제 (RTK) 저해제, 예컨대 타입 I 수용체 티로신 키나제 저해제 (예를 들면, 표피성장인자 수용체의 저해제), 타입 II 수용체 티로신 키나제 저해제 (예를 들면, 인슐린 수용체의 저해제), 타입 III 수용체 티로신 키나제 저해제 (예를 들면, 혈소관 유래 성장인자 수용체의 저해제), 및 타입 IV 수용체 티로신 키나제 저해제 (예를 들면, 섬유모세포 성장인자 수용체)이다. 다른 구현예에서는, 상기 티로신 키나제 저해제가 비-수용체 티로신 키나제 저해제, 예컨대 src 키나제 또는 야누스체 키나제의 저해제이다.

또 다른 측면에서는, 본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 조합을, 암 환자가 하나 이상의 부가적 항신생물 약물을 이용한 치료를 받는 임의의 요법에 있어서, 이때 부가적 약물이 성장인자 신호전달 경로(들)에 관련된 수용체 티로신 키나제의 저해제인 요법에 대한 항원보강제로서 고려한다. 일부 구현예에서는, 상기 저해제가 제니스테인이다. 다른 구현예에서는, 상기 저해제가 EGFR 티로신 키나제-특이적 안타고니스트, 예컨대 이레사(IRESSA™) 게피티니브 (ZD1 8398; Novartis), 타세바(TARCEVA™) 에롤로티니브 (OSI-774; Roche; Genentech; OSI Pharmaceuticals), 또는 티르포스틴 AG1478 (4-(3-클로로아닐리노)-6,7-디메톡시퀴나졸린)이다. 또 다른 구현예에서는, 상기 저해제가 미국특허출원 공개 제 2002/0183364 A1 호에 기재된 Flk-1/KDR (VEGF-R2) 티로신 키나제 활성의 인돌리논 안타고니스트, 예컨대 상기 문헌의 4-5면의 표 1에 개시된 Flk-1/KDR (VEGF-R2) 티로신 키나제 활성의 인돌리논 안타고니스트이다. 또 다른 구현예에서는, 상기 저해제가 Sun, L. 등, *J. Med. Chem.* 43(14):2655-2663 (2000)에 개시된 Flk-1/KDR (VEGF-R2), FGF-R1 또는 PDGF-R 티로신 키나제 활성의 치환된 3-[(4,5,6,7-테트라히드로-1H-인돌-2-일)메틸렌]-1,3-디히드로인돌-2-온 안타고니스트 중 임의의 것이다. 부가적 구현예에서는, 상기 저해

제가 Sun, L. 등, J. Med. Chem., 42(25):5120-5130 (1999)에 개시된 Flt-1 (VEGF-R1), Flk-1/KDR (VEGF-R2), FGF-R1 또는 PDGF-R 티로신 키나제 활성의 임의 치환된 3-[(3- 또는 4-카복시에틸피롤-2-일)메틸리데닐]인돌린-2-온 안타고니스트이다.

또 다른 측면에서는, 본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 조합을, 암 환자가 하나 이상의 부가적 항신생물 약물을 이용한 치료를 받는 임의 요법에 있어서, 이때 부가적 약물이 성장인자 신호전달 경로(들)에 관련된 비-수용체 티로신 키나제인 요법에 대한 항원보강제로서 고려한다. 일부 구현예에서는, 상기 저해제가 JAK2 티로신 키나제 활성의 안타고니스트, 예컨대 티르포스틴 AG490 (2-시아노-3-(3,4-디히드록시페닐)-N-(벤질)-2-프로펜아미드)이다. 다른 구현예에서는, 상기 저해제가 bcr-abl 티로신 키나제 활성의 안타고니스트, 예컨대 글리벡™ 이마티니브 메실레이트 (STI-571; Novartis)이다.

또 다른 측면에서는, 본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 조합을, 암 환자가 하나 이상의 부가적 항신생물 약물을 이용한 치료를 받는 임의 요법에 있어서, 이때 부가적 약물이 세포주기 조절에 관련된 하나 이상의 키나제의 저해제인 요법에 대한 항원보강제로서 고려한다. 일부 구현예에서는, 상기 저해제가 CDK2 활성화의 안타고니스트, 예컨대 티르포스틴 AG490 (2-시아노-3-(3,4-디히드록시페닐)-N-(벤질)-2-프로펜아미드)이다. 다른 구현예에서는, 상기 저해제가 CDK1/사이클린 B 활성의 안타고니스트, 예컨대 알스터폴론이다. 또 다른 구현예에서는, 상기 저해제가 CDK2 키나제 활성의 안타고니스트, 예컨대 인디루빈-3'-모노옥심이다. 부가적 구현예에서는, 상기 저해제가 ATP 폴 안타고니스트, 예컨대 로메트렉솔 (미국특허출원 공개 제 2002/0156023 A1 호에 기재)이다.

또 다른 측면에서는, 본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 조합을, 암 환자가 하나 이상의 부가적 항신생물 약물을 이용한 치료를 받는 임의 요법에 있어서, 이때 부가적 약물이 종양-관련 항원 안타고니스트, 예컨대 항체 안타고니스트인 요법에 대한 항원보강제로서 고려한다. HER2-발현 종양의 치료에 관련된 일부 구현예에서는, 상기 종양-관련 항원 안타고니스트가 항-HER2 단일클론 항체, 예컨대 허셉틴(HERCEPTIN™) 트라스투주마브이다. CD20-발현 종양, 예컨대 B-세포 림프종의 치료에 관련된 일부 구현예에서는, 상기 종양-관련 항원 안타고니스트가 항-CD20 단일클론 항체, 예컨대 리툭산(RITUXAN™) 리툭시맵이다.

또 다른 측면에서는, 본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 조합을, 암 환자가 하나 이상의 부가적 항신생물 약물을 이용한 치료를 받는 임의 요법에 있어서, 이때 부가적 약물이 종양성장인자 안타고니스트인 요법에 대한 항원보강제로서 고려한다. 일부 구현예에서는, 상기 종양성장인자 안타고니스트가 표피성장인자 (EGF)의 안타고니스트, 예컨대 항-EGF 단일클론 항체이다. 다른 구현예에서는, 상기 종양성장인자 안타고니스트가 표피성장인자 수용체 erbB1 (EGFR)의 안타고니스트, 예컨대 EGFR 활성화 또는 신호 전달의 항-EGFR 단일클론 항체 저해제, 예를 들면 엘비투스(ERBITUX™) 세특시마브이다.

또 다른 측면에서는, 본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 조합을, 암 환자가 하나 이상의 부가적 항신생물 약물을 이용한 치료를 받는 임의 요법에 있어서, 이때 부가적 약물이 아포-2 리간드 아고니스트인 요법에 대한 항원보강제로서 고려한다. 일부 구현예에서는, 상기 아포-2 리간드 아고니스트가 WO 97/25428에 기재된 아포-2 리간드 폴리펩티드 중 임의의 것이다.

또 다른 측면에서는, 본 발명은 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 조합을, 암 환자가 하나 이상의 부가적 항신생물 약물을 이용한 치료를 받는 임의 요법에 있어서, 이때 부가적 약물이 항-혈관신생제인 요법에 대한 항원보강제로서 고려한다. 일부 구현예에서는, 상기 항-혈관신생제가 혈관내피세포 성장인자 (VEGF) 안타고니스트, 예컨대 항-VEGF 단일클론 항체, 예를 들면 아바스틴(AVASTIN™) 베바시주마브 (Genentech). 다른 구현예에서는, 상기 항-혈관신생제가 VEGF-R1의 안타고니스트, 예컨대 항-VEGF-R1 단일클론 항체이다. 다른 구현예에서는, 상기 항-혈관신생제가 VEGF-R2의 안타고니스트, 예컨대 항-VEGF-R2 단일클론 항체이다. 다른 구현예에서는, 상기 항-혈관신생제가 염기성 섬유모세포 성장인자 (bFGF)의 안타고니스트, 예컨대 항-bFGF 단일클론 항체이다. 다른 구현예에서는, 상기 항-혈관신생자가 bFGF 수용체의 안타고니스트, 예컨대 항-bFGF 수용체 단일클론 항체이다. 다른 구현예에서는, 상기 항-혈관신생제가 TGF-β의 안타고니스트, 예컨대 항-TGF-β 단일클론 항체이다. 다른 구현예에서는, 상기 항-혈관신생제가 TGF-β 수용체의 안타고니스트, 예컨대 항-TGF-β 수용체 단일클론 항체이다. 다른 구현예에서는, 상기

항-혈관신생제가 레티노산 수용체 (RXR) 리간드, 예컨대 미국특허출원 공개 제 2001/0036955 A1 또는 미국특허 제 5,824,685 호; 제 5,780,676 호; 제 5,399,586 호; 제 5,466,861 호; 제 4,810,804 호; 제 5,770,378 호; 제 5,770,383 호; 또는 제 5,770,382 호 중 어느 것에 기재되어 있는 임의의 RXR 리간드이다. 또 다른 구현예에서는, 상기 항-혈관신생제가 퍼옥시좀 증식제-활성화 수용체 (PPAR) 감마 리간드, 예컨대 미국특허출원 공개 제 2001/0036955 A1 호에 기재된 임의의 PPAR 감마 리간드이다.

비제한적인 예로서, 환자의 암 치료를 위해 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용하는 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항암 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 암 치료를 위해 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용하는 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항암 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 암 치료를 위해 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용하는 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항암 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 암 치료를 위해 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 및 유효량의, IFN- γ 이외의 부가적 항암제를 이용하는 병용요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 부가적 항암제 병용요법의 항암 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자의 암 치료를 위해 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 및 유효량의, IFN- γ 또는 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체) 이외의 부가적 항암제를 이용하는 병용요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 부가적 항암제 병용요법의 항암 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하는 것을 포함하도록 변형될 수 있다.

바이러스 감염

본 발명은 바이러스 감염을 앓는 환자에 있어서 바이러스 감염의 치료 방법, 및 바이러스 부하를 감소시키거나, 바이러스 제거에 걸리는 시간을 감소시키거나, 임상 결과에서 이환률(morbidity) 또는 사망률(mortality)을 감소시키는 방법을 제공한다. 본 발명은 개인에 있어서 임상적 후유증이 있는 병리학적 바이러스 감염이 발생할 위험도를 감소시키는 방법을 추가로 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 바이러스 감염의 치료를 위해 치료적 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여하는 것을 포함한다.

일부 구현예에서는, 대상 치료 방법이 예방적이다. 대상 치료 방법이 예방적인 경우에는, 상기 방법은 개인에 있어서 바이러스로 인한 병리학적 감염이 발생할 위험도를 감소시킨다. 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체란, 개인에 있어서 바이러스로 인한 병리학적 감염이 발생할 위험도를 감소시키거나 그러한 확률을 감소시키는 양이다. 예를 들면, 유효량은 개인에 있어서 병리학적 감염이 발생할 위험도를, 대상 작용제를 이용한 치료의 부

재 하에 바이러스로 인한 병리학적 감염이 발생할 위험도에 비해 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 또는 그 이상 감소시킨다.

일부 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체란, 대상 작용제를 이용한 치료의 부재 하의 바이러스 부하에 비해 바이러스 부하를 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 또는 그 이상 감소시키는 양이다.

일부 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체란, 치료의 부재 하에 바이러스 제거에 걸리는 시간에 비해 바이러스 제거에 걸리는 시간을 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 또는 그 이상 감소시키는 양이다.

일부 구현예에서는, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체란, 치료의 부재 하의 이환률 또는 사망률에 비해 바이러스 감염으로 인한 이환률 또는 사망률을 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 또는 그 이상 감소시키는 양이다.

대상 치료 방법이 병리학적 바이러스 감염의 위험도를 감소시키거나, 바이러스 부하를 감소시키거나, 바이러스 제거에 걸리는 시간을 감소시키거나, 또는 바이러스 감염으로 인한 이환률 또는 사망률을 감소시키는 데 유효한지의 여부는 당업자에 의해 용이하게 결정된다. 바이러스 부하는 혈청 중의 바이러스 역가 또는 수준을 측정함으로써 용이하게 측정된다. 혈청 중 바이러스의 개수는, 예를 들면 분석되는 바이러스에 특이적인 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 이용하는 정량적 중합효소 연쇄 반응 분석을 포함하는 임의의 공지된 분석법을 이용하여 결정될 수 있다. 이환률이 감소되는지의 여부는, 고열, 호흡기 증상(예를 들면, 기침, 호흡의 용이함 또는 곤란함 등)을 포함하여 바이러스 감염에 수반되는 임의의 증상을 측정함으로써 결정될 수 있다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 바이러스에 노출된 개인(예를 들면, 바이러스에 감염된 개인과 접촉한 개인)에 있어서 바이러스 부하를 감소시키고/시키거나, 바이러스 제거에 걸리는 시간을 감소시키고/시키거나, 이환률 또는 사망률을 감소시키는 방법으로서, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 이러한 구현예에서는, 요법이 노출 후 약 1 시간 내지 약 14 일, 예를 들면 바이러스에 노출 후 약 1 시간 내지 약 24 시간, 약 24 시간 내지 약 48 시간, 약 48 시간 내지 약 3 일, 약 3 일 내지 약 4 일, 약 4 일 내지 약 7 일, 약 7 일 내지 약 10 일, 또는 약 10 일 내지 약 14 일 후에 시작된다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 바이러스에 노출된 개인에 있어서 임상적 후유증과 함께 병리학적 바이러스 감염이 발생할 위험도를 감소시키는 방법으로서, 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 이러한 구현예에서는, 요법이 노출 후 약 1 시간 내지 약 35 일, 예를 들면 바이러스에 노출 후 약 1 시간 내지 약 24 시간, 약 24 시간 내지 약 48 시간, 약 48 시간 내지 약 3 일, 약 3 일 내지 약 4 일, 약 4 일 내지 약 7 일, 약 7 일 내지 약 10 일, 약 10 일 내지 약 14 일, 약 14 일 내지 약 21 일, 또는 약 21 일 내지 약 35 일 후에 시작된다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 바이러스에 감염되었을 수 있거나 감염되지 않았을 수도 있고, 바이러스에 노출된 개인에 있어서 바이러스 부하를 감소시키고/시키거나, 바이러스 제거에 걸리는 시간을 감소시키고/시키거나, 이환률 또는 사망률을 감소시키는 방법을 제공한다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 방법은 바이러스에 노출된 지 24 시간 이내에 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여하는 것을 포함한다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 바이러스에 감염되지는 않고 바이러스에 노출된 개인에 있어서 바이러스 부하를 감소시키고/시키거나, 바이러스 제거에 걸리는 시간을 감소시키고/시키거나, 이환률 또는 사망률을 감소시키는 방법을 제공한다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 방법은 바이러스에 노출된 지 48 시간 이내에 유효량의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체) 및 타입 I 인터페론 수용체 아고니스트를 투여하는 것을 포함한다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 바이러스에는 감염되지 않았고, 바이러스에 노출된 개인에 있어서 바이러스 부하를 감소시키고/시키거나, 바이러스 제거에 걸리는 시간을 감소시키고/시키거나, 이환률 또는 사망률을 감소시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 바이러스로의 노출 후 48 시간 초과 후, 예를 들면 노출 후 72 시간 내지 약 35 일, 예를 들면 72 시간, 4 일, 5 일, 6 일 또는 7 일 후, 또는 바이러스에 노출 후 약 7 일 내지 약 10 일, 약 10 일 내지 약 14 일, 약 14 일 내지 약 17 일, 약 17 일 내지 약 21 일, 약 21 일 내지 약 25 일, 약 25 일 내지 약 30 일, 또는 약 30 일 내지 약 35 일 후에 대상 작용제를 투여하는 것을 포함한다. 이러한 구현예의 일부에서는, 상기 방법이 바이러스에 노출 후 48 시간 초과 후에 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여하는 것을 포함한다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 바이러스에 노출된 개인에 있어서 임상적 후유증과 함께 병리학적 바이러스 감염이 발생할 위험도를 감소시키는 방법을 제공한다. 이러한 구현예의 일부에서는, 상기 방법이 바이러스에 노출 후 24 시간 이내에 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여하는 것을 포함한다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 바이러스에 노출된 개인 (예를 들면, 바이러스에 감염된 개인과 접촉한 개인)에 있어서 임상적 후유증과 함께 병리학적 바이러스 감염이 발생할 위험도를 감소시키는 방법을 제공한다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 방법이 바이러스에 노출 후 48 시간 이내에 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여하는 것을 포함한다.

간염 바이러스 감염

본 발명은 간염 바이러스 감염의 치료 방법을 제공한다. 특정 구현예에서는, 본 발명은 HCV 감염을 앓는 환자에 있어서 C 형 간염 바이러스 (HCV) 감염의 치료 방법; HCV에 수반된 합병증 및 간의 경화증의 발생률을 감소시키는 방법; 및 바이러스 부하를 감소시키거나 바이러스 제거에 걸리는 시간을 감소시키거나 임상 결과에서의 이환률 또는 사망률을 감소시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 상기 개인에게 유효량의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여하는 것을 포함한다.

다수의 구현예에서는, 대상 치료 방법이 개인에 있어서 바이러스 부하를 감소시키고 바이러스 반응을 지연시키는 데 효과적이다. 경우에 따라, 대상 방법은 상기 개인에게 유효량의 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 리바비린, 레보비린 및 비라미딘을 투여하는 것을 추가로 제공한다. 다수의 구현예 중 특히 관심을 끄는 것은 인간의 치료이다.

대상 방법이 HCV 감염의 치료에 유효한지의 여부는 바이러스 부하를 측정하거나, HCV 감염에 수반되는 파라미터를 측정함으로써 결정될 수 있는데, 상기 파라미터는 간염유증, 혈청 트랜스아미나제 수준의 상승, 및 간의 괴사성 염증 활성을 포함하나, 이에 한정되지는 않는다. 간염유증의 지표는 하기에 상세히 설명한다.

바이러스 부하는 혈청 중 바이러스의 역가 또는 수준을 측정함으로써 측정될 수 있다. 이러한 방법에는 정량적 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 및 분지형 DNA (bDNA) 시험이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다. HCV RNA의 바이러스 부하 (역가)의 측정을 위한 정량적 분석법이 개발되었다. 정량적 역전사 PCR (RT-PCR) (Amplicor HCV Monitor™, Roche Molecular Systems 사, New Jersey); 및 분지형 DNA (데옥시리보핵산) 시그널 증폭 분석 (Quantiplex™ HCV RNA 분석 (bDNA), Chiron Corp., Emeryville, California)를 포함하여, 다수의 그러한 분석법이 상업적으로 입수가능하다. 예를 들면, Gretch 등 (1995) *Ann. Intern. Med.* 123:321-329을 참조한다. 또한 관심대상인 것은 Gen-Probe Inc. (San Diego) 및 Chiron Corporation에 의해 개발되고, 상표명 Procleix® 하에 Ciron Corporation에서 판매하는 핵산 시험 (NAT)으로서, NAT가 HIV-1 및 HCV의 존재를 동시에 시험하는 것이다. 예를 들면, Vargo 등 (2002) *Transfusion* 42:876- 885를 참조한다.

일반적으로, 대상 작용제 (예를 들면, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체)의 유효량이란, 바이러스 부하를 검출 불가능한 수준, 예를 들면 혈청 1 mL 당 약 5000 미만, 약 1000 미만, 약 500 미만, 약 200 미만 개의 계놈 카피로 감소시키는 데 유효한 양이다. 일부 구현예에서는, 대상 작용제의 유효량이란 바이러스 부하를 혈청 1 mL 당 100 개 미만의 계놈 카피로 감소시키는 데 유효한 양이다. 다수의 구현예에서는, 본 발명의 방법이 바이러스 반응을 지연시키며, 예를 들면 바이러스 부하가 치료의 중지 후 약 1 개월 이상의 기간, 약 2 개월 이상, 약 3 개월 이상, 약 4 개월 이상, 약 5 개월 이상, 또는 약 6 개월 이상 동안 검출 불가능한 수준으로 감소된다.

대상 방법이 HCV 감염을 치료하는 데 효과적인지의 여부는 HCV 감염에 수반되는 파라미터, 예컨대 간염유증을 측정함으로써 결정될 수 있다. 간염유증의 정도를 결정하는 방법은 하기에 상세히 설명될 것이다. 일부 구현예에서는, 간염유증의 혈청 마커의 수준이 간염유증의 정도를 나타낸다.

한 비제한적인 예로서, 혈청 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT)의 수준을 표준 분석법을 이용하여 측정한다. 일반적으로, 약 45 국제 단위의 ALT 수준이 정상인 것으로 고려된다. 일부 구현예에서는, 대상 병용요법의 일부로서 투여되는 치료제의 유효량은 ALT 수준을 약 45 U/ml의 혈청 미만으로 감소시키는 데 유효한 양이다.

