(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년02월18일
(11) 등록번호 10-1949210
(24) 등록일자 2019년02월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/08 (2006.01) *A61K 38/40* (2006.01)
C07K 14/79 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7021855
(22) 출원일자(국제) 2012년01월25일
심사청구일자 2017년01월12일
(85) 번역문제출일자 2013년08월20일
(65) 공개번호 10-2014-0026367
(43) 공개일자 2014년03월05일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2012/051111
(87) 국제공개번호 WO 2012/101156
국제공개일자 2012년08월02일
(30) 우선권주장
11152213.2 2011년01월26일
유럽특허청(EPO)(EP)
(56) 선행기술조사문헌
WO2002100387 A1
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 4 항

(73) 특허권자
페르가뭄 아베
스웨덴 171 65 솔나 포그데브레텐 2 캐롤린스카 인스티튜텟 사이언스 파크 (케이아이에스피)
(72) 발명자
말라푸 마지트
스웨덴 에스-412 70 예테보리 야콥스호드스바겐 8
비요른 까밀라
스웨덴 에스-426 52 바스트라 프뢸룬다 굴드링겐 7
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
유미특허법인

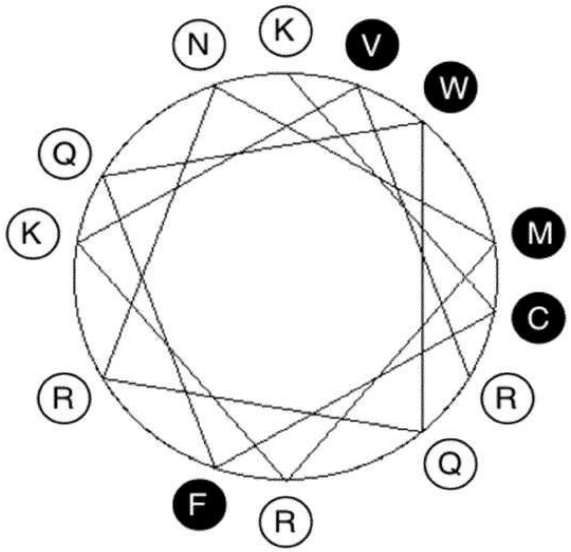
심사관 : 노은주

(54) 발명의 명칭 **항염증 활성을 가진 인간 락토페린계 펩타이드**

(57) 요 약

본 발명은 새로운 펩타이드 및 이의 용도, 특히 감염, 염증, 통증, 상해, 상처 및/또는 종양의 치료 및/또는 예방을 위한 새로운 펩타이드 및 이의 용도에 관한 것이다.

대 표 도 - 도2



(72) 발명자

스예스트란드 베로니카

스웨덴 438 54 힌도스 그라넬리덴 8

왈스 베른

스웨덴 에스-226 49 룬드 스카이트린젠 130

스벤슨 보

스웨덴 에스-247 91 소드라 샌드비 샌드비 144

(56) 선행기술조사문헌

WO2010081800 A2*

Peptides, Vol. 31, pp. 1251-1261 (온라인 공개일: 2010.04.02.)*

Scandinavian Journal of Immunology, Vol. 57, pp. 2-10 (2003.)

Molecular Immunology, Vol. 44, pp. 1498-1508 (2006.10.09.)

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명 세 서

청구범위

청구항 1

펩타이드 R-R-L-W-R-R-W-M-R-K-V-L (서열번호 78).

청구항 2

제1항에 따른 펩타이드를 포함하는, 감염, 염증, 종양, 통증, 상해 및 상처를 치료, 예방 (prophylaxis) 및/또는 방지 (prevention)하는데 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 농가진, 화상, 감염된 찰과상 (infected abrasion), 감염된 열상, 찰과상 (excoriation), 단독 (erysipelas), 결합 조직염 (cellulitis), 농양 (abscesse), 종기 (furuncle), 옹 (carbuncle), 봉합 상처, 수술 부위 감염, 이차 감염된 피부병, 아토피성 피부염, 건선, 알레르기성 접촉 피부염, 동물에 물린 상처 및 카테터 관련 감염을 치료, 예방 (prophylaxis) 및/또는 방지 (prevention)하는데 사용하기 위한 것인, 약학 조성물.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 경구 투여, 전신 투여, 비경구 투여, 국부적(local) 투여 또는 국소적(topical) 투여용으로 제형화된, 약학 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 새로운 펩타이드 및 이의 용도, 특히 감염, 염증, 통증, 상해, 상처 및/또는 종양의 치료 및/또는 예방을 위한 새로운 펩타이드 및 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 락토페린은 분자량 77 kDa의 금속-결합형 단쇄 당단백질이다. 살균 특성을 담당하는 락토페린의 구조적 도메인은 락토페리신으로 지칭되는 펩신으로 절단된 단편인 것으로 확인되었다 (예, Bellamy W., et al., Identification of the bactericidal domain of lactoferrin, Biochim. Biophys. Acta 1121: 130-136, 1992, and Bellamy W., et al., Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin, J. Appl. Bact. 73: 472-479, 1992).

[0003] 락토페린 수용체는 단핵구와 대식세포, 렉틴-자극된 인간 말초혈 림프구, 브러쉬보더(brushborder) 세포 및 종양 세포주를 비롯한 여러가지 타입의 세포에서 발견된다.

[0004] 몇몇 특허 공개문헌들에는 감염 또는 염증을 치료하기 위한 락토페린의 잠재적인 용도가 개시되어 있다. 예를 들어, WO 98/06425에는, 락토페린 및 락토페리신이 감염, 염증 및 종양을 치료 및 예방하는데 사용될 수 있음이 기술되어 있다.

[0005] EP 629 347은, (A) 락토페린 가수분해물 및/또는 락토페린으로부터 유래된 하나 이상의 항미생물 펩타이드, 및 (B) 금속-킬레이팅 단백질, 토코페롤, 사이클로덱스트린, 글리세린-지방산 에스테르, 알코올, EDTA 또는 이의 염, 아스코르브산 또는 이의 염, 시트르산 또는 이의 염, 폴리포스포르산 또는 이의 염, 키토산, 시스테인 및 콜린산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 화합물을 이의 유효 성분으로서 포함하는, 항미생물제를 개시하고 있다. 이 항미생물제는 제품의 처리제로서, 특히, 예를 들어, 식품 및 의약품을 안전하게 처리하기 위해 사용된다. 이 문헌에 따른 제제는 따라서 새로운 보존제이다. 이 공개문헌에는 수종의 펩타이드 서열이 제시되어 있는데, 이들 중 몇몇은 아래에서 상세하게 설명되는 몇가지 주된 차이는 있지만 본 발명에 따른 펩타이드와 비슷하다.

[0006] US 5,304,633은 인간 및 소의 락토페린의 가수분해물로부터 분리된 항미생물 펩타이드를 개시하고 있다. 인간 락토페린의 12 - 47번 및 17 - 41번 아미노산에 해당되는 펩타이드의 분리에 대해 구체적으로 기술되어 있다.

[0007] JP 7145196에는 락토페린의 가수분해를 통한 항생제 펩타이드의 제조를 개시하고 있다. 인간 락토페린의 17 -

41번 아미노산에 해당되는 펩타이드의 분리에 대해 구체적으로 기술되어 있다.

[0008] JP 8040925에는 락토페린 유래 펩타이드를 포함하는 약학 조성물과 각막 손상, 특히 각막염을 치료하는데 있어 이의 용도가 기술되어 있다. 인간 락토페린의 17 - 41번, 12 - 58번 및 19 - 38번 아미노산에 해당되는 펩타이드의 분리에 대해 구체적으로 기술되어 있다.

[0009] JP 7274970에는 락토페린 유래 항세균 펩타이드의 재조합 생산에 대해 기술되어 있으며, 특히 인간 락토페린의 18 - 42번 아미노산에 해당되는 펩타이드가 기술되어 있다.

[0010] JP 8143468에는 락토페린 유래 펩타이드 및 이의 항궤양제로서의 용도가 기술되어 있으며, 특히 인간 락토페린의 19 - 33번 아미노산에 해당되는 펩타이드가 기술되어 있다.

[0011] WO 00/01730에는 인간 락토페린 유래 펩타이드 및 감염과 염증을 치료하기 위한 이의 용도가 기술되어 있다.

[0012] EP 1 228 097에는 인간 락토페린의 N-최말단부로부터 유래된 펩타이드 및 이의 미생물제로서의 용도가 기술되어 있다.

[0013] EP 1151009에는 항미생물 활성 및/또는 내독소 중화 활성을 가진 인간 락토페린의 35 - 50번 아미노산에 해당되는 서열을 포함하는 펩타이드가 기술되어 있다.

[0014] WO 2006/047744에는, 아미노산 33개 이상을 포함하고 N-말단과 C-말단 모두 양으로 하전된 아미노산 4개로 치환된, 인간 락토페린의 N-말단 부분으로부터 유래된 면역조절 펩타이드가 기술되어 있다.

[0015] WO 2009/050279에는 돌연변이된 락토페린 펩타이드와 이의 항미생물 활성이 기술되어 있다.

[0016] WO 2009/062898에는 아르기닌으로 치환된 락토페린 펩타이드와 이의 항미생물 활성 및 항염증 활성이 기술되어 있다.

발명의 내용

[0017] 본 발명은 개선된 항미생물 활성 및/또는 항염증 활성을 가진 새로운 펩타이드에 관한 것이다. 본 발명에 따른 펩타이드는 성숙형 인간 락토페린의 13 - 30번 아미노산에 해당되는 서열번호 1의 아미노산 서열을 토대로 설계된다.

[0018] Q-P-E-A-T-K-C-F-Q-W-Q-R-N-M-R-K-V-R (서열번호 1)

[0019] 본 발명의 제1 구현예는 적어도 하기 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 및 이의 기능적 등가 변이체(functional equivalent variant)에 관한 것이다:

[0020] X1-X2-X3-W-X5-R-X7-X8-X9-K-X11-X12 (서열번호 2)

[0021] 상기 서열번호 2에서,

[0022] X1은 C, L, W, K 또는 R이고;

[0023] X2는 C, F, K, W 또는 R이고;

[0024] X3는 L 또는 R이고;

[0025] X5는 L, K 또는 R이고;

[0026] X7은 N, S, A, L, W, K 또는 R이고;

[0027] X8은 M, W 또는 S이고;

[0028] X9은 R 또는 V이고;

[0029] X11은 V, A, H, L, 또는 R이고; 및

[0030] X12은 R, L 또는 W이다.

[0031] 상기 펩타이드는 바람직하게는 N-말단부에 아미노산 W 또는 R-W를 추가로 포함할 수 있다.

[0032] 상기 펩타이드는 바람직하게는 C-말단부에 아미노산 R 또는 R-L을 추가로 포함할 수 있다.

[0033] 바람직하게는 본 발명의 제1 구현예에 따른 펩타이드는 적어도 하기 아미노산 서열 및 이의 기능적 등가 변이체

를 포함한다:

[0034] X1-X2-X3-W-X5-R-X7-X8-X9-K-X11-X12 (서열번호 3)

[0035] 상기 서열번호 3에서,

[0036] X1은 W, K 또는 R이고;

[0037] X2는 C, K, 또는 R이고;

[0038] X3는 L, 또는 R이고;

[0039] X5는 L, 또는 R이고;

[0040] X7은 W, 또는 K이고;

[0041] X8은 M, 또는 W이고;

[0042] X9은 R, 또는 V이고;

[0043] X11은 V, A, 또는 R이고; 및

[0044] X12은 R, 또는 L이다.

[0045] 상기 펩타이드는 바람직하게는 N-말단부에 아미노산 W 또는 R-W를 추가로 포함할 수 있다.

[0046] 상기 펩타이드는 바람직하게는 C-말단부에 아미노산 R 또는 R-L을 추가로 포함할 수 있다.

