



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0111094  
(43) 공개일자 2019년10월01일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
G01N 33/564 (2006.01) A61P 21/00 (2006.01)  
G01N 33/68 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
G01N 33/564 (2013.01)  
A61P 21/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7025061
- (22) 출원일자(국제) 2018년01월29일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2019년08월27일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/015723
- (87) 국제공개번호 WO 2018/140869  
국제공개일자 2018년08월02일
- (30) 우선권주장  
62/451,923 2017년01월30일 미국(US)

- (71) 출원인  
세다르스-신나이 메디칼 센터  
미합중국 씨에이 90048-1865 로스엔젤레스 8700베  
버리 블레매드
- (72) 발명자  
피멘텔, 마크  
미국 90034 캘리포니아주 로스 앤젤레스 버겐 애  
비뉴 9805  
푸르스트, 다니엘  
미국 90048 캘리포니아주 로스 앤젤레스 베벌리  
블러버드 8700
- (74) 대리인  
양영준, 김영

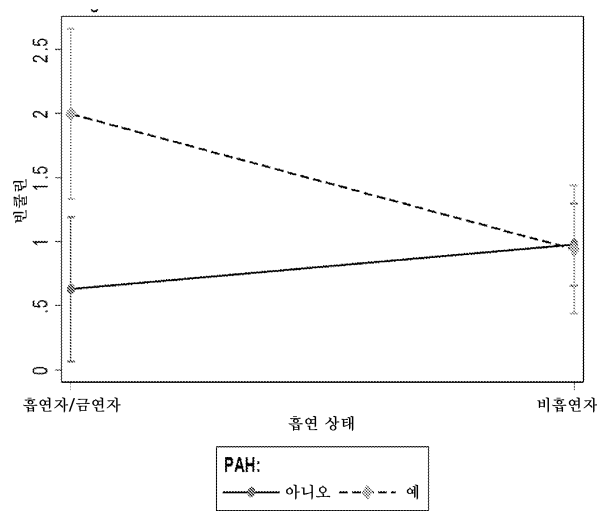
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 경피증의 진단

(57) 요약

항-빈쿨린 항체의 검출을 수반하는, 전신 경화증 (SSc)을 진단하는 방법이 본원에 기재된다. 또한 전신 경화증 (SSc)으로 진단된 대상체의 치료를 선택하는 방법, 및 전신 경화증 (SSc)을 치료하는 방법이 본원에 기재된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**G01N 33/6854** (2013.01)

G01N 2800/24 (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

전신 경화증에 관한 진단이 요구되는 대상체로부터 생물학적 샘플을 수득하는 것;  
 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하는 것; 및  
 항-빈쿨린 항체의 수준이 항-빈쿨린 항체의 참조 수준보다 더 높은 경우에 전신 경화증을 진단하는 것  
 을 포함하는, 전신 경화증을 진단하는 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 대상체가 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 나타내는 것인 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 생물학적 샘플이 전혈, 혈청 또는 혈장인 방법.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하는 것이 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA)을 사용하는 것을 포  
 함하는 것인 방법.

#### 청구항 5

제1항에 있어서, 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하는 것이 면역조직화학, 유동 세포측정법, 형광 계내 혼성화  
 (FISH), 방사선면역 검정 또는 친화도 정제를 사용하는 것을 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 항-빈쿨린 항체가 빈쿨린 또는 서열식별번호: 1 상의 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있는  
 것인 방법.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 빈쿨린 또는 그의 단편이 항-빈쿨린 항체를 검출하는 데 사용되는 것인 방법.

#### 청구항 8

제1항에 있어서, 항-빈쿨린 항체의 수준이 항-빈쿨린 항체의 참조 수준보다 더 높은 경우에 폐동맥 고혈압  
 (PAH)을 진단하는 것을 추가로 포함하는 방법.

#### 청구항 9

빈쿨린 또는 그의 단편을 사용함으로써 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상  
 체로부터 수득된 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하여 생물학적 샘플을 검정하는 것  
 을 포함하는, 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체에서 항-빈쿨린 항체의  
 수준을 측정하는 방법.

#### 청구항 10

제9항에 있어서, 빈쿨린 또는 그의 단편이 서열식별번호: 1 또는 그의 단편인 방법.

#### 청구항 11

제9항에 있어서, 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하는 것이 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA)을 사용하는 것을 포

함하는 것인 방법.

**청구항 12**

제9항에 있어서, 생물학적 샘플이 전혈, 혈청 또는 혈장인 방법.

**청구항 13**

제9항에 있어서, 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하는 것이 면역조직화학, 유동 세포측정법, 형광 계내 혼성화 (FISH), 방사선면역 검정 또는 친화도 정제를 사용하는 것을 포함하는 것인 방법.

**청구항 14**

전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체로부터 수득된 생물학적 샘플; 및 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하기 위한 검정 을 포함하는 시스템.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 검정이 빈쿨린 또는 그의 단편을 포함하는 것인 시스템.

**청구항 16**

제9항의 방법에 의해 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하는 것; 및 항-빈쿨린 항체의 수준이 참조 값보다 더 높은 경우에 전신 경화증을 치료하기 위해 전신 경화증에 대한 요법을 선택하는 것 을 포함하는, 전신 경화증에 대한 요법을 선택하는 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증을 갖는 것으로 의심되는 대상체에서의 항-빈쿨린 항체의 측정에 관한 것이다. 본 발명은 또한 전신 경화증의 진단 및 치료에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 본원에서의 모든 공개는 각각의 개별 공개 또는 특허 출원이 구체적으로 및 개별적으로 참조로 포함되는 것으로 나타내어진 경우와 동일한 정도로 참조로 포함된다. 하기의 기재는 본 발명을 이해하는 데 유용할 수 있는 정보를 포함한다. 이는 본원에 제공된 정보 중 임의의 것이 선행 기술이거나 현재 청구된 발명에 관련된 것이거나, 또는 구체적으로 또는 함축적으로 참조된 임의의 공개가 선행 기술이라는 것을 인정하는 것은 아니다.

[0003] 본 발명은 경피증에 관한 것이다. 전신 경화증 (SSc) (전신 경피증으로도 알려짐)은 일반적으로 자가면역 질환으로 분류되는 만성 결합 조직 질환이다. 전신 경화증은 피부, 식도, 위장관 (위 및 장), 폐, 신장, 심장 및 다른 내부 기관을 침범할 수 있다. 이는 또한 혈관, 근육 및 관절에 영향을 미칠 수 있다. 위장 (GI) 운동장애는 전신 경화증 (SSc)을 갖는 대부분의 환자에서 흔하게 직면하는 난관이다. 이는 그들의 삶의 질, 및 SSc의 이환율에 주요한 영향을 미칠 수 있다. 현재 제안된 병인발생 메카니즘은 SSc 환자에서의 GI 침범의 다양한 표현형 체시를 충분히 설명하지 못한다.

[0004] 따라서, 전신 경화증을 진단 및 치료하기 위한 원인 및 방법을 확인할 필요가 관련 기술분야에 남아있다.

**발명의 내용**

[0005] 하기 실시양태 및 그의 측면은 조성물 및 방법과 관련하여 기재 및 예시되며, 범주를 제한하는 것이 아니라 예시적이고 설명적인 것으로 의도된다.

[0006] 다양한 실시양태는 전신 경화증에 관한 진단이 요구되는 대상체로부터 생물학적 샘플을 수득하는 것; 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하는 것; 및 항-빈쿨린 항체의 수준이 항-빈쿨린 항체의 참조 수준보

다 더 높은 경우에 전신 경화증을 진단하는 것을 포함하는, 전신 경화증을 진단하는 방법을 제공한다.

[0007] 다양한 실시양태에서, 대상체는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 나타낼 수 있다. 다양한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 전혈, 혈청 또는 혈장일 수 있다. 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하는 것은 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA)을 사용하는 것을 포함할 수 있다. 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하는 것은 면역조직화학, 유동 세포측정법, 형광 계내 혼성화 (FISH), 방사선면역 검정 또는 친화도 정제를 사용하는 것을 포함할 수 있다. 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체는 빈쿨린 또는 서열식별번호: 1 상의 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있을 수 있다. 다양한 실시양태에서, 빈쿨린 또는 그의 단편은 항-빈쿨린 항체를 검출하는 데 사용될 수 있다. 다양한 실시양태에서, 방법은 항-빈쿨린 항체의 수준이 항-빈쿨린 항체의 참조 수준보다 더 높은 경우에 폐동맥 고혈압 (PAH)을 진단하는 것을 추가로 포함할 수 있다.

[0008] 본 발명의 다양한 실시양태는 빈쿨린 또는 그의 단편을 사용함으로써 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체로부터 수득된 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하여 생물학적 샘플을 검정하는 것을 포함하는, 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체에서 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하는 방법을 제공한다. 다양한 실시양태에서, 빈쿨린 또는 그의 단편은 서열식별번호: 1 또는 그의 단편일 수 있다. 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하는 것은 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA)을 사용하는 것을 포함할 수 있다. 다양한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 전혈, 혈청 또는 혈장일 수 있다. 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하는 것은 면역조직화학, 유동 세포측정법, 형광 계내 혼성화 (FISH), 방사선면역 검정 또는 친화도 정제를 사용하는 것을 포함할 수 있다.

[0009] 본 발명의 다양한 실시양태는 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체로부터 수득된 생물학적 샘플; 및 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하기 위한 검정을 포함하는 시스템을 제공한다. 다양한 실시양태에서, 검정은 빈쿨린 또는 그의 단편을 포함한다.