병용요법

일부 구현예에서는, 본 발명은 바이러스 감염의 치료를 위한 병용요법을 제공한다. 따라서 본 발명은 바이러스 감염의 치료 방법으로서, 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 하나 이상의 제 2 치료제와 함께 병용요법으로서 투여하는 것으로 포함하는 방법을 제공한다. 적당한 부가적 치료제에는 리바비린 및 비라미딘과 같은 뉴클레오시드 유사체, 레보비린과 같은 L-뉴클레오시드, 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 (예를 들면, IFN- γ), TNF 안타고니스트, 티모신- α , SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체), 아만티딘 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다. HCV 감염의 치료를 위한 병용요법과 연계하여, 적당한 부가적 치료제에는 리바비린, 레보비린 및 비라미딘과 같은 뉴클레오시드 유사체, 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트 (예를 들면, IFN- γ), TNF 안타고니스트, NS3 저해제, NS5B 저해제, 알파-글루코시다제 저해제, 티모신- α , SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체), 아만티딘 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염, 예를 들면 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염, 예를 들면 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염, 예를 들면 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염, 예를 들면 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 리바비린을 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염, 예를 들면 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 L-뉴클레오시드 (예를 들면, 레보비린)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염, 예를 들면 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 비라미딘을 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염, 예를 들면 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브 또는 아달리무마브)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염, 예를 들면 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 티모신- α 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 NS3 저해제를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 NS5B를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 알파-글루코시다제 저해제를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염 (예를 들면, HCV 감염)의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염 (예를 들면, HCV 감염)의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리

코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염 (예를 들면, HCV 감염)의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 리바비린을 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염 (예를 들면, HCV 감염)의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 L-뉴클레오시드 (예를 들면, 레보비린)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염 (예를 들면, HCV 감염)의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 비라미딘을 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염 (예를 들면, HCV 감염)의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브 또는 아달리무마브)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염 (예를 들면, HCV 감염)의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 티모신- α 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 NS3 저해제를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 NS5B를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 IFN- γ 및 유효한 양의 알파-글루코시다제 저해제를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염 (예를 들면, HCV 감염)의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체 (예를 들면, 리바비린, 비라미딘, 또는 레보비린과 같은 L-뉴클레오시드) 및 유효한 양의 IFN- γ 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염 (예를 들면, HCV 감염)의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체 (예를 들면, 리바비린, 비라미딘, 또는 레보비린과 같은 L-뉴클레오시드) 및 유효한 양의 티모신- α 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 바이러스 감염 (예를 들면, HCV 감염)의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체 (예를 들면, 리바비린, 비라미딘, 또는 레보비린과 같은 L-뉴클레오시드) 및 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체 (예를 들면, 리바비린, 비라미딘, 또는 레보비린과 같은 L-뉴클레오시드) 및 유효한 양의 NS3 저해제를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체 (예를 들면, 리바비린, 비라미딘, 또는 레보비린과 같은 L-뉴클레오시드) 및 유효한 양의 NS5B 저해제를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체 (예를 들면, 리바비린, 비라미딘, 또는 레보비린과 같은 L-뉴클레오시드) 및 유효한 양의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 NS3 저해제 및 유효한 양의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수

용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 NS5B 저해제 및 유효한 양의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 알파-글루코시다제 저해제 및 유효한 양의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체) 및 유효한 양의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 티모신- α 및 유효한 양의 TNF 안타고니스트 (예를 들면, 에타네르셉트, 인플릭시마브, 또는 아달리무마브)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체 (예를 들면, 리바비린, 비라미딘 또는 레보비린과 같은 L-뉴클레오시드) 및 유효한 양의 티모신- α 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체) 및 유효한 양의 티모신- α 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 NS3 저해제 및 유효한 양의 티모신- α 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 NS5B 저해제 및 유효한 양의 티모신- α 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리

리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 알파-글루코시다제 저해제 및 유효한 양의 티모신- α 를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체 (예를 들면, 리바비린, 비라미딘 또는 레보비린과 같은 L-뉴클레오시드) 및 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 NS3 저해제 및 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 NS5B 저해제 및 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 알파-글루코시다제 저해제 및 유효한 양의 SAPK 저해제 (예를 들면, 피르페니돈 또는 피르페니돈 유사체)를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 뉴클레오시드 유사체 (예를 들면, 리바비린, 비라미딘 또는 레보비린과 같은 L-뉴클레오시드) 및 유효한 양의 알파-글루코시다제 저해제를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 NS5B 저해제 및 유효한 양의 NS3 저해제를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체, 또는 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 알파-글루코시다제 저해제 및 유효한 양의 NS3 저해제를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

비제한적인 예로서, 환자에 있어서 HCV 감염의 치료에 유효한 양의 대상 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 이용한 요법을 특징으로 하는 상술한 치료 방법은 어느 것이나, 상기 환자에게 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 요법의 항-바이러스 효과를 증대시키는 데 유효한 양의 NS5B 저해제 및 유효한 양의 알파-글루코시다제 저해제를 소망하는 치료기간 동안 공동-투여하도록 변형될 수 있다.

환자 식별

특정 구현예에서는, HCV 환자의 치료에 사용되는 약물요법의 특정 투약계획이 환자가 나타내는 특정 질환 파라미터, 예컨대 초기 바이러스 부하, 환자에서의 HCV 감염의 유전자형, 환자에서의 간 조직학 및/또는 간섬유증의 단계에 따라 선택된다.

따라서 일부 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 48 주의 기간 동안 치료 실패 환자를 치료하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 대상 방법이 비-반응자 환자를 치료하도록 변형된 상술한 HCV의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 환자가 48 주 과정의 요법을 받는 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 대상 방법이 재발 환자를 치료하도록 변형된 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 환자가 48 주 과정의 요법을 받는 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 대상 방법이 HCV 유전자형 1에 감염된, 미치료(naive) 환자를 치료하도록 변형된 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 환자가 48 주 과정의 요법을 받는 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 대상 방법이 HCV 유전자형 4에 감염된 미치료 환자를 치료하도록 변형된 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 환자가 48 주 과정의 요법을 받는 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 대상 방법이 HCV 유전자형 1에 감염된 미치료 환자를 치료하도록 변형된 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 환자가 고바이러스 부하 (HVL) 환자인데, 이때 "HVL"은 혈청 1 mL 당 2×10^6 HCV 게놈 카피 초과인 HCV 바이러스 부하를 가리키며, 또한 상기 환자가 48 주 과정의 요법을 받는 방법을 제공한다.

한 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) Knodell 점수 3 또는 4로 측정되는 진전되거나 심각한 간섬유증을 앓는 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 24 주 내지 약 60 주, 또는 약 30 주 내지 약 1 년, 또는 약 36 주 내지 약 50 주, 또는 약 40 주 내지 약 48 주, 또는 약 24 주 이상, 또는 약 30 주 이상, 또는 약 36 주 이상, 또는 약 40 주 이상, 또는 약 48 주 이상, 또는 약 60 주 이상의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) Knodell 점수 3 또는 4로 측정되는 진전되거나 심각한 간섬유증을 앓는 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 40 주 내지 약 50 주, 또는 약 48 주의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 1 감염, 및 환자의 혈청 1 ml 당 2백만 바이러스 게놈 카피 초과인 초기 바이러스 부하를 가진 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 24 주 내지 약 60 주, 또는 약 30 주 내지 약 1 년, 또는 약 36 주 내지 약 50 주, 또는 약 40 주 내지 약 48 주, 또는 약 24 주 이상, 또는 약 30 주 이상, 또는 약 36 주 이상, 또는 약 40 주 이상, 또는 약 48 주 이상, 또는 약 60 주 이상의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 1 감염, 및 환자의 혈청 1 ml 당 2백만 바이러스 게놈 카피 초과인 초기 바이러스 부하를 가진 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 40 주 내지 약 50 주, 또는 약 48 주의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 1 감염, 및 환자의 혈청 1 ml 당 2백만 바이러스 게놈 카피 초과인 초기 바이러스 부하를 가지고, 간섬유증이 없거나 Knodell 점수 0, 1 또는 2로 측정되는 초기 단계 간섬유증을 가진 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약

24 주 내지 약 60 주, 또는 약 30 주 내지 약 1 년, 또는 약 36 주 내지 약 50 주, 또는 약 40 주 내지 약 48 주, 또는 약 24 주 이상, 또는 약 30 주 이상, 또는 약 36 주 이상, 또는 약 40 주 이상, 또는 약 48 주 이상, 또는 약 60 주 이상의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 1 감염, 및 환자의 혈청 1 ml 당 2백만 바이러스 게놈 카피 초과와 초기 바이러스 부하를 가지고, 간염유증이 없거나 Knodell 점수 0, 1 또는 2로 측정되는 초기 단계 간염유증을 가진 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 40 주 내지 약 50 주, 또는 약 48 주의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 1 감염, 및 환자의 혈청 1 ml 당 2백만 바이러스 게놈 카피 이하의 초기 바이러스 부하를 가진 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 20 주 내지 약 50 주, 또는 약 24 주 내지 약 48 주, 또는 약 30 주 내지 약 40 주, 또는 약 20 주 이하, 또는 약 24 주 이하, 또는 약 30 주 이하, 또는 약 36 주 이하, 또는 약 48 주 이하의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 1 감염, 및 환자의 혈청 1 ml 당 2백만 바이러스 게놈 카피 이하의 초기 바이러스 부하를 가진 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 20 주 내지 약 24 주의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 1 감염, 및 환자의 혈청 1 ml 당 2백만 바이러스 게놈 카피 이하의 초기 바이러스 부하를 가진 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 24 주 내지 약 48 주의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 2 또는 3에 감염된 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 24 주 내지 약 60 주, 또는 약 30 주 내지 약 1 년, 또는 약 36 주 내지 약 50 주, 또는 약 40 주 내지 약 48 주, 또는 약 24 주 이상, 또는 약 30 주 이상, 또는 약 36 주 이상, 또는 약 40 주 이상, 또는 약 48 주 이상, 또는 약 60 주 이상의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 2 또는 3에 감염된 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 20 주 내지 약 50 주, 또는 약 24 주 내지 약 48 주, 또는 약 30 주 내지 약 40 주, 또는 약 20 주 이하, 또는 약 24 주 이하, 또는 약 30 주 이하, 또는 약 36 주 이하, 또는 약 48 주 이하의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 2 또는 3에 감염된 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 20 주 내지 약 24 주의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 2 또는 3에 감염된 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 24 주 이상의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 1 또는 4에 감염된 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 24 주 내지 약 60 주, 또는 약 30 주 내지 약 1 년, 또는 약 36 주 내지 약 50 주, 또는 약 40 주 내지 약 48 주, 또는 약 24 주 이상, 또는 약 30 주 이상, 또는 약 36 주 이상, 또는 약 40 주 이상, 또는 약 48 주 이상, 또는 약 60 주 이상의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 5, 6, 7, 8 및 9 중 임의의 것으로 특징지어지는 HCV에 감염된 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 20 주 내지 약 50 주의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명은 상술한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 대상 방법이 (1) HCV 유전자형 5, 6, 7, 8 및 9 중 임의의 것으로 특징지어지는 HCV에 감염된 환자를 식별한 후, (2) 상기 환자에게 대상 방법의 약물 요법을 약 24 주 이상 및 약 48 주 이하의 기간 동안 투여하는 단계를 포함하도록 변형된 방법을 제공한다.

타입 II 인터페론 수용체 아고니스트

본원에서 사용된 바와 같은 용어 “타입 II 인터페론 수용체 아고니스트”는 상기 수용체에 결합하고 상기 수용체를 통해 신호전달을 유발하는, 인간 타입 II 인터페론 수용체의 임의의 천연발생 또는 비-천연발생 리간드를 포함한다. 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트에는 인터페론, 변형된 인터페론, 합성 인터페론, PEG화 인터페론, 인터페론과 이중 단백질을 포함하는 융합 단백질, 개조된(shuffled) 인터페론; 인터페론 수용체에 특이적인 항체; 비-펩티드 화학적 아고니스트 등이 포함된다.

타입 II 인터페론 수용체 아고니스트의 특정 예는 IFN-감마 및 그의 변이체들이다. 본 발명은 IFN-감마 폴리펩티드의 용도를 예시하지만, 임의의 타입 II 인터페론 수용체 아고니스트가 대상 방법에서 사용될 수 있음은 용이하게 명백할 것이다.

SAPK 저해제

대상 치료 방법에서 사용되기에 적당한 SAPK 저해제에는 구체적으로 피르페니돈 및 피르페니돈 유사체가 포함되며; 또한 구체적으로 미국특허 공개 제 20030149041 호에 기재된 바와 같은 화학식 I의 임의 화합물이 포함된다.

본원에서 사용되기에 적당한 부가적 SAPK 저해제에는, SAPK 저해제의 부재 하에 SAPK의 효소 활성에 비해 SAPK의 효소 활성을 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 또는 약 90% 이상, 또는 그 이상 저해하는 작용제가 포함된다.

미토젠-활성화 단백질 키나제 (MAPK)를 사용하는 신호 전달 경로는, 성장, 스트레스 유발성 유전자 발현, 및 환경의 변화에 대한 보상을 포함하는 다양한 세포 반응에서 중요한 역할을 맡는다. MAPK의 SAPK 군은 c-Jun N-말단 키나제 (JNK) 및 p38 키나제를 포함한다. MAPK의 p38 군은 p38 또는 p38 α , p38 β , p38 γ , 및 p38 δ 로 명명된 4 개 이상의 구성원을 포함한다. 다양한 종의 p38 α , p38 β 및 p38 γ 의 아미노산 서열이 알려져 있다. 예를 들면, 인간 p38 α , p38 β 및 p38 γ 의 아미노산 서열은 하기의 젠뱅크 수탁번호 하에 발견된다: 1) Q16539, NP_620583, 및 NP_001306은 인간 p38 α 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공하고; 2) NP_620478, NP_002742, 및 Q15759는 인간 p38 β 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공하고; 3) NP_002960, P53778, 및 JC5252는 인간 p38 γ 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

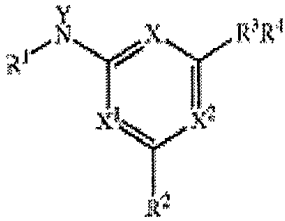
일부 구현예에서는, 적당한 SAPK 저해제란 p38 α , p38 β 및 p38 γ 의 효소 활성을 저해하는 작용제이다. 또 다른 구현예에서는, 적당한 SAPK 저해제란 p38 α 및 p38 β 의 효소 활성을 우선적으로 저해하는 작용제, 즉 p38 γ 의 효소 활성보다 p38 α 및 p38 β 의 효소 활성에 대해 더 강력한 저해제이며, 예를 들면 p38 α 및 p38 β 에 대한 상기 작용제의 IC50가 p38 γ 에 대한 상기 작용제의 IC50 보다 약 2 배 이상 더 낮거나, 약 5 배 더 낮거나, 약 10 배 더 낮거나, 또는 그 이상 더 낮다.

또 다른 구현예에서는, 적당한 SAPK 저해제란 p38 γ 를 우선적으로 저해하는 작용제, 즉 p38 α 및 p38 β 의 효소 활성보다 p38 γ 의 효소 활성에 대해 더 강력한 저해제이며, 예를 들면 p38 γ 에 대한 상기 작용제의 IC50가 p38 α 및 p38 β 에 대한 상기 작용제의 IC50보다 약 2 배 이상 더 낮거나, 약 5 배 더 낮거나, 약 10 배 더 낮거나, 또는 그 이상 더 낮다.

일부 구현예에서는, SAPK 저해제가 SAPK의 경쟁적 저해제, 예를 들면 p38 α , p38 β , 또는 p38 γ 이다. 이러한 구현예의 일부에서는, SAPK 저해제가 p38 α , p38 β , 또는 p38 γ 의 ATP 결합 부위로의 결합을 위해 아데노신 트리포스페이트 (ATP)와 경쟁하는 것이다.

또한, 대상 병용요법에서 사용하기에 적당한 스트레스-활성화 단백질 키나제 (SAPK) 저해제에는, 미국특허 제 6,548,520 호에 개시된 바와 같은 임의의 2-알킬 이미다졸; 미국특허 제 6,489,325 호에 개시된 1,4,5-치환된 이미다졸 화합물 중 임의의 것; 미국특허 제 6,569,871 호에 개시된 1,4,5-치환된 이미다졸 화합물; 미국특허출원 공개 제 2003/0073832 호에 개시된 헤테로아릴 아미노페닐 케톤 화합물; 미국특허 제 6,288,089 호에 개시된 피리딜 이미다졸 화합물; 및 미국특허 제 6,432,962 호에 개시된 헤테로아릴 아미노벤조페논이 포함된다. 또한 사용하기에 적당한 것은 미국특허 제 6,214,854 호에 개시된 화합물이다. 또한 사용하기에 적당한 것은 WO 99/61426 호에 거론된 헤테로고리 화합물이다.

구체적으로 포함되는 피르페니돈 및 피르페니돈 유사체에 대해 하기에 상세히 설명한다. 상기에 기술한 바와 같이, 미국특허 공개 제 20030149041 호의 화학식 I의 화합물이 구체적으로 포함된다. 화학식 I은 하기와 같다:



화학식 I (20030149041)

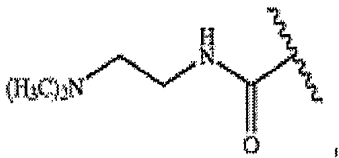
[식 중, R¹은 -H, C₁ 내지 C₂₀ 탄화수소, 아미노카보닐알킬, 알콕시알킬, 치환 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, 헤테로시클릴알킬 및 치환 헤테로시클릴알킬에서 선택되고;

R²는 할로젠, C₁ 내지 C₂₀ 탄화수소, 히드록시, 헤테로아릴, 치환 헤테로아릴, 헤테로시클릴, 치환 헤테로시클릴에서 선택되며;

R⁵는 -H, 알킬 및 치환 알킬에서 선택되고;

R⁶은 직접 결합, 알킬, 아릴, 치환 아릴 및 헤테로아릴에서 선택되며;

R⁷은 -H, 아실, 알킬, 치환 알킬, 알콕시카보닐, 아미딘, 아릴, 아릴알킬, 헤테로시클릴, 헤테로아릴, 치환 헤테로아릴, 치환 아릴옥시, 헤테로아릴술폰아미도, 디알킬술폰아미도,

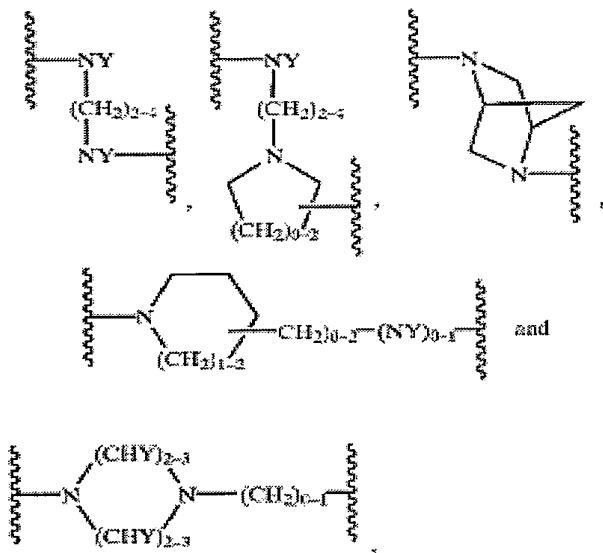


-C(O)NR⁸R⁹, -C(NH)NR⁸R⁹ 및 -NR⁸R⁹에서 선택되고;

R⁸은 -H 및 알킬에서 선택되고;

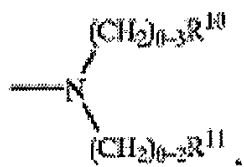
R⁹는 -H, 알킬, 치환 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 알킬카보닐 및 아릴카보닐에서 선택되며;

R³은 직접 결합,

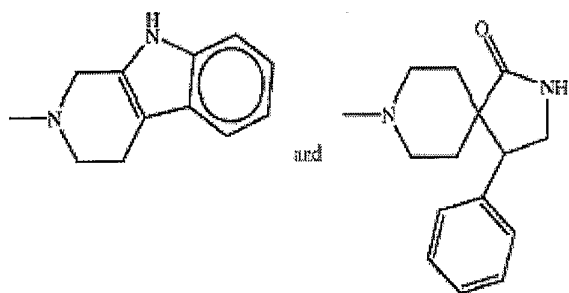


{식 중, 왼쪽 결합은 고리에 대한 부착점이고, 오른쪽 결합은 R⁴에 대한 부착점이다}에서 선택되고;

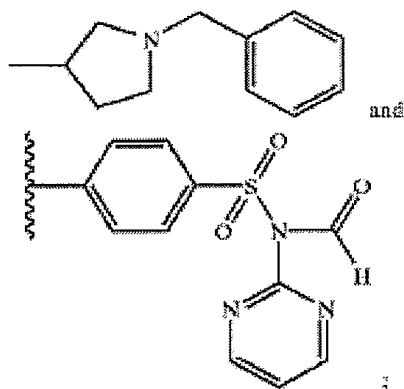
R⁴는 -H, 할로젠, 알킬, 헤테로시클릴, 알킬아미노, 아미노카보닐,



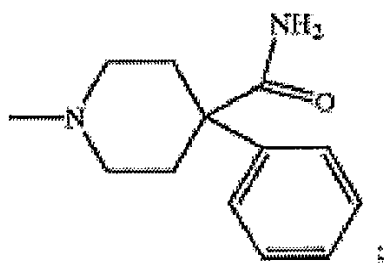
-C(S)NHR¹², -CHR¹³R¹⁴, -C(O)NHR¹⁵, -C(O)(CH₂)₀₋₂R₁₆, -S(O₂)R¹⁷, -OR¹⁸,



{식 중, R¹⁰은 -H, -OH, 알킬, 시클로알킬 및 치환 시클로알킬에서 선택되고; R¹¹은 -H, -OH, -COOH, 아릴, 치환 아릴, 헤테로아릴, 치환 헤테로아릴, 아릴 치환 알킬, 시클로알킬, 치환 시클로알킬, 알콕시, 아미노카보닐, 아미노카보닐알킬,

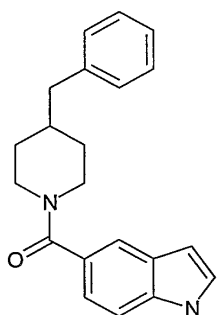


에서 선택되며; R¹²는 알킬 및 아릴에서 선택되고; R¹³은 -H 및 아릴에서 선택되며; R¹⁴는 아릴, 치환 아릴, 헤테로아릴, 치환 알킬, 아릴 치환 알킬 및 알콕시 치환 알킬에서 선택되고; R¹⁵는 알킬, 아릴, 치환 아릴 및 치환 알킬에서 선택되며; R¹⁶은 아릴, 치환 아릴, 헤테로아릴, 카복시, 알콕시, 치환 알킬, 시클로알킬, 치환 시클로알킬, 아미노카보닐, 치환 아미노카보닐, 헤테로시클릴 및



에서 선택되고; R¹⁷은 알킬 및 디알킬아미노에서 선택되며; R¹⁸은 C₁ 내지 C₂₀ 탄화수소, 치환 C₁ 내지 C₂₀ 탄화수소 및 헤테로아릴에서 선택되고; Y는 -H 및 저급 알킬에서 선택되거나, 또는 Y와 R¹은 부착된 N과 함께 헤테로시클릴, 치환 헤테로시클릴, 헤테로아릴 및 치환 헤테로아릴에서 선택될 수 있으며; X, X¹ 및 X² 중 둘 이상은 -N=이고, 나머지는 -C(H)= 및 -N=에서 선택된다}에서 선택된다].