[0047] 보다 바람직하게는, 본 발명의 제1 구현예에 따른 펩타이드는 아래 아미노산 서열들로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드들 및 이들의 기능적 등가 변이체로부터 선택된다:

[0048] C-F-L-W-R-R-L-M-R-K-L-R (서열번호 74)

[0049] C-W-L-W-R-R-A-M-R-K-V-W (서열번호 76)

[0050] L-R-L-W-R-R-L-M-R-K-V-W (서열번호 77)

[0051] R-R-L-W-R-R-W-M-R-K-V-L (서열번호 78)

[0052] C-R-L-W-R-R-R-M-R-K-V-W (서열번호 79)

[0053] L-R-L-W-R-R-S-M-R-K-V-W (서열번호 81)

[0054] K-K-L-W-R-R-W-W-R-K-V-L (서열번호 90)

[0055] R-W-C-K-L-W-R-R-L-M-R-K-V-R-R-L (서열번호 85)

[0056] R-W-C-F-L-W-R-R-L-M-R-K-H-R-R-L (서열번호 86)

[0057] W-C-K-L-W-R-R-L-M-R-K-V-R-R (서열번호 87)

[0058] W-R-R-W-L-R-K-S-V-K-R-L (서열번호 93)

[0059] W-C-R-W-L-R-K-M-V-K-A-L (서열번호 94)

[0060] W-R-R-W-L-R-K-M-V-K-R-L (서열번호 95).

[0061] 가장 바람직하게는, 본 발명의 제1 구현예에 따른 펩타이드는 아래 펩타이드들 및 이들의 기능적 등가 변이체로부터 선택된다:

[0062] C-F-L-W-R-R-L-M-R-K-L-R (서열번호 74)

[0063] C-W-L-W-R-R-A-M-R-K-V-W (서열번호 76)

[0064] L-R-L-W-R-R-L-M-R-K-V-W (서열번호 77)

[0065] R-R-L-W-R-R-W-M-R-K-V-L (서열번호 78)

[0066] C-R-L-W-R-R-R-M-R-K-V-W (서열번호 79)

[0067] L-R-L-W-R-R-S-M-R-K-V-W (서열번호 81)

[0068] K-K-L-W-R-R-W-W-R-K-V-L (서열번호 90)

[0069] R-W-C-K-L-W-R-R-L-M-R-K-V-R-R-L (서열번호 85)

[0070] R-W-C-F-L-W-R-R-L-M-R-K-H-R-R-L (서열번호 86)

[0071] W-C-K-L-W-R-R-L-M-R-K-V-R-R (서열번호 87)

[0072] W-R-R-W-L-R-K-S-V-K-R-L (서열번호 93)

[0073] W-C-R-W-L-R-K-M-V-K-A-L (서열번호 94)

[0074] W-R-R-W-L-R-K-M-V-K-R-L (서열번호 95).

[0075] 본 발명의 제2 구현예는 적어도 하기 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 및 이들의 기능적 등가 변이체에 관한 것이다:

[0076] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-Q-W-X11-R-X13-L-R-K-V-X18 (서열번호 4)

[0077] 상기 서열번호 4에서,

[0078] X1은 Q, R, 또는 N이고;

[0079] X2는 S, R, 또는 K이고;

[0080] X3는 E, R, 또는 L이고;

[0081] X4는 A, R, 또는 F이고;

[0082] X5는 T, K, R, H, Q, 또는 E이고;

[0083] X6는 K, T 또는 S이고;

[0084] X7은 R, F 또는 L이고;

[0085] X8은 F, K, 또는 A이고;

[0086] X11은 L, R, 또는 A이고;

[0087] X13은 N, 또는 Q이고; 및

[0088] X18은 L, R 또는 A이다.

[0089] 상기 펩타이드는 바람직하게는 N-말단부에 아미노산 서열 K-R을 추가로 포함할 수 있다.

[0090] 상기 펩타이드는 바람직하게는 C-말단부에 아미노산 서열 K-R, W-W 또는 G-P를 추가로 포함할 수 있다.

[0091] 바람직하게는, 본 발명의 제2 구현예에 따른 펩타이드는 적어도 아래 아미노산 서열 및 이의 기능적 등가 변이체를 포함한다:

[0092] X1-S-X3-X4-X5-X6-X7-X8-Q-W-X11-R-N-L-R-K-V-X18 (서열번호 5)

[0093] 서열번호 5에서,

[0094] X1은 Q, R, 또는 N이고;

[0095] X3는 E, R, 또는 L이고;

[0096] X4는 A, R, 또는 F이고;

[0097] X5는 T, K, R, Q, 또는 E이고;

[0098] X6는 K, T 또는 S이고;

[0099] X7은 R, F 또는 L이고;

[0100] X8은 F, K, 또는 A이고;

[0101] X11은 L, R, 또는 A이고; 및

[0102] X18은 L, R 또는 A이다.

[0103] 상기 펩타이드는 바람직하게는 N-말단부에 아미노산 서열 K-R을 추가로 포함할 수 있다.

[0104] 상기 펩타이드는 바람직하게는 C-말단부에 아미노산 서열 K-R, W-W 또는 G-P를 추가로 포함할 수 있다.

[0105] 보다 바람직하게는, 본 발명의 제2 구현예에 따른 펩타이드는 아래 아미노산 서열들로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드들 및 이들의 기능적 등가 변이체로부터 선택된다:

[0106] Q-S-L-A-T-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 19)

[0107] Q-S-L-A-E-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 21)

[0108] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 23)

[0109] Q-S-L-A-T-K-L-F-Q-W-R-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 25)

[0110] Q-K-R-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 52)

[0111] Q-S-E-R-K-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 53)

[0112] Q-S-L-A-R-T-F-K-Q-W-A-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 56)

[0113] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L-K-R (서열번호 58)

[0114] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L-W-W (서열번호 59)

[0115] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L-G-P (서열번호 60)

[0116] K-R-Q-S-L-A-R-T-F-K-Q-W-A-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 62)

[0117] Q-S-L-A-H-S-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 65)

[0118] R-S-L-A-Q-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 66)

[0119] Q-S-L-A-R-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-A (서열번호 67)

[0120] N-S-L-F-E-K-L-A-Q-W-L-R-Q-L-R-K-V-R (서열번호 69).

[0121] 가장 바람직하게는, 본 발명의 제2 구현예에 따른 펩타이드는 아래 펩타이드들 및 이들의 기능적 등가 변이체로부터 선택된다:

[0122] Q-S-L-A-T-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 19)

[0123] Q-S-L-A-E-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 21)

[0124] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 23)

[0125] Q-S-L-A-T-K-L-F-Q-W-R-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 25)

[0126] Q-K-R-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 52)

[0127] Q-S-E-R-K-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 53)

[0128] Q-S-L-A-R-T-F-K-Q-W-A-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 56)

[0129] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L-K-R (서열번호 58)

[0130] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L-W-W (서열번호 59)

[0131] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L-G-P (서열번호 60)

[0132] K-R-Q-S-L-A-R-T-F-K-Q-W-A-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 62)

[0133] Q-S-L-A-H-S-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 65)

[0134] R-S-L-A-Q-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 66)

[0135] Q-S-L-A-R-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-A (서열번호 67)

[0136] N-S-L-F-E-K-L-A-Q-W-L-R-Q-L-R-K-V-R (서열번호 69).

[0137] 본 발명에 따른 추가적으로 바람직한 펩타이드는 다음과 같다:

[0138] N-E-A-D-K-C-F-Q-W-Q-R-N-M-R-K-V-R (서열번호 14)

[0139] Q-S-L-A-T-K-C-F-Q-W-Q-R-N-M-R-K-V-R (서열번호 16)

[0140] Q-S-E-A-T-K-C-F-Q-W-L-R-N-M-R-K-V-R (서열번호 18)

[0141] Q-S-L-A-E-K-L-F-Q-W-L-R-N-R-R-K-V-R (서열번호 24)

[0142] W-F-Q-W-K-R-R-M-R-K-V-R (서열번호 31)

[0143] F-W-W-Q-R-K-M-R-K-V-R (서열번호 32)

[0144] R-L-W-R-R-L-M-R-K-V-R (서열번호 84)

[0145] 및 이들의 기능적 등가 변이체.

[0146] 본 발명에 따른 펩타이드는 바람직하게는 12 - 100개의 아미노산 잔기 길이, 예컨대 바람직하게는 12 - 50개의 아미노산 잔기 길이 또는 12 - 30개의 아미노산 잔기 길이, 더 바람직하게는 12 - 약 25개의 아미노산 잔기 길이, 예로, 가장 바람직하게는, 12 - 20개의 아미노산 잔기 길이, 예로, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산 잔기 길이를 가진다.

[0147] 본 발명에 따른 펩타이드는 20개의 표준 유전자 코딩 아미노산을 포함한다. 이는 또한 천연 'L' 형태에 대해 'D' 형태의 대응되는 입체이성질체로 하나 이상의 아미노산을 포함할 수도 있다.

[0148] 본 명세서에서, 단문자 또는 3문자 기호가 아미노산을 나타내는데 사용된다. 이들 기호는 당해 기술 분야의 당업자들에게 잘 알려져 있으며, 다음과 같은 의미를 가진다: A = Ala = 알라닌, C = Cys = 시스테인, D = Asp = 아스파르트산, E = Glu = 글루탐산, F = Phe = 페닐알라닌, G= Gly = 글리신, I = Ile = 이소루신, K = Lys = 라이신, M= Met = 메티오닌, N = Asn = 아스파라긴, P = Pro = 프롤린, Q = Gln = 글루타민, R = Arg = 아르기닌, S = Ser = 세린, T = Thr = 트레오닌, V = Val = 발린, W = Trp = 트립토판.

[0149] 소문자는 D-아미노산을 나타낸다.

[0150] 본 발명에 따른 펩타이드의 기능적 등가 변이체는 1-5개의 삽입 또는 결손, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 삽입 또는 결손 등의 하나 이상의 아미노산의 삽입이나 결손을 포함할 수 있다.

[0151] 또한, 본 발명에 따른 펩타이드의 기능적 등가 변이체는 치환을 포함할 수 있다. 치환은 보존적이거나 비-보존적일 수 있다. 보존적인 치환은 동일한 일반 클래스 (예, 산성 아미노산, 염기성 아미노산 등)의 아미노산을 동일 클래스의 다른 아미노산으로 치환하는 것이다. 예를 들어, 소수성 아미노산은 다른 소수성 아미노산으로 치환될 수 있으며, 예컨대, Trp이 Leu에 대해 치환될 수 있다. 양으로 하전된 아미노산은 다른 양으로 하전된 아미노산으로 치환될 수 있으며, 예로, Arg는 Lys에 대해 치환될 수 있으며, 예로 1-5개의 치환, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환을 가질 수 있다.

[0152] 도 1은 여러가지 클래스의 아미노산들을 도시한다.

[0153] 본 발명에 따른 펩타이드의 기능적 등가 변이체는 또한 바람직한 기능적 특성이 폴리펩타이드에 유지되는 한 다른 비천연 아미노산을 포함할 수 있다. 이러한 비천연 아미노산은 α,α-2 치환된 아미노산, N-알킬 아미노산 또는 특정 천연 아미노산을 모방한 기타 변이체를 포함할 수 있다.

[0154] 예로, 본 발명에 따른 펩타이드의 기능적 등가 변이체에서, 라이신 (K/Lys)은 바람직하게는 Dap (디아미노프로피온산), Dab (2,4-디아미노부탄산), Orn (오르니틴) 또는 Hyl (5-하이드록시라이신)으로 치환될 수 있으며, 아르기닌 (R/Arg)은 바람직하게는 Har (호모아르기닌)으로 치환될 수 있으며, 알라닌 (A/Ala)은 바람직하게는 Aib (α-아미노이소부티르산) 또는 Abu (2-아미노부탄산)으로 치환될 수 있으며, 발린 (V/Val)은 바람직하게는 Nva (노르발린) 또는 Iva (이소발린)으로 치환될 수 있으며, 루신 (L/Leu)은 바람직하게는 Nle (노르루신) 또는 Cha (3-사이클로헥실알라닌)으로 치환될 수 있으며, 세린 (S/Ser)은 바람직하게는 Hse (호모세린)로 치환될 수 있으며, 시스테인 (C/Cys)은 바람직하게는 Hcy (호모시스테인)으로 치환될 수 있으며, 히스티딘 (H/His)은 바람직하게는 Hhs (호모히스티딘) 또는 3-MH (3-메틸히스티딘)으로 치환될 수 있으며, 페닐알라닌 (F/Phe)은 바람직하게

는 Phg (2-페닐글리신)으로 치환될 수 있으며, 프롤린 (P/Pro)은 바람직하게는 Hyp (4-하이드록시프롤린)으로 치환될 수 있다.