[0010] 다양한 실시양태는 본 발명의 방법에 의해 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하는 것 및 항-빈쿨린 항체의 수준이 참조 값보다 더 높은 경우에 전신 경화증을 치료하기 위해 전신 경화증에 대한 요법을 선택하는 것을 포함하는, 전신 경화증에 대한 요법을 선택하는 방법을 제공한다.

[0011] 본 발명의 다른 특색 및 이점은, 예로서 본 발명의 실시양태의 다양한 특색을 예시하는 첨부 도면과 함께 취해 진 하기 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다.

**도면의 간단한 설명**

[0012] 예시적인 실시양태는 참조된 도면에 예시되어 있다. 본원에 개시된 실시양태 및 도면은 제한적이지 아니라 예시적인 것으로 간주되어야 하는 것으로 의도된다.

도 1은 본 발명의 다양한 실시양태에 따른 폐동맥 고혈압 (PAH) 및 빈쿨린에 대한 흡연의 상호작용을 도시한다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0013] 본원에 인용된 모든 참고문헌은 충분히 제시된 바와 같이 그 전문이 참조로 포함된다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자가 통상적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다. 문헌 [Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3<sup>rd</sup> ed., Revised, J. Wiley & Sons (New York, NY 2006); March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 7<sup>th</sup> ed., J. Wiley & Sons (New York, NY 2013); 및 Sambrook and Russel, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 4<sup>th</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY 2012)]은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 본 출원에 사용된 용어 중 다수에 대한 일반적 가이드를 제공한다. 항체를 제조하는 방법에 대한 참고문헌에 대해서는, 문헌 [D. Lane, Antibodies: A Laboratory Manual 2<sup>nd</sup> ed. (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor NY, 2013); Kohler and Milstein, (1976) Eur. J. Immunol. 6: 511; Queen et al. U. S. Patent number 5,585,089; and Riechmann et al., Nature 332: 323 (1988); U.S. Pat. number 4,946,778; Bird, Science 242:423-42 (1988); Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988); Ward et al., Nature 334:544-54 (1989); Tomlinson I. and Holliger P. (2000) Methods Enzymol, 326, 461-479; Holliger P. (2005) Nat. Biotechnol. Sep;23(9):1126-36)]을 참조한다.

[0014] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 발명의 실시예에 사용될 수 있는, 본원에 기재된 것들과 유사하거나 또는 동

등한 많은 방법 및 물질을 인식할 것이다. 사실상, 본 발명은 어떠한 방식으로든 기재된 방법 및 물질로 제한되지 않는다. 본 발명의 목적을 위해, 하기 용어가 하기에 정의된다.

- [0015] 본원에 사용된 "포유동물"은 포유동물 강의 임의의 구성원을 지칭하고, 비제한적으로, 인간 및 비인간 영장류 예컨대 침팬지 및 다른 유인원 및 원숭이 종; 농장 동물 예컨대 소, 양, 돼지, 염소 및 말; 가축 포유동물 예컨대 개 및 고양이; 설치류 예컨대 마우스, 래트 및 기니 피그를 포함한 실험실 동물 등을 포함한다. 용어는 특정한 연령 또는 성별을 나타내지 않는다. 따라서, 성체 및 신생 대상체, 뿐만 아니라 태아가, 웅성이든 자성이든, 이러한 용어의 범주 내에 포함되도록 의도된다.
- [0016] 본원에 사용된 "치료" 및 "치료하는"은 치료가 결국에 성공적이지 않더라도 표적화된 병리학적 상태 또는 장애를 예방하거나 저속화 (경감)시키는 것이 목적인 치유적 치료 및 예방적 또는 방지적 조치 (예를 들어, 상태 또는 질환 상태를 가질 가능성을 감소시키기 위한 것) 둘 다를 지칭한다. 치료를 필요로 하는 대상체는 이미 상태 또는 장애를 갖는 대상체뿐만 아니라 상태 또는 장애를 갖기 쉬운 대상체 또는 상태 또는 장애가 예방되어야 하는 (예를 들어, 상태 또는 장애를 가질 가능성을 감소시킬) 대상체를 포함한다.
- [0017] 본원에 사용된 "항체" 또는 "항체들"은 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체, 항체 변이체 예컨대 단일 쇠 (재조합) Fv, 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체 및 항체의 면역학적 활성 단편을 포함한다.
- [0018] 본원에 사용된 "특이적으로 결합한다"는 항체가 그의 항원에 결합하는 작용을 지칭하고, 무작위 단백질 사이에 발생할 수 있는 저-수준, 비-특이적 결합을 제외하는 것으로 의도된다. 본원에 사용된 "특이적으로 결합한다"는 항체가 적절한 에피토프를 포함하는 임의의 단백질과 교차-반응할 수 있기 때문에 항체가 본원에 개시된 바와 같은 단백질 또는 폴리펩티드 이외의 임의의 단백질에 결합하지 않을 것임을 의도하거나 암시하지 않는다.
- [0019] 참조량과 관련하여 본원에 사용된 "유의하게 더 높은"은 참조량보다 더 높은 통계적으로 유의한 양을 지칭한다.
- [0020] 소장 박테리아 과도성장 (SIBO)은 SSc에서 흔하며, 30%-62%의 유병률로 보고된다. 또 다른 운동 장애 (과민성장 증후군 (IBS))의 발병기전에 대한 SIBO의 잠재적 기여가 조사되었고 미생물 및 그의 독소 (CdtB)의 유의한 역할이 본 발명자들에 의해 확인되었다. 항-CdtB 항체는 정상 장 운동성에 요구되는, 카할 간질 세포 (ICC) 및 장근 신경절에서의 빈쿨린과 교차-반응하는 것으로 보고되었다. 빈쿨린은 차례로 내피 세포에서 과다발현되는 것으로 밝혀졌고, SSc에서 관찰되는 손상된 혈관신생 과정에서 역할을 가질 수 있다. 어떠한 특정한 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, 본 발명자들은 SSc에서의 빈쿨린의 과다발현이 SSc에서의 GI 침범 및 혈관병증 변화 둘 다에 기여하는 항-빈쿨린 항체를 촉발하는 것이라고 여겼다.
- [0021] 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명자들은 SSc 환자에서의 항-빈쿨린 항체의 존재, 및 GI 침범이 아닌 폐동맥 고혈압과의 그의 관계를 밝혀냈다.
- [0022] 빈쿨린은 각각 인테그린 또는 카드헤린과 액틴 세포골격 사이의 연결을 형성하는, 초점 부착 및 부착 연결 둘 다의 주요 성분인, 117-kDa 세포질 액틴-결합 단백질이다.
- [0023] 본 발명의 다양한 실시양태는 적어도 부분적으로 이들 발견에 기초한다.
- [0024] 전신 경화증을 진단하는 방법
- [0025] 본 발명의 다양한 실시양태는 전신 경화증을 진단하기 위한 방법, 검정 및 시스템을 제공한다.
- [0026] 다양한 실시양태에서, 방법은 전신 경화증에 관한 진단이 요구되는 대상체로부터 생물학적 샘플을 수득하는 것, 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하는 것, 및 항-빈쿨린 항체의 수준이 참조 값보다 더 높은 경우에 전신 경화증을 진단하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-빈쿨린 항체의 수준이 항-빈쿨린 항체의 참조 수준보다 더 높은 경우에 폐동맥 고혈압 (PAH)을 진단하는 것을 추가로 포함한다. 사용될 수 있는 항-빈쿨린 항체의 참조 값은 본원에 기재된다.
- [0027] 다양한 실시양태에서, 방법은 전신 경화증에 관한 진단이 요구되는 대상체로부터 생물학적 샘플을 수득하는 것; 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 부재를 검출하는 것, 및 항-빈쿨린 항체의 존재가 검출된 경우에 전신 경화증을 진단하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-빈쿨린 항체의 존재가 검출된 경우에 폐동맥 고혈압 (PAH)을 진단하는 것을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 방법은 전신 경화증이 진단된 경우에 전신 경화증 치료를 선택하는 것을 추가로 포함한다.
- [0028] 다양한 실시양태에서, 방법은 대상체로부터의 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 부재를 검출하는 것을 포함하며, 여기서 항-빈쿨린 항체의 존재는 전신 경화증의 존재를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 방법

은 항-빈쿨린 항체의 수준이 항-빈쿨린 항체의 참조 수준보다 더 높은 경우에 폐동맥 고혈압 (PAH)을 진단하는 것을 추가로 포함한다. 다양한 실시양태에서, 대상체는 전신 경화증에 관한 진단이 요구되는 자이다.