일부 구현예에서 특별히 관심대상인 것은 하기 SAPK 저해제 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 유도체, 또는 에스테르 또는 유사체 중 어느 것의 용도이다:

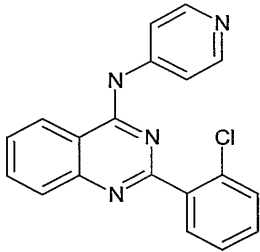


상기 화합물은 IUPAC 명칭이 (4-벤질-피페리딘-1-일)-(1H-인돌-5-일)-메탄온이다. 또한 사용하기에 적당한 것은 하기 화합물 중 임의의 것이다: (4-벤질-피페리딘-1-일)-(6-클로로-1H-인돌-5-일)-메탄온; (4-클로로-1H-인돌-5-일)-[4-(4-플루오로-벤질)-피페리딘-1-일]-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(4-메톡시-1H-인돌-5-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-{1-[3-(시클로헥실메틸)-아미노]-2-히드록시-프로필}-1H-인돌-5-일}-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-{1-[2-히드록시-3-(4-메틸-피페라진-1-일)-프로필]-1H-인돌-5-일}-메탄온; [1-(3-벤질아미노-2-히드록시-프로필)-1H-인돌-5-일]-(4-벤질-피페리딘-1-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-{1-[2-히드록시-3-(4-메톡시-벤질아미노)-프로필]-1H-인돌-5-일}-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-[1-(2-히드록시-3-프로필아

미노-프로필)-1H-인돌-5-일]-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-[1-(피리딘-4-카보닐)-1H-인돌-5-일]-메탄온; 1-[5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-인돌-1-일]-에탄온; 2-[5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-인돌-1-일]-N-(4-메톡시-벤질)-아세트아미드; 5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-카복시산 (2-메톡시-에틸)-아미드; 5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-카복시산 (2-메틸아미노-에틸)-아미드; 5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-카복시산 (2-아미노-에틸)-아미드; [3-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-5-일]-(4-벤질-피페리딘-1-일)-메탄온; [3-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-6-일]-(4-벤질-피페리딘-1-일)-메탄온; 5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-카복시산 4-플루오로-벤질아미드; 5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-카복시산 [2-(3,5-디메톡시-페닐)-에틸]-아미드; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(6-메톡시-1H-인돌-5-일)-메탄온; 1-[5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-일]-2,2,2-트리플루오로-에탄온; 5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-6-메톡시-1H-인돌-3-카복시산 (2-디메틸아미노-에틸)-아미드; 5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-카복시산 5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-카복시산 (2-디메틸아미노-에틸)-아미드; (1H-벤조이미다졸-5-일)-(4-벤질-피페리딘-1-일)-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(4-플루오로-벤질)-피페리딘-1-일]-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(3-모르폴린-4-일메틸-1H-인돌-5-일)-메탄온; 1-[6-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-일]-2,2,2-트리플루오로-에탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-[1-(피리딘-4-카보닐)-1H-인돌-6-일]-메탄온; (3-벤질-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-8-일)-(6-메톡시-1H-인돌-5-일)-메탄온; (3H-벤조이미다졸-5-일)-(3-벤질-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-8-일)-메탄온; [3-(4-플루오로-벤질)-피롤리딘-1-일]-(1H-인돌-6-일)-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(2,6-디플루오로-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(4-메틸술폰닐-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(2,3-디플루오로-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(3,5-디플루오로-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(3-클로로-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; 4-[4-(1H-벤조이미다졸-5-카보닐)-피페라진-1-일메틸]-벤조산 메틸 에스테르 (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(4-메톡시-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(4-트리플루오로메톡시-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(4-메틸-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(2,4-디클로로-벤조일)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(3,4-디클로로-벤조일)-피페라진-1-일]-메탄온; 트랜스-1-[4-(1H-벤조이미다졸-5-카보닐)-피페라진-1-일]-3-(3-트리플루오로메틸-페닐)-프로펜온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(4-클로로-벤조일)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-(4-벤조일-피페라진-1-일)-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(2-트리플루오로메틸-벤조일)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(4-메톡시-벤조일)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(3,4-디클로로-페닐)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-{4-[(4-클로로-페닐)-페닐-메틸]-피페라진-1-일}-메탄온; 트랜스-(1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(3-페닐-알릴)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-{4-[비스-(4-플루오로-페닐)-메틸]-피페라진-1-일}-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(4-클로로-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(2-클로로-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(3,4,5-트리메톡시-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(4-디에틸아미노-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-(4-비페닐-4-일메틸-피페라진-1-일)-메탄온; (1H-벤조이미다졸-5-일)-[4-(4-페녹시-벤질)-피페라진-1-일]-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(6-메톡시-1H-벤조이미다졸-5-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(1-이소프로필-1H-벤조이미다졸-5-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(3-이소프로필-3H-벤조이미다졸-5-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(1-이소프로필-1H-인돌-5-일)-메탄온; [4-(4-클로로-벤질)-피페라진-1-일]-(1-이소프로필-1H-인돌-5-일)-메탄온; (1H-벤조트리아졸-5-일)-(4-벤질-피페리딘-1-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(1-이소프로필-1H-벤조트리아졸-5-일)-메탄온; [4-(4-클로로-벤질)-피페리딘-1-일]-(1H-인돌-5-일)-메탄온; [4-(3-클로로-벤질)-피페리딘-1-일]-(1H-인돌-5-일)-메탄온; [4-(2-클로로-벤질)-피페리딘-1-일]-(1H-인돌-5-일)-메탄온; (4-벤질-2-메틸-피페리딘-1-일)-(1H-인돌-5-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(4-클로로-1H-인돌-5-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-[7-클로로-1-(피리딘-3-카보닐)-1H-인돌-6-일]-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(5-클로로-1H-인돌-6-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(7-클로로-1H-인돌-6-일)-메탄온; 6-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-7-클로로-1-(피리딘-3-카보닐)-1H-인돌-3-카복시산 (2-디메틸아미노-에틸)-아미드; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(1-피리딘-4-일메틸-1H-인돌-5-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-[6-메톡시-1-(피리딘-3-카보닐)-1H-인돌-5-일]-메탄온; [5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-인돌-1-일]-아세트산 메틸 에스테르; 1-[5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-인돌-1-일]-3-이소프로필아미노-프로판-1-온; 1-[5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-인돌-1-일]-3-피페라진-1-일-프로판-1-온; 3-벤질아미노-1-[5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-인돌-1-일]-프로판-1-온; 1-[5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-인돌-1-일]-3-모르폴린-4-일-프로판-1-온; 2-[5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-인돌-1-일]-N-프로필-아세트아미드; (4-벤질-피페리딘-1-일)-[1-(2-디에틸아미노-에틸)-6-메톡시-1H-인돌-5-일]-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-[1-(3-디에틸아미노-프로필)-1H-인돌-5-일]-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-[1-(2-디에틸아미노-에틸)-1H-인돌-5-일]-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-[6-클로로-1-(3-디에틸아미노-프로필)-1H-인돌-5-일]-메탄온; [1-(2-디에틸아미노-에틸)-1H-인돌-5-일]-[4-(4-플루오로-벤질)-피페리딘-1-일]-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-[1-(3-디에틸아미노-프로필)-6-메톡시-1H-인돌-5-일]-메탄온; 5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-카복시산

(2-아미노-에틸)-메틸-아미드; 5-(4-벤질-피페리딘-1-카보닐)-1H-인돌-3-카복시산 [2-(3,4-디메톡시-페닐)-에틸]-아미드; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(3-디에틸아미노메틸-1H-인돌-5-일)-메탄온; [4-(4-플루오로-벤질)-피페리딘-1-일]-(6-메톡시-1H-인돌-5-일)-메탄온; (4-벤질-피페리딘-1-일)-(1-피리딘-4-일-1H-인돌-5-일)-메탄온; 및 4-(4-벤질-피페리딘-1-일)-(4-클로로-2-메틸-1H-인돌-5-일)-메탄온; 또는 상기 화합물 중 어느 것의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 유도체, 또는 에스테르, 또는 유사체.

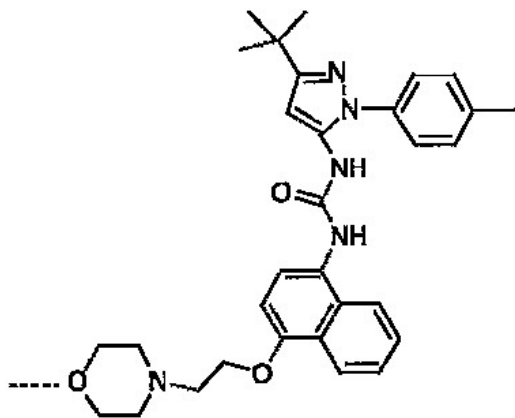
일부 구현예에서 특히 관심대상인 것은 하기 SAPK 저해제 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 유도체, 또는 에스테르, 또는 유사체 중 어느 것의 용도이다:



상기 화합물의 IUPAC 명칭은 [2-(2-클로로-페닐)-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일-아민이다. 또한 사용하기에 적당한 것은 하기 화합물 중 어느 것이다: [2-(2,6-디클로로-페닐)-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일-아민; 피리딘-4-일-(2-오-톨릴-퀴나졸린-4-일)-아민; [2-(2-브로모-페닐)-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일-아민; [2-(2-플루오로-페닐)-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일-아민; [2-(2,6-디플루오로-페닐)-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일-아민; (2-페닐-퀴나졸린-4-일)-피리딘-4-일-아민; [2-(4-플루오로-페닐)-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일-아민; [2-(4-메톡시-페닐)-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일-아민; [2-(3-플루오로-페닐)-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일-아민; 이소프로필-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-피리딘-4-일-아민; (4-메톡시-벤질)-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-피리딘-4-일-아민; (2-페닐-퀴나졸린-4-일)-피리딘-4-일메틸-아민; [2-(4-클로로-페닐)-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일메틸-아민; (2-페닐-퀴나졸린-4-일)-피리딘-3-일-아민; (2-페닐-퀴나졸린-4-일)-피리딘-2-일메틸-아민; (2-페닐-퀴나졸린-4-일)-피리딘-3-일메틸-아민; (2-페닐-퀴나졸린-4-일)-(2-피리딘-2-일-에틸)-아민; (2-페닐-퀴나졸린-4-일)-피리미딘-4-일-아민; (2-페닐-퀴나졸린-4-일)-피리미딘-2-일-아민; 페닐-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-아민; 벤질-[2-(3-클로로-페닐)-퀴나졸린-4-일]-아민; 3-(2-페닐-퀴나졸린-4-일-아미노)-페놀; 2-(2-페닐-퀴나졸린-4-일-아미노)-페놀; 4-(2-페닐-퀴나졸린-4-일-아미노)-페놀; (1H-인돌-4-일)-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-아민; (1H-인돌-5-일)-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-아민; (4-메톡시-페닐)-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-아민; (3-메톡시-페닐)-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-아민; (2-메톡시-페닐)-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-아민; 2-[4-(2-페닐-퀴나졸린-4-일-아미노)-페닐]-에탄올; 3-(2-페닐-퀴나졸린-4-일-아미노)-벤조니트릴; (2,5-디플루오로-벤질)-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-아민; [4-(2-부틸)-페닐]-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-아민; N,N-디메틸-N'-(2-페닐-퀴나졸린-4-일)-벤젠-1,4-디아민; [2-(2-클로로-페닐)-6,7-디메톡시-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일-아민; [2-(2-플루오로-페닐)-6-니트로-퀴나졸린-4-일]-피리딘-4-일-아민; 2-(2-플루오로-페닐)-N4-피리딘-4-일-퀴나졸린-4,6-디아민; 2-(2-플루오로-페닐)-N4-피리딘-4-일-퀴나졸린-4,7-디아민; 2-(2-플루오로-페닐)-N6-(3-메톡시-벤질)-N4-피리딘-4-일-퀴나졸린-4,6-디아민; 2-(2-플루오로-페닐)-N6-(4-메톡시-벤질)-N4-피리딘-4-일-퀴나졸린-4,6-디아민; N6-이소부틸-2-(2-플루오로-페닐)-N4-피리딘-4-일-퀴나졸린-4,6-디아민; 2-(2-플루오로-페닐)-N6-(4-메틸술팜닐-벤질)-N4-피리딘-4-일-퀴나졸린-4,6-디아민; 4-(4-피리딜아미노)-2-(4-클로로페닐)퀴나졸린; 2-페닐-4-(2-피리딜아미노)-퀴나졸린; 및 [2-(2-플루오로-페닐)-피리도 [2,3-d]피리미딘-4-일]-피리딘-4-일-아민; 또는 상기 화합물 중 어느 것의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 유도체, 또는 에스테르, 또는 유사체.

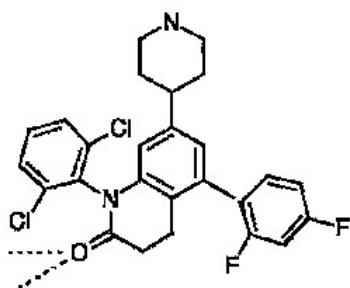
또 다른 적당한 SAPK 저해제는 BIRB796 (1-(5-tert-부틸-2-p-톨릴-2H-피라졸-3-일)-3-[4-(2-모르폴린-4-일-에톡시)-나프탈렌-1-일]-우레아)이며; 미국특허 제 6,319,921 호를 참조한다.

BIRB796은 하기의 구조를 갖는다:



또한 사용하기에 적당한 것은 BIRB796의 약학적으로 활성인 유도체, 유사체, 에스테르 및 염이다.

또 다른 적당한 SAPK 저해제는 하기에 나타난 바와 같은 2(1H)-퀴나졸린온이다:



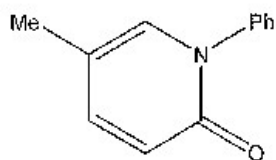
또한 사용하기에 적당한 것은 2(1H)-퀴나졸린온의 약학적으로 활성인 유도체, 유사체, 에스테르, 및 염이다.

부가적으로 사용하기에 적당한 것은 VX-745 (Vertex Pharmaceuticals 및 Kissei Pharmaceutical Co.)이다. VX-745는 p38- α , p38- β 및 p38- γ 를 포함하여 p38의 몇 가지 아이소타입을 저해하는 것으로 보고되었다.

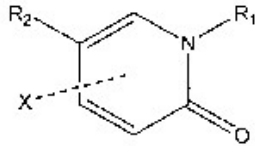
피르페니돈 및 그의 유사체

피르페니돈 (5-메틸-1-페닐-2-(1H)-피리돈) 및 특정 피르페니돈 유사체는 본원에 개시된 HCV 감염에 대한 치료 방법을 증진시키는 데 사용될 수 있다.

피르페니돈

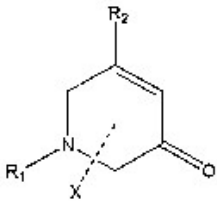


피르페니돈 유사체

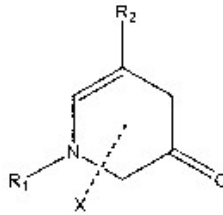


I.

II.A



II.B



치환기 R_1 , R_2 , X에 대한 설명

R_1 : 카보시클릭 (포화 및 불포화), 헤테로시클릭 (포화 또는 불포화), 알킬 (포화 및 불포화). 예로는 페닐, 벤질, 피리미딜, 나프틸, 인돌릴, 피롤릴, 푸릴, 티에닐, 이미다졸릴, 시클로헥실, 피페리딜, 피롤리딜, 모르폴리닐, 시클로헥세닐, 부타디에닐 등이 포함된다.

R_1 은 카보시클릭 또는 헤테로시클릭 부분 상에 할로젠, 니트로, 아미노, 히드록시, 알콕시, 카복시, 시아노, 티오, 알킬, 아릴, 헤테로알킬, 헤테로아릴 및 이들의 조합과 같은 치환기로의 치환을 추가로 포함할 수 있으며, 예를 들면 4-니트로페닐, 3-클로로페닐, 2,5-디니트로페닐, 4-메톡시페닐, 5-메틸-피롤릴, 2,5-디클로로시클로헥실, 구아니디닐-시클로헥세닐 등이다.

R_2 : 알킬, 카보시클릭, 아릴, 헤테로시클릭, 히드록시, 알콕시, 카복시. 예로는: 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 페닐, 4-니트로페닐, 티에닐, 히드록시, 메톡시, 카복시 등이 포함된다.

X: 카보시클릭 또는 헤테로시클릭 고리 상의 임의의 수 (1 내지 3)의 치환기일 수 있다. 치환기는 동일하거나 상이할 수 있다. 치환기에는 수소, 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, 니트로, 카복시, 히드록시, 시아노, 아미노, 티오, 알킬아미노, 할로아릴 등이 포함될 수 있다.

상기 치환기는 경우에 따라 알킬, 아릴, 니트로, 알콕시, 히드록시 및 할로 기로 이루어진 군으로부터의 1 내지 3 개의 치환기로 추가 치환될 수 있다. 예로는: 메틸, 2,3-디메틸, 페닐, p-톨릴, 4-클로로페닐, 4-니트로페닐, 2,5-디클로로페닐, 푸릴, 티에닐 등이 포함된다.

구체적 예에는 표 10에 나타난 것들이 포함된다.

[표 10]

IA	IIB
5-메틸-1-(2'-피리딜)-2-(1H)피리딘	6-메틸-1-페닐-3-(1H)피리돈
6-메틸-1-페닐-2-(1H)피리돈	5-메틸-1-p-톨릴-3-(1H)피리돈
5-메틸-3-페닐-1-(2'-티에닐)-2-(1H)피리돈	5-메틸-1-(2'-나프틸)-3-(1H)피리돈
5-메틸-1-(2'-나프틸)-2-(1H)피리돈	5-메틸-1-페닐-3-(1H)피리돈
5-메틸-1-p-톨릴-2-(1H)피리돈	5-메틸-1-(5'-퀴놀릴)-3-(1H)피리돈
5-메틸-1-(1'-나프틸)-2-(1H)피리돈	5-메틸-1-페닐-3-(1H)피리돈

5-메틸-1-페닐-2-(1H)피리돈	5-메틸-1-(4'-메톡시페닐)-3-(1H)피리돈
5-메틸-1-(5'-퀴놀릴)-2-(1H)피리돈	4-메틸-1-페닐-3-(1H)피리돈
5-메틸-1-(4'-퀴놀릴)-2-(1H)피리돈	5-메틸-1-(3'-피리딜)-3-(1H)피리돈
5-메틸-1-(4'-피리딜)-2-(1H)피리돈	5-메틸-1-(2'-티에닐)-3-(1H)피리돈
3-메틸-1-페닐-2-(1H)피리돈	5-메틸-1-(2'-피리딜)-3-(1H)피리돈
5-메틸-1-(4'-메톡시페닐)-2-(1H)피리돈	5-메틸-1-(2'-퀴놀릴)-3-(1H)피리돈
1-페닐-2-(1H)피리돈	1-페닐-3-(1H)피리딘
1,3-디페닐-2-(1H)피리돈	1-(2'-푸릴)-5-메틸-3-(1H)피리딘
1,3-디페닐-5-메틸-2-(1H)피리돈	1-(4'-클로로페닐)-5-메틸-3-(1H)피리딘
5-메틸-1-(3'-트리플루오로메틸페닐)-2-(1H)-피리돈	
3-메틸-1-페닐-2-(1H)피리돈	
5-메틸-1-(3'-피리딜)-2-(1H)피리돈	
5-메틸-1-(3-니트로페닐)-2-(1H)피리돈	
3-(4'-클로로페닐)-5-메틸-1-페닐-2-(1H)피리돈	
5-메틸-1-(2'-티에닐)-2-(1H)피리돈	
5-메틸-1-(2'-티아졸릴)-2-(1H)피리돈	
3,6-디메틸-1-페닐-2-(1H)피리돈	
1-(4'-클로로페닐)-5-메틸-2-(1H)피리돈	
1-(2'-이미다졸릴)-5-메틸-2-(1H)피리돈	
1-(4'-니트로페닐)-2-(1H)피리돈	
1-(2'-푸릴)-5-메틸-2-(1H)피리돈	
1-페닐-3-(4'-클로로페닐)-2-(1H)피리딘	

미국특허 제 3,974,281 호; 제 3,839,346 호; 제 4,042,699 호; 제 4,052,509 호; 제 5,310,562 호; 제 5,518,729 호; 제 5,716,632 호; 및 제 6,090,822 호에는 본 발명의 방법에서 사용하기에 적당한 약학적 조성물 중 피르페니돈 및 특정 피르페니돈 유사체의 합성 및 제형 방법이 기술되어 있다.

TNF 안타고니스트

본원에서 사용하기에 적당한 TNF- α 안타고니스트에는 TNF- α 합성 수준을 감소시키는 작용제, TNF- α 의 TNF- α 수용체 (TNFR)로의 결합을 차단하거나 저해하는 작용제, 및 TNFR-매개 신호전달을 차단하거나 저해하는 작용제가 포함된다. 달리 언급되지 않는 한, 본원의 모든 "TNF- α 안타고니스트" 또는 "TNF 안타고니스트"란 호칭은 SAPK 저해제 (피르페니돈 및 피르페니돈 유사체 포함) 이외의 TNF- α 안타고니스트를 의미하는 것으로 이해될 것이다.

본원에서 사용된 바와 같은 용어 "TNF 수용체 폴리펩티드" 및 "TNFR 폴리펩티드"는 TNF와 결합할 수 있는 TNFR (임의의 종에서 유래한 것)에서 유래하는 폴리펩티드를 가리킨다. 두 가지 구별되는 세포-표면 TNFR: 타입 II TNFR (또는 p75 TNFR 또는 TNFR II) 및 타입 I TNFR (또는 p55 TNFR 또는 TNFR I)이 기술되었다. 성숙한 전장 인간 p75 TNFR은 분자량이 약 75 내지 80 킬로달톤 (kD)인 당단백질이다. 성숙한 전장 인간 p55 TNFR은 분자량이 약 55 내지 60 kD인 당단백질이다. 예시적인 TNFR 폴리펩티드는 TNFR 타입 I 및/또는 TNFR 타입 II에서 유래한다. 가용성 TNFR에는 p75 TNFR 폴리펩티드; p75 TNFR과 이중 융합 상대, 예를 들면 면역글로불린의 Fc 부분과의 융합물이 포함된다.

TNFR 폴리펩티드는 온전한 TNFR 또는 적당한 TNFR의 단편일 수 있다. 미국특허 제 5,605,690 호는 가용성 TNFR 폴리펩티드를 포함하여, 본 발명에서 사용하기에 적합한 TNFR 폴리펩티드의 예를 제공한다. 다수의 구현예에서는, TNFR 폴리펩티드가 TNFR의 세포외 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서는, TNFR 폴리펩티드가, TNFR의 세포외 도메인이 면역글로불린 분자의 불변 도메인에 연결되어 있는 융합 폴리펩티드이다. 또 다른 구현예에서는, 상기 TNFR 폴리펩티드가, p75 TNFR의 세포외 도메인이 IgG1 분자의 불변 도메인에 연결되어 있는 융합 폴리펩티드이다. 일부 구현예에서는, 인간에의 투여를 고려할 때 융합 단백질에 사용되는 Ig가 인간의 것, 예를 들면 IgG1이다.