[0155] 즉, 펩타이드의 기능적 등가 변이체는, 아래 펩타이드들로부터 선택되는 펩타이드와 비교하여, 70% 이상의 서열 동일성, 예로 75% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 80% 이상의 서열 동일성, 예로 85% 이상의 서열 동일성, 가장 바람직하게는 90% 이상의 서열 동일성, 예로 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99% 이상의 서열 동일성을 가진, 펩타이드이다:

[0156] C-F-L-W-R-R-L-M-R-K-L-R (서열번호 74)

[0157] C-W-L-W-R-R-A-M-R-K-V-W (서열번호 76)

[0158] L-R-L-W-R-R-L-M-R-K-V-W (서열번호 77)

[0159] R-R-L-W-R-R-W-M-R-K-V-L (서열번호 78)

[0160] C-R-L-W-R-R-R-M-R-K-V-W (서열번호 79)

[0161] L-R-L-W-R-R-S-M-R-K-V-W (서열번호 81)

[0162] K-K-L-W-R-R-W-W-R-K-V-L (서열번호 90)

[0163] R-W-C-K-L-W-R-R-L-M-R-K-V-R-R-L (서열번호 85)

[0164] R-W-C-F-L-W-R-R-L-M-R-K-H-R-R-L (서열번호 86)

[0165] W-C-K-L-W-R-R-L-M-R-K-V-R-R (서열번호 87)

[0166] W-R-R-W-L-R-K-S-V-K-R-L (서열번호 93)

[0167] W-C-R-W-L-R-K-M-V-K-A-L (서열번호 94)

[0168] W-R-R-W-L-R-K-M-V-K-R-L (서열번호 95)

[0169] Q-S-L-A-T-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 19)

[0170] Q-S-L-A-E-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 21)

[0171] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 23)

[0172] Q-S-L-A-T-K-L-F-Q-W-R-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 25)

[0173] Q-K-R-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 52)

[0174] Q-S-E-R-K-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 53)

[0175] Q-S-L-A-R-T-F-K-Q-W-A-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 56)

[0176] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L-K-R (서열번호 58)

[0177] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L-W-W (서열번호 59)

[0178] Q-S-E-A-T-K-R-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-L-G-P (서열번호 60)

[0179] K-R-Q-S-L-A-R-T-F-K-Q-W-A-R-N-L-R-K-V-L (서열번호 62)

[0180] Q-S-L-A-H-S-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 65)

[0181] R-S-L-A-Q-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-R (서열번호 66)

[0182] Q-S-L-A-R-K-L-F-Q-W-L-R-N-L-R-K-V-A (서열번호 67)

[0183] N-S-L-F-E-K-L-A-Q-W-L-R-Q-L-R-K-V-R (서열번호 69)

[0184] N-E-A-D-K-C-F-Q-W-Q-R-N-M-R-K-V-R (서열번호 14)

[0185] Q-S-L-A-T-K-C-F-Q-W-Q-R-N-M-R-K-V-R (서열번호 16)

[0186] Q-S-E-A-T-K-C-F-Q-W-L-R-N-M-R-K-V-R (서열번호 18)

[0187] Q-S-L-A-E-K-L-F-Q-W-L-R-N-R-R-K-V-R (서열번호 24)

[0188] W-F-Q-W-K-R-R-M-R-K-V-R (서열번호 31)

[0189] F-W-W-Q-R-K-M-R-K-V-R (서열번호 32)

[0190] R-L-W-R-R-L-M-R-K-V-R (서열번호 84)

[0191] 2종의 아미노산 서열 간의 동일성 %는 하기와 같이 결정된다. 먼저, 아미노산 서열을, 예로, BLASTN version 2.0.14 및 BLASTP version 2.0.14가 포함된 BLASTZ의 독립형(stand-alone) 버전의 BLAST 2 서열 (Bl2seq) 프로그램을 이용하여, 서열번호 1과 비교한다. 이러한 BLASTZ의 독립형 버전은 미국 국립 생물공학 정보 웹 사이트 ncbi.nlm.nih.gov에서 입수할 수 있다. Bl2seq 프로그램을 사용하는 방법이 설명된 설명서는 BLASTZ에 첨부된 readme 파일에서 확인할 수 있다. Bl2seq는 BLASTP 알고리즘을 이용하여 2종의 아미노산 서열들 간의 비교를 수행한다. 2개의 아미노산 서열을 비교하기 위해, Bl2seq의 옵션들을 다음과 같이 설정한다: -i는 비교할 제1 아미노산 서열이 함유된 파일로 설정하고 (예, C:₩seq1.txt); -j는 비교할 제2 아미노산 서열이 함유된 파일로 설정하고 (예, C:₩seq2.txt); -p는 blastp로 설정하고; -o는 원하는 임의 파일명으로 설정하고 (예, C:₩output.txt); 그외 모든 옵션들은 디폴트 설정으로 둔다. 예를 들어, 하기 명령을 사용하여 2개의 아미노산 서열들 간의 비교가 포함된 출력 파일을 생성할 수 있다: C:₩Bl2seq-i c:₩seq1.txt -j c:₩seq2.txt -p blastp -o c:₩output.txt. 2개의 비교 서열들이 상동성을 공유하는 경우, 지정된 출력 파일은 정렬된 서열로서 상동성 부분을 나타낼 것이다. 2개의 비교 서열들이 상동성을 공유하지 않는 경우, 지정된 출력 파일에는 정렬된 서열이 존재하지 않을 것이다. 정렬한 다음, 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기가 양쪽 서열에 존재하는 경우 그 위치의 수를 카운팅함으로써, 매치되는 수를 측정한다.

[0192] 동일성 %는 매칭되는 수를 동정한 서열에 나열된 서열의 길이로 나눈 다음 그 값을 100으로 곱하여 결정된다. 예를 들어, 서열을 서열번호 1 (서열번호 1에 기재된 서열의 길이는 18임)과 비교하고, 매치되는 수가 16인 경우, 이 서열은 서열번호 1의 서열과 89%의 동일성을 가진다 (즉, 16/18 * 100 = 89).

[0193] 아울러, 본 발명에는, 정제를 단순화하기 위한, 본 발명에 따른 펩타이드와, 다른 폴리펩타이드, 예로 글루타티온-S-트랜스퍼라제, 단백질 A, 올리고-히스티딘 테그, 또는 Myc 테그 에피토프 등의 항체로 인지되는 에피토프와의 융합도 포함된다.

[0194] 또한, 예를 들어, 펩타이드 분리 또는 검출에 유용하거나, 펩타이드의 세포 흡수를 촉진시키는, 기타 바람직한 특징을 포함하는 융합도 본 발명에 포함된다. 이러한 융합 파트너의 예로는 바이오틴 모이어티, 스트렙타비딘 모이어티, 방사능 모이어티, 형광 모이어티, 예로 소형 형광발색단 또는 그린 형광 단백질 GFP 형광발색단, 면역원성 테그, 친지질 분자 또는 펩타이드의 세포 흡수를 촉진시킬 수 있는 폴리펩타이드 도메인이 있다.

[0195] 본 발명에 따른 펩타이드의 기능적 등가 변이체는 또한 예를 들어 페길화 (PEGylation), 아미드화, 에스테르화, 아실화, 아세틸화 및/또는 알킬화에 의해 화학적으로 변형 또는 유도체화된 아미노산을 포함할 수 있다.

[0196] PEG에 대한 여러가지 부착 전략들이 존재하며, 이들도 포함되어야 한다. 예를 들어, PEG는 N-말단 아미노기 또는 반응성 아미노기나 하이드록시기를 가진 아미노산 잔기 (Lys, His, Ser, Thr 및 Tyr)에, 직접, 또는 링커로서 γ-아미노 부티르산을 이용함으로써 연결될 수 있다. PEG는 또한 카르복시기 (Asp, Glu, C-말단) 또는 설프하이드릴 (Cys) 기에 연결될 수 있다.

[0197] 본 발명에 따른 펩타이드의 기능적 등가 변이체는 또한 기능성 측쇄와의 반응에 의해 구축된 아미노산의 화학적 유도체도 포함할 수 있다. 이러한 유도체화된 분자로는, 유리(free) 아미노산기가 유도체화되어 아민 하이드로클로라이드, p-톨루엔 설포닐기, 카르복시벤족시기, t-부틸-옥시카르보닐기, 클로로아세틸기 또는 포르밀기를 형성한 분자를 포함한다. 유리 카르복시기는 유도체화되어, 염, 메틸 및 에틸 에스테르, 또는 기타 타입의 에스테르 및 하이드라지드 (hydrazide)를 형성할 수 있다. 유리 하이드록시기는 유도체화되어 O-아실 또는 O-알킬 유도체를 형성할 수 있다.

[0198] 본 발명에 따른 펩타이드의 기능적 등가 변이체는 또한 펩타이드의 펩타이드 모방 변이체를 포함할 수 있다. 펩타이드 모방체는 펩타이드의 구조와 개별 특성을 모방한 화합물이다. 예를 들어, 펩타이드 모방체는 역위된 (-CO-NH-) 결합을 가진 펩타이드를 포함한다. 아울러, 펩타이드 모방체는, 아미노산 잔기가 통상적인 아미드 결합을 대체하는 ψ(CH_2NH)-결합에 의해 연결된 변이체를 포함한다. 또한, 펩타이드 모방체는 아미노기와 카르복시기가 다양한 길이의 폴리메틸렌 단위로 떨어져 있는 오메가-아미노산도 포함한다.

[0199] 본 발명에 따른 펩타이드는 아미드화, 아미노 말단 아실화 (예, 아세틸화 또는 티오글리콜산 아미드화), 말단 카르복시아미드화 (예, 암모니아 또는 메틸아민을 이용함), 및 펩타이드의 N- 또는 C- 말단 영역이 차단되어 세포외 단백질 분해에 의해 절단되기 쉬운 감수성을 낮추는데 도움이 되는 기타 말단 변형 등의 변형을 포함할 수 있다. 아울러, 펩타이드는, N-말단의 아세틸화와 C-말단의 아미드화에 의해, 양 말단이 비적재(uncharged)될 것이다. 수용체는 (N- 및 C-말단이 모두 적재되지 않은) LF의 해당 서열들에 결합하는 것으로 추측컨대, 캡핑된 펩타이드는, 이것이 캡핑되지 않은 펩타이드 보다 천연 단백질과 더 비슷하다는 점으로 인해, 더 잘 결합해야 한다.

[0200] 본 발명에 따른 펩타이드는 Pasupuleti et al. Biochim Biophys Acta 2009, 1790:800-8에 기술된 바와 같이 트립토판으로 C-말단을 테깅하여 효능을 높을 수 있다.

[0201] 나아가, 존재하는 경우, 펩타이드내 시스테인 잔기는 아세트아미도메틸-시스테인으로 치환될 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 펩타이드는 서열에서 2개의 시스테인들 간의 이황화 결합을 형성함으로써 수득되는 환 형태일 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 펩타이드는 형성된 락탐을 포함할 수 있다.