- [0029] 다양한 실시양태에서, 전신 경화증의 진단 또는 의심이 이루어진 경우에, 이는 전신 경화증 또는 PAH를 추가로 확인하기 위해 전신 경화증 또는 PAH의 1종 이상의 증상과 추가로 상관관계가 있을 수 있다. 예를 들어, 이는 전신 경화증의 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10종의 증상, 또는 PAH의 2, 3, 4, 또는 5종의 증상; 또는 전신 경화증의 5, 10, 15, 20종 또는 그 초과와 증상과 상관관계가 있을 수 있다. 전신 경화증 및 PAH의 증상은 본원에 기재된 바와 같은 것들일 수 있다.
- [0030] 다양한 실시양태는 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체에서 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 부재를 검출하는 방법을 제공한다. 다양한 실시양태에서, 방법은 빈쿨린 또는 그의 단편을 사용함으로써 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체로부터 수득된 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 부재를 검출하여 생물학적 샘플을 검정하는 것을 포함한다.
- [0031] 다양한 실시양태는 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체에서 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하는 방법을 제공한다. 다양한 실시양태에서, 방법은 빈쿨린 또는 그의 단편을 사용함으로써 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체로부터 수득된 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하여 생물학적 샘플을 검정하는 것을 포함한다.
- [0032] 다양한 실시양태는 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체에서의 항-빈쿨린 항체의 수준이 참조 수준보다 더 높은지 결정하는 방법을 제공한다. 다양한 실시양태에서, 방법은 빈쿨린 또는 그의 단편을 사용함으로써 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체로부터 수득된 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하여 생물학적 샘플을 검정하는 것; 및 항-빈쿨린 항체의 수준이 참조 수준보다 더 높은지 결정하는 것을 포함한다.
- [0033] 본 발명 전에는, 이들 대상체에서 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 부재에 대해 검출하거나, 항-빈쿨린 항체 수준을 측정하거나, 또는 항-빈쿨린 항체가 참조 수준보다 더 높은지 결정할 이유가 없었을 것이다. 그에 따라 관련 기술분야의 통상의 기술자는 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체에 대해 본 발명을 수행하지 않았을 것이다.
- [0034] 전신 경화증을 진단하기 위한 시스템
- [0035] 다양한 실시양태에서, 시스템은 전신 경화증에 관한 진단이 요구되는 대상체로부터 단리된 생물학적 샘플, 및 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 부재 또는 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하여 전신 경화증을 진단하기 위한 검정을 포함한다.
- [0036] 본 발명 전에는, 전신 경화증을 갖거나 또는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 갖는 대상체에서 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 부재에 대해 검출하거나, 항-빈쿨린 항체 수준을 측정하거나, 또는 항-빈쿨린 항체가 참조 수준보다 더 높은지 결정할 이유가 없었을 것이다. 그에 따라 관련 기술분야의 통상의 기술자는 이러한 시스템을 찾지 않았을 것이다.
- [0037] 검정
- [0038] 다양한 실시양태에서, 다양한 검정이 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 부재를 검출하거나 또는 항-빈쿨린 항체의 수준을 결정하는 데 사용된다.
- [0039] 다양한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 검정은 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA)이며, 이는 간접적 ELISA, 샌드위치 ELISA, 경쟁적 ELISA, 다중 및 휴대용 ELISA를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0040] 다양한 실시양태에서, 검정은 생물학적 샘플이 항-빈쿨린 항체를 포함하는 경우에 생물학적 샘플과 반응하기 위한 제1 시약 (항-빈쿨린 항체가 존재하지 않는 경우에 제1 시약은 생물학적 샘플과 반응하지 않을 것이지만, 제1 시약은 검정에 여전히 존재함), 항-빈쿨린 항체와 반응하기 위한 제2 시약 (예를 들어, 이차 항체) 또는 제1 시약과 반응하기 위한 제2 시약, 및 기질을 포함한다. 다양한 실시양태에서, 제1 시약은 빈쿨린 또는 그의 단편이다. 다양한 실시양태에서, 제2 시약은 항-빈쿨린 항체의 존재를 나타내는 신호를 생성하기 위한 표지를 포함한다. 다양한 실시양태에서, 표지는 방사성표지, 발색단, 형광단, 양자점, 효소, 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP), 알칼리성 포스파타제 (AP), 비오틴 또는 그의 조합이다. 다양한 실시양태에서, 표지는 기질과 반응할 효소이다. 다양한 실시양태에서, 제1 시약은 고체 상 (예를 들어, 플레이트, 멀티-웰 플레이트) 상에 있다.

- [0041] 다양한 실시양태에서, 검정은 항-빈쿨린 항체와 반응하기 위한 제1 시약을 포함한다. 다양한 실시양태에서, 제1 시약은 항-빈쿨린 항체의 존재를 나타내는 신호를 생성하기 위한 표지를 포함한다. 다양한 실시양태에서, 표지는 방사성표지, 발색단, 형광단, 양자점, 효소, 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP), 알칼리성 포스파타제 (AP), 비오틴 또는 그의 조합이다. 다양한 실시양태에서, 시약은 고체 상 (예를 들어, 플레이트, 멀티-웰 플레이트) 상에 있다.
- [0042] 다양한 실시양태에서, 시스템은 항-빈쿨린 항체의 존재가 검출되는 경우에 전신 경화증의 존재를 결정하거나 또는 항-빈쿨린 항체의 부재가 검출되는 경우에 전신 경화증의 부재를 결정하기 위한 기계를 추가로 포함한다. 다양한 실시양태에서, 기계는 컴퓨터이다. 다양한 실시양태에서, 컴퓨터는 환자가 전신 경화증을 갖는지 디스플레이하기 위한 디스플레이 소자를 포함한다.
- [0043] 다양한 실시양태에서, 검정은 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하기 위해 빈쿨린 또는 그의 단편을 사용하는 것을 포함한다. 예를 들어, 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 수준을 결정하는 것은 본원에 논의된 바와 같은 빈쿨린 또는 그의 단편을 전신 경화증에 관한 결정이 요구되는 대상체로부터의 생물학적 샘플에 접촉시키는 것 (여기서 항-빈쿨린 항체 (생물학적 샘플에 존재하는 경우)는 빈쿨린 또는 그의 단편에 특이적으로 결합함); 생물학적 샘플에서의 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하는 것; 및 항-빈쿨린 항체의 수준이 참조 값보다 더 높은 경우에 대상체가 전신 경화증을 갖는다는 것을 확인하는 것을 포함한다. 빈쿨린 및 빈쿨린의 단편은 본원에 추가로 기재된다.
- [0044] 다양한 실시양태에서, 항체의 존재 또는 부재를 검출하는 것은 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플에 대해 수행된다. 또 다른 실시양태에서, 항체의 존재 또는 부재를 검출하는 것은 대상체로부터 획득된 혈액, 혈청 또는 대변 샘플에 대해 수행된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하는 항체의 존재 또는 부재를 검출하는 데 사용될 수 있는 방법 및 시스템을 용이하게 인지할 것이다. 이러한 방법 및 시스템은 ELISA, 면역조직화학, 유동 세포측정법, 형광 계내 혼성화 (FISH), 방사성면역검정 및 친화도 정제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0045] 다양한 실시양태에서, 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편 (상기 기재된 바와 같음)은 항-빈쿨린 항체 (존재하는 경우에) 결합하기 위한 기질, 항원, 또는 시약 (예를 들어, 콜렉터, 트랩)으로서 사용된다.
- [0046] 특정 실시양태에서, 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하는 항체의 존재 또는 부재를 검출하는 것은 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편을 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플에 접촉시켜 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하는 항체를 단리시킴으로써 수행될 수 있으며, 여기서 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하는 항체의 단리는 항체의 존재를 나타내고, 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하는 항체의 단리의 결여는 항체의 결여를 나타낸다. 다양한 실시양태에서, 빈쿨린 또는 서열식별번호: 1의 단편은 본원에 기재된 바와 같은 단편일 수 있다. 예를 들어, 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편을 포함하는 친화성 매트릭스는 고체 지지체에 결합될 수 있고; 생물학적 샘플은 친화성 매트릭스에 접촉되어 친화성 매트릭스-항체 복합체 (항체가 존재하는 경우)를 생산할 수 있고; 친화성 매트릭스-항체 복합체는 생물학적 샘플의 나머지에서 분리될 수 있고; 항체는 친화성 매트릭스로부터 방출될 수 있다. 또 다른 예에서, 표지 (예를 들어, 형광 표지)는 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편 상에 배치될 수 있고; 표지된 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편은 항체 (존재하는 경우)가 표지된 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하도록 생물학적 샘플과 접촉될 수 있다. 다양한 실시양태에서, 표지된 빈쿨린, 서열식별번호: 1 또는 그의 단편은 분리될 수 있고 항체에 대한 그의 결합에 대해 분석될 수 있다.
- [0047] 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 수준을 결정하는 경우에, 본원에 기재된 바와 같은 빈쿨린 단백질 또는 그의 단편은 약 1.2  $\mu\text{g/ml}$  농도로 항원으로서 사용된다. 다른 실시양태에서, 농도는 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9 또는 2.0  $\mu\text{g/ml}$  농도일 수 있다. 다양한 실시양태에서, 생물학적 샘플 (예를 들어, 혈장)의 약 1:32 희석물은 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 수준의 결정에 사용된다. 다른 실시양태에서, 생물학적 샘플 (예를 들어, 혈장)의 약 1:8, 1:10, 1:12; 1:16, 1:20, 1:24, 1:30, 1:36, 1:48, 또는 1:64 희석물은 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 수준의 결정에 사용된다. 다른 실시양태에서, 생물학적 샘플 (예를 들어, 혈장)의 약 1:8 내지 1:64 희석물은 항-빈쿨린 항체의 존재 또는 수준의 결정에 사용된다.
- [0048] 항원을 pH 8.2의 보레이트 완충 염수 (BBS) 중에서 고결합 플레이트 (예를 들어, 96-웰 플레이트) 상에서 약 4  $^{\circ}\text{C}$ 에서 약 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20시간 동안 (예를 들어, 밤새, >16시간) 고정

화시킨다. 혈장의 비-특이적 결합의 결정이 가능하도록 웰을 BBS 중에서 번갈아 항원으로 코팅하거나 또는 비코팅된 채로 둔다. 웰을 약 실온에서 약 1시간 동안 1xPBS 중 약 3% 소 혈청 알부민으로 차단한다. 이어서, 코팅 및 비코팅된 웰을 실온에서 약 1시간 동안 CdtB에 대한 혈장의 1:512 희석물 및 빈쿨린에 대한 혈장의 1:32 희석물과 함께 인큐베이션한다. CdtB 및 빈쿨린에 대한 항체가 양성 대조군으로서 사용된다. 이어서 HRP 접합된 2차 항체와 함께 약 1시간 인큐베이션한다. 각각의 단계에 0.05% PBS-트윈(Tween) 20을 사용한 일련의 세척이 이어진다. 최종적으로, 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 (TMB) 기질 용액이 가시화에 사용되고 이를 플레이트 판독기 (예를 들어, 바이오텍 시너지(BioTek Synergy) HT; 버몬트주 위누스키) 상에서 즉시 판독한다. 광학 밀도 (OD)를 370nm에서 약 90분 동안 판독하고 항-빈쿨린의 수준을 비교하는 데 사용한다. 미가공 OD 값을 데이터 분석에 사용하였다.