TNFR 폴리펩티드의 일가 또는 다가 형태가 본 발명에서 사용될 수 있다. TNFR 폴리펩티드의 다가 형태는 하나 초과 TNF 결합 부위를 보유한다. 일부 구현예에서는, TNFR이 TNFR의 이가, 또는 이량체 형태이다. 예를 들면, 미국특허 제 5,605,690 호 및 Mohler 등, 1993, *J. Immunol.*, 151:1548-1561에 기술된 바와 같이, TNFR 세포외 도메인이 면역글로

불린 중쇄 또는 경쇄 둘 중 하나 또는 둘 다의 가변 도메인을 치환하고 있는 키메라성 항체 폴리펩티드는 본 발명을 위한 TNFR 폴리펩티드를 제공할 것이다. 일반적으로, 그러한 키메라성 TNFR:항체 폴리펩티드가 세포에 의해 생산되는 경우에는, 그것은 면역글로불린 도메인 사이의 이황화물 연결기를 통해 이가 분자를 형성한다. 그러한 키메라성 TNFR:항체 폴리펩티드를 TNFR:Fc라 한다.

한 구현예에서는, 대상 방법이 유효량의 가용성 TNFR 엔브렐(ENBREL®) 에타네르셉트의 투여를 포함한다. 엔브렐®은 인간 75 킬로달톤 (p75) TNFR의 세포외 리간드-결합 부분이 인간 IgG1의 Fc 부분에 연결된 것으로 이루어진 이량체 융합 단백질이다. 엔브렐®의 Fc 성분은 CH2 도메인, CH3 도메인 및 경첩 영역을 함유하나, IgG1의 CH1 도메인은 함유하지 않는다. 엔브렐®은 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 포유류 세포 발현 시스템에서 생산된다. 이는 934 개의 아미노산으로 이루어지고, 겔보기 분자량이 대략 150 킬로달톤이다. Smith 등 (1990) *Science* 248:1019-1023; Mohler 등 (1993) *J. Immunol.* 151:1548-1561; 미국특허 제 5,395,760 호; 및 미국특허 제 5,605,690 호.

또한 사용하기에 적당한 것은 TNF- α 와 결합하는 단일클론 항체이다. 단일클론 항체는 “인간화” 마우스 단일클론 항체; 키메라성 항체; 아미노산 서열의 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 100%가 인간의 것인 단일클론 항체; 등을 포함한다. 예를 들면, WO 90/10077; WO 90/04036; 및 WO 92/02190을 참조한다. 적당한 단일클론 항체에는 항체 단편, 예컨대 Fv, F(ab')₂ 및 Fab; 합성 항체; 인공 항체; 파아지 디스플레이 항체; 등이 포함된다.

적당한 단일클론 항체의 예에는 인플릭시마브 (레미케이드(REMICADE)®, Centocor); 및 아달리무마브 (휴미라 (HUMIRA)™, Abbott)이 포함된다. 레미케이드®는 약 25%의 마우스 아미노산 서열 및 약 75%의 인간 아미노산 서열을 포함하는 키메라성 단일클론 항-TNF- α 항체이다. 레미케이드®는 마우스 단일클론 항-TNF- α 항체의 가변 영역이 인간 IgG1의 불변 영역에 융합되어 있다. Elliott 등 (1993) *Arthritis Rheum.* 36:1681-1690; Elliott 등 (1994) *Lancet* 344:1105-1110; Baert 등 (1999) *Gastroenterology* 116:22-28. 휴미라™는 파아지 디스플레이 기술을 이용하여 동정된 인간의 전장 IgG1 단일클론 항체이다. Piascik (2003) *J Am. Pharm. Assoc.* 43:327-328.

TNF 안타고니스트 활성의 평가 방법은 당해 분야에 공지되어 있으며, 본원에 예시되어 있다. 예를 들면, TNF 안타고니스트 활성은 세포-기반 경쟁적 결합 분석을 이용하여 평가될 수 있다. 그러한 분석법에서는, 방사성 표지된 TNF가 일련의 희석된 TNF 안타고니스트, 및 세포막에 결합된 TNFR을 발현하는 세포와 혼합된다. 현탁액의 일부를 원심분리하여 유리 및 결합 TNF를 분리하고, 유리 및 결합 분획의 방사능량을 구한다. TNF 안타고니스트 활성은 TNF 안타고니스트의 존재 하에 세포에 결합하는 TNF의 저해에 의해 평가된다.

또 다른 예로서, TNF 안타고니스트는, TNF의 세포독성 활성에 영향을 받기 쉬운 세포를 표적 세포로 사용하는 생물학적 분석에서 시험관내 TNF 활성을 중성화시키는 능력에 대해 분석할 수 있다. 상기와 같은 분석법에서는, TNF와 함께 배양된 표적 세포를 다양한 양의 TNF 안타고니스트로 처리하고, 이어서 세포용해에 대해 검사한다. TNF 안타고니스트 활성은 TNF 안타고니스트의 존재 하 TNF-유발 표적 세포 용해의 감소에 의해 평가된다.

TGF- β 안타고니스트

대상 치료 방법에서 사용하기에 적당한 TGF- β 안타고니스트에는 TGF- β 합성 수준을 감소시키는 작용제, TGF- β 의 TGF- β 수용체로의 결합을 차단하거나 저해하는 작용제, 및 TGF- β 수용체-매개 신호전달을 차단하거나 저해하는 작용제가 포함된다. 본원에서 사용된 바와 같은 용어 “TGF- β 안타고니스트”는 TGF- β 합성 수준을 감소시키는 임의 작용제, TGF- β 의 TGF- β 수용체로의 결합을 차단하거나 저해하는 임의 작용제, 및 TGF- β 수용체-매개 신호 전달을 차단하거나 저해하는 임의 작용제를 가리킨다. 달리 언급되지 않는 한, 본원의 모든 “TGF- β 안타고니스트”의 호칭은 SAPK 저해제 (피르페니돈 및 피르페니돈 유사체 포함) 이외의 TGF- β 안타고니스트를 의미하는 것으로 이해될 것이다. 본원에서 사용된 바와 같은 용어 “TGF- β ”는 TGF- β 1, TGF- β 2, 및 TGF- β 3을 포함하여 임의의 TGF- β 서브타입을 포함한다. 적당한 TGF- β 안타고니스트에는 TGF- β 에 특이적인 항체 (특정 TGF- β 서브타입에 특이적인 항체; 및 둘 이상의 TGF- β 서브타입과 교차반응 가능한 항체 포함); TGF- β 수용체에 대한 항체; 가용성 TGF- β 수용체; 테코린; 및 TGF- β 신호전달을 저해하는 작용제가 포함된다.

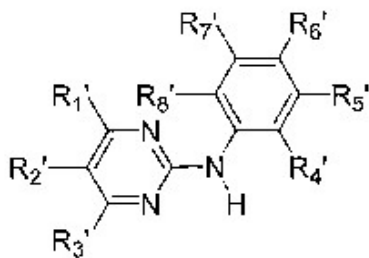
적당한 TGF- β 안타고니스트에는 TGF- β 에 특이적인 항체가 포함된다. TGF- β 에 특이적인 항체는 당해 분야에 공지되어 있다. 예를 들면, 미국특허 제 5,783,185 호, 제 5,772,998 호, 제 5,674,843 호, 제 5,571,714 호, 제 5,462,925 호, 및 제 5,426,098 호; WO 97/13844; 및 미국특허 공개 제 20030064069 호 및 제 20030091566 호를 참조한다. 적당한 항-TGF- β 항체의 비제한적인 예에는 CAT-152 (러텔리부마브; 트라비오(Trabio™); Cambridge Antibody

Technology), 인간 항-TGF- β 2 단일클론 항체; CAT-192 (메텔리무마브; Cambridge Antibody Technology), 인간 항-TGF- β 1 단일클론 항체; 및 TGF- β 1, TGF- β 2 및 TGF- β 3에 대한 범-특이적 인간 단일클론 항체인 GC-1008 (Genzyme Corp.)이 포함된다.

적당한 TGF- β 안타고니스트에는 가용성 TGF- β 수용체가 포함된다. 가용성 TGF- β 수용체는 통상 천연 발생 TGF- β 수용체의 막횡단(transmembrane) 부분의 대부분 또는 전부가 결핍되어, 상기 단백질은 막에 결합되어 있지 않으나, TGF- β 결합을 유지하도록 되어 있다. 가용성 TGF- β 수용체에는, TGF- β 수용체가 이중 (비-TGF- β 수용체) 단백질 (“융합 상대”)에 인-프레임(in-frame)으로 융합되어 있는 가용성 융합 단백질이 포함된다. 융합 상대의 비제한적인 예에는 면역글로불린 Fc, 폴리-히스티딘 등이다. 가용성 TGF- β 수용체는 당해 분야에 기술되어 있다. 예를 들면, Wang 등 (1999) *Thorax* 54:805-812; George 등 (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:12719-12724; Muraoka 등 (2002) *J. Clin. Invest.* 109:1551-1559; 및 Yata 등 (2002) *Hepatology* 35:1022-1030을 참조한다.

TGF- β 안타고니스트에는 글리벡™이 포함된다. 글리벡™ (STI-571, 또는 CGP57148B로도 알려져 있음)은 화학명이 4-[(4-메틸-1-피페라지닐)메틸]-N-[4-메틸-3-[[4-(3-피리디닐)-2-피리미디닐]아미노-페닐]벤즈아미드 메탄술포네이트로서, 흔히 이마티니브 메실레이트로 알려져 있고 상표명 글리벡™으로 판매된다. 글리벡™은 Bcr-Abl 티로신 키나제의 키나제 도메인의 ATP-결합 부위를 표적으로 하는 2-페닐아미노피리미딘이다 (예를 들면, Druker 등 (1996) *Nature Med.* 2, 561; 및 Buchdunger 등 (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:2558-2562).

특정 구현예에서는, 상기 작용제가, 개시내용이 본원에 참고문헌으로서 인용된 미국특허 제 5,521,184 호에 기술되어 있는 피리미딘 유도체이다. 이러한 구현예에서는, 관심대상이 화학식 I의 N-페닐-2-피리미딘-아민 유도체이다:



[식 중

R₉'는 수소 또는 저급 알킬이고;

X는 옥소, 티오, 이미노, N-저급 알킬-이미노, 히드록시이미노 또는 O-저급 알킬 히드록시이미노이고,

Y는 산소 또는 NH 기이고,

k는 0 또는 1 이고,

R₁₀은 탄소수 5 이상의 지방족 라디칼, 또는 방향족, 방향족-지방족, 시클로지방족, 시클로지방족-지방족, 헤테로시클릭 또는 헤테로시클릭-지방족 라디칼이고,

나머지 라디칼 R₄', R₅', R₆', R₇' 및 R₈'은 각각 서로에 대해 독립적으로 수소; 비치환, 또는 유리 또는 알킬화 아미노, 피페라지닐, 피페리디닐, 피롤리디닐 또는 모르폴리닐로 치환된 저급 알킬, 또는 저급 알카노일, 트리플루오로메틸, 유리, 에테르화 또는 에스테르화 히드록시, 유리, 알킬화 또는 아실화 아미노 또는 유리 또는 에스테르화 카복시, 및 하나 이상의 염-형성 기를 갖는 상기와 같은 화합물의 염이다.

이러한 구현예에서는:

1-메틸-1H-피롤릴이 바람직하게는 1-메틸-1H-피롤-2-일 또는 1-메틸-1H-피롤-3-일이다.

각 경우의 아미노기가 유리, 알킬화 또는 아실화된 것인 아미노- 또는 아미노-저급 알킬-치환된 페닐 R_1 은 임의의 소망하는 위치 (오르쏘, 메타 또는 파라)에서 치환된 페닐인데, 이때 알킬화 아미노기는 바람직하게는 모노- 또는 디-저급 알킬 아미노, 예를 들면 디메틸아미노이고, 아미노-저급 알킬의 저급 알킬 부분은 바람직하게는 직쇄 C_1-C_3 알킬, 예컨대 특히 메틸 또는 에틸이다.

5-원 고리의 탄소 원자에 결합된 1H-인돌릴은 1H-인돌-2-일 또는 1H-인돌-3-일이다.

고리 탄소 원자에 결합된 비치환 또는 저급 알킬-치환된 피리딜은 저급 알킬-치환되거나 또는 바람직하게는 비치환인 2- 또는 바람직하게는 3- 또는 4-피리딜, 예를 들면 3-피리딜, 2-메틸-3-피리딜, 4-메틸-3-피리딜 또는 4-피리딜이다. 질소 원자에서 산소로 치환된 피리딜은 피리딘 N-옥사이드에서 유도된 라디칼, 즉 N-옥시도-피리딜, 예를 들면 N-옥시도-4-피리딜이다.

플루오로-치환 저급 알콕시는 하나 이상, 그러나 바람직하게는 몇 개의 플루오로 치환기를 갖는 저급 알콕시, 특히 트리플루오로메톡시 또는 바람직하게는 1,1,2,2-테트라플루오로-에톡시이다.

X가 옥소, 티오, 이미노, N-저급 알킬-이미노, 히드록스이미노 또는 O-저급 알킬-히드록스이미노인 경우에는, C=X 기는 상기 순서로 각각 라디칼 C=O, C=S, C=N-H, C=N-저급 알킬, C=N-OH 또는 CN-O-저급 알킬이다. X는 바람직하게는 옥소이다.

k는 바람직하게는 0이다, 즉 Y 기는 존재하지 않는다.

Y는 존재하는 경우에는 바람직하게는 NH 기이다.

본 맥락의 범위 내에서 용어 “저급”은 7 개 이하, 바람직하게는 4 개 이하의 탄소 원자를 갖는 라디칼을 의미한다.

저급 알킬 R_1 , R_2 , R_3 및 R_9 는 바람직하게는 메틸 또는 에틸이다.

5 개 이상의 탄소 원자를 갖는 지방족 라디칼 R_{10} 은 바람직하게는 22 개 이하의 탄소 원자, 일반적으로 10 개 이하의 탄소 원자를 가지며, 상기과 같이 치환 또는 바람직하게는 비치환인 지방족 탄화수소 라디칼, 즉 상기과 같은 치환 또는 바람직하게는 비치환 알킬닐, 알케닐 또는 바람직하게는 알킬 라디칼, 예컨대 C_5-C_7 알킬, 예를 들면 n-펜틸이다. 방향족 라디칼 R_{10} 은 20 개 이하의 탄소 원자를 가지며 비치환 또는 치환된 것으로서, 예를 들면 각 경우 비치환 또는 치환 나프틸, 예컨대 특히 2-나프틸, 또는 바람직하게는 페닐이며, 치환기는 바람직하게는 시아노, 비치환 또는 히드록시-, 아미노- 또는 4-메틸-피페라지닐-치환된 저급 알킬, 예컨대 특히 메틸, 트리플루오로메틸, 유리, 에테르화 또는 에스테르화 히드록시, 유리, 알킬화 또는 아실화 아미노 및 유리 또는 에스테르화 카복시에서 선택되는 것이다. 방향족-지방족 라디칼 R_{10} 에서, 방향족 부분은 상기 정의된 바와 같고, 지방족 부분은 바람직하게는 저급 알킬, 예컨대 특히 치환 또는 바람직하게는 비치환 C_1-C_2 알킬이며, 예를 들면 벤질이다. 시클로지방족 라디칼 R_{10} 은 특히 30 개 이하, 보다 특별히 20 개 이하, 가장 특별히 10 개 이하의 탄소 원자를 가지며, 단일고리형 또는 다중고리형이고, 치환 또는 바람직하게는 비치환된 것으로서, 예를 들면 상기과 같은 시클로알킬 라디칼, 특히 상기과 같은 5- 또는 6-원 시클로알킬 라디칼, 예컨대 바람직하게는 시클로헥실이다. 시클로지방족-지방족 라디칼 R_{10} 에서는, 시클로지방족 부분은 상기 정의한 바와 같고, 지방족 부분은 바람직하게는 저급 알킬, 예컨대 특히 치환 또는 바람직하게는 비치환 C_1-C_2 알킬이다. 헤테로고리 라디칼 R_{10} 은 특히 20 개 이하의 탄소 원자를 함유하며, 바람직하게는 5 또는 6 개의 고리 구성원 및 바람직하게는 질소, 산소 및 황에서 선택되는 1 내지 3 개의 헤테로원자를 갖는 포화 또는 불포화 단일고리 라디칼이며, 특히 예를 들면 티에닐 또는 2-, 3- 또는 4-피리딜, 또는 하나 또는 두 개의 벤젠 라디칼이 상술한 단일고리 라디칼에 축합고리화 (융합)되어 있는 비- 또는 트리-시클릭 라디칼이다. 헤테로고리-지방족 라디칼 R_{10} 에서는, 헤테로고리 부분은 상기 정의된 바와 같고, 지방족 부분은 바람직하게는 저급 알킬, 예컨대 특히 치환 또는 바람직하게는 비치환 C_1-C_2 알킬이다.

에테르화 히드록시는 바람직하게는 저급 알콕시이다. 에스테르화 히드록시는 바람직하게는 유기 카복시산으로 에스테르화된 히드록시산, 예컨대 저급 알칸산, 또는 미네랄산, 예컨대 할로젠화수소산, 예를 들면 저급 알카노일옥시 또는 특히 할로젠, 예컨대 요오드, 브롬 또는 특히 불소 또는 염소이다.

알킬화 아미노는, 예를 들면 저급 알킬아미노, 예컨대 메틸아미노, 또는 디-저급 알킬아미노, 예컨대 디메틸아미노이다. 아실화 아미노는, 예를 들면 저급 알카노일아미노 또는 벤조일아미노이다.

에스테르화 카복시는, 예를 들면 저급 알콕시카르보닐, 예컨대 메톡시카르보닐이다.

치환 페닐 라디칼은 5 개 이하의 치환기, 예컨대 불소를 가질 수 있으나, 특히 비교적 큰 치환기의 경우에는 일반적으로 단지 1 내지 3 개의 치환기로 치환될 수 있다. 특별히 언급될 수 있는 치환 페닐의 예는 4-클로로-페닐, 펜타플루오로-페닐, 2-카복시-페닐, 2-메톡시-페닐, 4-플루오로페닐, 4-시아노-페닐 및 4-메틸-페닐이다.

화학식 (I)의 화합물에서 염-형성 기는 염기성 또는 산성 특성을 갖는 기 또는 라디칼이다. 하나 이상의 염기성 기 또는 하나 이상의 염기성 라디칼, 예를 들면 유리 아미노기, 피라지닐 라디칼 또는 피리딜 라디칼을 갖는 화합물은 예를 들면 무기산, 예컨대 염산, 황산 또는 인산과 함께, 또는 적당한 유기 카복시산 또는 술폰산, 예를 들면 지방족 모노- 또는 디-카복시산, 예컨대 트리플루오로아세트산, 아세트산, 프로피온산, 글리콜산, 숙신산, 말레산, 푸마르산, 히드록시말레산, 말산, 타르타르산, 시트르산 또는 옥살산, 또는 아르기닌 또는 라이신과 같은 아미노산, 방향족 카복시산, 예컨대 벤조산, 2-페녹시-벤조산, 2-아세톡시벤조산, 살리실산, 4-아미노살리실산, 방향족-지방족 카복시산, 예컨대 만델산 또는 신남산, 헥세로 방향족 카복시산, 예컨대 니코틴산 또는 이소니코틴산, 지방족 술폰산, 예컨대 메탄-, 에탄- 또는 2-히드록시에탄-술폰산, 또는 방향족 술폰산, 예를 들면 벤젠-, p-톨루엔- 또는 나프탈렌-2-술폰산과 함께 산 부가염을 형성할 수 있다. 몇 개의 염기성 기가 존재하는 경우에는, 모노- 또는 폴리-산 부가염이 형성될 수 있다.

라디칼 R_{10} 에 산성 기, 예를 들면 유리 카복시기를 갖는 화학식 (I)의 화합물은 금속 또는 암모늄 염, 예컨대 알칼리 금속 염 또는 알칼리 토금속 염, 예를 들 소듐, 포타슘, 마그네슘 또는 칼슘 염을, 또는 암모니아 또는 적당한 유기 아민, 예컨대 삼차 모노아민, 예를 들면 트리에틸아민 또는 트리-(2-히드록시에틸)-아민, 또는 헥테로시클릭 염기, 예를 들면 N-에틸피페리딘 또는 N,N'-디메틸-피페라진과 함께 암모늄 염을 형성할 수 있다.

산성 및 염기성 기를 둘 다 갖는 화학식 (I)의 화합물은 내부 염을 형성할 수 있다.

이러한 구현예에서 특히 관심대상이 되는 것은, R_1 이 3-피리딜이고, R_2 , R_3 , R_5 , R_6 및 R_8 이 각각 수소이고, R_4 가 메틸이고, R_7 이 화학식 (II)의 기로서, 이때 R_9 가 수소, X가 옥소, k가 0, R_{10} 이 4-[(4-메틸-1-피페라지닐)메틸]페닐인 피리미딘 유도체이다. 화학명이 4-[(4-메틸-1-피페라지닐)메틸]-N-[4-메틸-3-[[4-(3-피리디닐)-2-피리미디닐]아미노-페닐]벤즈아미드 메탄술포네이트인 상기 화합물의 메실레이트 염은 지금은 흔히 이마티니브 메실레이트로 알려져 있으며 상표명 글리벡TM으로 판매된다.

엔도텔린 수용체 안타고니스트

본 발명에 사용하기에 적당한 엔도텔린 안타고니스트에는 엔도텔린 합성 수준을 감소시키는 작용제, 엔도텔린의 엔도텔린 수용체에 대한 결합을 차단하거나 저해하는 작용제, 및 엔도텔린 수용체-매개 신호 전달을 차단하거나 저해하는 작용제가 포함된다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 “엔도텔린 안타고니스트”는 엔도텔린 합성 수준을 감소시키는 임의 작용제, 엔도텔린의 엔도텔린 수용체에 대한 결합을 차단하거나 저해하는 임의 작용제, 및 엔도텔린 수용체-매개 신호 전달을 차단하거나 저해하는 임의 작용제를 가리킨다.