[0202] 본 발명에 따른 펩타이드는 감염, 염증, 종양, 통증, 상해 및/또는 상처를 치료 및/또는 예방하는데 적합하다. 용어 "치료"는 본원에서 질환 상태의 유해한 효과, 질병의 진행 또는 기타 비정상적인 병태의 치유, 반전, 약화, 완화, 최소화, 억제 또는 중단을 의미하며, 용어 "예방"은 본원에서 질병 상태, 질병의 진행 또는 기타 비정상적이거나 유해한 병태의 발병 위험성의 최소화, 경감 또는 억제를 의미한다.

[0203] 본 발명에 따른 펩타이드, 의약품 또는 의학 디바이스로 치료가능한 감염으로는 모든 종류의 병원체, 예컨대 세균, 바이러스, 진균 등에 의해 야기되는 감염을 포함한다. 본 발명에 따른 펩타이드는 디바이스-관련 감염을 경감/예방하기 위한 여러가지 의학 디바이스 제품을 코팅/처리하는데 사용할 수 있다.

[0204] 또한, 여러가지 타입의 염증을 치료하는 것도 가능하다. 염증은 조직 및 장기의 비정상적인 "발적"과 부기, 병변 부위에서의 통증과 열, 모세관 확장, 백혈구 침윤 등으로 나타나는 복잡한 현상이다. 염증은 세균성 및 기타 독성 제제나 물리적 손상에 노출됨으로써 주로 야기된다. 알레르기성 염증은 알레르기성 천식, 아토피성 피부염, 알레르기성 비염 및 수종의 알레르기성 안 질환을 비롯한 몇몇 신체 장애나 의학적 병태의 주된 병리생리학적 특징이다.

[0205] 이에, 본 발명의 일 측면은, 본 발명의 펩타이드 및 이의 기능적 등가 변이체를 유효량으로 환자에게 투여하는, 감염, 염증, 종양, 통증, 상해 및 상처를 치료 및/또는 예방하는 방법을 제공한다. 상기 펩타이드는 경구, 전신, 비경구, 국부적(local) 또는 국소적(topical) 투여용으로 제형화될 수 있다. 아울러, 상기 펩타이드는 식품에 포함되거나 또는 이유식(infant formula food)에 포함될 수 있다.

[0206] 또한, 본 발명의 다른 측면은 감염, 염증, 종양, 통증, 상해 및 상처를 치료 및/또는 예방하는데 사용하기 위한 본 발명의 펩타이드를 제공한다. 상기 펩타이드는 경구 투여, 전신 투여, 비경구 투여, 국부 투여 또는 국소 투여용으로 제형화될 수 있다. 아울러, 상기 펩타이드는 사용하기 위해 식품 또는 이유식에 포함될 수 있다.

[0207] 또한, 본 발명의 다른 측면은 감염, 염증, 종양, 통증, 상해 및 상처를 치료 및/또는 예방하기 위한 의약품 또는 의학 디바이스를 생산하기 위한 본 발명의 펩타이드의 용도를 제공한다. 상기 의약품은 경구 투여, 전신 투여, 국부 투여 또는 국소 투여용으로 제형화될 수 있다. 나아가, 의약품 또는 의학 제품/의학 디바이스는 식품 또는 이유식에 포함될 수 있다.

[0208] 염증은 많은 형태들이 있으며, 다양한 여러가지 사이토카인들과 기타 화학적 신호에 의해 매개된다. 이들 염증 매개 물질로는 종양 괴사 인자-α (TNF-α), 인터루킨-1 (IL-1), 인터루킨-4 (IL-4), 인터루킨-5 (IL-5), 인터루킨-6 (IL-6), 인터루킨-8 (IL-8), 인터페론-γ (IFN-γ) 및 다양한 콜로니-자극 인자 (CSF)를 포함한다.

[0209] 펩타이드는, 감염의 저해 및 염증 반응의 조절에도 불구하고, 상해 및/또는 상처 발생을 치료 및/또는 예방하는 데에도 적합하다. 전술한 바와 같이, 본 발명의 펩타이드는 또한 종양을 치료하는데에도 적합하다.

[0210] 본 발명에 따른 펩타이드는 의학 디바이스, 의약품 또는 약학 조성물로서 사용되거나 또는 의학 디바이스, 의약품 또는 약학 조성물에 포함될 수 있다. 본 발명에 따른 의약품, 의학 디바이스 또는 약학 조성물은 또한 약학 조제물의 제조 또는 조제물의 투여를 용이하게 하기 위해 사용되는 물질을 더 포함할 수 있다. 상기 물질은 당해 기술 분야의 당업자들에게 잘 알려져 있으며, 예를 들어 약제학적으로 허용가능한 보강제, 담체 및 보존제일 수 있다.

[0211] 이에, 본 발명의 일 측면은 본 발명에 따른 펩타이드를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0212] 본 발명의 다른 측면은 감염, 염증, 종양, 통증, 상해 및 상처를 치료 및/또는 예방하는데 사용하기 위한 본 발명에 따른 펩타이드를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0213] 본 발명에 따른 펩타이드는 경구 투여, 전신 투여, 비경구 투여, 국부 투여 또는 국소 투여용으로 제형화될 수 있다.

[0214] 본 발명에 따른 펩타이드, 의약품, 의학 디바이스 및 약학 조성물은 환자에게 경구, 전신, 비경구, 국부 또는 국소적으로 투여될 수 있다.

[0215] 용어 "환자"는 본원에서 질병 상태, 질병의 진행 또는 기타 비정상적인거나 유해한 병태를 앓거나 발병 위험성이 있는 모든 개체를 지칭한다.

[0216] 전신 투여는 예를 들어 요로 감염, 대장염 및 종양을 치료하는데 적합하다. 전신 투여는 경구, 코, 폐, 구강인후, 정맥내, 동맥내, 강내 (intracavitary), 근육내, 피하, 경피, 좌제 (직장 포함) 또는 그외 당해 기술 분야의 당업자에게 공지된 경로에 의해 이루어질 수 있다.

[0217] 국부적인 투여는 예를 들어 피부 및 피부 구조물의 감염과 염증, 호흡기 감염, 점막에서의 모든 감염증과 염증 등을 치료하는데 적합하다. 국부적인 투여는 국소, 피부 표면 (epicutaneous), 입, 코, 질, 눈, 귀, 폐 또는 구강 인후 경로를 통해 이루어질 수 있다. 국부적인 감염 또는 염증을 치료하기 위해, 본 발명에 따른 펩타이드 또는 의약품은 예를 들어 겔, 크림, 연고, 용액 또는 페이스트, 흡입 산제/용액, 귀 또는 안 용액/현탁액/연고에 포함될 수 있다.

[0218] 본 발명에 따른 방법에서, 본 발명에 따른 펩타이드는 유효량으로 환자에게 투여된다. 용어 "유효량"은 본원에서 질병 상태, 질병의 진행 또는 기타 비정상적이거나 유해한 병태를 치료 또는 예방하는데 충분한 양이다.

[0219] 본 발명에 따른 펩타이드, 의약품 또는 의학 디바이스 및 방법은 요로 감염과 대장염, 피부와 피부 구조물의 감염 및 염증, 외이, 이도 (ear canal), 내이 및 눈과 호흡계의 감염과 염증, 만성 및 급성 상해를 치료 및/또는 예방하는데 특히 적절하지만, 염증성 장 질환, 류마티스 관절염, 관절증, 바이러스 HIV-1에 의해 야기되는 병태, 바이러스 CMV에 의해 야기되는 병태, 및 진균, 예를 들어 칸디다 알비칸스 (*Candida albicans*) 및 칸디다 크루세이 (*Candida krusei*)와 같은 칸디다 종, 아스퍼질러스 및 크립토코커스 네어포르만스 (Cryptococcus neoformans)에 의해 야기되는 병태와 같이, 다른 수종의 염증 질환 및 감염 질환도 본 발명에 따라 치료가능하다. 이 리스트는 어떠한 방식으로도 본 발명의 범위를 제한하지 않는다.

[0220] 본 발명에 따른 펩타이드, 의약품, 의학 디바이스 및 방법은 합병증 위험성이 높은 환자에서 염증성 또는 감염성 질환의 발병 위험성을 완화시킴으로써 예방적 건강 관리에도 매우 적절하다.

[0221] 본 발명의 펩타이드는 항-감염 요법 및 면역조절 요법에 적합하며, 그 예로는 하기를 포함하나 이로 한정되지 않는다:

[0222] 1) 일반적으로, 염증 및/또는 염증으로 야기되는 의학적 병태의 치료, 및 구체적으로,

[0223] 2a) 장; 크론병 (Morbus Crohn), 대장염, 궤양성 대장염,

[0224] 2b) 관절; 류마티스 관절염, 관절염, 관절증, 근육 연축 (muscle spasm), 근육 파열 (muscle tear), 근육 손상 (muscle injury), 근육 긴장 (muscle strain), 근육 염좌 (muscle sprain) 등의 국소 근육 장애들,

[0225] 2c) 피부; 건선, 습진 (Eczema, excema), 피부염, 여드름,

[0226] 2d) 심장; 심낭염, 심내막염 심장 기능부전,

[0227] 2e) 통증; (아래 2f에서 추가로 명시됨),

[0228] 2f) 신경계; 알츠하이머, 다발성 경화증, 수근관 증후군, 디스크 탈출증, 경추 신경근 병증 (Cervical rhizopathy), 안면 마비 (Bells palsy), 급성 척수 손상, 척수 압박, 척추관 협착증, 대상포진 후 신경통 (Postherpetic neuralgia), 바이러스 뇌염, 바이러스 수막염, 메니에르 질환, 소아마비 및 소아마비 후 합병증, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증 (Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy), 다발성 신경병증, 삼차 신경통 (Trigminal neuralgia), 만성 간질 장애,

[0229] 2g) 감각 기관; 녹내장,

[0230] 2h) 점막 표면 (화학/방사선 요법의 결과로서 염증),

[0231] 2i) 알레르기,

[0232] 2j) 자가면역 질환.

[0233] 본 발명의 펩타이드는 비제한적인 예로서 하기로 예시되는 병태 및 시술과 관련된 상해 및 상처를 예방 및 치료하는데 또한 적합하다:

[0234] 3a) 다양한 조직들, 예컨대 피부, 근육, 힘줄, 신경 조직, 혈관 및 여러가니 신체 부위, 예컨대 눈, 귀, 성대, 손, 척수, 복강내, 흉강내, 두개강내, 구강, 부인과 시술, 자궁내막증, 질 폐쇄증(phimosis)에 대한 외과적 시술,

[0235] 3b) 여드름,

[0236] 3c) 비후성 흉터 & 켈로이드,

[0237] 3d) 늑막염,

[0238] 3e) 복막 투석,

[0239] 3f) 급성 및 만성 상해.

[0240] 본 발명의 펩타이드는 항-혈관신생 효과를 가지는 것으로 보이므로, 따라서, 하기를 치료하는데 적합하다:

[0241] 4a) 암,

[0242] 4b) 류마티스 관절염.

[0243] 본 발명의 펩타이드는 항-감염 효과를 가지므로, 하기를 예방 및 치료하는데 적합하다:

[0244] 5a) 항세균 효과:

[0245] 상기도 및 하기도 (편도염, 부비강염, 폐렴, 만석 폐색성 폐 질환, 낭성 섬유증 등),

[0246] 눈의 감염증 (예, 결막염),

[0247] 요로 감염

[0248] 성 접촉에 의한 질병 (콘돔의 항미생물 코팅 포함)

[0249] 생식기 (질증, 질염, 자궁경부염, 자궁내막염, PID)

[0250] 위장관 감염증 (GI에서 시작된 전신 감염증)

[0251] 중충 신경계 감염증

[0252] 피부와 피부 구조물의 감염증, 예컨대 수술 부위 감염, 결합 조직염 또는 농양 등의 외상 병변의 2차 감염, 2차 감염된 피부병, 농가진 및 옹 또는 부스럼증 (그람 양성 및 그람 음성 박테리아, 스타필로콕시, 예컨대 MRSA, 스트렙토콕시, 병원내, 상처, 화상 포함), 근육, 관절 (예, 패혈성 관절염), 뼈 및 조혈계,

[0253] 입, 눈, 내이, 외이, 이도 관련 감염증, 예로, 치주염, 치은염

[0254] 5b) 항바이러스 효과:

[0255] 상기도 및 하기도

[0256] 성 접촉으로 인한 질환

[0257] 위장관 감염 (GI에서 시작된 전신 감염)

[0258] 중추 신경계 감염

[0259] 5c) 항진균 효과:

[0260] 상기도 및 하기도 (예, 아구창, 점막표면 칸디다증 (mucocutanous candidiasis))

[0261] 비뇨생식기 (예, 외음질 칸디다증 (vulvovaginal candidiasis), 귀두염)

[0262] 위장관 감염 (GI에서 시작된 전신 감염)

[0263] 중추 신경계 감염

[0264] 피부와 피부 구조물의 감염 (예, 점막표면 칸디다증), 피부병 및 습진.