- [0049] 치료의 선택
- [0050] 다양한 실시양태는 전신 경화증에 대한 요법을 필요로 하는 대상체에 대해 전신 경화증에 대한 요법을 선택하는 방법을 제공한다.
- [0051] 다양한 실시양태에서, 방법은 전신 경화증에 관한 진단이 요구되는 대상체에서 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하는 것; 및 항-빈쿨린 항체의 수준이 참조 값보다 더 높은 경우에 전신 경화증을 치료하기 위한 요법을 선택하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 폐동맥 고혈압 (PAH)에 대해 항-빈쿨린 항체의 수준이 항-빈쿨린 항체의 참조 수준보다 더 높은 경우에 PAH를 진단하는 것을 추가로 포함한다. 사용될 수 있는 항-빈쿨린 항체의 참조 값은 본원에 기재된다.
- [0052] 다양한 실시양태에서, 방법은 전신 경화증에 관한 진단이 요구되는 대상체에서 항-빈쿨린 항체의 존재를 검출하는 것; 및 전신 경화증을 치료하기 위한 요법을 선택하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 폐동맥 고혈압 (PAH)에 대해 항-빈쿨린 항체의 수준이 항-빈쿨린 항체의 참조 수준보다 더 높은 경우에 PAH를 진단하는 것을 추가로 포함한다. 사용될 수 있는 항-빈쿨린 항체의 참조 값은 본원에 기재된다.
- [0053] 본원에 사용된 바와 같은 요법을 선택하는 것은 치료에 관하여 대상체를 선택하거나, 고르거나, 처방하거나, 충고하거나, 권고하거나, 지시하거나 또는 조언하는 것을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0054] 다양한 실시양태에서, 방법은 전신 경화증을 치료하기 위한 요법을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 다양한 실시양태에서, 요법은 본원에 기재된 바와 같은 요법이다. 다양한 실시양태에서, 요법은 선행 기술에서 이용가능한 요법이다.
- [0055] 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체의 존재를 검출하는 것은 본 발명의 방법 또는 시스템에 의해 기재된 바와 같이 수행될 수 있다.
- [0056] 다양한 실시양태에서, 대상체는 예를 들어 본원에 논의된 바와 같은 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 나타내는 대상체일 수 있다.
- [0057] 치료 방법
- [0058] 다양한 실시양태는 전신 경화증의 치료를 필요로 하는 대상체에서 전신 경화증을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0059] 다양한 실시양태에서, 방법은 참조 값보다 더 높은 항-빈쿨린 항체의 수준을 갖는 것으로 결정된 대상체에게 전신 경화증 치료를 투여하는 것을 포함한다.
- [0060] 다양한 실시양태에서, 방법은 전신 경화증에 관한 진단이 요구되는 대상체에서 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하는 것; 및 항-빈쿨린 항체의 수준이 참조 값보다 더 높은 경우에 전신 경화증을 치료하기 위한 전신 경화증 요법을 투여하는 것을 포함한다. 사용될 수 있는 항-빈쿨린 항체의 참조 값은 본원에 기재된다.
- [0061] 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체의 수준을 검출하는 것은 본 발명의 방법 또는 시스템에 의해 기재된 바와 같이 수행될 수 있다.
- [0062] 다양한 실시양태에서, 대상체는 예를 들어 본원에 논의된 바와 같은 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 나타내는 대상체일 수 있다.
- [0063] 전신 경화증의 증상
- [0064] 본 발명에 기재된 대상체는 전신 경화증의 1종 이상의 증상을 나타내거나 또는 그를 가질 수 있다. 예를 들어, 대상체는 전신 경화증의 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10종의 증상; 또는 전신 경화증의 5, 10, 15, 20종 또는

그 초과 증상 가질 수 있다.

- [0065] 전신 경화증의 증상은 체질 (예를 들어, 피로), 근골격 (예를 들어, 관절염, 약화, 근육 통증), 폐 (예를 들어, 호흡곤란, 기침, 폐고혈압, 색전), 심혈관 (예를 들어, 심부전, 부정맥), GI (예를 들어, 가슴쓰림, 연하곤란, 흡수불량), 신장 (예를 들어, 신부전, 고혈압), 비노생식기 (예를 들어, 저출생체중아의 임신), 신경계 (예를 들어, 신경병증, 자율신경성 기능장애), 피부 (예를 들어, 타이트한 피부 및 궤양), 심리 (예를 들어, 우울증), 및 혈관 (예를 들어, 레이노 궤양)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0066] 전신 경화증의 추가의 증상은 예를 들어, 손가락 말단에서의 피부의 종창에 이은 비후 및 타이트닝을 포함할 수 있다. 손가락이 추위 또는 정서적 전복에 반응하여 갑자기 및 일시적으로 매우 창백해지고 따끔거리거나 또는 무감각해지거나, 고통스러워지거나, 또는 둘 다인 레이노 현상 (레이노 증후군 참조)이 또한 흔하다. 손가락은 청색빛 또는 백색이 될 수 있다. 가슴쓰림, 삼킴 곤란, 및 숨가쁨은 때때로 전신 경화증의 최초 증상이다. 여러 관절에서의 동통 또는 통증은 종종 초기 증상을 동반한다. 때때로 근육의 염증 (다발근염)은 그에 동반된 근육 통증 및 약화와 함께 발생한다.
- [0067] 다른 증상은 피부, 관절, 위장계, 폐, 심장 및 신장에서의 변화를 포함한다.
- [0068] 피부는 평소보다 더 광범위하게 팽팽하고, 윤이 나고, 어두워질 수 있다. 때때로 팽창된 혈관 (모세혈관확장증, 종종 거미 정맥으로 지칭됨)이 손가락, 흉부, 얼굴, 입술 및 혀에 나타날 수 있고, 칼슘으로 구성된 혹이 손가락, 다른 골 영역, 또는 관절에서 발생할 수 있다. 손가락끝 및 손가락마디에서 상처가 발생할 수 있다.
- [0069] 관절에서, 때때로, 염증발생 조직이 특히 무릎에서 및 그 아래에서 및 팔꿈치 및 손목에서 서로 스쳐움직임에 따라 삐걱거리는 소리가 느껴지거나 들릴 수 있다. 손가락, 손목 및 팔꿈치는 피부의 반흔형성 때문에 굵은 위치로 굳어질 수 있다.
- [0070] GI계에서, 반흔형성은 식도의 하단부를 손상시킬 수 있고, 삼킴 곤란 및 가슴쓰림이 발생할 수 있다. 식도에서 비정상적 세포 성장이 발생할 수 있고, 섬유성 띠로 인한 식도 차단 위험 또는 식도암의 위험을 증가시킬 수 있다. 장에 대한 손상은 음식물 흡수를 방해하고 체중 감소를 유발할 수 있다.
- [0071] 전신 경화증은 반흔 조직이 폐에서 축적되게 하여 운동 동안 비정상적 숨가쁨을 발생시킬 수 있다. 폐에 공급하는 혈관이 영향을 받을 수 있으며 (그의 벽이 비후됨), 따라서 이들은 많은 혈액을 운반하지 못한다. 따라서, 폐에 공급하는 동맥 내의 혈압은 증가할 수 있다 (PAH). 전신 경화증은 또한 심부전 및 비정상적 박동을 포함한 여러 생명을 위협하는 심장 이상을 유발할 수 있다.
- [0072] 전신 경화증으로부터 종종 신장 질환이 발생할 수 있다. 신장 손상의 최초 증상은 혈압의 갑작스런, 점진적 상승일 수 있다.
- [0073] PAH의 증상
- [0074] PAH의 증상은 숨가쁨, 흉통, 피로, 기절, 및 발목 및 하지의 종창을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0075] 항-빈쿨린 항체
- [0076] 다양한 실시양태에서, 이들 방법 또는 시스템에서 검출된 항-빈쿨린 항체는 빈쿨린 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하는 항체이다.
- [0077] 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체는 빈쿨린의 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 인접 잔기와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 상동성을 갖는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 잔기 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체이다.
- [0078] 또 다른 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체는 빈쿨린의 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 인접 잔기와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 상동성을 갖는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 잔기를 포함하는 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다.
- [0079] 또 다른 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체는 빈쿨린의 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 인접 잔기를 포함하거나 이들로 이루어진 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다.