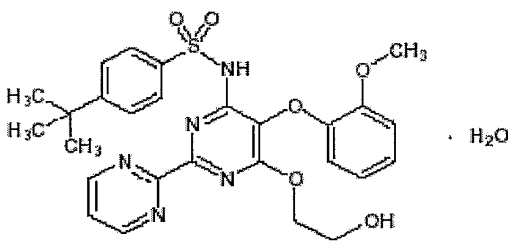
일부 구현예에서는, 엔도텔린 수용체 안타고니스트는 엔도텔린 A (ETA) 수용체에 대해 선택적이다. 일부 구현예에서는, 엔도텔린 수용체 안타고니스트는 엔도텔린 B (ETB) 수용체에 대해 선택적이다. 또 다른 구현예에서는, 엔도텔린 수용체 안타고니스트는 ETA 및 ETB 수용체 모두의 안타고니스트이다.

본 발명에서 유용한 엔도텔린 안타고니스트의 구체적 예에는 아트라센탄 (ABT-627; Abbott Laboratories), 벨레트리 (VeletriTM) (테조센탄; Actelion Pharmaceuticals, Ltd.), 시탁스센탄 (ICOS-Texas Biotechnology), 엔라센탄 (GlaxoSmithKline), 다루센탄 (LUI 35252; Myogen), BMS-207940 (Bristol-Myers Squibb), BMS-193884 (Bristol-Myers Squibb), BMS-182874 (Bristol-Myers Squibb), J-104132 (Banyu Pharmaceutical), VML 588/Ro 61-1790 (Vanguard Medica), T-O115 (Tanabe Seiyaku), TAK-044 (Takeda), BQ-788 (Banyu Pharmaceutical), BQ123, YM-598 (Yamanouchi Pharma), PD 145065 (Parke-Davis), A-127722 (Abbott Laboratories), A-192621 (Abbott Laboratories), A-182086 (Abbott Laboratories), TBC3711 (ICOS-Texas Biotechnology), BSF208075 (Myogen), S-0139 (Shionogi), TBC2576 (Texas Biotechnology), TBC3214 (Texas Biotechnology), PD156707 (Parke-Davis)

, PD180988 (Parke-Davis), ABT-546 (Abbott Laboratories), ABT-627 (Abbott Laboratories), SB247083 (GlaxoSmithKline), SB209670 (GlaxoSmithKline); 및 선행기술, 예를 들면 Davenport 및 Battistini (2002) *Clinical Science* 103:15-35, Wu-Wong 등 (2002) *Clinical Science* 103:1075-1115, 및 Luescher 및 Barton (2000) *Circulation* 102:2434-2440에서 거론된 엔도텔린 수용체 안타고니스트가 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

적당한 엔도텔린 수용체 안타고니스트는 트라클리어™ (보센탄; Actelion Pharmaceuticals, Ltd. 제조)이다. 트라클리어™는 경구적으로 활성인 이중 엔도텔린 수용체 안타고니스트이며, 엔도텔린이 그의 수용체 모두, 엔도텔린 수용체 A 및 엔도텔린 수용체 B에 결합하는 것을 차단한다.

트라클리어™는 키랄 중심이 없는, 고도로 치환된 피리미딘 유도체의 부류에 속한다. 화학적으로는 4-tert-부틸-N-[6-(2-히드록시-에톡시)-5-(2-메톡시-페녹시)-[2,2']-비피리미딘-4-일]-벤젠술폰아미드 일수화물로 명명되며, 하기의 구조식을 갖는다:



일부 구현예에서 트라클리어™ 치료는 62.5 mg 씩의 투여량이 4 주 동안 경구적으로 투여되고, 125 mg 씩의 유지 투여량이 경구적으로 투여된다.

N-아세틸시스테인 (NAC)

N-아세틸시스테인 (NAC)은 황 아미노산 L-시스테인의 안정한 형태이다. NAC는 H_2O_2 및 기타 라디칼을 포획하는 항산화제이다. 이것은 글루타티온 (주요 항산화제)의 전구체이며, 글루타티온 합성을 위해 시스테인 기질을 제공한다. NAC는 처방 없이 판매되는 영양보충제 또는 건강기능식품으로서 상업적으로 입수가 가능하다. 본원에서 사용하기에 적당한 NAC 제품에는 Source Naturals 사 (1000 mg 정제), Biochem 사 (750 mg 정제), Twinlab 사 (600 mg 정제), Nutricology/Allergy Research Group 사 (500 mg 정제) 등에서 제조한 NAC 영양보충제 제품이 포함된다. 상기와 같은 제품은 건강식품 상점 및 영양보충제 소매상, 예컨대 General Nutrition Corporation (GNC)으로부터 최저 가격으로 구매할 수 있다.

티모신-α

티모신-α (자닥신(Zadaxin™); SciClone Pharmaceuticals, Inc., San Mateo, CA에서 입수가 가능)는, 순환계에서 천연으로 발견되고 흉선에서 생성되는 호르몬인 티모신 알파 1의 합성 형태이다. 티모신-α는 T 세포 및 NK 세포의 활성을 증가시킨다. 피하 주사제로 제형된 자닥신™은 인간 티모신 알파 1과 동일한 화학적으로 합성된 티모신 알파 1의 정제된 살균 동결건조 제제이다. 티모신 알파 1은 하기 서열을 갖는 아세틸화 폴리펩티드이며: Ac-Ser-Asp-Ala-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Glu-Ile-Thr-Thr-Lys-Asp-Leu-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn-OH (서열번호: 103), 분자량이 3,108 달톤이다. 동결건조된 제제는 1.6 mg의 합성 티모신-α, 50 mg의 만니톨, 및 pH를 6.8로 조정하는 인산소듐 완충액을 함유한다.

리바비린

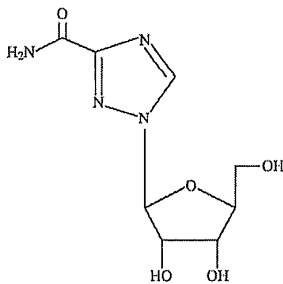
ICN Pharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, Calif. 에서 입수가 가능한 리바비린, 1-β-D-리보푸라노실-1H-1,2,4-트리아졸-3-카복사미드는 머크 인덱스, 제 11 판에서 화합물 번호 8199번으로 기재되어 있다. 이의 제조 및 제형은 미국특허 제 4,211,771 호에 기술되어 있다. 본 발명은 또한 리바비린의 유도체의 용도를 고려한다 (예를 들면, 미국특허 제 6,277,830 호 참조). 리바비린은 캡슐 또는 정제 형태로 경구 투여되거나, IFN-α (PEG화되거나 비-PEG화된 형태)와 동일하거나 상이한 투여 형태 및 동일하거나 상이한 경로로 투여될 수 있다. 물론, 양 약제가 입수가 가능함에 따라 이들의 다른 유형의 투여, 예컨대 비강 스프레이에 의해, 경피적으로, 좌약에 의해, 서방성 투여 형태 등에 의해 투여되는 것도 고려된다. 활성 성분의 파괴없이 적절한 투여량이 전달되는 한, 아무 투여 형태나 가능하다.

리바비린은 일반적으로 1일 약 400 mg 내지 약 1200 mg, 약 600 mg 내지 약 1000 mg, 또는 약 700 mg 내지 약 900 mg 범위의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서는, 리바비린은 PEG화 IFN- α 또는 비-PEG화 IFN- α 요법의 전 과정을 통해 투여된다. 다른 구현예에서는, 리바비린은 단지 첫 번째 기간 동안만 투여된다. 또 다른 구현예에서는, 리바비린은 단지 두 번째 기간 동안만 투여된다.

레보비린

레보비린은 리바비린의 L-거울상 이성질체이며, Th2 면역 반응에 비해 Th1 면역 반응을 증대시키는 특성을 나타낸다. 레보비린은 ICN Pharmaceuticals 사에서 제조된다.

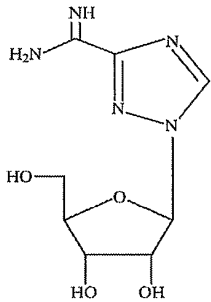
레보비린은 하기 구조를 갖는다:



비라미딘

비라미딘은 리바비린의 3-카복사미딘 유도체이며, 리바비린의 전구약물로서 작용한다. 이것은 아데노신 데아미나제에 의해 효율적으로 리바비린으로 전환된다.

비라미딘은 하기 구조를 갖는다:



뉴클레오시드 유사체

대상 요법에 사용하기에 적당한 뉴클레오시드 유사체에는 리바비린, 레보비린, 비라미딘, 이사토리빈, 미국특허 제 5,559,101 호에 기재되고 미국특허 제 5,559,101 호의 화학식 I에 포함되는 L-리보푸라노실 뉴클레오시드 (예를 들면, 1- β -L-리보푸라노실유라실, 1- β -L-리보푸라노실-5-플루오로유라실, 1- β -L-리보푸라노실사이토신, 9- β -L-리보푸라노실아데닌, 9- β -L-리보푸라노실하이포잔틴, 9- β -L-리보푸라노실구아닌, 9- β -L-리보푸라노실-6-티오구아닌, 2-아미노- α -L-리보푸란[1',2':4,5]옥사졸린, O²,O²-안하이드로-1- α -L-리보푸라노실유라실, 1- α -L-리보푸라노실유라실, 1-(2,3,5-트리-O-벤조일- α -리보푸라노실)-4-티오유라실, 1- α -L-리보푸라노실사이토신, 1- α -L-리보푸라노실-4-티오유라실, 1- α -L-리보푸라노실-5-플루오로유라실, 2-아미노- β -L-아라비노푸라노[1',2':4,5]옥사졸린, O²,O²-안하이드로- β -L-아라비노푸라노실유라실, 2'-데옥시- β -L-유리딘, 3'5'-디-O-벤조일-2'-데옥시-4-티오- β -L-유리딘, 2'-데옥시- β -L-사이티딘, 2'-데옥시- β -L-4-티오유리딘, 2'-데옥시- β -L-티미딘, 2'-데옥시- β -L-5-플루오로유리딘, 2',3'-디데옥시- β -L-유리딘, 2'-데옥시- β -L-5-플루오로유리딘, 및 2'-데옥시- β -L-이노신); 미국특허 제 6,423,695 호에 개시되고 미국특허 제 6,423,695 호의 화학식 I에 포함되는 화합물; 미국특허 공개 제 2002/0058635 호

에 개시되고 미국특허 공개 제 2002/0058635 호의 화학식 1에 포함되는 화합물; WO 01/90121 A2 (Idenix)에 개시된 바와 같은 뉴클레오시드 유사체; WO 02/069903 A2 (Biocryst Pharmaceuticals Inc.)에 개시된 바와 같은 뉴클레오시드 유사체; WO 02/057287 A2 또는 WO 02/057425 A2 (모두 Merck/Isis)에 개시된 바와 같은 뉴클레오시드; 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

NCV NS3 저해제

적당한 HCV 비-구조 단백질-3 (NS3) 저해제에는, 미국특허 제 6,642,204 호, 제 6,534,523 호, 제 6,420,380 호, 제 6,410,531 호, 제 6,329,417 호, 제 6,329,379 호, 및 제 6,323,180 호 (Boehringer-Ingelheim)에 개시된 바와 같은 트리-펩티드; 미국특허 제 6,143,715 호 (Boehringer-Ingelheim)에 개시된 바와 같은 화합물; 미국특허 제 6,608,027 호 (Boehringer-Ingelheim)에 개시된 바와 같은 거대고리 화합물; 미국특허 제 6,617,309 호, 제 6,608,067 호, 및 제 6,265,380 호 (Vertex Pharmaceuticals)에 개시된 바와 같은 NS3 저해제; 미국특허 제 6,624,290 호 (Schering)에 개시된 바와 같은 아자펩티드 화합물; 미국특허 제 5,990,276 호 (Schering)에 개시된 바와 같은 화합물; Pause 등 (2003) *J. Biol. Chem.* 278:20374-20380에 개시된 바와 같은 화합물; NS3 저해제 BILN 2061 (Boehringer-Ingelheim; Lamarre 등 (2002) *Hepatology* 36:301A; 및 Lamarre 등 (10월 26일, 2003) *Nature* doi:10.1038/nature02099); NS3 저해제 VX-950 (Vertex Pharmaceuticals; Kwong 등 (10월 24-28일, 2003) 제 54 회 AASLD 연례 학회); NS3 저해제 SCH6 (Abib 등 (10월 24-28일, 2003) 초록 137. 제 54 회 미국 간질환 연구 협회 (the American Association for the Study of Liver Diseases; AASLD) 연례 학회의 프로그램 및 초록. 10월 24-28일, 2003. Boston, MA); WO 99/07733, WO 99/07734, WO 00/09558, WO 00/09543, WO 00/59929 또는 WO 02/060926에 개시된 바와 같은 임의의 NS3 프로테아제 저해제 (예를 들면, WO 02/060926의 224-226 면의 표에 개시된 화합물 2, 3, 5, 6, 8, 10, 11, 18, 19, 29, 30, 31, 32, 33, 37, 38, 55, 59, 71, 91, 103, 104, 105, 112, 113, 114, 115, 116, 120, 122, 123, 124, 125, 126 및 127); 미국특허 공개 제 2003019067, 20030187018, 및 20030186895 호 중 어느 하나에 개시된 바와 같은 NS3 프로테아제 저해제; 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

다수의 구현예에서 특히 관심대상인 것은 특이적 NS3 저해제인 NS3 저해제, 예를 들면 NS3 세린 프로테아제 활성을 저해하고, 인간 백혈구 엘라스타제, 돼지 췌장 엘라스타제, 또는 소 췌장 카이모트립신과 같은 다른 세린 프로테아제, 또는 인간 간 카텝신 B와 같은 시스테인 프로테아제에 대해서는 별다른 저해 활성을 나타내지 않는 NS3 저해제이다.

다수의 구현예에서 특히 관심대상인 것은 HCV 비-구조 단백질-4 (NS4) 헬리카제 활성을 나타내고, 인간 백혈구 엘라스타제, 돼지 췌장 엘라스타제, 또는 소 췌장 카이모트립신과 같은 다른 세린 프로테아제, 또는 인간 간 카텝신 B와 같은 시스테인 프로테아제에 대해서는 별다른 저해 활성을 나타내지 않는 NS3 저해제이다.

NS5B 저해제

적당한 HCV 비-구조 단백질-5 (NS5; RNA-의존성 RNA 중합효소) 저해제에는, 미국특허 제 6,479,508 호 (Boehringer-Ingelheim)에 개시된 바와 같은 화합물; 국제특허출원 제 PCT/CA02/01127 호, 제 PCT/CA02/01128 호, 및 제 PCT/CA02/01129 호 (모두 Boehringer Ingelheim에 의해 2002년 7월 18일에 출원됨) 중 하나에 개시된 바와 같은 화합물; 미국특허 제 6,440,985 호 (ViroPharma)에 개시된 바와 같은 화합물; WO 01/47883에 개시된 바와 같은 화합물, 예를 들면 JTK-003 (Japan Tobacco); Zhong 등 (2003) *Antimicrob. Agents Chemother.* 47:2674-2681에 개시된 바와 같은 디뉴클레오티드 유사체; Dhanak 등 (2002) *J. Biol Chem.* 277(41):38322-7에 개시된 바와 같은 벤조티아디아진 화합물; WO 02/100846 A1 또는 WO 02/100851 A2 (모두 Shire)에 개시된 바와 같은 NS5B 저해제; WO 01/85172 A1 또는 WO 02/098424 A1 (모두 Glaxo SmithKline)에 개시된 바와 같은 NS5B 저해제; WO 00/06529 또는 WO 02/06246 A1 (모두 Merck)에 개시된 바와 같은 NS5B 저해제; WO 03/000254 (Japan Tobacco)에 개시된 바와 같은 NS5B 저해제; EP 1 256,628 A2 (Agouron)에 개시된 바와 같은 NS5B 저해제; JTK-002 (Japan Tobacco); JTK-109 (Japan Tobacco); 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

다수의 구현예에서 특히 관심대상이 되는 것은 특이적 NS5 저해제인 NS5 저해제, 예를 들면 NS5 RNA-의존성 RNA 중합효소를 억제하고, 다른 RNA 의존성 RNA 중합효소 및 DNA 의존성 RNA 중합효소에 대해서는 별다른 저해 효과가 없는 NS5 저해제이다.

알파-글루코시다제 저해제

알파-글루코시다제 저해제는 타입 2 당뇨병 환자에 있어서, 장관으로부터 탄수화물의 흡수를 감소시켜서, 하루 종일, 특히 식사 후에 혈중 글루코스 상승을 더디게 하는, 타입 2 당뇨병을 위한 경구 약제의 한 부류이다. 대상 병용요법에서 사용하

기에 적당한 알파-글루코시다제 저해제에는 n-(n-노닐)-데옥시갈락토노지리마이신 (n,n-DGJ); N-노닐-데옥시노지리마이신 (N-노닐-DNJ); N-부틸-데옥시노지리마이신 (NB-DNJ); 1-데옥시노지리마이신 (DNM); 과부틸화-N-부틸-1-데옥시노지리마이신 (p-N-부틸-DNJ); 및 6-O-부타노일 카스타노스퍼민; 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

부가적 항바이러스 치료제

대상 병용요법에서 투여될 수 있는 부가적 항바이러스 치료제에는 알파-글루코시다제 저해제; 이노신 모노포스페이트 데히드로게나제 (IMPDH)의 저해제; 바이러스 뉴클레오티드 서열에 상보적인 리보자임; 안티센스 RNA 저해제 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

알파-글루코시다제 저해제

알파-글루코시다제 저해제는 타입 2 당뇨 환자에 있어서, 장관으로부터 탄수화물의 흡수를 감소시켜서, 하루 종일, 특히 식사 후에 혈중 글루코스 상승을 더디게 하는, 타입 2 당뇨병을 위한 경구 약제의 한 부류이다. 대상 병용요법에서 사용하기에 적당한 알파-글루코시다제 저해제에는 n-(n-노닐)-데옥시갈락토노지리마이신 (n,n-DGJ); N-노닐-데옥시노지리마이신 (N-노닐-DNJ); N-부틸-데옥시노지리마이신 (NB-DNJ); 1-데옥시노지리마이신 (DNM); 과부틸화-N-부틸-1-데옥시노지리마이신 (p-N-부틸-DNJ); 및 6-O-부타노일 카스타노스퍼민; 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

IMPDH 저해제

대상 병용요법에서 사용하기에 적당한 IMPDH 저해제에는 VX-497 ((S)-N-3-[3-(3-메톡시-4-옥사졸-5-일-페닐)-유티도]-벤질-카르바미산 테트라히드로푸란-3-일-에스테르); Vertex Pharmaceuticals 사; 예를 들면, Markland 등 (2000) *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:859-866) 참조; 리바비린; 레보비린 (Ribapharm; 예를 들면, Watson (2002) *Curr Opin Investig Drugs* 3(5):680-3 참조); 비라미딘 (Ribapharm); 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

리보자임 및 안티센스

대상 병용요법에 사용하기에 적당한 리보자임 및 안티센스 항바이러스제에는 ISIS 14803 (ISIS Pharmaceuticals/Elan Corporation; 예를 들면, Witherell (2001) *Curr Opin Investig Drugs*. 2(11):1523-9 참조); 헵타자임(Heptazyme™); 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

부작용 관리제

일부 구현예에서는, 대상 요법이 완화제(palliative agent) (예를 들면, 치료제로 인한 환자의 불편함을 감소시키는 작용제), 또는 치료제의 부작용의 기피, 치료 또는 감소를 위한 기타 작용제를 투여하는 것을 포함한다. 그러한 작용제는 “부작용 관리제(side effect management agent)”로도 불린다.

적당한 부작용 관리제에는 통증 관리에 유효한 작용제; 위장관 불편을 완화시키는 작용제; 진통제, 항염증제, 항정신병약, 항신경증약, 항불안제, 및 조혈제가 포함된다. 또한, 본 발명은 대상 요법을 이용한 치료 과정에서 통증 또는 기타 부작용을 앓는 환자의 고식적 의료를 위한 임의 화합물의 용도를 고려한다. 예시적인 완화제에는 아세타미노펜, 이부프로펜 및 기타 NSAID, H2 차단제 및 제산제가 포함된다.

본 발명의 방법에서 통증을 경감시키는 데 사용될 수 있는 진통제에는 비-스테로이드성 항염증 약물 (NSAID)인 아세타미노펜, 살리실레이트, 아세틸-살리실산 (아스피린, 디플루니살), 이부프로펜, 모트린, 나프로신, 날폰 및 트릴리세이트, 인도메타신, 글루카메타신, 아세메타신, 술린탁, 나프록센, 피록시캄, 디클로페낙, 베크사프로펜, 케토프로펜, 옥사프로진, 에토돌락, 케톨락 트로메타민, 케톨락, 나부메톤 등과 같은 비-마약성 진통제, 및 상기의 둘 이상의 혼합물이 포함된다.

기타 적당한 진통제에는 펜타닐, 부프레노르핀, 코데인 술페이트, 모르핀 염산염, 코데인, 히드로모르핀 (디라우디드), 레보르파놀 (레보-드로모란), 메타돈 (돌로핀), 모르핀, 옥시코돈 (페르코단 중), 및 옥시모르폰 (뉴모르판)이 포함된다. 또한 사용하기에 적당한 것은 플루라제팜 (달만), 디아제팜 (발륨)이 포함되나 이에 한정되지는 않는 벤조디아제핀, 및 베르세드 등이다.