[0265] 가장 바람직하게는, 본 발명의 펩타이드는 농가진, 화상, 감염된 찰과상, 감염된 열상, 찰과상, 단독, 결합 조직염, 농양, 종기, 옹, 봉합 상처, 수술 부위 감염, 이차 감염된 피부병: 아토피성 피부염, 건선 및 알레르기성 접촉 피부염, 동물에 물린 상처, 카테터 관련 감염증의 치료, 예방학적 및/또는 방지를 위해 사용된다.

[0266] 본 발명에 따른 펩타이드, 의약품, 의학 디바이스 및 방법은 단독으로, 서로 조합하여 또는 기존 요법과 병용하여 사용될 수 있다.

[0267] 본 발명에 있어, 기저 질환 (underlying disease), 저체중아 또는 의학적 치료로 인해 병태 발병 위험성이 높은 환자에서 감염 및/또는 염증을 완화시키기 위해 의도된 모든 종류의 식품이나 음료에 유효량으로 펩타이드를 포함시키는 것도 가능하다. 예를 들어, 박테리아, 바이러스 및 진균의 유아 감염으로 인한 감염으로 인해 유발되는 체중 감소 등의 유해한 세균 효과를 저해하기 위해 의도된 이유식에 유효량으로 펩타이드를 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 펩타이드가 예를 들어 영양 목적으로 식품에 사용되는 경우, 천연 기원의 펩타이드를 사용하는 것이 특히 바람직하다.

[0268] 본 발명에 따른 펩타이드가 항미생물 효과를 가지므로, 이는 또한 겔, 크림, 연고, 페이스트, 용액, 에멀젼 등의 여러가지 식품 및 의약품에 보존제로서 사용될 수 있다.

[0269] 본 발명은 아래 실시예에서 더욱 설명될 것이다. 이들 실시예들은 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 어떠한 방식으로도 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다.

도면의 간단한 설명

[0270] 도 1. 여러가지 유형의 아미노산들을 소수성, 크기 및 전하 측면에서의 유사성을 나타낸 것임.

도 2. 펩타이드의 일부, 서열번호 1, 즉 KCFQWQRNMRKVR에 대응하는 나선의 상면도.

도 3. 클래스 2의 펩타이드들의 클러스터를 나타낸 산포도. 펩타이드는 이의 물리화학적 특성에 따라 나타낸다. TNF-α 저해 활성을 가진 펩타이드 (펩타이드 농도 40 μM)는 3가지 클러스터: A, B 및 C 클러스터에서 확인할 수 있다.

도 4. 랫의 감염된 절개 상해부에서의 박테리아 콜로니 형성에 대한 펩타이드 232 (서열번호 78)(AB) 및 펩타이드 220 (서열번호 67)(BC)의 용량-반응 효과. MRSA (CCUG 41879)로 감염시키고 H_2O 중 해당 펩타이드를 0.1, 0.5 및 2 mg/ml 농도로 처리한 상해부는, 용량 반응 방식으로의 박테리아의 현저한 수적 감소를 나타낸다. 결과는 대조군 대비 상대적인 박테리아 생존율 (%) ± SEM (n = 상해부 15개)로 제시된다. 통계적 유의성은 스튜던트의 t 테스트로 추정하였다. *=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001.

도 5. 돼지 피부의 감염된 상해부에서의 박테리아 콜로니 형성에 대한 펩타이드 232 (서열번호 78)(AB) 및 펩타이드 220 (서열번호 67)(BC)의 용량-반응 효과. PBS/혈청 (50/50) 중의 스타필로코커스 아우레우스로 감염시키고 H_2O 중 해당 펩타이드를 0.1, 0.5 및 2 mg/ml 농도로 처리한 상해부는, 용량 반응 방식으로의 박테리아의 현저한 수적 감소를 나타낸다. 결과는 대조군 대비 상대적인 박테리아 생존율 (%) ± SEM (n = 상해부 10개)로 제시된다. 통계적 유의성은 스튜던트의 t 테스트로 추정하였다. *=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0271] 실시예들

[0272] 실시예 1. 펩타이드 스크린 1

[0273] 2가지 클래스의 락토페린 유래 펩타이드를 설계하여 조사하였다. 활성 펩타이드들이 클래스 모두에서 동정되었다.

[0274] 서열번호 1과 유사한 서열을 가진 펩타이드의 측정된 항염증 및 항미생물 활성을 기반으로 새로운 펩타이드 변이체들을 설계하였다. 또한, 이들 펩타이드의 해당 서열들에 대한 구조적 고려 사항들을 참작하였다. 실제, 이는 펩타이드의 나선성 (helicity)을 유지 및 강화하는 것을 의미한다. 1차 스크리닝 라운드에서, 나선 안정

성을 향상시키는 것으로 제안되는, N-캡핑 모티프와 (i, i + 3) 및 (i, i + 4) 루신 스페이싱을 도입함으로써, 클래스 1의 새로운 펩타이드 변이체들을 설계하였다. 아울러, 특정 위치에 양으로 하전된 극성 아미노산을 삽입함으로써 나선 구조의 양친매성 특징을 변형시켰다. 클래스 2의 새로운 펩타이드 변이체들은 펩타이드의 양전하와 소수성 영역을 증대시킴으로써 설계하였다. 즉, 펩타이드의 양친매성 특징들을 증가시켰다 (도 2). 새로운 설계를 기반으로, 약 50종의 펩타이드들을 PEPscreen 라이브러리 (Sigma)로서 주문하여, 항염증 활성과 항미생물 활성에 대해 테스트하였다.

[0275] **표 1. 스크린 1에서 테스트한 펩타이드 리스트**

표 1

[0276]

펩타이드	서열	서열번호
펩타이드 101	SQPEATKCFQWQRNMRKVR	서열번호 6
펩타이드 102	NQPTATKCFQWQRNMRKVR	서열번호 7
펩타이드 103	TQPDATKCFQWQRNMRKVR	서열번호 8
펩타이드 104	QPEATKCFQWQRNMRKVR	서열번호 9
펩타이드 105	QTEADKCFQWQRNMRKVR	서열번호 10
펩타이드 106	QTEADKCFQWQRNMRKVR	서열번호 11
펩타이드 107	QSEAEKCFQWQRNMRKVR	서열번호 12
펩타이드 108	PEATKCFQWQRNMRKVR	서열번호 13
펩타이드 109	NEADKCFQWQRNMRKVR	서열번호 14
펩타이드 110	SEAEKCFQWQRNMRKVR	서열번호 15
펩타이드 111	QSLATKCFQWQRNMRKVR	서열번호 16
펩타이드 112	QSEATKLFQWQRNMRKVR	서열번호 17
펩타이드 113	QSEATKCFQWLRNMRKVR	서열번호 18
펩타이드 114	QSLATKLFQWLRNLRKVR	서열번호 19
펩타이드 115	QSEATKLFQWQRNLRKVR	서열번호 20
펩타이드 117	QSLAEKLFQWLRNLRKVR	서열번호 21
펩타이드 118	QPEATKCFPWQRNMRKVR	서열번호 22
펩타이드 119	QSEATKRFQWLRNLRKVL	서열번호 23
펩타이드 120	QSLAEKLFQWLRNRRKVR	서열번호 24
펩타이드 121	QSLATKLFQWRRNLRKVR	서열번호 25
펩타이드 122	FQWKRAMRKVR	서열번호 26
펩타이드 123	CFQWKRAMRKVR	서열번호 27
펩타이드 124	FQWQRRIRKVR	서열번호 28
펩타이드 125	FQWRRAIRKVR	서열번호 29
펩타이드 128	WFQWQRNMRKVR	서열번호 30
펩타이드 129	WFQWKRRMRKVR	서열번호 31
펩타이드 131	FWWQRKMRKVR	서열번호 32
펩타이드 133	FQWQRNMRKVR	서열번호 33
펩타이드 134	FQWQRNIRKIR	서열번호 34
펩타이드 135	FQWQRNLRKLR	서열번호 35
펩타이드 136	FQWQRNIRKVR	서열번호 36
펩타이드 137	FQWQRPIRKVR	서열번호 37
펩타이드 138	FQWQPRIRKVR	서열번호 38
펩타이드 139	FQWRPGIRKLR	서열번호 39
펩타이드 140	FQWKPAIRKVR	서열번호 40
펩타이드 141	CLNFKRGVRKIR	서열번호 41
펩타이드 143	CFQWQRKMRKVR	서열번호 42
펩타이드 144	CFQWKRAMRKVR	서열번호 43
펩타이드 147	CFKWKRKMRKVR	서열번호 44
펩타이드 148	CFQWQKRMKRVK	서열번호 45
펩타이드 149	CFQWQRNMRKVR	서열번호 46
펩타이드 158	EATKCFQWQRNMRKVR	서열번호 47

[0277] *항염증 활성은 LPS 자극된 THP-1 세포에서 TNF-α 생산의 저해로서 측정하였다.*

[0278] 인간 단핵구에 해당되는 THP-1 세포주 (TIB-202; ATCC, Manassas, **VA, USA**)는 10% 소 태아 혈청 (FBS; PAA

Laboratories GmbH, Pasching, Austria), 1 mM 소듐 피루베이트 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 및 20 mM HEPES (PAA, Laboratories GmbH, Pasching, Austria)가 첨가된 RPMI 1640 (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria)에서 유지시켰다.

[0279] 세포 밀도는 10^6 cells/ml로 조정하였고, 현탁물을 96웰 세포 배양 플레이트 (Sarstedt, Numbrecht, Germany)에 웰 당 100 ㎕로 첨가하였다. 대식세포-유사 세포로 단핵구를 분화시키기 위해, 세포에 10 ng/ml PMA (포르볼 12-미리스테이트 13-아세테이트; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 48시간 처리하였다. 그런 후, 5% 열에 의해 불활화된 PBS가 첨가된 것을 제외하고는 상기와 동일한 배지에 0.1 ng/ml 리포폴리사카라이드 (LPS; *E. coli* serotype 055:B5; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 첨가하여, 세포를 자극하였다. LPS를 첨가한 지 30분 후에, 펩타이드 (40 μM)를 3세트로 첨가하였다. 이를 37 ℃, 5% CO_2 및 습윤 분위기에서 6시간 배양한 후, 세포 상층액을 수집하여 원심분리하고 ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)로 TNF-α 함량을 분석하기 전까지 -20℃에서 냉동 보관하였다. 결과는 펩타이드 무첨가하였을 때의 자극된 TNF-α 함량을 100%로 설정하고 베이스 배출을 0%로 설정하여, 상대적인 평균 배출율 (%)로서 나타낸다 (표 2).