- [0080] 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체는 서열식별번호: 1을 갖는 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체이다.
- [0081] 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체는 서열식별번호: 1의 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 인접 잔기와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 상동성을 갖는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 잔기 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체이다.
- [0082] 또 다른 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체는 서열식별번호: 1의 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 인접 잔기와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 상동성을 갖는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 잔기를 포함하는 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다.
- [0083] 또 다른 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체는 서열식별번호: 1의 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 인접 잔기를 포함하거나 이들로 이루어진 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다.
- [0084] 빈쿨린 또는 서열식별번호: 1의 인접 잔기는 빈쿨린 또는 서열식별번호: 1의 임의의 아미노산에서 시작하여 그의 임의의 아미노산에서 종료되는 것들을 포함한다.
- [0085] 상기 기재된 바와 같은 이들 폴리펩티드는 또한 항-빈쿨린 항체의 존재 및 수준을 결정하기 위한 검정에서 빈쿨린의 단편으로서 사용될 수 있다.
- [0086] 빈쿨린의 단백질 서열 (서열식별번호: 1):

```

MPVFHTRTIESILEPVAQQISHLVIMHEEGEVDGKAIPDLTAPVAAVQAAVSNLVRVG
KETVQTTEDQILKRDMPPAFIKVENACTKLVQAAQMLQSDPYSVPARDYLIDGSRGI
LSGTSDLLLTFDEAEVRKIIRVCKGILEYLTVAEUVETMEDLVITYTKNLGPGMTKMA
KMIDERQQELTHQEHRVMLVNSMNTVKELLPVLISAMKIFVTTKNSKNQGIEEALKN
RNFTVEKMSAEINEIIRVLQLTSWDEDAWASKDTEAMKRALASIDSKLNQAKGWL
RDPSPASPGDAGEQAIRQILDEAGKVGELCAGKERREILGTCKMLGQMTDQVADLRAR
GGGSSPVAMQKAQQVSQGLDVLTAKVENAARKLEAMTNSKQSIKKIDAAQNWLA
DPNGGPEGEEQIRGALAEARKIAELCDDPKERDDILRSLGEISALTSKLADLRRQGKG
DSPEARALAKQVATALQNLQTKTNRAVANSRPAKAAVHLEGKIEQAQRWIDNPTV
DDRGVGQAAIRGLVAEGHRLANVMMGPYRQDLLAKCDRVDQLTAQLADLAARGE
GESPQARALASQLQDSLKDLKARMQEAMTQEVSDVFSDTTTPIKLLAVAATAPPDA
PNREEVFDERAANFENHSGKLGATAEKAAAVGTANKSTVEGIQASVKTARELTPQV
VSAARILLRNPQNQAAYEHFETMKNQWIDNVEKMTGLVDEAIDTKSLLDASEEAIK
KDLDKCKVAMANIQQMLVAGATSIARRANRILLVAKREVENSEDPKFREAVKAAS
DELSKTISPMVMDAKAVAGNISDPGLQKSFLDSGYRILGAVAKVREAFQPQEPDFPPP
PPDLEQLRLTDELAPPKPLPEGEVPPRPPPEEKDEEFPEQKAGEVINQPMMAAR
QLHDEARKWSSKGNIIAAAKRMALLMAEMSRLVRGGSGTKRALIQCAKDIKASD
EVTRLAKEVAKQCTDKRIRTNLLQVCERIPTISTQLKILSTVKATMLGRTNISDEESEQ
ATEMLVHNAQNLMSVKETVREAEAAASIKIRTDAGFTLRWVRKTPWYQ
    
```

- [0087]
- [0088] 생물학적 샘플
- [0089] 생물학적 샘플의 예는 체액, 전혈, 혈청, 혈장, 폐 분비물, 장액 또는 흡인물, 위액 또는 흡인물, 뇌 척수액 (CSF), 소변, 땀, 타액, 눈물, 유방 흡인물, 전립선액, 정액, 자궁경부 찰과표본, 양수, 안내액, 점액, 및 대변을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 특정한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 전혈, 혈장, 혈청 또는 폐 분비물이다. 다양한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 전혈이다. 다양한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 혈청이다. 다양한 실시양태에서, 생물학적 샘플은 혈장이다.

- [0090] 참조 값
- [0091] 일부 실시양태에서, 참조 값은 건강한 대상체로부터의 생물학적 샘플로부터 확립될 수 있다.
- [0092] 예를 들어, 생물학적 샘플이 혈청인 경우에, 참조 값은 건강한 대상체 (예를 들어, 전신 경화증 및/또는 과민성 장 증후군을 갖지 않는 대상체)의 혈청 샘플로부터 수득될 수 있다. 다른 실시양태에서, 참조 값은 건강한 대상체 집단으로부터의 동일한 유형의 생물학적 샘플에 대한 평균 항-빈쿨린 항체 수준이다. 다른 실시양태에서, 참조 값은 건강한 대상체 집단으로부터의 동일한 유형의 생물학적 샘플에 대한 평균 항-빈쿨린 항체 수준의 평균 플러스 1 또는 2의 표준 편차이다. 일부 실시양태에서, 건강한 대상체 집단은 적어도 3명의 건강한 개체 내지 25명의 건강한 개체, 및 심지어 50명 초과인 건강한 개체 (예를 들어, 50-75, 75-100, 100-200, 200-300, 300-400, 400-500명)의 범위일 수 있다.
- [0093] 일부 실시양태에서, 광학 밀도는 항체 수준의 척도로서 사용된다.
- [0094] 특정 실시양태에서, 광학 밀도 (OD)는 항-빈쿨린 항체의 수준을 측정하는 데 사용된다. 특정 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체의 OD ( $OD_v$ )가 1.62, 1.86 또는 2.23보다 더 큰 경우에 대상체는 전신 경화증을 갖는 것으로 결정된다. 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체의 OD ( $OD_v$ )가 1.00, 1.25, 1.50, 1.75, 2.00, 2.25, 2.50 2.75보다 더 큰 경우에 대상체는 전신 경화증을 갖는 것으로 결정된다. 특정 실시양태에서, 이들 OD 수는 1:32의 생물학적 샘플의 희석물 및 1.2ug/ml의 항원 농도에 기초한다.
- [0095] 다른 실시양태에서,  $OD_v$  컷오프 포인트는 생물학적 샘플 및 항원의 상이한 희석물에 기초하여 결정될 수 있고, 본 발명의 실시양태 내에 포함된다.
- [0096] 치료
- [0097] 추가 실시양태에서, 상기 결정은 대상체에 대한 치료를 선택하는 데 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 전신 경화증이 존재할 가능성이 있는 대상체는 전신 경화증에 대한 1종 이상의 요법으로 치료될 수 있다. 관련 기술 분야의 통상의 기술자는 전신 경화증의 진단에 기초하여 전신 경화증에 대해 이용가능한 치료를 선택할 수 있을 것이다.
- [0098] 다양한 실시양태에서, 이용가능한 요법은 전신 경화증을 치료하기 위한 항생제 요법 과정을 투여하는 것을 포함한다. 항생제의 예는 아미노글리코시드 (예를 들어, 아미카신, 겐타미신, 카나마이신, 네오마이신, 네틸미신, 스트렙토마이신, 토브라마이신, 파로모마이신), 안사마이신 (예를 들어, 겐다나마이신, 헤르비마이신), 카르바세뎀 (예를 들어, 로라카르베프), 카르바페넴 (예를 들어, 에르타페넴, 도리페넴, 이미페넴, 실라스타틴, 메로페넴), 세팔로스포린 (예를 들어, 제1 세대: 세파드록실, 세파졸린, 세팔로틴(cefalotin) 또는 세팔로틴(cefalothin), 세팔렉신; 제2 세대: 세파클로르, 세파만돌, 세폭시틴, 세프프로질, 세푸록심; 제3 세대: 세픽심, 세프디나르, 세프디트렌, 세포페라존, 세포타심, 세프포독심, 세프타지딤, 세프티부텐, 세프티족심, 세프트리악손; 제4 세대: 세페픽; 제5 세대: 세프트비프롤), 당쇄티드 (예를 들어, 테이코플라닌, 반코마이신), 마크롤리드 (예를 들어, 아지트로마이신, 클라리트로마이신, 디리트로마이신, 에리트로마이신, 록시트로마이신, 트롤레안도마이신, 텔리트로마이신, 스펙티노마이신), 모노박탐 (예를 들어, 아즈트레오남), 페니실린 (예를 들어, 아목시실린, 암피실린, 아즐로실린, 카르베니실린, 클록사실린, 디클록사실린, 플루클록사실린, 메즐로실린, 메티실린, 나프실린, 옥사실린, 페니실린, 피페라실린, 티카르실린), 항생제 폴리펩티드 (예를 들어, 바시트라신, 콜리스틴, 폴리믹신 b), 퀴놀론 (예를 들어, 시프로플록사신, 에녹사신, 가티플록사신, 레보플록사신, 로메플록사신, 목시플록사신, 노르플록사신, 오픈플록사신, 트로바플록사신), 리파마이신 (예를 들어, 리팜피신 또는 리팜핀, 리파부틴, 리파퀼린, 리팍시민), 술폰아미드 (예를 들어, 마페니드, 프론토실, 술폰아세트아미드, 술폰메티졸, 술폰닐아미드, 술폰살라진, 술폰이속사졸, 트리메토프림, 트리메토프림-술폰메톡사졸 (코-트리목사졸, "tmp-smx"), 및 테트라시클린 (예를 들어, 데메클로시클린, 독시시클린, 미노시클린, 옥시테트라시클린, 테트라시클린), 뿐만 아니라 아르스페나민, 클로람페니콜, 클린다마이신, 린코마이신, 에탐부톨, 포스포마이신, 푸시드산, 푸라졸리돈, 이소니아지드, 리네졸리드, 메트로니다졸, 뮤피로신, 니트로푸란토인, 플라텐시마이신, 피라진아미드, 퀴누프리스틴/달포프리스틴 조합, 및 티니다졸, 또는 그의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 다양한 실시양태에서, 항생제는 리팍시민 및 네오마이신의 조합이다. 다양한 실시양태에서, 항생제는 리팍시민 및 독시시클린의 조합이다. 다양한 실시양태에서, 항생제는 리팍시민 및 메트로니다졸의 조합이다.
- [0099] 다양한 실시양태에서, 항생제는 비-흡수성 항생제이다. 비-흡수성 항생제의 예는 리팍시민, 네오마이신, 바시