항염증제

적당한 항염증제에는 스테로이드성 항염증제, 및 비-스테로이드성 항염증제가 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

적당한 스테로이드성 항염증제에는 히드로코르티손, 히드록실트리암시놀론, 알파-메틸텍사메타손, 텍사메타손-포스페이트, 베클로메타손 디프로피오네이트, 클로베타솔 발레레이트, 데소니드, 데스옥시메타손, 데스옥시코르티코스테론 아세테이트, 텍사메타손, 디클로리손, 디플로라손 디아세테이트, 디플루코르톨론 발레레이트, 플루아드레놀론, 플루클로롤론 아세토니드, 플루드로코르티손, 플루메타손 피발레이트, 플루오시놀론 아세토니드, 플루오시노니드, 플루코르틴 부틸 에스테르, 플루오코르톨론, 플루프레드니텐 (플루프레드닐리텐) 아세테이트, 플루란드레놀론, 할시노니드, 히드로코르티손 아세테이트, 히드로코르티손 부티레이트, 메틸프레드니솔론, 트리암시놀론 아세토니드, 코니손, 코르토독손, 플루세토니드, 플루드로코르티손, 디플루오로손 디아세테이트, 플루라드레놀론 아세토니드, 메드리손, 암시나팔, 암시나피드, 베타메타손 및 그의 에스테르 나머지, 클로로프레드니손, 클로르프레드니손 아세테이트, 클로코르텔론, 클레시놀론, 디클로리손, 디플루프레드네이트, 플루클로로니드, 플루니솔리드, 플루오로메탈론, 플루페롤론, 플루프레드니솔론, 히드로코르티손 발레레이트, 히드로코르티손 시클로펜틸프로피오네이트, 히드로코르타메이트, 메프레드니손, 파라메타손, 프레드니솔론, 프레드니손, 베클로메타손 디프로피오네이트, 트리암시놀론, 및 상기의 둘 이상의 혼합물이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

적당한 비-스테로이드성 항염증제에는 1) 옥시캄, 예컨대 피록시캄, 이속시캄, 테녹시캄, 및 수독시캄; 2) 살리실레이트, 예컨대 아스피린, 디살시드, 베노릴레이트, 트릴리세이트, 사파프린, 솔프린, 디플루니살, 및 펜도살; 3) 아세트산 유도체, 예컨대 디클로페낙, 펜클로페낙, 인도메타신, 숀다, 톨메틴, 이속세팍, 푸로페낙, 티오피낙, 지도메타신, 아세마타신, 펜티아작, 조메피락트, 클리다낙, 옥세피낙, 및 펠비낙; 4) 페나메이트, 예컨대 메페남산, 메클로페남산, 플루페남산, 니플룸산, 및 톨페남산; 5) 프로피온산 유도체, 예컨대 이부프로펜, 나프록센, 베녹사프로펜, 플루르비프로펜, 케토프로펜, 페노프로펜, 펜부펜, 인도프로펜, 피르프로펜, 카르프로펜, 옥사프로진, 프라노프로펜, 미로프로펜, 티옥사프로펜, 수프로펜, 알미노프로펜, 및 티아프로페낙; 및 6) 피라졸, 예컨대 페닐부타존, 옥시펜부타존, 페프라존, 아자프로파존, 및 트리메타존이 포함되나, 이에 한정되지는 않으며, 이들 비-스테로이드성 항염증제의 혼합물을 비롯하여 이들 작용제의 약학적으로 허용가능한 염 및 에스테르 또한 채택될 수 있다.

적당한 항염증제에는 알클로페낙; 알클로메타손 디프로피오네이트; 알제스톤 아세토니드; 알파 아밀라제; 암시나팔; 암시나피드; 암페낙 소듐; 아미프릴로스 염산염; 아나킨라; 아니롤락; 아니트라자펜; 아파존; 발살라지드 이소듐; 벤다작; 베녹사프로펜; 벤지다민 염산염; 브로멜라인; 프로피라몰; 부데소니드; 카르프로펜; 시클로프로펜; 신타존; 클리프로펜; 클로베타솔 프로피오네이트; 클로베타손 부티레이트; 클로피락; 클로티카손 프로피오네이트; 코르메타손 아세테이트; 코르토독손; 데플라자코르트; 데소니드; 데스옥시메타손; 텍사메타손 디프로피오네이트; 디클로페낙 포타슘; 디클로페낙 소듐; 디플로라손 디아세테이트; 디플루미돈 소듐; 디플루니살; 디플루프레드네이트; 디프탈론; 디메틸 숄폭사이드; 드로시노니드; 엔드리손; 엔리모마브; 에놀리캄 소듐; 에피리졸; 에토돌락; 에토페나메이트; 펠비낙; 페나몰; 펜부펜; 펜클로페낙; 펜클로락; 펜도살; 펜피팔론; 펜티아작; 플라잘론; 플루아자코르트; 플루페남산; 플루미줄; 플루니솔리드 아세테이트; 플루닉신; 플루닉신 메글루민; 플루오코르틴 부틸; 플루오로메탈론 아세테이트; 플루쿠아존; 플러비프로펜; 플루레토편; 플루티카손 프로피오네이트; 푸라프로펜; 푸로부펜; 할시노니드; 할로베타솔 프로피오네이트; 할로프레돈 아세테이트; 이부페낙; 이부프로펜; 이부프로펜 알루미늄; 이부프로펜 피코놀; 일로니담; 인도메타신; 인도메타신 소듐; 인도프로펜; 인독솔; 인트라졸; 이소플루프레돈 아세테이트; 이속세팍; 이속시캄; 케토프로펜; 로페미줄 염산염; 로르녹시캄; 로테프레드놀 에타보네이트; 메클로페나메이트 소듐; 메클로페남산; 메클로리손 디부티레이트; 메페남산; 메살라민; 메세클라존; 메틸프레드니솔론 숀타네이트; 모르니플루메이트; 나부메톤; 나프록센; 나프록센 소듐; 나프록솔; 니마존; 올살라진 소듐; 오르코테인; 오르파녹신; 옥사프로진; 옥시펜부타존; 파라닐린 염산염; 펜토산 폴리숀페이트 소듐; 펜부타존 소듐 글리세레이트; 피르페니돈; 피록시캄; 피록시캄 신나메이트; 피록시캄 올라민; 피르프로펜; 프레드나제이트; 프리펠론; 프로돌산; 프로쿠아존; 프록사졸; 프록사졸 시트레이트; 리백솔론; 로마자리트; 살콜렉스; 살나세딘; 살살레이트; 생귀나름 클로라이드; 세클라존; 세르메타신; 수독시캄; 숀다; 수프로펜; 탈메타신; 탈니플루메이트; 탈로살레이트; 테부펠론; 테니담; 테니담 소듐; 네녹시캄; 테시캄; 테시미드; 테트리다민; 티오피낙; 텍소코르톨 피발레이트; 톨메틴; 톨메틴 소듐; 트리클로니드; 트리플루미데이트; 지도메타신; 조메피락 소듐이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

본 발명의 방법에서 정신성 부작용을 경감시키는 데 사용될 수 있는 항정신병 및 항신경증 약물에는 임의의, 그리고 모든 선택성 세로토닌 수용체 저해제 (SSRI) 및 기타 항우울증제, 항불안증제 (예를 들면, 알프라졸람) 등이 포함된다. 항우울증제에는 셀렉사®, 데시렐®, 에פק서®, 루복스®, 팍실®, 프로작®, 졸로프트®, 및 세르존®과 같은 세로토닌 재흡수 저해제; 아다핀®, 아나프리닐®, 엘라빌®, 자니민®, 루디오밀®, 파멜러®, 토프라닐®, 비박틸®, 시네관®, 및 수르몬틸®과 같은 트리스클릭; 엘테프릴®, 마플란®, 나르딜®, 및 파르네이트®과 같은 모노아민 옥시다제 저해제가 포함되나, 이에 한정되

지는 않는다. 항불안증제에는 부스파®와 같은 아자스피론, 아티반®과 같은 벤조디아제핀, 리브륨®, 트란젠®, 센트락스®, 클로노핀®, 파시팜®, 세락스®, 발륨®, 및 자낙스®; 및 인데랄® 및 테노르민®과 같은 베타-차단제가 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

메스꺼움, 설사, 위장관 경련 등과 같은 위장관 불편을 감소시키는 작용제는 대상 병용요법에 사용하기에 적당한 완화제이다. 적당한 작용제에는 항구토제, 항설사제, H2 차단제, 제산제 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

대상 요법에서 완화제로서 사용하기에 적당한 H2 차단제 (히스타민 타입 2 수용체 안타고니스트)에는 시메티딘 (예를 들면, 타가메트, 펩툴, 뉴-시메트, 아포-시메티딘, 비-시메티딘); 라니티딘 (예를 들면, 잔탁, 뉴-라니트, 노보-란딘, 및 아포-라니티딘); 및 파모티딘 (펙시드, 아포-파모티딘, 및 노보-파모티딘)이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

적당한 제산제에는 알루미늄 및 마그네슘 수산화물 (마알록스®, 마일란타®); 탄산알루미늄 젤 (바사젤®); 수산화알루미늄 (암포젤®, 알터나젤®); 탄산칼슘 (팁스®, 티트랄락®); 수산화마그네슘; 및 중탄산소듐이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

항구토제에는 5-히드록시트립토판-3 (5HT3) 저해제; 텍사메타손 및 메틸프레드니솔론과 같은 코르티코스테로이드; 마리놀® (드로나비놀); 프로클로르페라진; 벤조디아제핀; 프로메타진; 및 메토클로프라미드 시사프리드; 알로세트론 염산염; 바타노프리트 염산염; 베메세트론; 벤즈퀴나미드 클로르프로마진; 클로르프로마진 염산염; 클레보프리트; 시클리진 염산염; 디멘히드리네이트; 디페니돌; 디페니돌 염산염; 디페니돌 파모에이트; 돌라세트론 메실레이트; 돔페리돈; 드로나비놀; 플루도렉스; 플루메리돈; 갈단세트론 염산염; 그라니세트론; 그라니세트론 염산염; 루로세트론 메실레이트; 메클리진 염산염; 메토클로프라미드 염산염; 메토프마진; 온단세트론 염산염; 판코프리트; 프로클로르페라진; 프로클로르페라진 에디실레이트; 프로클로르페라진 말레에이트; 프로메타진 염산염; 티에틸페라진; 티에틸페라진 말레에이트; 티에틸페라진 말레에이트; 트리메토크벤즈아미드 염산염; 자코프리트 염산염이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

항설사제에는 톨가미딘, 디페녹실레이트 염산염 (로모틸), 메트로니다졸 (플라질), 메틸프레드니솔론 (메드롤), 술과살라진 (아줄피딘) 등이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다.

본 발명의 방법에서 저하된 혈액 세포 개체수를 방지하거나 회복시키는 데 사용될 수 있는 적당한 조혈제에는 에리트로포이에틴, 예컨대 에포젠(EPOGEN™) 에포에틴-알파, 과립구 집락 자극 인자 (G-CSF), 예컨대 뉴포젠(NEUPOGEN™) 필그라스티프, 과립구-매크로파지 집락 자극 인자 (GM-CSF), 트롬보포이에틴 등이 포함된다.

치료 방법

본 발명은 환자의 질환, 장애 또는 상태의 치료 방법을 제공한다. 한 측면으로는, 대상 치료 방법은 알려진 부모 치료 단백질의 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학적 제형물을 이용하는 데, 상기 알려진 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는 부모 치료 단백질에 존재하는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이 프로테아제 절단 부위를 포함하며; i) 부모 치료 단백질에는 존재하지 않는 하나 이상의 비-천연 글리코실화 부위에 공유 부착된 탄수화물 부분; 또는 ii) 부모 치료 단백질에 존재하지만 글리코실화되지는 않은 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에 공유 부착된 탄수화물 부분을 포함한다. 상기 경구 약학적 조성물은 환자에게, 환자가 제 1 투여 간격으로 제 1 물수의 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 투여받는 양으로 경구 투여된다. 상기 알려진 초글리코실화, 프로테아제-저항성 변이체의 제 1 물수는 비경구 약학적 조성물 중 부모 치료 단백질의 제 2 물수를 초과한다. 비경구 약학적 조성물은 피하 볼루스 주사에 적당한 속방성 제형물이며, 부모 폴리펩티드는 비경구 약학적 조성물을, 상기 환자가 제 2 투여 간격으로 제 2 물수의 부모 치료 단백질을 투여받는 양으로 피하 볼루스 주사에 의해 투여될 때 상기 환자의 질환, 장애 또는 상태의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 환자의 질환을 치료하는 대상 방법에서는, 상기 방법은 환자에게 경구 약학적 조성물을, 상기 환자가 제 2 투여 간격 이하인 제 1 투여 간격으로 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 제 1 물수를 투여받는 양으로 경구 투여하는 것을 포함한다.

따라서 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는, 소망하는 치료기간 동안 제 1 투여 간격으로 제 1 물수의 투여량으로 환자에게 경구 투여될 때 환자의 질환, 장애 또는 상태의 치료에 효과적이다.

또 다른 측면으로는, 본 발명은 상술한 환자의 질환, 장애 또는 상태의 치료 방법의 변형으로서, 상기 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학적 조성물이 상기 환자에게 제 1 투여 빈도로 제 1 투여량으로 경구 투여되며, 비경구 약학적 조성물은 제 2 투여 빈도로 제 2 투여량의 부모 치료 단백질의 피하 볼루스 주사에 의해 상기 환자에게 투여될 때 환자의 질환의 치료에 효과적임이 입증되었고, 제 1 및 제 2 투여량을 동일한 환자 체중에 대

해 계산했을 때, 환자의 체중 1 kg 당 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량(몰량)이 환자의 체중 1 kg 당 부모 치료 단백질의 제 2 투여량(몰량)을 초과하며, 제 1 투여량의 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 상기 환자에게 경구 투여할 때에, 제 1 투여량 중 모든 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체가 제 2 투여 빈도의 투여량 간의 기간 이하의 기간 동안에 방출되는 변형예를 제공한다. 일부 구현예에서는, 상기 비경구 약학적 조성물이, 제 2 투여 간격으로 부모 치료 단백질의 중량-기준 투여량으로 상기 환자에게 투여되었을 때 환자의 질환, 장애 또는 상태의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 즉, 제 2 투여량은 중량-기준 투여량이며, 상기 비경구 약학적 조성물은 중량-기준 투여를 허용하는 형태이다. 상기 구현예 중 일부에서는, 제 1 투여량은 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 중량-기준 투여량이고, 상기 경구 약학적 조성물은 중량-기준 투여를 허용하는 형태이다.

또 다른 측면으로는, 본 발명은 상술한 환자의 질환, 장애 또는 상태의 치료 방법의 변형예로서, 상기 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 포함하는 경구 약학적 조성물이 상기 환자에게 제 1 투여 빈도로 제 1 투여량으로 경구 투여되며, 비경구 약학적 조성물은 제 2 투여 빈도로 제 2 투여량의 부모 치료 단백질의 피하 볼루스 주사에 의해 상기 환자에게 투여될 때 환자의 질환, 장애 또는 상태의 치료에 효과적임이 입증되었고, 제 1 및 제 2 투여량을 동일한 환자 체중에 대해 계산했을 때, 환자의 체중 1 kg 당 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 제 1 투여량(몰량)이 환자의 체중 1 kg 당 부모 치료 단백질의 제 2 투여량(몰량)을 초과하며, 제 1 투여 빈도의 투여량 간의 기간이 제 2 투여 빈도의 투여량 간의 기간 이하인 변형예를 제공한다. 일부 구현예에서는, 상기 비경구 약학적 조성물이, 제 2 투여 간격으로 부모 치료 단백질의 중량-기준 투여량으로 상기 환자에게 투여되었을 때 환자의 질환, 장애 또는 상태의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 즉, 제 2 투여량은 중량-기준 투여량이며, 상기 비경구 약학적 조성물은 중량-기준 투여를 허용하는 형태이다. 상기 구현예 중 일부에서는, 제 1 투여량은 중량-기준 투여량이고, 상기 경구 약학적 조성물은 중량-기준 투여를 허용하는 형태이다.

초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체의 선택은 부분적으로는 치료되는 질환, 장애 또는 상태에 의존할 것이다. 상기 언급한 바와 같이, 바람직한 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체는 부모 치료 단백질로 치료 가능한 질환, 장애 또는 상태를 치료하는 데 효과적이다. 하기는 비제한적인 예이다.

IFN-α를 이용한 치료 방법

한 측면으로는, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체가 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-α인 경우, 대상 방법은 바이러스 감염, 예를 들면 C형 간염 바이러스(HCV) 감염의 치료 방법에 있어서 치료가 필요한 개인에게 치료적 유효량의 상기 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 IFN-α를 투여하는 것을 제공한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 일반적으로 치료가 필요한 개인에게 부모 IFN-α2의 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를, 치료가 필요한 개인에게 부모 IFN-α2의 비경구 제형물을 제 2 투여 빈도로 제 2 투여량으로 투여하는 것을 포함하는 HCV 감염의 치료를 위한 투약계획에 유효한 것으로 입증된 제 2 투여 빈도에 비해 적어도 동일하거나 더 잦은 제 1 투여 빈도로 제 1 투여량으로 경구 투여하는 것을 포함하며, 이때 제 1 투여량은, 제 2 투여량 중 부모 IFN-α2의 제 2 몰수 초과인 제 1 몰수의 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체를 포함한다.

한 비제한적인 예에서, 부모 IFN-α2는, 치료가 필요한 환자에게 3백만 유닛(또는 15 마이크로그램)의 IFN-α2를 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1주 3회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 부모 IFN-α2의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [D99N]IFN-α2a, [D99N,D105N]IFN-α2a, [D99N]IFN-α2b, 및 [D99N,D105N]IFN-α2b 글리코펩티드 변이체(여기서 아미노산 번호매김은 도 24에 나타난 바와 같다)의 군에서 선택될 수 있는데; 이때 상기 변이체가 부모 IFN-α2에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 아미노산 위치: 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159(이때 아미노산 번호매김은 도 2에 나타난 바와 같다) 중 임의의 것, 또는 표 1에 도시된 돌연변이체 중 임의의 것에 해당하는 하나 이상의 표적 위치에서의 하나 이상의 단일 아미노산 치환을 추가로 포함한다. 상기 변이체는 상기 환자에게, 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 상기 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수는 부모 IFN-α2의 3백만 유닛(또는 15 마이크로그램) 중 부모 IFN-α2의 몰수를 초과하고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 IFN-α2의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 이용하는 상기 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, 상기 표 9에 기재된 담체 펩티드 중 임의의 것이 소망하는 폴리펩티드 변이체와 공유 또는 비-공유 회합되어 있는 것인 방법을 제공한다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 알려진 프로테아제 저항성

또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 소망하는 폴리펩티드 변이체의 N-말단에 융합된 상기와 같은 담체 펩티드를 비제한적으로 포함하여, 상기와 같은 담체 펩티드가 상기 소망하는 폴리펩티드 변이체와 직접 또는 간접 공유 연결되어 있는 것이다.

또 다른 비제한적인 예에서는, 부모 IFN- α 2는, 치료가 필요한 환자에게 15 마이크로그램 (또는 8.0×10^{-10} 몰)의 IFN- α 2를 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1주 3회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적임이 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 부모 IFN- α 2의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면, [D99N]IFN- α 2a, [D99N,D105N]IFN- α 2a, [D99N]IFN- α 2b, 및 [D99N,D105N]IFN- α 2b 글리코펩티드 변이체 (여기서 아미노산 번호매김은 도 24에 나타난 바와 같다)의 군에서 선택될 수 있는데, 이때 상기 변이체가 부모 IFN- α 2에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 상기 변이체는 아미노산 위치: 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159 (여기서 아미노산 번호매김은 도 2에 나타난 바와 같다) 중 임의의 것, 또는 표 1에 도시된 돌연변이체 중 임의의 것에 해당하는 하나 이상의 표적 위치에서의 하나 이상의 단일 아미노산 치환을 추가로 포함하며; 상기 변이체는 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 상기 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 상기 환자에게 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수가 8.0×10^{-10} 몰 초과, 또는 약 1.6×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 2.4×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 3.2×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 4.0×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 4.8×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 5.6×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 6.4×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 7.2×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 8.0×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 8.0×10^{-8} 몰 이상이고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

또 다른 측면으로는, 알려진 초글리코실화, 프로테아제 저항성 폴리펩티드 변이체가 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 콘센서스 IFN- α 인 경우, 대상 방법은 바이러스 감염, 예를 들면 C형 간염 바이러스 (HCV) 감염의 치료 방법에 있어서 치료가 필요한 개인에게 치료적 유효량의 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 콘센서스 IFN- α 를 투여하는 것을 제공한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 일반적으로 치료가 필요한 개인에게 부모 콘센서스 IFN- α 2의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를, 치료가 필요한 개인에게 부모 콘센서스 IFN- α 2의 비경구 제형물을 제 2 투여 빈도로 제 2 투여량으로 투여하는 것을 포함하는 HCV 감염의 치료를 위한 투약계획에 유효한 것으로 입증된 제 2 투여 빈도에 비해 적어도 동일하거나 더 잦은 제 1 투여 빈도로 제 1 투여량으로 경구 투여하는 것을 포함하며, 이때 제 1 투여량은, 제 2 투여량 중 부모 콘센서스 IFN- α 의 제 2 몰수 초과인 제 1 몰수의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함한다.