[0280] **표 2. 스크린 1에서 테스트한 펩타이드들의 항염증 효과**

표 2

[0281]

서열번호	펩타이드	펩타이드 40 μM에서의 TNF-α	클래스
서열번호 23	119	10%	1
서열번호 21	117	13%	1
서열번호 19	114	15%	1
서열번호 18	113	22%	1
서열번호 25	121	35%	1
서열번호 14	109	47%	1
서열번호 24	120	49%	1
서열번호 32	131	87%	2
서열번호 10	105	87%	1
서열번호 31	129	91%	2
서열번호 47	158	91%	2
서열번호 11	106	96%	1
서열번호 36	136	96%	2
서열번호 17	112	101%	1
서열번호 15	110	102%	1
서열번호 35	135	103%	2
서열번호 30	128	104%	2
서열번호 12	107	108%	1
서열번호 6	102	108%	1
서열번호 34	134	109%	2
서열번호 46	149	109%	2
서열번호 41	141	109%	2
서열번호 44	147	111%	2
서열번호 22	118	113%	1
서열번호 6	101	116%	1
서열번호 40	140	117%	2
서열번호 20	115	119%	1
서열번호 16	111	121%	1
서열번호 13	108	127%	1
서열번호 28	124	128%	2
서열번호 9	104	132%	1
서열번호 45	148	132%	2
서열번호 33	133	135%	2
서열번호 8	103	135%	1
서열번호 37	137	137%	2
서열번호 43	144	140%	2
서열번호 39	139	148%	2
서열번호 29	125	150%	2

서열번호 42	143	153%	2
서열번호 27	123	156%	2
서열번호 38	138	172%	2

[0282] *항미생물 활성은 스타필로코커스 아우레우스에 대한 최소 살균 농도 MMC_{99} 분석을 이용한 살균 활성으로서 측정하였다.*

[0283] 혈액-아가 플레이트 [5% 피브린 제거된 말 혈액 (National Veterinary Institute (SVA)이 첨가된 콜롬비아 아가 (Oxoid, Basingstoke, UK), Uppsala, Sweden)]에서 배양한 스타필로코커스 아우레우스 (#1800; CCUG, Gothenburg, Sweden)는 뇌 심장 주입 브로스 (brain heart infusion broth) (3.7% BHI; Difco, BD Diagnostics, Franklin Lakes, NJ, USA)에 옮기고, 밤새 37℃에서 250 rpm의 교반기에서 배양하였다. 그 후, 배양물을 신선한 BHI 브로스로 1:10으로 희석하여, 로그 단계 증식기에 도달하도록 다시 2시간 배양하였다. 박테리아를 펠렛화하여, 1% BHI 배지 (BHI 브로스를 초순수 수에 100배 희석)에 600 nm에서의 광학 밀도를 측정하여 추정되는 바와 같이 10^7 bacteria/ml의 농도로 현탁하였다.

[0284] 펩타이드를 1% BHI 배지에 160 μM에서 1.25 μM로 2배수로 연속 희석하였다. 펩타이드 (100 ㎕)를 +37℃에서 2시간 박테리아 (5 ㎕, 10^7 bact./ml)와 함께 배양하였다. 혈액 아가 플레이트에 현탁물 몇 방울 (5 ㎕)을 떨어뜨렸다. 혈액 아가 플레이트를 +37℃에서 밤새 인큐베이션하였다. MMC_{99} 값, 즉, 살아있는 박테리아의 99% 감소를 달성하는데 필요한 펩타이드 최소 농도를 기록하였다 (표 3). 분석에 사용된 박테리아 현탁물의 농도를 혈액 아가 플레이트 상에서의 살아있는 박테리아의 수로 검증하였다.

[0285] **표 3. 스크린 1에서 테스트한 펩타이드들의 항세균 효과**

표 3

[0286]

서열번호	펩타이드	1% BHI 배지에서의 MMC_{99} μM	클래스
서열번호 19	114	2.5	1
서열번호 21	117	2.5	1
서열번호 32	131	5	2
서열번호 24	120	10	1
서열번호 25	121	10	1
서열번호 31	129	10	2
서열번호 43	144	10	2
서열번호 44	147	10	2
서열번호 46	149	13.3	2
서열번호 16	111	20	1
서열번호 23	119	20	1
서열번호 26	122	20	2
서열번호 27	123	20	2
서열번호 28	124	20	2
서열번호 29	125	20	2
서열번호 30	128	20	2
서열번호 35	135	20	2
서열번호 41	141	20	2
서열번호 42	143	20	2
서열번호 45	148	20	2
서열번호 34	134	40	2
서열번호 39	139	45	2
서열번호 11	106	160	1
서열번호 14	109	160	1
서열번호 6	101	>160	1
서열번호 7	102	>160	1
서열번호 8	103	>160	1
서열번호 9	104	>160	1
서열번호 10	105	>160	1

서열번호 12	107	>160	1
서열번호 13	108	>160	1
서열번호 15	110	>160	1
서열번호 17	112	>160	1
서열번호 18	113	>160	1
서열번호 20	115	>160	1
서열번호 22	118	>160	1
서열번호 33	133	>160	2
서열번호 36	136	>160	2
서열번호 37	137	>160	2
서열번호 38	138	>160	2
서열번호 40	140	>160	2

[0287] 실시예 2. 펩타이드 스크린 2

[0288] 1차 스크리닝 라운드에서의 펩타이드들의 TNF-α 활성에 대해 ProPHECY™ 소프트웨어 (Saromics, Lund, Sweden)를 이용한 다변량 분석을 수행하였다. 각 펩타이드에 대한 많은 수의 기술어(descriptor)를 산출하였다. 그 후, TNF-α 활성을 이들 기술어와 연관시켰다. 별개의 회귀 모델을 각 펩타이드 클래스에 대해 구축하였다. 아울러, 모든 펩타이드 클래스들을 고려한 글로벌 모델도 구축하였다. 회귀 모델 분석에서, TNF-α 활성을 개선시키는 쪽으로 기여하는 몇가지 변수들이 제시되었다. 2차 스크리닝 라운드를 위한 새로운 펩타이드는 주로 전하, 양친매성 및 소수성에 대한 조정에 기반한 각 펩타이드 클래스에서 제안하였다. 새로운 설계를 기반으로 약 80종의 펩타이드를 PEPscreen 라이브러리 (Sigma)로서 주문하여, 항염증 및 항미생물 활성을 테스트하였다.

[0289] **표 4. 스크린 2에서 테스트한 펩타이드 리스트**

표 4

[0290]

펩타이드 201	QREARKRFQWLRNMTKVR	서열번호 48
펩타이드 202	QESARKQFRWLRNLTKVL	서열번호 49
펩타이드 203	QREARKFRQWLRNMTKVR	서열번호 50
펩타이드 204	QSEYTKRYQWLRNLRKVL	서열번호 51
펩타이드 205	QKRATKRFQWLRNLRKVL	서열번호 52
펩타이드 206	QSERKKRFQWLRNLRKVL	서열번호 53
펩타이드 207	QSRATKRFQWHRNARKVL	서열번호 54
펩타이드 208	QSRATKRFQWLRNHRKVL	서열번호 55
펩타이드 209	QSLARTFKQWARNLRKVL	서열번호 56
펩타이드 210	QSAARTFKQWARNLRKTL	서열번호 57
펩타이드 211	QSEATKRFQWLRNLRKVLKR	서열번호 58
펩타이드 212	QSEATKRFQWLRNLRKVLWW	서열번호 59
펩타이드 213	QSEATKRFQWLRNLRKVLGP	서열번호 60
펩타이드 214	VSQSEATKRFQWLRNLRKVL	서열번호 61
펩타이드 215	KRQSLARTFKQWARNLRKVL	서열번호 62
펩타이드 216	LVKRLNRLWQFRKTAESQ	서열번호 63
펩타이드 217	qseatkrfqwlrnlrkvl	서열번호 64
펩타이드 218	QSLAHSLFQWLRNLRKVR	서열번호 65
펩타이드 219	RSLAQKLFQWLRNLRKVR	서열번호 66
펩타이드 220	QSLARKLFQWLRNLRKVA	서열번호 67
펩타이드 221	QSLAEKLFWQLRNLRKVR	서열번호 68
펩타이드 222	NSLFEKLAQWLRQLRKVR	서열번호 69
펩타이드 223	GRRRRSVQWCA	서열번호 70
펩타이드 225	QSEATKCFLWRRNMRKVR	서열번호 71
펩타이드 226	QSAKTACFLWRRNMRKVR	서열번호 72
펩타이드 227	CFLWRRNMRKVR	서열번호 73
펩타이드 228	CFLWRRLMRKLR	서열번호 74
펩타이드 229	CRLWRRNMRKVR	서열번호 75
펩타이드 230	CWLWRRAMRKVW	서열번호 76
펩타이드 231	LRLWRRLMRKVW	서열번호 77

펩타이드 232	RRLWRRWMRKVL	서열번호 78
펩타이드 233	CRLWRRRMRKVW	서열번호 79
펩타이드 234	LRTWRRLTRKVW	서열번호 80
펩타이드 235	LRLWRRSMRKVW	서열번호 81
펩타이드 236	CFLWRRSMRRLR	서열번호 82
펩타이드 237	CFLWRRLMRKV	서열번호 83
펩타이드 238	RLWRRLMRKVR	서열번호 84
펩타이드 239	RWCKLWRRLMRKVRRL	서열번호 85
펩타이드 240	RWCFLWRRLMRKHRRL	서열번호 86
펩타이드 241	WCKLWRRLMRKVRR	서열번호 87
펩타이드 242	TKCFLWRRNMRKVRG	서열번호 88
펩타이드 243	WFKCFQWQRNMRKVR	서열번호 89
펩타이드 244	KKLWRRWWRKVL	서열번호 90
펩타이드 245	VWIVKKQVKRIK	서열번호 91
펩타이드 246	LVWIKRHIKKFK	서열번호 92
펩타이드 247	WRRWLRKSVKRL	서열번호 93
펩타이드 248	WCRWLRKMVKAL	서열번호 94
펩타이드 249	WRRWLRKMVKRL	서열번호 95
펩타이드 255	GRRRRSVQWCA	서열번호 96

[0291] *항염증 활성은 LPS 자극된 THP-1 세포에서 TNF-α 생산의 저해로서 측정하였다.*

[0292] 인간 단핵구에 해당되는 THP-1 세포주 (TIB-202; ATCC, Manassas, **VA, USA**)는 10% 소 태아 혈청 (FBS; PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria), 1 mM 소듐 피루베이트 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 및 20 mM HEPES (PAA, Laboratories GmbH, Pasching, Austria)가 첨가된 RPMI 1640 (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria)에서 유지시켰다.

[0293] 세포 밀도는 10^6 cells/ml로 조정하였고, 현탁물을 96웰 세포 배양 플레이트 (Sarstedt, Numbrecht, Germany)에 웰 당 100 ㎕로 첨가하였다. 대식세포-유사 세포로 단핵구를 분화시키기 위해, 세포에 10 ng/ml PMA (포르볼 12-미리스테이트 13-아세테이트; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 48시간 처리하였다. 그런 후, 5% 열에 의해 불활화된 PBS가 첨가된 것을 제외하고는 상기와 동일한 배지에 0.1 ng/ml 리포폴리사카라이드 (LPS; *E. coli* serotype 055:B5; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 첨가하여, 세포를 자극하였다. LPS를 첨가한 지 30분 후에, 펩타이드 (40 μM, 10 μM 및 4 μM)를 3세트로 첨가하였다. 이를 6시간 배양한 후, 세포 상층액을 수집하여 원심분리하고 ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)로 TNF-α 함량을 분석하기 전까지 -20℃에서 냉동 보관하였다. 결과는 펩타이드 무첨가하였을 때의 자극된 TNF-α 함량을 100%로 설정하고 베이스 배출을 0%로 설정하여, 상대적인 평균 배출율 (%)로서 나타낸다 (표 5).