트라신, 반코마이신, 테이코플라닌, 라모플라닌 및 파로모마이신을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

- [0100] 다양한 실시양태에서, 요법은 선행 기술에서 이용가능한 요법이다.
- [0101] 요법의 예는 증상 완화를 겨냥한 치료, 예컨대 (비제한적으로) NSAID, 제산제 (양성자 펌프 억제제 및 H2 차단제 포함), 혈관활성 약물 (예를 들어, 니페디핀, 실데나필), 면역억제제 (예를 들어, 메토트렉세이트, 타크롤리무스, 미코페놀레이트, 시클로포스파미드, 생물제제 예컨대 리툭시맙, 토실리주맙) 및 줄기 세포 이식을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0102] 다양한 실시양태에서, 방법은 항-빈쿨린 항체 중화제 또는 억제제를 제공하는 것 및 항-빈쿨린 항체를 중화시키거나 억제하기 위해 그를 필요로 하는 대상체에게 항-빈쿨린 항체 중화제 또는 억제제를 투여하는 것을 포함할 수 있다.
- [0103] 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체 중화제 또는 억제제는 항-빈쿨린 항체에 결합하여 그의 기능을 중화시키거나 억제할 수 있는 폴리펩티드이다.
- [0104] 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체 중화제 또는 억제제는 항-빈쿨린 항체의 항원 결합 부위에 결합할 수 있는 폴리펩티드이다. 어떠한 특정한 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, 본 발명자들은 이러한 폴리펩티드가 항-빈쿨린 항체에 대한 디코이로서의 역할을 할 수 있다고 여긴다. 다양한 실시양태에서, 폴리펩티드는 충분히 제시된 바와 같이 그 전문이 본원에 참조로 포함된 문헌 [Lucchese and Delfino (Developing an anti-Campylobacter jejuni vaccine. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2012; Early Online: 1-6)]에 개시된 바와 같은 CDT 펜타펩티드이다.
- [0105] 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체 중화제 또는 억제제는 항-빈쿨린 항체에 결합하고 그의 기능을 중화시키거나 억제할 수 있는 소분자이다.
- [0106] 다양한 실시양태에서, 항-빈쿨린 항체 중화제 또는 억제제는 항-빈쿨린 항체의 항원 결합 부위에 결합할 수 있는 소분자이다.
- [0107] 다양한 실시양태에서, 방법은 빈쿨린을 불활성 상태에서 활성 상태로 변경시키기 위한 작용제를 제공하는 것; 및 전신 경화증을 치료하기 위해 그를 필요로 하는 대상체에 작용제를 투여하는 것을 포함할 수 있다.
- [0108] 다양한 실시양태에서, 빈쿨린을 불활성 상태에서 활성 상태로 변경시키기 위한 작용제는 빈쿨린을 활성화시킬 수 있는 소분자이다.
- [0109] 다양한 실시양태에서, 방법은 빈쿨린 효능제를 제공하는 것; 및 전신 경화증을 치료하기 위해 그를 필요로 하는 대상체에게 빈쿨린 효능제를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 빈쿨린 효능제는 충분히 제시된 바와 같이 그 전문이 본원에 참조로 포함된 문헌 [Nelson et al., Vinculin Activators Target Integrins from Within the Cell to Increase Melanoma Sensitivity to Chemotherapy, Mol Cancer Res June 2011 9; 712 (published online April 1, 2011)]에 개시된 바와 같은 빈쿨린 활성화 펩티드 (VAP)일 수 있다. 다양한 실시양태에서, VAP는 시겔라(Shigella)의 인바신 단백질 IpaA의 잔기 500-633일 수 있다.

[0110] 시젤라의 IpaA의 단백질 서열:

```

                MHNVNNTQAP   TFLYKATSPS   STEYSELKSK   ISDIHSSQTS
LKTPASVSEK   ENFATSFNQK   CLDFLFSSSG   KEDVLRISIYS  NSMNAYAKSE
ILEFSNVLYS   LVHQNGLNFE   NEKGLQKIVA   QYSELIKDK    LSQDSAFGPW
SAKNKKLHQL   RQNIHRLAL    LAQQHTSGEA   LSLGQKLLNT   EVSSFIKNNI
LAELKLSNET   VSSLKLDDLTV  DAQAKLAFDS   LRNQRKNTID   SKGFGIGKLS
RDLNTVAVFP   ELLRKVLNDI   LEDIKDSHPI   QDGLPTPPED   MPDGGPTPGA
NEKTSQPVIIH  YHINNDNRTY   DNRVFDNRVY   DNSYHENPEN   DAQSPTSQTN
DLLSRNGNSL   LNPQRALVQK   VTSVLPHSIS   DTVQTFANNS   ALEKVFNHPT
DNSDGIGSDL   LTSSQERSA    NNSLSRGHRP   LNIQNSSTTP   PLHPEGVTSS
NDNSSDTTKS   SASLSHRVAS   QINKFNSNTD   SKVLQTDFLS   RNGDTYLTRE
TIFEASKKVT   NSLSNLISLI   GTKSGTQERE   LQEKSKDITK   STTEHRINNK
LKVTDANIRN   YVTETNADTI   DKNHAIYEKA   KEVSSALSKV   LSKIDDTSAE
LLTDDISDLK  NNDITAENN   NIYKAAKDVT   TSLSKVLKNI  NKD (SEQ ID NO:2)
    
```

[0111]

[0112] 다양한 실시양태에서, 방법은 빈쿨린 활성화제를 제공하는 것; 및 전신 경화증을 치료하기 위해 그를 필요로 하는 대상체에게 빈쿨린 활성화제를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 빈쿨린 활성화제는 탈린, f-액틴, a-카테닌 또는 그의 조합일 수 있다.

[0113]

실시에

[0114]

청구된 발명을 더 잘 예시하기 위해 하기 실시예가 제공되고, 이는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 특정 물질이 언급되는 경우에, 이는 단지 예시의 목적을 위한 것이고 본 발명을 제한하고자 의도되는 것은 아니다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 독창적인 능력을 행사하지 않고 본 발명의 범주로부터 벗어나지 않으면서 등가의 수단 또는 반응물을 개발할 수 있다.

[0115]

실시예 1

[0116]

ACR/EULAR 2013 기준을 충족시키는 72명의 SSc 환자로부터의 혈청 샘플을 동원하였다. 항-CdtB 및 항-빈쿨린 항체의 혈청 수준을 ELISA에 의해 결정하였다. 임상 평가, 절차, 설문지 및 실험 결과를 임상 상관관계에 대해 의료 차트로부터 수득하였다.

[0117]

분석에 이용가능한 총 72명의 SSc 환자로부터, 32명의 환자는 미만성 SSc 하위유형을 갖고 (48.4%), 평균 연령은 56.4세였고, 18명의 환자 (25%)는 락톨로스 호흡 시험에 대해 양성하였고, 평균 GIT 2.0은 (0.373)이다. ILD는 40명에 존재하고 (55%), PAH는 23명에 존재한다 (31%) (표 1).

[0118] 표 1. 인구통계

변수	(N) 평균 ± SD 또는 Freq
연령	(72) 56.4 ± 13.8
체질량 지수 (BMI)	(71) 24.3 ± 4.3
당뇨병	(3) 4.17%
고혈압	(23) 31.94%
하위유형 미만성	(32) 48.48%
폐동맥 고혈압 (PAH)	(23) 31.94%
간질성 폐 질환 (ILD)	(40) 55.56%
퀘양	(17) 25.76%
양성 호흡 테스트	(18) 66.67%
위장관 (GIT)	(46) 0.373 ± 0.312
피부 점수	(62) 6.40 ± 6.75
건강 평가 설문지 (HAQ)	(47) 0.997 ± 1.471
강제 폐활량 (FVC)	(65) 79.8 ± 26.1
낮은 일산화탄소 확산능 헤모글로빈 (DLCO Hgb)	(58) 57.0 ± 26.9
전혈구 계수 헤모글로빈 (CBC Hgb)	(59) 12.3 ± 1.8
크레아티닌	(57) 0.936 ± 0.660

[0119]

[0120]

IBS에 사용되는 컷-오프 포인트를 사용시, 72명의 환자 중 29명 (40%)이 빈쿨린에 대해 양성이었다. 오직 1명의 환자만이 항-CdtB에 대해 양성이었다. 항-빈쿨린에 대한 선형 회귀 분석은 SSc 환자에서의 보다 높은 항-빈쿨린의 유의한 예측인자로서 BMI (p 값 < 0.005) 및 PAH (p 값 < 0.052)를 확인하였다. 대조적으로, GI 척도 예컨대 GIT 2.0 (p 값 < 0.920) 및 락툴로스 호흡 시험 (p 값 < 0.157)은 유의성을 나타내지 않았다. 보다 높은 빈쿨린 수준을 갖는 PAH의 예측인자에 대한 추가의 회귀 분석은 유의한 (p 값 < 0.01) 예측인자로서 흡연 (흡연자 또는 금연자)을 밝혀냈다 (도 1).