한 비제한적인 예에서, 부모 인터페론 알파콘-1은, 치료가 필요한 환자에게 9백만 유닛 (또는 9 마이크로그램)의 인페르젠(INFERGEN)® 인터페론 알파콘-1을 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1주 3회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 부모 인터페론 알파콘-1의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [D99N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [E134N]인터페론 알파콘-1 및 [D99N, E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드 (여기서 아미노산 번호매김은 도 24에 나타난 바와 같다)의 군에서 선택될 수 있는데; 이때 상기 글리코펩티드는, 부모 콘센서스 IFN- α 2에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 아미노산 위치: 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159 (이때 아미노산 번호매김은 도 9에 나타난 바와 같다) 중 임의의 것에 해당하는 하나 이상의 표적 위치에서의 하나 이상의 단일 아미노산 치환을 추가로 포함하며; 상기 변이체는 상기 환자에게, 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수는 인터페론 알파콘-1의 9백만 유닛 (또는 9 마이크로그램) 중 인터페론 알파콘-1의 몰수를 초과하고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

또 다른 비제한적인 예에서는, 부모 인터페론 알파콘-1은, 치료가 필요한 환자에게 천오백만 유닛 (또는 15 마이크로그램)의 인페르젠® 인터페론 알파콘-1을 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1주 3회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적임이 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 부모 인터페론 알파콘-1의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면, [D99N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [E134N]인터페론 알파콘-1, 및 [D99N,E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드 (여기서 아미노산 번호매김은 도 24에 나타난 바와 같다)의 군에서 선택될 수 있는데, 이때 상기 변이체가 부모 콘센서스 IFN- α 에서 발견되는 천연 프로테아제

절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 상기 글리코펩티드는 아미노산 위치: 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159 (여기서 아미노산 번호매김은 도 9에 나타낸 바와 같다) 중 임의의 것에 해당하는 하나 이상의 표적 위치에서의 하나 이상의 단일 아미노산 치환을 추가로 포함하며; 상기 변이체는 제 1 투여 빈도로 제 1 물수의 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 상기 환자에게 경구 투여되는데, 이때 제 1 물수가 인터페론 알파콘-1의 천오백만 유닛 (또는 15 마이크로그램) 중 인터페론 알파콘-1의 물수를 초과하고, 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

또 다른 비제한적인 예에서는, 부모 인터페론 알파콘-1은, 치료가 필요한 환자에게 9 마이크로그램 (또는 4.6×10^{-10} 몰)의 인터페론 알파콘-1을 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1주 3회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적임이 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 부모 인터페론 알파콘-1의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [D99N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [E134N]인터페론 알파콘-1, 및 [D99N,E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드 (여기서 아미노산 번호매김은 도 24에 나타낸 바와 같다)의 군에서 선택될 수 있는데, 이때 상기 변이체가 부모 콘센서스 IFN- α 에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 상기 글리코펩티드는 아미노산 위치: 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159 (여기서 아미노산 번호매김은 도 9에 나타낸 바와 같다) 중 임의의 것에 해당하는 하나 이상의 표적 위치에서의 하나 이상의 단일 아미노산 치환을 추가로 포함하며; 상기 변이체는 제 1 투여 빈도로 제 1 물수의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 상기 환자에게 경구 투여되는데, 이때 제 1 물수가 4.6×10^{-10} 몰 초과, 또는 약 9.2×10^{-10} 몰 이상, 또는 약 1.4×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 1.8×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 2.3×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 2.8×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 3.2×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 3.7×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 4.1×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 4.6×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 4.6×10^{-8} 몰 이상이고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3 회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

또 다른 비제한적인 예에서는, 부모 인터페론 알파콘-1은, 치료가 필요한 환자에게 15 마이크로그램 (또는 7.6×10^{-10} 몰)의 인터페론 알파콘-1을 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1주 3회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적임이 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 부모 인터페론 알파콘-1의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [D99N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [E134N]인터페론 알파콘-1, 및 [D99N,E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드의 군에서 선택될 수 있는데, 이때 상기 변이체가 부모 콘센서스 IFN- α 에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 상기 글리코펩티드는 아미노산 위치: 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159 중 임의의 것에 해당하는 하나 이상의 표적 위치에서의 하나 이상의 단일 아미노산 치환을 추가로 포함하며; 상기 변이체는 제 1 투여 빈도로 제 1 물수의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 상기 환자에게 경구 투여되는데, 이때 제 1 물수가 7.6×10^{-10} 몰 초과, 또는 약 1.5×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 2.3×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 3.0×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 3.8×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 4.6×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 5.3×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 6.1×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 6.8×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 7.6×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 7.6×10^{-8} 몰 이상이고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3 회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

또 다른 비제한적인 예에서는, 부모 인터페론 알파콘-1은, 치료가 필요한 환자에게 9 마이크로그램 (또는 4.5×10^{-8} 몰)의 인터페론 알파콘-1을 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1일 1회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적임이 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 부모 인터페론 알파콘-1의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [D99N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [E134N]인터페론 알파콘-1, 및 [D99N,E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드의 군에서 선택될 수 있는데, 이때 상기 변이체가 부모 콘센서스 IFN- α 에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 상기 글리코펩티드는 아미노산 위치: 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159 중 임의의 것에 해당하는 하나 이상의 표적 위치에서의 하나 이상의 단일 아미노산 치환을 추가로 포함하며; 상기 변이체는 제 1 투여 빈도로 제 1 물수의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여

량으로 상기 환자에게 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수가 4.6×10^{-10} 몰 초과, 또는 약 9.2×10^{-10} 몰 이상, 또는 약 1.4×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 1.8×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 2.3×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 2.8×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 3.2×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 3.7×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 4.1×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 4.6×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 4.6×10^{-8} 몰 이상이고, 상기 제 1 투여 빈도는 1일 1회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

또 다른 비제한적인 예에서는, 부모 인터페론 알파콘-1은, 치료가 필요한 환자에게 15 마이크로그램 (또는 7.5×10^{-8} 몰)의 인터페론 알파콘-1을 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1일 1회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적임이 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 부모 인터페론 알파콘-1의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [D99N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N]인터페론 알파콘-1, [D99N,D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [D105N,E134N]인터페론 알파콘-1, [E134N]인터페론 알파콘-1, 및 [D99N,E134N]인터페론 알파콘-1 글리코펩티드의 군에서 선택될 수 있는데, 이때 상기 변이체가 부모 콘센서스 IFN- α 에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 상기 글리코펩티드는 아미노산 위치: 41, 58, 78, 107, 117, 125, 133 및 159 중 임의의 것에 해당하는 하나 이상의 표적 위치에서의 하나 이상의 단일 아미노산 치환을 추가로 포함하며; 상기 변이체는 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 상기 환자에게 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수가 7.6×10^{-10} 몰 초과, 또는 약 1.5×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 2.3×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 3.0×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 3.8×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 4.6×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 5.3×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 6.1×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 6.8×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 7.6×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 7.6×10^{-8} 몰 이상이고, 상기 제 1 투여 빈도는 1일 1회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 상술한 콘센서스 IFN- α 의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 이용한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, 상기 표 9에 기재된 담체 펩티드 중 임의의 것이 소망하는 폴리펩티드 변이체와 공유 또는 비-공유 회합되어 있는 것인 방법을 제공한다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 임의의 상기과 같은 담체 펩티드가, 소망하는 폴리펩티드 변이체의 N-말단에 융합되어 있는 것을 비제한적으로 포함하여, 임의의 상기과 같은 담체 펩티드가 소망하는 폴리펩티드 변이체와 직접 또는 간접 공유 연결되어 있는 것이다.

IFN- γ 를 이용한 치료 방법

또 다른 측면으로는, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 초글리코실화 IFN- γ 인 경우, 대상 방법은 바이러스 감염, 예를 들면 HCV 감염의 치료 방법에 있어서 치료가 필요한 개인에게 치료적 유효량의 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- γ 를 투여하는 것을 제공한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 일반적으로 치료가 필요한 개인에게 부모 IFN- γ 의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를, 치료가 필요한 개인에게 치료적 유효량의 IFN- α 를 투여하고 부모 IFN- γ 의 비경구 제형물을 제 2 투여 빈도로 제 2 투여량으로 공동-투여하는 것을 포함하는 HCV 감염의 치료를 위한 투약계획에 유효한 것으로 입증된 제 2 투여 빈도에 비해 적어도 동일하거나 더 잦은 제 1 투여 빈도로 제 1 투여량으로 경구 투여하는 것을 포함하며, 이때 제 1 투여량은, 제 2 투여량 중 부모 IFN- γ 의 제 2 몰수 초과인 제 1 몰수의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함한다.

한 비제한적인 예에서, 부모 IFN- γ 는 IFN- γ 1b이며, 치료가 필요한 환자에게 치료적 유효량의 IFN- α 를 투여하고 100 마이크로그램 (6.0×10^{-9} 몰)의 IFN- γ 1b를 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1주 3회 공동-투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적임이 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 부모 IFN- γ 1b의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [S99T]IFN- γ , [E38N]IFN- γ , [E38N,S40T]IFN- γ , [E38N,S99T]IFN- γ , 및 [E38N,S40T,S99T]IFN- γ 글리코펩티드의 군에서 선택될 수 있는데; 이때 상기 글리코펩티드 변이체가 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 표 3 (IFN- γ)에 나타난 하나 이상의 아미노산 치환을 추가로 포함하고; 상기 변이체는 상기 환자에게, 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수는 IFN- γ 1b의 100 마이크로그램 (6.0×10^{-9} 몰) 중 IFN- γ 1b의 몰수를 초과하고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

또 다른 비제한적인 예에서, 부모 IFN- γ 는 IFN- γ 1b이며, 치료가 필요한 환자에게 치료적 유효량의 IFN- α 를 투여하고 50 마이크로그램 (3.0×10^{-9} 몰)의 IFN- γ 1b를 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1주 3회 공동-투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 부모 IFN- γ 1b의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [S99T]IFN- γ , [E38N]IFN- γ , [E38N,S40T]IFN- γ , [E38N,S99T]IFN- γ , 및 [E38N,S40T,S99T]IFN- γ 글리코펩티드의 군에서 선택될 수 있는데; 이때 상기 글리코펩티드 변이체가 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 표 3 (IFN- γ)에 기재된 하나 이상의 아미노산 치환을 추가로 포함하고; 상기 변이체는 상기 환자에게, 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수는 IFN- γ 1b의 50 마이크로그램 (3.0×10^{-9} 몰) 중 IFN- γ 1b의 몰수를 초과하고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

또 다른 비제한적인 예에서, 부모 IFN- γ 는 IFN- γ 1b이며, 치료가 필요한 환자에게 치료적 유효량의 IFN- α 를 투여하고 100 마이크로그램 (6.0×10^{-9} 몰)의 IFN- γ 1b를 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1주 3회 공동-투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 부모 IFN- γ 1b의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [S99T]IFN- γ , [E38N]IFN- γ , [E38N,S40T]IFN- γ , [E38N,S99T]IFN- γ , 및 [E38N,S40T,S99T]IFN- γ 글리코펩티드의 군에서 선택될 수 있는데; 이때 상기 글리코펩티드 변이체가 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 표 3 (IFN- γ)에 나타난 하나 이상의 아미노산 치환을 추가로 포함하고; 상기 변이체는 상기 환자에게, 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수는 6.0×10^{-9} 몰 초과, 또는 약 1.2×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 1.8×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 2.4×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 3.0×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 3.6×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 4.2×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 4.8×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 5.4×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 6.0×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 6.0×10^{-7} 몰 이상이고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

또 다른 비제한적인 예에서, 부모 IFN- γ 는 IFN- γ 1b이며, 치료가 필요한 환자에게 치료적 유효량의 IFN- α 를 투여하고 50 마이크로그램 (3.0×10^{-9} 몰)의 IFN- γ 1b를 피하 볼루스 주사에 의해 48 주 동안 1주 3회 공동-투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 HCV 감염의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 부모 IFN- γ 1b의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [S99T]IFN- γ , [E38N]IFN- γ , [E38N,S40T]IFN- γ , [E38N,S99T]IFN- γ , 및 [E38N,S40T,S99T]IFN- γ 글리코펩티드의 군에서 선택될 수 있는데; 이때 상기 글리코펩티드 변이체가 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 표 3 (IFN- γ)에 나타난 하나 이상의 아미노산 치환을 추가로 포함하고; 상기 변이체는 상기 환자에게, 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수는 3.0×10^{-9} 몰 초과, 또는 약 6.0×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 9.0×10^{-9} 몰 이상, 또는 약 1.2×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 1.5×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 1.8×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 2.1×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 2.4×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 2.7×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 3.0×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 3.0×10^{-7} 몰 이상이고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 상술한 IFN- γ 의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 이용한 HCV 감염의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, 상기 표 9에 기재된 담체 펩티드 중 임의의 것이 소망하는 폴리펩티드 변이체와 공유 또는 비-공유 회합되어 있는 것인 방법을 제공한다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 임의의 상기과 같은 담체 펩티드가, 소망하는 폴리펩티드 변이체의 N-말단에 융합되어 있는 것을 비제한적으로 포함하여, 임의의 상기과 같은 담체 펩티드가 소망하는 폴리펩티드 변이체와 직접 또는 간접 공유 연결되어 있는 것이다.

본 IFN- α 및 IFN- γ 병용요법을 이용한 HCV 감염의 치료 방법에서 사용하기에 적당한 IFN- α 의 치료적 유효량은 상기 “IFN- α 를 이용한 치료 방법”의 제목 하에 기재된 IFN- α 요법을 이용한 HCV 감염의 치료 방법에 제공된다. 또한, 본 IFN- α 및 IFN- γ 병용요법을 이용한 HCV 감염의 치료 방법에서 사용하기에 적당한 IFN- α 의 치료적 유효량은 WO 03/030613에 기재된 IFN- α 및 IFN- γ 병용요법을 이용한 HCV 감염의 치료 방법에서 제공된다.

또 다른 측면으로는, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 초글리코실화 IFN- γ 인 경우, 대상 방법은 섬유증 장애, 예를 들면 폐섬유증 장애 또는 간섬유증 장애의 치료 방법에 있어서 치료가 필요한 개인에게 치료적 유효량의 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를, 치료가 필요한 개인에게 부모 IFN- γ 의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를, 치료가 필요한 개인에게 부모 IFN- γ 의 비경구 약학적 제형물을 제 2 투여 빈도로 제 2 투여량으로 투여하는 것을 포함하는 섬유증 장애의 치료를 위한 투약계획에 유효한 것으로 입증된 제 2 투여 빈도에 비해 적어도 동일하거나 더 잦은 제 1 투여 빈도로 제 1 투여량으로 경구 투여하는 것을 포함하며, 이때 제 1 투여량은, 제 2 투여량 중 부모 IFN- γ 의 제 2 몰수 초과인 제 1 몰수의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함한다.

한 비제한적인 예에서, 부모 IFN- γ 는 IFN- γ 1b이며, 치료가 필요한 환자에게 200 마이크로그램 (1.2×10^{-8} 몰)의 IFN- γ 1b를 피하 볼루스 주사에 의해 1년 이상 동안 1주 3회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 섬유증 장애의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 부모 IFN- γ 1b의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는, 예를 들면 [S99T]IFN- γ , [E38N]IFN- γ , [E38N,S40T]IFN- γ , [E38N,S99T]IFN- γ , 및 [E38N,S40T,S99T]IFN- γ 글리코펩티드의 군에서 선택될 수 있는데; 이때 상기 글리코펩티드 변이체가 부모 IFN- γ 폴리펩티드에서 발견되는 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 표 3 (IFN- γ)에 기재된 하나 이상의 아미노산 치환을 추가로 포함하고; 상기 변이체는 상기 환자에게, 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수는 1.2×10^{-8} 몰 초과, 또는 약 2.4×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 3.6×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 4.8×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 6.0×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 7.2×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 8.4×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 9.6×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 1.1×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.2×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.0×10^{-6} 몰 이상이고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 상술한 IFN- γ 의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 이용한 섬유증 장애의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 섬유증 장애가 폐섬유증 장애, 예컨대 특발성 폐섬유증, 또는 간섬유증 장애인 방법을 제공한다. 특발성 폐섬유증을 치료하기 위한 대상 방법 중 일부에서는, 환자의 초기 노력성 폐활량 (FVC)이 예상된 정상 FVC의 55% 이상이다. 특발성 폐섬유증을 치료하기 위한 본 발명의 다른 방법에서는, 환자의 초기 일산화탄소 확산 능력 (DL_{CO})이 예상된 정상 DL_{CO} 의 35% 이상이다. 특발성 폐섬유증을 치료하기 위한 본 발명의 또 다른 방법에서는, 환자의 초기 노력성 폐활량 (FVC)이 예상된 정상 FVC의 55% 이상이고, 초기 일산화탄소 확산 능력 (DL_{CO})이 예상된 정상 DL_{CO} 의 35% 이상이다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 상술한 IFN- γ 의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 이용한 섬유증 장애의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, 상기 표 9에 기재된 담체 펩티드 중 임의의 것이 소망하는 폴리펩티드 변이체와 공유 또는 비-공유 회합되어 있는 것인 방법을 제공한다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가, 상기와 같은 담체 펩티드가 소망하는 폴리펩티드 변이체의 N-말단에 융합된 상기와 같은 담체 펩티드를 비제한적으로 포함하여, 소망하는 폴리펩티드 변이체와 직접 또는 간접 공유 연결되어 있는 것이다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 상술한 부모 IFN- γ 1b 치료제의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 이용한 환자의 질환의 치료 방법 중 임의의 것으로서, 상기 방법이 글리코실화 천연 (야생형) 인간 IFN- γ (WO 02/081507에 기재됨)의 임의 프로테아제 저항성 변이체를, 상기 부모 IFN- γ 1b 치료제의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체로서 사용하도록 변형된다. 한 비제한적 예

에서는, 글리코실화 천연 인간 IFN- γ 의 프로테아제 저항성 변이체는, 상기 변이체가 부모 IFN- γ 1b 폴리펩티드의 천연 프로테아제 절단 부위 대신에 하나 이상의 돌연변이된 프로테아제 절단 부위를 포함하도록, 표 3 (IFN- γ)에 기재된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

IFN- β 를 이용한 치료 방법

일부 구현예에서는, 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- β 인 경우, 대상 방법은 다발성 경화증의 치료 방법에 있어서 치료가 필요한 개인에게 치료적 유효량의 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 IFN- β 를 투여하는 것을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 치료가 필요한 개인에게 부모 IFN- β 의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를, 치료가 필요한 개인에게 부모 IFN- β 의 비경구 제형물을 제 2 투여 빈도로 제 2 투여량으로 투여하는 것을 포함하는 다발성 경화증의 치료를 위한 투약계획에 유효한 것으로 입증된 제 2 투여 빈도에 비해 적어도 동일하거나 더 잦은 제 1 투여 빈도로 제 1 투여량으로 경구 투여하는 것을 포함하며, 이때 제 1 투여량은, 제 2 투여량 중 부모 IFN- β 의 제 2 몰수 초과인 제 1 몰수의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함한다.

한 비제한적인 예에서, 부모 IFN- β 치료제는 IFN- β 1b이며, 치료가 필요한 환자에게 0.25 mg (또는 1.35×10^{-8} 몰)의 IFN- β 1b (베타세론(BETASERON®))를 피하 볼루스 주사에 의해 소망하는 치료기간 동안 격일마다 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 다발성 경화증의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 아보넥스(AVONEX®) IFN- β 1a의 활성 성분의 알려진 프로테아제 저항성 변이체 (예를 들면, 상기 프로테아제 저항성 변이체가 표 2에 기재된 아미노산 변화 중 하나 이상을 포함하는 경우)이며, 상기 환자에게 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 상기 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수는 1.35×10^{-8} 몰 초과, 또는 약 2.7×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 4.0×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 5.4×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 6.75×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 8.1×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 9.45×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 1.1×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.2×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.35×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.35×10^{-6} 몰 이상이고, 상기 제 1 투여 빈도는 격일마다 1회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

에리트로포이에틴 (EPO)를 이용한 치료 방법

일부 구현예에서는, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체가 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 EPO인 경우, 빈혈의 치료 방법에 있어서 치료가 필요한 개인에게 치료적 유효량의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 EPO를 투여하는 것을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 치료가 필요한 개인에게 부모 EPO의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를, 치료가 필요한 개인에게 부모 EPO의 비경구 제형물을 제 2 투여 빈도로 제 2 투여량으로 투여하는 것을 포함하는 빈혈의 치료를 위한 투약계획에 유효한 것으로 입증된 제 2 투여 빈도에 비해 적어도 동일하거나 더 잦은 제 1 투여 빈도로 제 1 투여량으로 경구 투여하는 것을 포함하며, 이때 제 1 투여량은, 제 2 투여량 중 부모 EPO의 제 2 몰수 초과인 제 1 몰수의 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함한다.

한 비제한적인 예에서, 부모 EPO는 치료가 필요한 환자에게 환자의 체중 1 킬로그램 당 100 유닛 (770 마이크로그램 또는 2.5×10^{-8} 몰)의 에포젠® 에포에틴 알파를 피하 볼루스 주사에 의해 소망하는 치료기간 동안 1주 3회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 빈혈의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 아라네스프(ARANESPO®) 다르베포에틴 알파의 활성 성분의 알려진 프로테아제 저항성 변이체 (예를 들면, 상기 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체가 표 4에 기재된 아미노산 변화 중 하나 이상을 포함하는 경우)이며, 상기 환자에게 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 상기 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수는 환자의 체중 1 킬로그램 당 2.5×10^{-8} 몰 초과, 또는 약 5.0×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 7.5×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 1.0×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.25×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.5×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.75×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 2.0×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 2.25×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 2.5×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 2.5×10^{-6} 몰 이상을 환자의 체중으로 곱한 값이고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

또 다른 비제한적인 예에서는, 부모 EPO는 치료가 필요한 환자에게 환자의 체중 1 킬로그램 당 50 유닛 (385 마이크로그램 또는 1.25×10^{-8} 몰)의 에포젠® 에포에틴 알파를 피하 볼루스 주사에 의해 소망하는 치료기간 동안 1주 3회 투여하는 것을 포함하는 방법에 있어서 빈혈의 치료에 효과적인 것으로 입증되었다. 이러한 구현예 중 일부에서는, 상기 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제-저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체는 아라네스프® 다르베포에틴 알파의 활성 성분의 알려진 프로테아제 저항성 변이체 (예를 들면, 상기 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 변이체가 표 4에 기재된 아미노산 변화 중 하나 이상을 포함하는 경우)이며, 상기 환자에게 제 1 투여 빈도로 제 1 몰수의 상기 변이체를 함유하는 제 1 투여량으로 경구 투여되는데, 이때 제 1 몰수는 환자의 체중 1 킬로그램 당 1.25×10^{-8} 몰 초과, 또는 약 2.5×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 3.75×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 5.0×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 6.25×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 7.5×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 8.75×10^{-8} 몰 이상, 또는 약 1.0×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.125×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.25×10^{-7} 몰 이상, 또는 약 1.25×10^{-6} 몰 이상을 환자의 체중으로 곱한 값이고, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 3회 이상이다. 대안적으로는, 상기 제 1 투여 빈도는 1주 4회, 1주 5회, 1주 6회, 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회이다.

키트 및 용기

본 발명은 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 포함하는 용기를 제공한다. 본 발명은 또한 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체의 단위 투여 형태를 용기 내에 포함하는 제형물을 포함하는 키트, 및 상기 키트의 용도에 대한 지시사항을 제공하는 라벨을 제공한다.

적당한 용기에는, 주사기 (바늘을 이용한 용도), 인젝터 펜(injector pen) 등을 포함한, 피하 주사에 의한 투여에 적합한 것들이 포함된다. 일부 구현예에서는, 대상 아고니스트가 펜 인젝터 (예를 들면, 약제 전달 펜)를 이용하여 투여되며, 이는 다수가 당해 분야에 공지되어 있다. 본 방법에서 사용하기에 적합할 수 있는 예시적 장치는 Becton Dickinson 사의 다양한 펜 인젝터, 예를 들면 BD™ 펜, BD™ 펜 II, BD™ 오토-인젝터; Innoject, Inc. 사의 펜 인젝터; 미국특허 제 5,728,074 호, 제 6,096,010 호, 제 6,146,361 호, 제 6,248,095 호, 제 6,277,099 호, 및 제 6,221,053 호에 거론된 약제 전달 펜 장치 중 임의의 것 등이다. 약제 전달 펜은 일회용이거나, 또는 재사용가능하고 재충전 가능할 수 있다. 또한 사용하기에 적당한 것은 인트라젝트(Intraject®) 무바늘 주사 시스템 (Aradigm Corp.)이다.