[0294] **표 5. 스크린 2에서 테스트한 펩타이드들의 항염증 효과**

표 5

[0295]

서열번호	펩타이드	펩타이드 40 μM에서의 TNF-α	펩타이드 10 μM에서의 TNF-α	펩타이드 4 μM에서의 TNF-α	클래스
48	201	128.6%	nd	nd	1
49	202	90.3%	nd	nd	1
50	203	98.1%	nd	nd	1
51	204	96.9%	nd	nd	1
52	205	28.3%	89.5%	91.5%	1
53	206	51.0%	92.9%	96.9%	1
54	207	160.9%	nd	nd	1
55	208	130.2%	nd	nd	1
56	209	23.6%	68.2%	88.0%	1
57	210	101.0%	nd	nd	1
58	211	62.8%	89.8%	100.7%	1
59	212	25.7%	85.8%	90.9%	1
60	213	84.4%	125.5%	110.3%	1
61	214	88.8%	nd	nd	1

62	215	1.3%	69.6%	86.6%	1
63	216	121.9%	nd	nd	1
64	217	103.0%	nd	nd	1
65	218	9.2%	55.7%	81.8%	1
66	219	7.3%	44.0%	68.5%	1
67	220	11.6%	37.0%	70.8%	1
68	221	94.4%	nd	nd	1
69	222	32.9%	65.9%	89.2%	1
70	223	104.4%	nd	nd	기타
71	225	111.6%	nd	nd	1 및 2
72	226	108.7%	nd	nd	1 및 2
73	227	111.0%	nd	nd	2
74	228	53.6%	95.4%	106.6%	2
75	229	108.5%	nd	nd	2
76	230	80.4%	135.6%	119.2%	2
77	231	49.8%	89.1%	102.6%	2
78	232	33.2%	66.6%	96.9%	2
79	233	90.7%	nd	nd	2
80	234	102.0%	nd	nd	2
81	235	89.3%	nd	nd	2
82	236	94.4%	nd	nd	2
83	237	89.2%	nd	nd	2
84	238	76.5%	89.2%	83.9%	2
85	239	7.4%	56.5%	65.6%	2
86	240	40.1%	59.9%	78.3%	2
87	241	8.1%	57.9%	92.7%	2
88	242	116.8%	nd	nd	2
89	243	113.1%	nd	nd	2
90	244	10.7%	116.7%	107.7%	2
91	245	146.3%	nd	nd	2
92	246	125.5%	nd	nd	2
93	247	88.2%	nd	nd	2
94	248	24.2%	80.2%	87.1%	2
95	249	-0.7%	78.0%	91.2%	2
96	255	100.7%	nd	nd	기타

[0296] nd= 수행 안함

[0297] *항미생물 활성은 스타필로코커스 아우레우스에 대한 최소 살균 농도 MMC_{99} 분석을 이용한 살균 활성으로서 측정하였다.*

[0298] 혈액-아가 플레이트 [5% 피브린 제거된 말 혈액 (National Veterinary Institute (SVA)이 첨가된 콜롬비아 아가 (Oxoid, Basingstoke, UK), Uppsala, Sweden)]에서 배양한 스타필로코커스 아우레우스 (#1800; CCUG, Gothenburg, Sweden)는 뇌 심장 주입 브로스 (3.7% BHI; Difco, BD Diagnostics, Franklin Lakes, NJ, USA)에 옮기고, 밤새 +37℃에서 250 rpm의 교반기에서 배양하였다. 그 후, 배양물을 신선한 BHI 브로스로 1:10으로 희석하여, 로그 단계 증식기에 도달하도록 다시 2시간 배양하였다. 박테리아를 펠렛화하여, 1% BHI 배지 (BHI 브로스를 초순수주에 100배 희석)에 600 nm에서의 광학 밀도를 측정하여 추정되는 바와 같이 10^7 bacteria/ml의 농도로 현탁하였다.

[0299] 펩타이드를 1% BHI 배지 또는 50% 열에 의해 불활화된 자극된 상처 체액 [SWF, 염수 중에 0.1% 펩톤 (Oxoid, Basingstoke, UK) 1부 (part) 및 소 태아 혈청 1 부, 초순수 수에 2배 희석]에 400 μM에서 0.78 μM로 2배수로 연속 희석하였다.

[0300] 펩타이드 (100 ㎕)를 +37℃에서 2시간 박테리아 (5 ㎕, 10^7 bact./ml)와 함께 배양하였다. 혈액 아가 플레이트에 현탁물 몇 방울 (5 ㎕)을 떨어뜨렸다. 혈액 아가 플레이트를 +37℃에서 밤새 인큐베이션하였다. MMC_{99} 값, 즉, 살아있는 박테리아의 99% 감소를 달성하는데 필요한 펩타이드 최소 농도를 기록하였다 (표 6). 분석에 사

용된 박테리아 현탁물의 농도를 혈액 아가 플레이트 상에서의 살아있는 박테리아의 수로 검증하였다.

[0301] **표 6. 스크린 2에서 테스트한 펩타이드들의 항세균 효과**

표 6

[0302]

서열번호	펩타이드	1% BHI 배지에서의 MMC_{99} μM	50% SWF에서의 MMC_{99} μM	클래스
52	205	12.5	50	1
53	206	12.5	100	1
56	209	12.5	100	1
58	211	6.25	100	1
59	212	12.5	100	1
60	213	25	200	1
62	215	6.25	25	1
65	218	6.25	50	1
66	219	6.25	12.5	1
67	220	12.5	25	1
69	222	12.5	100	1
70	223	25	nd	기타
74	228	12.5	50	2
76	230	25	100	2
77	231	12.5	50	2
78	232	12.5	25	2
84	238	12.5	100	2
85	239	12.5	25	2
86	240	12.5	25	2
87	241	12.5	25	2
90	244	12.5	50	2
94	248	25	50	2
95	249	12.5	6.25	2
96	255	25	nd	기타

[0303] nd= 수행 안함

[0304] **클래스 2 펩타이드**

[0305] 전하를 높이고 소수성 영역이 첨가된 각각의 펩타이드 변이체를 설계하였다. 특히, 양친매성의 조절은 고활성의 펩타이드를 달성하는데 중요하였다.

[0306] 클래스 2 펩타이드 서열을 이용한 주 성분 분석(ProPHECY™)과 항염증 분석 결과를 토대로, 3가지 상이한 클로스터의 활성 펩타이드들을 동정하였다 (도 3). 클러스터에는 2차 스크리닝 라운드의 펩타이드만 포함되었다. 각 클러스터에서 가장 활성이 높은 펩타이드를 표 7에 개괄한다.

[0307] 도 3의 산포도는 펩타이드 특징에 대한 주 성분 분석을 기초로 한다. 펩타이드들이 정렬되며, 각 아미노산의 물리화학적 특성들이 고려된다. 도펴에서 서로 근접한 펩타이드들은 유사성 정도가 더 높은 것으로 예측된다. 즉, 펩타이드들은 대부분의 위치들에서 동일하거나 유사한 아미노산을 가진다. 그에 따라, 거리가 먼 펩타이드들은 상이성이 높은 서열을 가지는 것으로 예측된다. 예를 들어, 펩타이드 232와 244는 매우 근접해 있으며 (클러스터 A 참조), 이들은 위치 3곳에서 차이가 있는데 232는 R, R 및 M을 가지는데 반해, 244는 K, K 및 W를 가진다 (R과 K, M과 W는 매우 상이하진 않음). 이는 펩타이드 240 및 249 (각각 클러스터 B와 C)와 비교할 수 있는데, 이는 8 부위가 다를 뿐만 아니라 길이도 잔기 2개로 차이가 있다. 그래서, 스코어 플롯은 펩타이드들 간의 개괄적인 물리화학적 유사성을 제공해준다.

[0308] **표 7: 클래스 2 펩타이드**

표 7

[0309]

위치:	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
주형:	**x**	**x**	**C**	**F**	**Q**	**W**	**Q**	**R**	**N**	**M**	**R**	**K**	**V**	**R**	**x**	**x**
클러스터 A																
231:			L	R	L		R		L					W		
232:			**R**	R	L		R		**W**					**L**		
233:				R	L		R		R					W		
235:			L	R	L		R		S					W		
244:			**K**	**K**	L		R		**W**	**W**				**L**		
클러스터 B																
239:	R	W		**K**	L		R		L						R	L
240:	R	W			L		R		L				H		R	L
241:		W		**K**	L		R		L						R	
클러스터 C																
247:			**W**	R	**R**		**L**		**K**	S	**V**		**R**	**L**		
248:			**W**	**C**	**R**		**L**		**K**		**V**		**A**	**L**		
249:			**W**	R	**R**		**L**		**K**		**V**		**R**	**L**		

[0310] 굵은 글씨체의 잔기는 활성에 긍정적으로 기여하는 아미노산 타입들을 나타낸다.

[0311] 표 7에 결과를 요약함으로 고활성에 중요한 위치와 돌연변이를 쉽게 동정할 수 있게 한다. 이들 펩타이드에서, 몇몇 위치는 Lys (K) 및 Arg (R) 등의 양으로 하전된 아미노산으로 치환되어 있다. 또한, 몇몇 위치는 펩타이드 말단들에 소수성을 증가시키고 양친매성을 증대 및 조절하기 위해 소수성 아미노산으로 변경되어 있다. ProPHECY™ 분석에서는, 1번, 2번 및 5번 위치에 양으로 하전된 아미노산이 있는 것이 유익한 것으로 나타난다. 아울러, 소수성 아미노산은 7, 8 및 12번 위치에 있는 것이 좋다. 이들 펩타이드 모두 3번 위치에 Leu (L)을 가진다. 따라서, 7, 8 및 12번 위치가 소수성 잔기로 변경되거나 또는 소수성이 높은 잔기로 (펩타이드 244에서 Met -> Trp와 같이) 변경되면, 양친매성이 향상된다.

[0312] 클러스터 B의 펩타이드는 N-말단과 C-말단이 모두 연장된 것으로 양전하 및 소수성을 높이기 위해 1 또는 2개의 잔기를 추가로 가진다. 펩타이드 240은 펩타이드에서 양전하와 양친매성이 낮아 활성이 낮다. 가장 활성이 높은 펩타이드 239와 241은 3번과 7번 위치에 소수성 아미노산을, 2번과 5번 위치에 양으로 하전된 아미노산을 가진다.

[0313] 클러스터 C의 펩타이드는 양친매성이 이동하여 펩타이드의 다른 표면 부분으로 "회전"되어 있다. 이는 1, 5, 9 및 12번 위치를 소수성 아미노산으로 치환하고, 2, 3, 7 및 11번 위치를 양으로 하전된 아미노산으로 치환함으로써 달성된다.

[0314] 마지막으로, 클러스터 A와 특히 클러스터 B에 속하는 활성형의 클래스 2 펩타이드들 중 일부는 생리학적 염 농도에 가까운 조건에서도 높은 항미생물 효과를 발휘한다.

[0315] 실시예 3. *시험관내* 항미생물 효과

[0316] 펩타이드 232 (서열번호 78) 및 220 (서열번호 67)의 항미생물 효과를 스타필로코커스 아우레우스 (CCUG 1800), MRSA (CCUG 41879), 슈도모나스 에어루지노사 (ATCC 15442), *E. coli* (CCUG 31246), 스트렙토코커스 피로게네스 (CCUG 4207), 프로피오니박테리움 아크네스 (CCUG 1794T), 스타필로코커스 에피더미디스 (ATCC12228), 클렙시엘라 뉴모니애 (ATCC 13883), 액시네토박터 바우마니이 (ATCC 19606) 및 칸디다 알비칸스 (ATCC 64549)에 대한 MMC_{99} (최소 살균 농도) 분석으로 분석하였다. 펩타이드는 Biopeptide Company (San Diego, CA, USA)와 Bachem AG (Bubendorf, Switzerland)에서 구입하였고, 그 결과는 각각 표 8A와 8B에 나타낸다.

[0317] 펩타이드들을 2종의 분석 매질, 즉 1% BHI 배지 (뇌-심장 주입 배지) 또는 50% 열에 의해 불활화된 자극된 상처 체액 (SWF)에 연속 희석한 다음, 2시간 동안 상기 미생물과 배양하였다. 혈액 아가 플레이트에 상층액 몇 방출을 떨어뜨렸다. MMC_{99} 값, 즉, 살아있는 박테리아의 99% 감소를 달성하는데 필요한 펩타이드 최소 농도를 기록하였다. 표 8에 나타낸 바와 같이, 펩타이드 모두 감염에서 흔히 발견되는 미생물들을 사멸시키는 능력을 가진

다.