[0121]

본 발명의 다양한 실시양태는 상기 상세한 설명에 기재된다. 이들 기재는 상기 실시양태를 직접적으로 기재하지만, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원에 제시되고 기재된 구체적 실시양태에 대한 변형 및/또는 변경을 생각해낼 수 있을 것으로 이해된다. 이러한 기재의 범위 내에 있는 임의의 이러한 변형 또는 변경도 마찬가지로 그 안에 포함되는 것으로 의도된다. 구체적으로 언급되지 않는 한, 본 발명자들은 명세서 및 청구범위 내의 단어 및 어구가 적용가능한 기술분야(들)의 통상의 기술자들에게 통상적이고 익숙한 의미를 제공하는 것으로 의도한다.

[0122]

본원의 출원시 본 출원인에게 공지된 본 발명의 다양한 실시양태를 상기 기재하였고 이는 예시 및 설명의 목적을 위해 의도된다. 본 발명의 기재는 총망라한 것이 아니며 또한 개시된 정확한 형태로 본 발명을 제한하고자 하는 것이 아니고, 많은 변형 및 변경이 상기 교시의 관점에서 가능하다. 기재된 실시양태는 본 발명의 원리 및 그의 실질적인 적용을 설명하고 관련 기술분야의 다른 통상의 기술자가 고려되는 특정한 용도에 적합한 다양한 변형으로 및 다양한 실시양태에서 본 발명을 이용하는 것을 가능하게 한다. 따라서, 본 발명은 본 발명을 수행하기 위해 개시된 특정한 실시양태로 제한되지 않는 것으로 의도된다.

[0123]

본 발명의 특정한 실시양태를 제시하고 기재하였지만, 본원의 교시에 기초하여 변화 및 변형이 본 발명 및 그의 더 넓은 측면에서 벗어나지 않고 이루어질 수 있고, 따라서 첨부된 청구범위가 본 발명의 진정한 취지 및 범주 내에 있는 것으로서 모든 이러한 변화 및 변형이 그의 범주 내에 포괄된다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 일반적으로, 본원에 사용된 용어가 일반적으로 "개방형" 용어 (예를 들어, 용어 "포함하는"은 "포함하나 이에 제한되지는 않는다"으로 해석되어야 하고, 용어 "갖는"은 "적어도 갖는"으로 해석되어야 하고, 용어 "포함하다"는 "포함하나 이에 제한되지는 않는다"로 해석되어야 하는 등)로서 의도됨을 이해할 것이다.

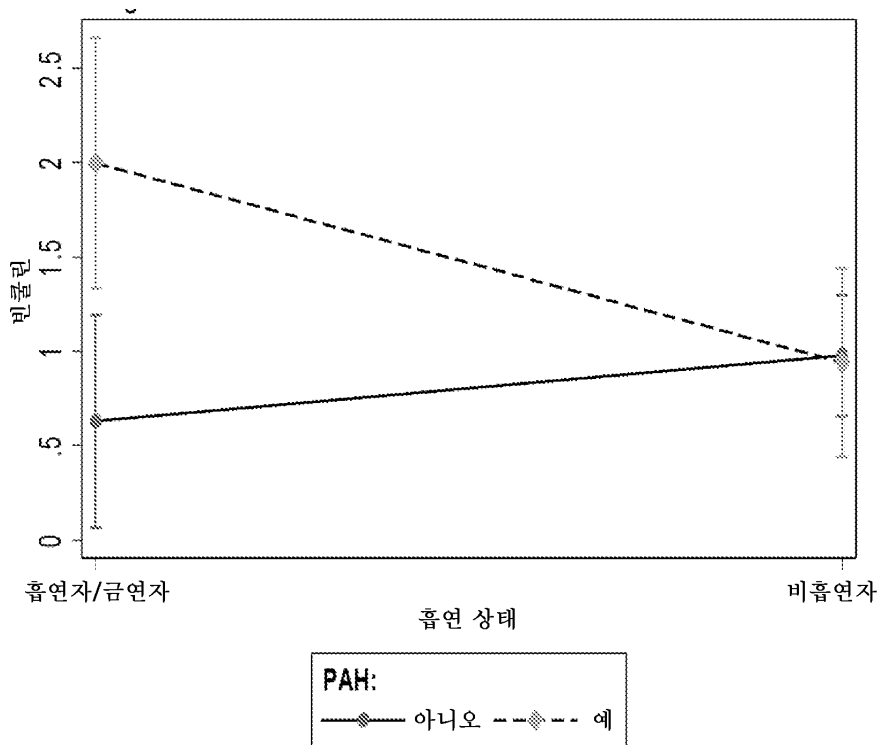
[0124]

본원에 사용된 용어 "포함하는" 또는 "포함하다"는 조성물, 방법, 및 그의 각각의 성분(들)과 관련하여 사용되고, 이는 유용하든 아니든, 구체화되지 않은 요소들을 포함할 여지가 있는 실시예에 유용하다. 관련 기술분야

의 통상의 기술자는 일반적으로, 본원에 사용된 용어가 일반적으로 "개방형" 용어 (예를 들어, 용어 "포함하는"은 "포함하나 이에 제한되지는 않는"으로 해석되어야 하고, 용어 "갖는"은 "적어도 갖는"으로 해석되어야 하고, 용어 "포함하다"는 "포함하나 이에 제한되지는 않는다"로 해석되어야 하는 등)로서 의도됨을 이해할 것이다. 개방형 용어 "포함하는"이 포함한, 함유하는, 또는 갖는과 같은 용어의 동의어로서 본 발명을 기재하고 청구하기 위해 본원에 사용되지만, 본 발명 또는 그의 실시양태는 대안적으로 "이루어진" 또는 "본질적으로 이루어진"과 같은 대안적 용어를 사용하여 기재될 수 있다.

**도면**

**도면1**



**서열 목록**

SEQUENCE LISTING

- <110> CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER  
PIMENTEL, Mark  
FURST, Daniel
- <120> DIAGNOSIS OF SCLERODERMA
- <130> 065472-000637W00
- <150> 62/451,923
- <151> 2017-01-30
- <160> 2
- <170> PatentIn version 3.5

<210> 1  
 <211> 1066  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 1  
 Met Pro Val Phe His Thr Arg Thr Ile Glu Ser Ile Leu Glu Pro Val  
 1                    5                    10                    15  
 Ala Gln Gln Ile Ser His Leu Val Ile Met His Glu Glu Gly Glu Val  
                   20                    25                    30  
 Asp Gly Lys Ala Ile Pro Asp Leu Thr Ala Pro Val Ala Ala Val Gln  
                   35                    40                    45  
 Ala Ala Val Ser Asn Leu Val Arg Val Gly Lys Glu Thr Val Gln Thr  
                   50                    55                    60  
 Thr Glu Asp Gln Ile Leu Lys Arg Asp Met Pro Pro Ala Phe Ile Lys  
 65                    70                    75                    80  
 Val Glu Asn Ala Cys Thr Lys Leu Val Gln Ala Ala Gln Met Leu Gln  
                   85                    90                    95  
 Ser Asp Pro Tyr Ser Val Pro Ala Arg Asp Tyr Leu Ile Asp Gly Ser  
                   100                    105                    110  
 Arg Gly Ile Leu Ser Gly Thr Ser Asp Leu Leu Leu Thr Phe Asp Glu  
                   115                    120                    125  
 Ala Glu Val Arg Lys Ile Ile Arg Val Cys Lys Gly Ile Leu Glu Tyr  
                   130                    135                    140  
 Leu Thr Val Ala Glu Val Val Glu Thr Met Glu Asp Leu Val Thr Tyr  
                   145                    150                    155                    160  
 Thr Lys Asn Leu Gly Pro Gly Met Thr Lys Met Ala Lys Met Ile Asp  
                   165                    170                    175  
 Glu Arg Gln Gln Glu Leu Thr His Gln Glu His Arg Val Met Leu Val  
                   180                    185                    190  
 Asn Ser Met Asn Thr Val Lys Glu Leu Leu Pro Val Leu Ile Ser Ala  
                   195                    200                    205

Met Lys Ile Phe Val Thr Thr Lys Asn Ser Lys Asn Gln Gly Ile Glu  
 210 215 220  
 Glu Ala Leu Lys Asn Arg Asn Phe Thr Val Glu Lys Met Ser Ala Glu  
 225 230 235 240  
 Ile Asn Glu Ile Ile Arg Val Leu Gln Leu Thr Ser Trp Asp Glu Asp  
 245 250 255  
 Ala Trp Ala Ser Lys Asp Thr Glu Ala Met Lys Arg Ala Leu Ala Ser  
 260 265 270  
 Ile Asp Ser Lys Leu Asn Gln Ala Lys Gly Trp Leu Arg Asp Pro Ser  
 275 280 285  
 Ala Ser Pro Gly Asp Ala Gly Glu Gln Ala Ile Arg Gln Ile Leu Asp  
 290 295 300  
 Glu Ala Gly Lys Val Gly Glu Leu Cys Ala Gly Lys Glu Arg Arg Glu  
 305 310 315 320  
 Ile Leu Gly Thr Cys Lys Met Leu Gly Gln Met Thr Asp Gln Val Ala  
 325 330 335  
 Asp Leu Arg Ala Arg Gly Gln Gly Ser Ser Pro Val Ala Met Gln Lys  
 340 345 350  
 Ala Gln Gln Val Ser Gln Gly Leu Asp Val Leu Thr Ala Lys Val Glu  
 355 360 365  
 Asn Ala Ala Arg Lys Leu Glu Ala Met Thr Asn Ser Lys Gln Ser Ile  
 370 375 380  
 Ala Lys Lys Ile Asp Ala Ala Gln Asn Trp Leu Ala Asp Pro Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gly Pro Glu Gly Glu Glu Gln Ile Arg Gly Ala Leu Ala Glu Ala Arg  
 405 410 415  
 Lys Ile Ala Glu Leu Cys Asp Asp Pro Lys Glu Arg Asp Asp Ile Leu  
 420 425 430  
 Arg Ser Leu Gly Glu Ile Ser Ala Leu Thr Ser Lys Leu Ala Asp Leu  
 435 440 445  
 Arg Arg Gln Gly Lys Gly Asp Ser Pro Glu Ala Arg Ala Leu Ala Lys