본 발명은 또한 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트의 단일 투여량을 포함하는 액체 제형물을 함유하는 저장소를 포함하는 (예를 들면, 예비-부하된) 약물 전달 장치를 제공한다. 일부 구현예에서는, 본 발명은 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 포함하는 약학적 조성물을 포함하는 예비-충전된 주사기를 제공한다.

본 발명은 약물 전달 장치에서의 사용을 위해, 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 를, 단일 저장소에 함유된 단일 액체 제형물에 포함하는 제형물을 제공한다. 일부 측면으로는, 본 발명은 대상 글리코실화 합성타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 가 액체 중에 공동제형된 것을 함유하는 약물 저장소 또는 기타 용기로서, 대상 글리코실화 합성타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 모두가 상기 제형물 중에 각각 1회 투여량에 적당한 양으로 존재하는 약물 저장소 또는 기타 용기를 제공한다. 상기 저장소는 카트리지, 주사기, 연속 전달 장치의 저장소 등을 포함하나 이에 한정되지는 않는, 임의의 다양한 형태로 제공될 수 있다.

본 발명은 또한 단일 투여량의 대상 글리코실화 합성타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 단일 투여량의 글리코실화 IFN- γ 를 포함하는 액체 제형물을 함유하는 저장소를 포함하는 (예를 들면, 예비-부하된) 약물 전달 장치를 제공한다. 예시적이고, 비제한적인 약물 전달 장치에는 주사 장치, 예컨대 펜 인젝터, 바늘/주사 장치, 연속 전달 장치 등이 포함된다. 공동상승적 유효량을 포함하여, 본원에 기술된 투여량은 어느 것이나 상기 약학적 제형물에, 상기 저장소에, 또는 약물 전달 장치에 사용될 수 있다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트, 글리코실화 IFN- γ , 및 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 포함하는 예비-충전된 주사기로서, 상기 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트 및 글리코실화 IFN- γ 가 공동제형되어 있는 주사기를 제공한다.

다른 구현예에서는, 본 발명은 (a) 대상 글리코실화 합성 타입 I 인터페론 수용체 폴리펩티드 아고니스트를 포함하는 약학적 조성물로 예비-충전된 제 1 배럴, (b) 글리코실화 IFN- γ 를 포함하는 약학적 조성물로 예비-충전된 제 2 배럴을 포함하는 주사기가 제공된다.

일부 구현예에서는, 본 발명은 알려진 프로테아제 저항성 또는 프로테아제 저항성, 초글리코실화 폴리펩티드 변이체를 경구 전달에 적당한 제형물 중에 포함하는 용기를 제공한다. 경구 전달에 적당한 제형물에는 액체 제형물, 고체 제형물 (예를 들면, 정제, 캡슐 등), 및 반-고체 제형물 (예를 들면, 젤, 젤 캡슐 등)이 포함된다.

치료에 적당한 대상

대상 방법은 다양한 장애가 있거나 장애가 있기 쉬운 개인을 치료하는 데 적당하다. 다수의 구현예에서는, 상기 개인이 인간이다.

섬유증 장애

섬유증 장애의 치료를 위한 대상 방법은 섬유증 장애가 있는 것으로 진단된 개인의 치료에 적당하다. 섬유증 장애에는 특발성 폐섬유증 (IPF) 및 알려진 병인으로 인한 폐섬유증을 포함한 폐섬유증, 간섬유증, 및 신장 섬유증이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다. 기타 예시적인 섬유증 상태에는 근골격 섬유증, 심장 섬유증, 외과수술 후 점착, 피부경화증, 녹내장, 및 켈로이드와 같은 피부 병변이 포함된다.

암

암의 치료를 위한 대상 방법을 이용한 치료에 적당한 대상에는 암의 종류의 암이 있는 개인이 포함된다. 또한 치료에 적당한 대상은 표준 암 화학요법제를 이용한 이전의 암 치료에서 실패한 개인이다. 또한 치료에 적당한 대상은 표준 암 화학요법제를 이용하여 이전에 치료되었고, 초기에는 그러한 치료에 반응하였으며, 암이 후속적으로 재발한 개인이다. 또한 치료에 적당한 대상은 또 다른 암 치료제를 이용한 치료에 반응 실패한 개인이다.

HCV 감염

HCV 감염의 치료를 위한 본 발명의 방법에 따라 치료될 개인에는 HCV에 감염된 것으로 임상적으로 진단된 개인이 포함된다. HCV에 감염된 개인은 그들의 혈액 중에 HCV RNA를 가지고/가지거나, 혈청 중에 항-HCV 항체를 갖는 것으로 식별된다.

HCV에 감염된 것으로 임상적으로 진단된 개인에는 치료받은 적이 없는 개인 (예를 들면, HCV에 대해 이전에 치료된 적이 없는 개인, 특히 이전에 IFN- α -기재 및/또는 리바비린-기재 요법을 받은 적이 없는 이들) 및 HCV에 대한 이전의 치료에 실패한 개인 ("치료 실패" 환자)이다. 치료 실패 환자에는 비-반응자 (즉, HCV 역가가 HCV에 대한 이전의 치료, 예를 들면 이전의 IFN- α 단일요법, 이전의 IFN- α 및 리바비린 병용요법, 또는 이전의 PEG화 IFN- α 및 리바비린 병용요법에 의해 현저히 또는 충분히 감소되지 않은 개인); 및 재발자 (즉, 이전에 HCV에 대해 치료되었고, 예를 들면 이전의 IFN- α 단일요법, 이전의 IFN- α 및 리바비린 병용요법, 또는 이전의 PEG화 IFN- α 및 리바비린 병용요법을 받았고, HCV 역가가 감소되었고, 이후에 증가된 개인)가 포함된다.

관심대상인 특정 구현예에서는, 개인의 HCV 역가가 혈청 1 밀리리터 당 HCV 게놈 카피 약 10^5 이상, 약 5×10^5 이상, 또는 약 10^6 이상, 또는 약 2×10^6 이상이다. 환자는 임의의 HCV 유전자형 (유전자형 1, 1a 및 1b 포함, 2, 3, 4, 6 등, 및 서브타입 (예를 들면, 2a, 2b, 3a 등)), 특히 HCV 유전자형 1 및 특정 HCV 서브타입 및 유사종(quasispecies)과 같은 치료하기 어려운 유전자형에 감염될 수도 있다.

또한 관심대상인 것은, 심각한 섬유증 또는 초기 경화증 (비-대상부전, Child's-Pugh 부류 A 이하), 또는 만성 HCV 감염으로 인한 더 진행된 경화증 (대상부전, Child's-Pugh 부류 B 또는 C)을 나타내고, IFN- α -기재 요법을 이용한 이전의 항-바이러스 치료에도 불구하고 바이러스 혈증이 있거나 IFN- α -기재 요법을 견디지 못하거나, 그러한 요법에 금기증 (contraindication)이 있는 HCV-양성 개인 (상기한 바와 같음)이다. 관심대상인 특정 구현예에서는, METAVIR 점수체계에 따라 3 또는 4 단계 간섬유증이 있는 HCV-양성 개인이 본 발명의 방법을 이용한 치료에 적당하다. 다른 구현예에서는, 본 발명의 방법을 이용한 치료에 적당한 개인은, 간 이식수술을 기다리고 있는 이들을 포함하여 많이 진행된 간경화증이

있는 환자를 포함한, 임상적 발현이 있는 대상부전 경화증이 있는 환자이다. 또 다른 구현예에서는, 본 발명의 방법을 이용한 치료에 적당한 개인에는, 초기 섬유증 (METAVIR, Ludwig 및 Scheuer 점수체계에서 1 및 2 단계; 또는 Ishak 점수체계에서 1, 2, 또는 3 단계)이 있는 이들을 포함하여, 보다 온화한 정도의 섬유증이 있는 환자들이 포함된다.

도면

도면1

성숙 인간 IFN- α 2a의 아미노산 서열

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

도면2

성숙 인간 IFN- α 2b의 아미노산 서열

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

도면3

인간 IFN- β 의 아미노산 서열

```

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

도면4

인간 IFN- γ 의 아미노산 서열

```

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

도면5

성숙 인간 G-CSF의 아미노산 서열

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

도면6

성숙 인간 호르몬의 아미노산 서열

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

도면7

인간 에리트로포이에틴의 아미노산 서열

```

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

```

도면8

인간 GM-CSF의 아미노산 서열

```

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

```


도면9

컨센서스 IFN- α 의 아미노산 서열

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

도면10

인간 IFN- α c의 아미노산 서열

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

도면11

IFN- α 2c의 아미노산 서열

```

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

```

도면12

IFN- α d의 아미노산 서열

```

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

```

도면13

IFN- α 5의 아미노산 서열

```

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

```

도면14

IFN- α 6의 아미노산 서열

```

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

```

도면15

IFN-α4의 아미노산 서열

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

도면16

IFN-α4b의 아미노산 서열

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

도면17

IFN- α I의 아미노산 서열

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

도면18

IFN- α J의 아미노산 서열

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

도면19

IFN- α H의 아미노산 서열

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

도면20

IFN- α F의 아미노산 서열

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

도면21

IFN- α 8의 아미노산 서열

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

도면22

IFN- β 1의 아미노산 서열

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

도면23

IFN-β2a 의 아미노산 서열

```

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

도면24

	M	A	-	-	-	L	-	F	A	L	L	-	A	L	V	-	T	S	-	S	-	S	-	S	L	G	C	D	L	P	Q	T	H	S	L	G	S	R	R		Majority																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
1	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

도면25

		부위 1										부위 2																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																							
--	--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

도면28

부위 1

		Y E M L Q N I F A I F R Q D S S S T G W Majority																				
		90										100										
81		Y	E	M	L	Q	N	I	F	A	I	F	R	Q	D	S	S	S	T	G	W	h IFN beta 1
81		Y	E	M	L	Q	N	I	F	A	I	F	R	Q	D	N	S	S	T	G	W	h IFN beta 1_S95N
81		Y	E	M	L	Q	N	I	F	A	I	F	R	Q	D	S	S	S	T	G	W	h IFN beta 1_E130T
81		Y	E	M	L	Q	N	I	F	A	I	F	R	Q	D	S	S	S	T	G	W	h IFN beta 1_E130N_F132T
81		Y	E	M	L	Q	N	I	F	A	I	F	R	Q	D	N	S	S	T	G	W	h IFN beta 1_S95N_E130T
81		Y	E	M	L	Q	N	I	F	A	I	F	R	Q	D	N	S	S	T	G	W	h IFN beta 1_S95N_E130N_F132T

		N E T I V E N L L A N V Y H Q I N H L K Majority																				
		110										120										
101		N	E	T	I	V	E	N	L	L	A	N	V	Y	H	Q	I	N	H	L	K	h IFN beta 1
101		N	E	T	I	V	E	N	L	L	A	N	V	Y	H	Q	I	N	H	L	K	h IFN beta 1_S95N
101		N	E	T	I	V	E	N	L	L	A	N	V	Y	H	Q	I	N	H	L	K	h IFN beta 1_E130T
101		N	E	T	I	V	E	N	L	L	A	N	V	Y	H	Q	I	N	H	L	K	h IFN beta 1_E130N_F132T
101		N	E	T	I	V	E	N	L	L	A	N	V	Y	H	Q	I	N	H	L	K	h IFN beta 1_S95N_E130T
101		N	E	T	I	V	E	N	L	L	A	N	V	Y	H	Q	I	N	H	L	K	h IFN beta 1_S95N_E130N_F132T

		T V L E E K L E K T D F T R G K L M S S Majority																				
		130										140										
121		T	V	L	E	E	K	L	E	K	E	D	F	T	R	G	K	L	M	S	S	h IFN beta 1
121		T	V	L	E	E	K	L	E	K	E	D	F	T	R	G	K	L	M	S	S	h IFN beta 1_S95N
121		T	V	L	E	E	K	L	E	K	T	D	F	T	R	G	K	L	M	S	S	h IFN beta 1_E130T
121		T	V	L	E	E	K	L	E	K	N	D	T	R	G	K	L	M	S	S	h IFN beta 1_E130N_F132T	
121		T	V	L	E	E	K	L	E	K	T	D	F	T	R	G	K	L	M	S	S	h IFN beta 1_S95N_E130T
121		T	V	L	E	E	K	L	E	K	N	D	T	R	G	K	L	M	S	S	h IFN beta 1_S95N_E130N_F132T	

부위 2

도면29

부위 1

H E M L Q Q I F S L F H T E N S S A A W Majority

90

100

81	H	E	M	L	Q	Q	I	F	S	L	F	H	T	E	R	S	S	A	A	W	h IFN Omega 1
81	H	E	M	L	Q	Q	I	F	S	L	F	H	T	E	N	S	S	A	A	W	h IFN Omega 1_R95N
81	H	E	M	L	Q	Q	I	F	S	L	F	H	T	E	R	S	S	A	A	W	h IFN Omega 1_G130T
81	H	E	M	L	Q	Q	I	F	S	L	F	H	T	E	R	S	S	A	A	W	h IFN Omega 1_G130N
81	H	E	M	L	Q	Q	I	F	S	L	F	H	T	E	N	S	S	A	A	W	h IFN Omega 1_R95N_G130N
81	H	E	M	L	Q	Q	I	F	S	L	F	H	T	E	N	S	S	A	A	W	h IFN Omega 1_R95N_G130T

N M T L L D Q L H T G L H Q Q L Q H L E Majority

110

120

101	N	M	T	L	L	D	Q	L	H	T	G	L	H	Q	Q	L	Q	H	L	E	h IFN Omega 1
101	N	M	T	L	L	D	Q	L	H	T	G	L	H	Q	Q	L	Q	H	L	E	h IFN Omega 1_R95N
101	N	M	T	L	L	D	Q	L	H	T	G	L	H	Q	Q	L	Q	H	L	E	h IFN Omega 1_G130T
101	N	M	T	L	L	D	Q	L	H	T	G	L	H	Q	Q	L	Q	H	L	E	h IFN Omega 1_G130N
101	N	M	T	L	L	D	Q	L	H	T	G	L	H	Q	Q	L	Q	H	L	E	h IFN Omega 1_R95N_G130N
101	N	M	T	L	L	D	Q	L	H	T	G	L	H	Q	Q	L	Q	H	L	E	h IFN Omega 1_R95N_G130T

T C L L Q V V G E G E S A G A I S S P A Majority

130

140

121	T	C	L	L	Q	V	V	G	E	G	E	S	A	G	A	I	S	S	P	A	h IFN Omega 1
121	T	C	L	L	Q	V	V	G	E	G	E	S	A	G	A	I	S	S	P	A	h IFN Omega 1_R95N
121	T	C	L	L	Q	V	V	G	E	T	E	S	A	G	A	I	S	S	P	A	h IFN Omega 1_G130T
121	T	C	L	L	Q	V	V	G	E	N	E	S	A	G	A	I	S	S	P	A	h IFN Omega 1_G130N
121	T	C	L	L	Q	V	V	G	E	N	E	S	A	G	A	I	S	S	P	A	h IFN Omega 1_R95N_G130N
121	T	C	L	L	Q	V	V	G	E	T	E	S	A	G	A	I	S	S	P	A	h IFN Omega 1_R95N_G130T

부위 2

도면30

		M	A	L	K	F	A	L	Q	I	A	L	V	V	L	S	S	T	S	A	L		Majority
1		M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Infergen
1		M	A	L	P	F	A	L	M	M	A	L	V	V	L	S	C	K	S	S	C		Infergen w A14 Sig
1		M	A	L	P	F	A	L	M	M	A	L	V	V	L	S	C	K	S	S	C		h IFN alpha 14
1		M	T	N	K	C	L	L	Q	I	A	L	L	L	C	F	S	T	T	A	L		Infergen w Beta Sig
		M	T	N	K	C	L	L	Q	I	A	L	L	L	C	F	S	T	T	A	L		h IFN beta 1
		S	L	G	C	D	L	P	Q	-	T	H	S	L	G	N	R	R	A	L	I		Majority
2		-	-	-	C	D	L	P	Q	-	T	H	S	L	G	N	R	R	A	L	I		Infergen
21		S	L	G	C	D	L	P	Q	-	T	H	S	L	G	N	R	R	A	L	I		Infergen w A14 Sig
21		S	L	G	C	D	L	P	Q	-	T	H	S	L	G	N	R	R	A	L	I		h IFN alpha 14
21		S	M	S	C	D	L	P	Q	-	T	H	S	L	G	N	R	R	A	L	I		Infergen w Beta Sig
21		S	M	S	C	D	L	P	Q	-	T	H	S	L	G	N	R	R	A	L	I		h IFN beta 1
		L	L	A	Q	M	R	R	I	S	P	F	S	C	L	K	D	R	H	D	F		Majority
18		L	L	A	Q	M	R	R	I	S	P	F	S	C	L	K	D	R	H	D	F		Infergen
40		L	L	A	Q	M	R	R	I	S	P	F	S	C	L	K	D	R	H	D	F		Infergen w A14 Sig
40		L	L	A	Q	M	R	R	I	S	P	F	S	C	L	K	D	R	H	D	F		h IFN alpha 14
40		L	L	W	Q	I	N	G	R	L	E	Y	-	C	L	K	D	R	M	N	F		Infergen w Beta Sig
41		L	L	W	Q	I	N	G	R	L	E	Y	-	C	L	K	D	R	M	N	F		h IFN beta 1
		G	F	P	Q	E	E	F	D	G	N	Q	F	Q	K	A	Q	A	I	S	V		Majority
38		G	F	P	Q	E	E	F	D	G	N	Q	F	Q	K	A	Q	A	I	S	V		Infergen
60		G	F	P	Q	E	E	F	D	G	N	Q	F	Q	K	A	Q	A	I	S	V		Infergen w A14 Sig
60		G	F	P	Q	E	E	F	D	G	N	Q	F	Q	K	A	Q	A	I	S	V		h IFN alpha 14
60		G	F	P	Q	E	E	F	D	G	N	Q	F	Q	K	A	Q	A	I	S	V		Infergen w Beta Sig
60		G	F	P	Q	E	E	F	D	G	N	Q	F	Q	K	A	Q	A	I	S	V		h IFN beta 1
		L	H	E	M	I	Q	Q	T	F	N	L	F	S	T	K	D	S	S	A	A		Majority
58		L	H	E	M	I	Q	Q	T	F	N	L	F	S	T	K	D	S	S	A	A		Infergen
80		L	H	E	M	I	Q	Q	T	F	N	L	F	S	T	K	D	S	S	A	A		Infergen w A14 Sig
80		L	H	E	M	I	Q	Q	T	F	N	L	F	S	T	K	D	S	S	A	A		h IFN alpha 14
80		L	H	E	M	I	Q	Q	T	F	N	L	F	S	T	K	D	S	S	A	A		Infergen w Beta Sig
80		L	H	E	M	I	Q	Q	T	F	N	L	F	S	T	K	D	S	S	A	A		h IFN beta 1
		W	D	E	S	L	L	E	K	F	Y	T	E	L	Y	Q	Q	L	N	D	L		Majority
78		W	D	E	S	L	L	E	K	F	Y	T	E	L	Y	Q	Q	L	N	D	L		Infergen
100		W	D	E	S	L	L	E	K	F	Y	T	E	L	Y	Q	Q	L	N	D	L		Infergen w A14 Sig
100		W	D	E	S	L	L	E	K	F	Y	T	E	L	Y	Q	Q	L	N	D	L		h IFN alpha 14
100		W	D	E	S	L	L	E	K	F	Y	T	E	L	Y	Q	Q	L	N	D	L		Infergen w Beta Sig
100		W	D	E	S	L	L	E	K	F	Y	T	E	L	Y	Q	Q	L	N	D	L		h IFN beta 1
		E	A	C	V	I	Q	E	V	G	V	E	E	T	P	L	M	N	V	D	S		Majority
98		E	A	C	V	I	Q	E	V	G	V	E	E	T	P	L	M	N	V	D	S		Infergen
120		E	A	C	V	I	Q	E	V	G	V	E	E	T	P	L	M	N	V	D	S		Infergen w A14 Sig
120		E	A	C	V	I	Q	E	V	G	V	E	E	T	P	L	M	N	V	D	S		h IFN alpha 14
120		E	A	C	V	I	Q	E	V	G	V	E	E	T	P	L	M	N	V	D	S		Infergen w Beta Sig
120		E	A	C	V	I	Q	E	V	G	V	E	E	T	P	L	M	N	V	D	S		h IFN beta 1
		K	T	V	L	E	B	K	L	E	K	E	D	F	T	R	G	K	L	M	S		Majority
		I	L	A	V	K	K	Y	F	Q	R	I	T	L	Y	L	T	E	K	K	Y		
118		I	L	A	V	K	K	Y	F	Q	R	I	T	L	Y	L	T	E	K	K	Y		Infergen
140		I	L	A	V	K	K	Y	F	Q	R	I	T	L	Y	L	T	E	K	K	Y		Infergen w A14 Sig
140		I	L	A	V	K	K	Y	F	Q	R	I	T	L	Y	L	T	E	K	K	Y		h IFN alpha 14
140		I	L	A	V	K	K	Y	F	Q	R	I	T	L	Y	L	T	E	K	K	Y		Infergen w Beta Sig
140		I	L	A	V	K	K	Y	F	Q	R	I	T	L	Y	L	T	E	K	K	Y		h IFN beta 1
		S	F	C	A	W	E	V	V	R	A	E	I	M	R	S	F	S	L	S	T		Majority
138		S	P	C	A	W	E	V	V	R	A	E	I	M	R	S	F	S	L	S	T		Infergen
160		S	P	C	A	W	E	V	V	R	A	E	I	M	R	S	F	S	L	S	T		Infergen w A14 Sig
160		S	P	C	A	W	E	V	V	R	A	E	I	M	R	S	F	S	L	S	T		h IFN alpha 14
160		S	P	C	A	W	E	V	V	R	A	E	I	M	R	S	F	S	L	S	T		Infergen w Beta Sig
160		S	P	C	A	W	E	V	V	R	A	E	I	M	R	S	F	S	L	S	T		h IFN beta 1
		N	L	Q	E	R	L	R	R	K	E												Majority
158		N	L	Q	E	R	L	R	R	K	E												Infergen
180		N	L	Q	E	R	L	R	R	K	E												Infergen w A14 Sig
180		N	L	Q	E	R	L	R	R	K	E												h IFN alpha 14
180		N	L	Q	E	R	L	R	R	K	E												Infergen w Beta Sig
180		N	L	Q	E	R	L	R	R	K	E												h IFN beta 1

도면31

인간 IFN- γ 의 아미노산 서열

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

도면32