450                      455                      460  
 Gln Val Ala Thr Ala Leu Gln Asn Leu Gln Thr Lys Thr Asn Arg Ala  
  
 465                      470                      475                      480  
 Val Ala Asn Ser Arg Pro Ala Lys Ala Ala Val His Leu Glu Gly Lys  
                                  485                      490                      495  
 Ile Glu Gln Ala Gln Arg Trp Ile Asp Asn Pro Thr Val Asp Asp Arg  
                                  500                      505                      510  
 Gly Val Gly Gln Ala Ala Ile Arg Gly Leu Val Ala Glu Gly His Arg  
                                  515                      520                      525  
 Leu Ala Asn Val Met Met Gly Pro Tyr Arg Gln Asp Leu Leu Ala Lys  
  
 530                      535                      540  
 Cys Asp Arg Val Asp Gln Leu Thr Ala Gln Leu Ala Asp Leu Ala Ala  
 545                      550                      555                      560  
 Arg Gly Glu Gly Glu Ser Pro Gln Ala Arg Ala Leu Ala Ser Gln Leu  
                                  565                      570                      575  
 Gln Asp Ser Leu Lys Asp Leu Lys Ala Arg Met Gln Glu Ala Met Thr  
                                  580                      585                      590  
 Gln Glu Val Ser Asp Val Phe Ser Asp Thr Thr Thr Pro Ile Lys Leu  
  
 595                      600                      605  
 Leu Ala Val Ala Ala Thr Ala Pro Pro Asp Ala Pro Asn Arg Glu Glu  
                                  610                      615                      620  
 Val Phe Asp Glu Arg Ala Ala Asn Phe Glu Asn His Ser Gly Lys Leu  
 625                      630                      635                      640  
 Gly Ala Thr Ala Glu Lys Ala Ala Ala Val Gly Thr Ala Asn Lys Ser  
                                  645                      650                      655  
 Thr Val Glu Gly Ile Gln Ala Ser Val Lys Thr Ala Arg Glu Leu Thr  
  
 660                      665                      670  
 Pro Gln Val Val Ser Ala Ala Arg Ile Leu Leu Arg Asn Pro Gly Asn  
                                  675                      680                      685  
 Gln Ala Ala Tyr Glu His Phe Glu Thr Met Lys Asn Gln Trp Ile Asp  
 690                      695                      700

Asn Val Glu Lys Met Thr Gly Leu Val Asp Glu Ala Ile Asp Thr Lys  
 705                      710                      715                      720  
 Ser Leu Leu Asp Ala Ser Glu Glu Ala Ile Lys Lys Asp Leu Asp Lys  
  
                                  725                      730                      735  
 Cys Lys Val Ala Met Ala Asn Ile Gln Pro Gln Met Leu Val Ala Gly  
                                  740                      745                      750  
 Ala Thr Ser Ile Ala Arg Arg Ala Asn Arg Ile Leu Leu Val Ala Lys  
                                  755                      760                      765  
 Arg Glu Val Glu Asn Ser Glu Asp Pro Lys Phe Arg Glu Ala Val Lys  
                                  770                      775                      780  
 Ala Ala Ser Asp Glu Leu Ser Lys Thr Ile Ser Pro Met Val Met Asp  
  
 785                      790                      795                      800  
 Ala Lys Ala Val Ala Gly Asn Ile Ser Asp Pro Gly Leu Gln Lys Ser  
                                  805                      810                      815  
 Phe Leu Asp Ser Gly Tyr Arg Ile Leu Gly Ala Val Ala Lys Val Arg  
                                  820                      825                      830  
 Glu Ala Phe Gln Pro Gln Glu Pro Asp Phe Pro Pro Pro Pro Pro Asp  
                                  835                      840                      845  
 Leu Glu Gln Leu Arg Leu Thr Asp Glu Leu Ala Pro Pro Lys Pro Pro  
  
                                  850                      855                      860  
 Leu Pro Glu Gly Glu Val Pro Pro Pro Arg Pro Pro Pro Pro Glu Glu  
 865                      870                      875                      880  
 Lys Asp Glu Glu Phe Pro Glu Gln Lys Ala Gly Glu Val Ile Asn Gln  
                                  885                      890                      895  
 Pro Met Met Met Ala Ala Arg Gln Leu His Asp Glu Ala Arg Lys Trp  
                                  900                      905                      910  
 Ser Ser Lys Gly Asn Asp Ile Ile Ala Ala Ala Lys Arg Met Ala Leu  
  
                                  915                      920                      925  
 Leu Met Ala Glu Met Ser Arg Leu Val Arg Gly Gly Ser Gly Thr Lys  
                                  930                      935                      940  
 Arg Ala Leu Ile Gln Cys Ala Lys Asp Ile Ala Lys Ala Ser Asp Glu

945                    950                    955                    960  
 Val Thr Arg Leu Ala Lys Glu Val Ala Lys Gln Cys Thr Asp Lys Arg  
                          965                    970                    975  
 Ile Arg Thr Asn Leu Leu Gln Val Cys Glu Arg Ile Pro Thr Ile Ser  
  
                          980                    985                    990  
 Thr Gln Leu Lys Ile Leu Ser Thr Val Lys Ala Thr Met Leu Gly Arg  
                          995                    1000                    1005  
 Thr Asn Ile Ser Asp Glu Glu Ser Glu Gln Ala Thr Glu Met Leu  
                          1010                    1015                    1020  
 Val His Asn Ala Gln Asn Leu Met Gln Ser Val Lys Glu Thr Val  
                          1025                    1030                    1035  
 Arg Glu Ala Glu Ala Ala Ser Ile Lys Ile Arg Thr Asp Ala Gly  
  
                          1040                    1045                    1050  
 Phe Thr Leu Arg Trp Val Arg Lys Thr Pro Trp Tyr Gln  
                          1055                    1060                    1065  
 <210> 2  
 <211> 633  
 <212> PRT  
 <213> Shigella  
 <400> 2  
 Met His Asn Val Asn Asn Thr Gln Ala Pro Thr Phe Leu Tyr Lys Ala  
 1                    5                    10                    15  
 Thr Ser Pro Ser Ser Thr Glu Tyr Ser Glu Leu Lys Ser Lys Ile Ser  
                          20                    25                    30  
  
 Asp Ile His Ser Ser Gln Thr Ser Leu Lys Thr Pro Ala Ser Val Ser  
                          35                    40                    45  
 Glu Lys Glu Asn Phe Ala Thr Ser Phe Asn Gln Lys Cys Leu Asp Phe  
                          50                    55                    60  
 Leu Phe Ser Ser Ser Gly Lys Glu Asp Val Leu Arg Ser Ile Tyr Ser  
 65                    70                    75                    80  
 Asn Ser Met Asn Ala Tyr Ala Lys Ser Glu Ile Leu Glu Phe Ser Asn



Ser Gln Thr Asn Asp Leu Leu Ser Arg Asn Gly Asn Ser Leu Leu Asn  
 340 345 350

Pro Gln Arg Ala Leu Val Gln Lys Val Thr Ser Val Leu Pro His Ser  
 355 360 365

Ile Ser Asp Thr Val Gln Thr Phe Ala Asn Asn Ser Ala Leu Glu Lys  
 370 375 380

Val Phe Asn His Thr Pro Asp Asn Ser Asp Gly Ile Gly Ser Asp Leu  
 385 390 395 400

Leu Thr Thr Ser Ser Gln Glu Arg Ser Ala Asn Asn Ser Leu Ser Arg  
 405 410 415

Gly His Arg Pro Leu Asn Ile Gln Asn Ser Ser Thr Thr Pro Pro Leu  
 420 425 430

His Pro Glu Gly Val Thr Ser Ser Asn Asp Asn Ser Ser Asp Thr Thr  
 435 440 445

Lys Ser Ser Ala Ser Leu Ser His Arg Val Ala Ser Gln Ile Asn Lys  
 450 455 460

Phe Asn Ser Asn Thr Asp Ser Lys Val Leu Gln Thr Asp Phe Leu Ser  
 465 470 475 480

Arg Asn Gly Asp Thr Tyr Leu Thr Arg Glu Thr Ile Phe Glu Ala Ser  
 485 490 495

Lys Lys Val Thr Asn Ser Leu Ser Asn Leu Ile Ser Leu Ile Gly Thr  
 500 505 510

Lys Ser Gly Thr Gln Glu Arg Glu Leu Gln Glu Lys Ser Lys Asp Ile  
 515 520 525

Thr Lys Ser Thr Thr Glu His Arg Ile Asn Asn Lys Leu Lys Val Thr  
 530 535 540

Asp Ala Asn Ile Arg Asn Tyr Val Thr Glu Thr Asn Ala Asp Thr Ile  
 545 550 555 560

Asp Lys Asn His Ala Ile Tyr Glu Lys Ala Lys Glu Val Ser Ser Ala  
 565 570 575

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