[0318] **표 8A. MMC99 (㎍/ml)으로 측정한 시험관내 항미생물 효과**

표 8

[0319]

	펩타이드 232 (서열번호 78)		펩타이드 220 (서열번호 67)	
	1% BHI	50% SWF	1% BHI	50% SWF
스타필로코커스 아우레우스	5	44	7	28
MRSA	6	100	6	200
슈도모나스 에어루지노사	5	>176	7	>200
E. coli	5	>176	3	>200
프로피오니박테리움 아크네스	6	>200	<3	100
스트렙토코커스 피로게네스	<3	>200	<3	50

[0320] **표 8B. MMC99 (㎍/ml)으로 측정한 시험관내 항미생물 효과**

표 9

[0321]

	펩타이드 232 (서열번호 78)	
	1% BHI	50% SWF
스타필로코커스 에피더미디스	3	50
클렙시엘라 뉴모니애	6	>200
액시네토박터 바우마니이	3	200
칸디다 알비칸스	3	50

[0322] 실시예 4. 랫의 절개 상처 모델에 대한 생체내 항미생물 효과

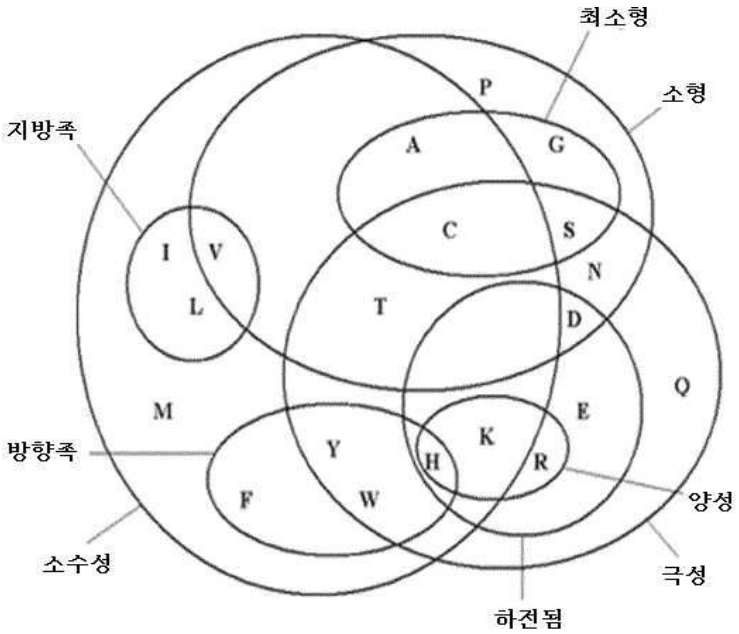
[0323] 펩타이드 232 (서열번호 78)와 펩타이드 220 (서열번호 67)의 생체내 항미생물 효과를 랫의 절개 상처 모델에서 조사하였다. 상처 부위에 메티실린 내성의 스타필로코커스 아우레우스 (MRSA)를 2시간 접종한 다음, 펩타이드 또는 대조군 (H_2O)을 1회 투여하여 2시간 둔 후, 실험을 종결하고 박테리아를 회수하였다. 펩타이드들 모두 현저한 항미생물 효과를 나타내었다 (도 4).

[0324] 실시예 5. 돼지의 감염된 상처에서의 생체내 항미생물 효과

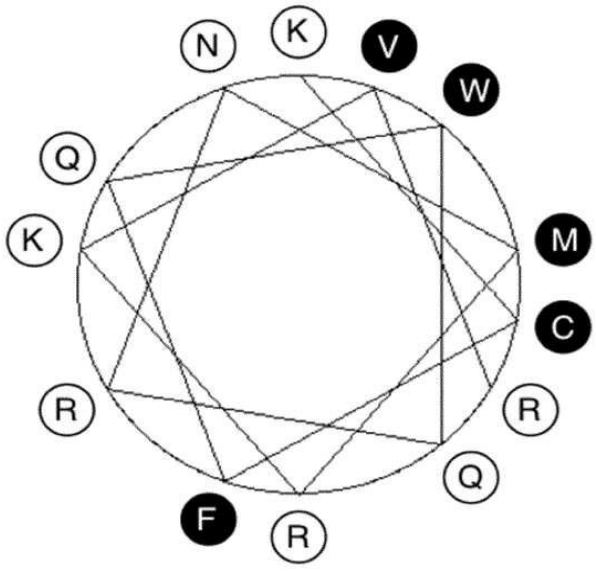
[0325] 펩타이드 232 (서열번호 78)와 펩타이드 220 (서열번호 67)의 생체내 항미생물 효과를 돼지 피부에 대한 생체외 모델에서 조사하였다. 상처 부위에 스타필로코커스 아우레우스를 PBS/혈청 50/50 중에 접종하였다. 접종 후 2시간 후, 상처 부위에 펩타이드 또는 위약 (H_2O)을 1회 처리하였다. 처리하고 4시간 후, 박테리아의 회수하여, 각 상처 부위에서의 살아있는 박테리아의 수를 측정하였다. 이들 결과는, 펩타이드들이 국소 적용시 항-감염제로서 매우 유효하다는 사실을 랫에서 검증해준다 (도 5).

도면

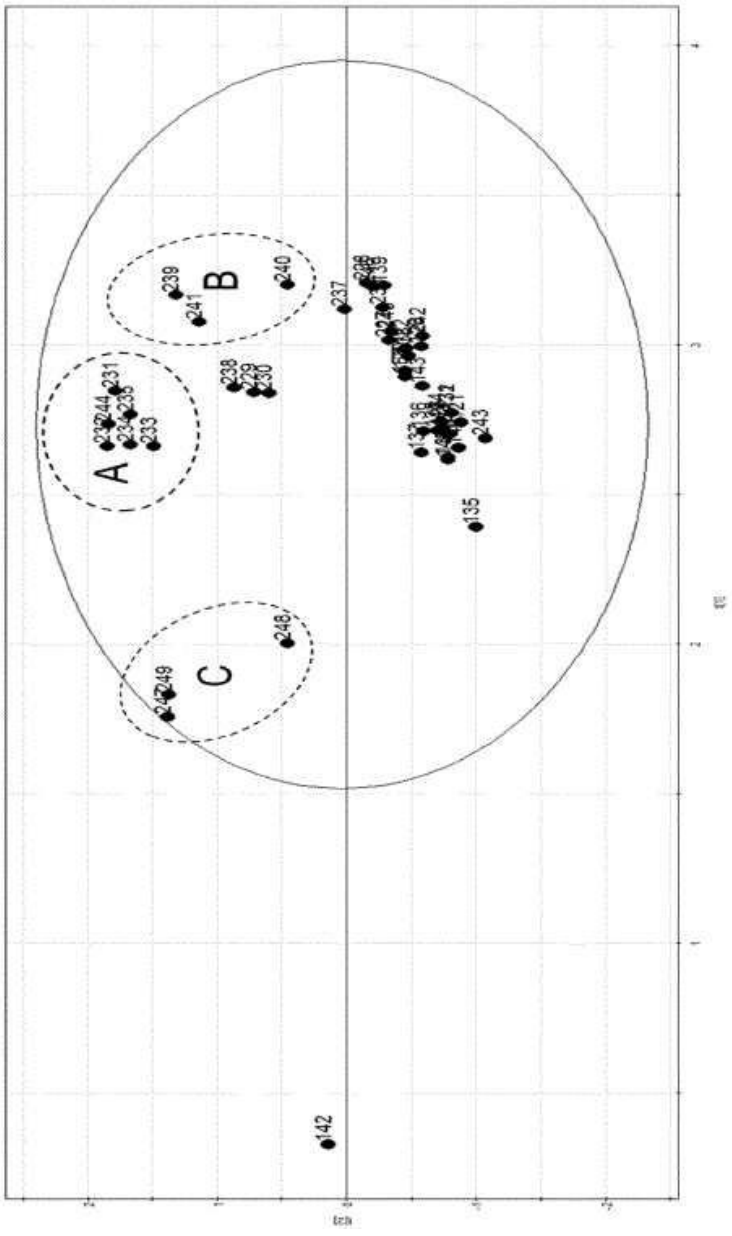
도면1


최소형
소형
지방족
방향족
양성
소수성
극성
하전됨
P
A
G
C
S
I
V
L
T
N
D
Q
M
E
K
Y
H
R
F
W

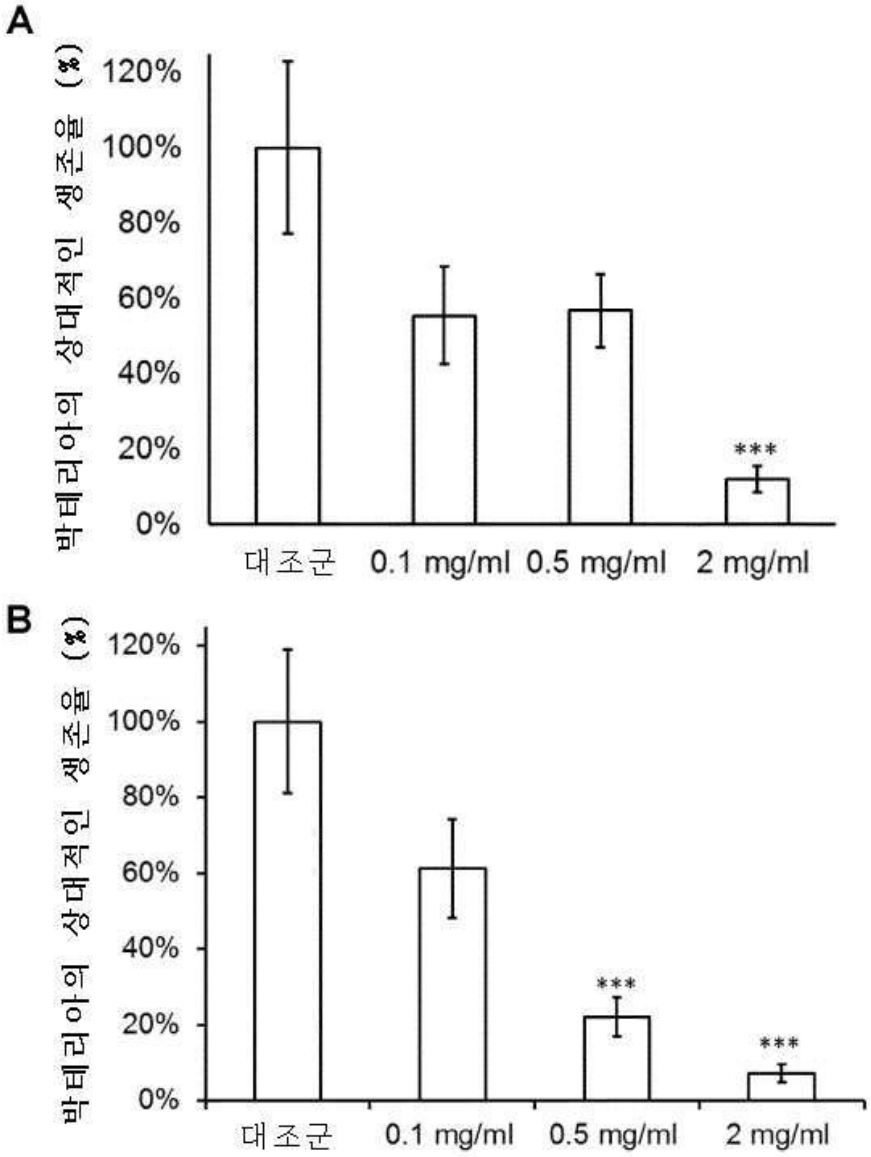
도면2


N
K
V
W
Q
K
M
C
R
R
Q
F
R

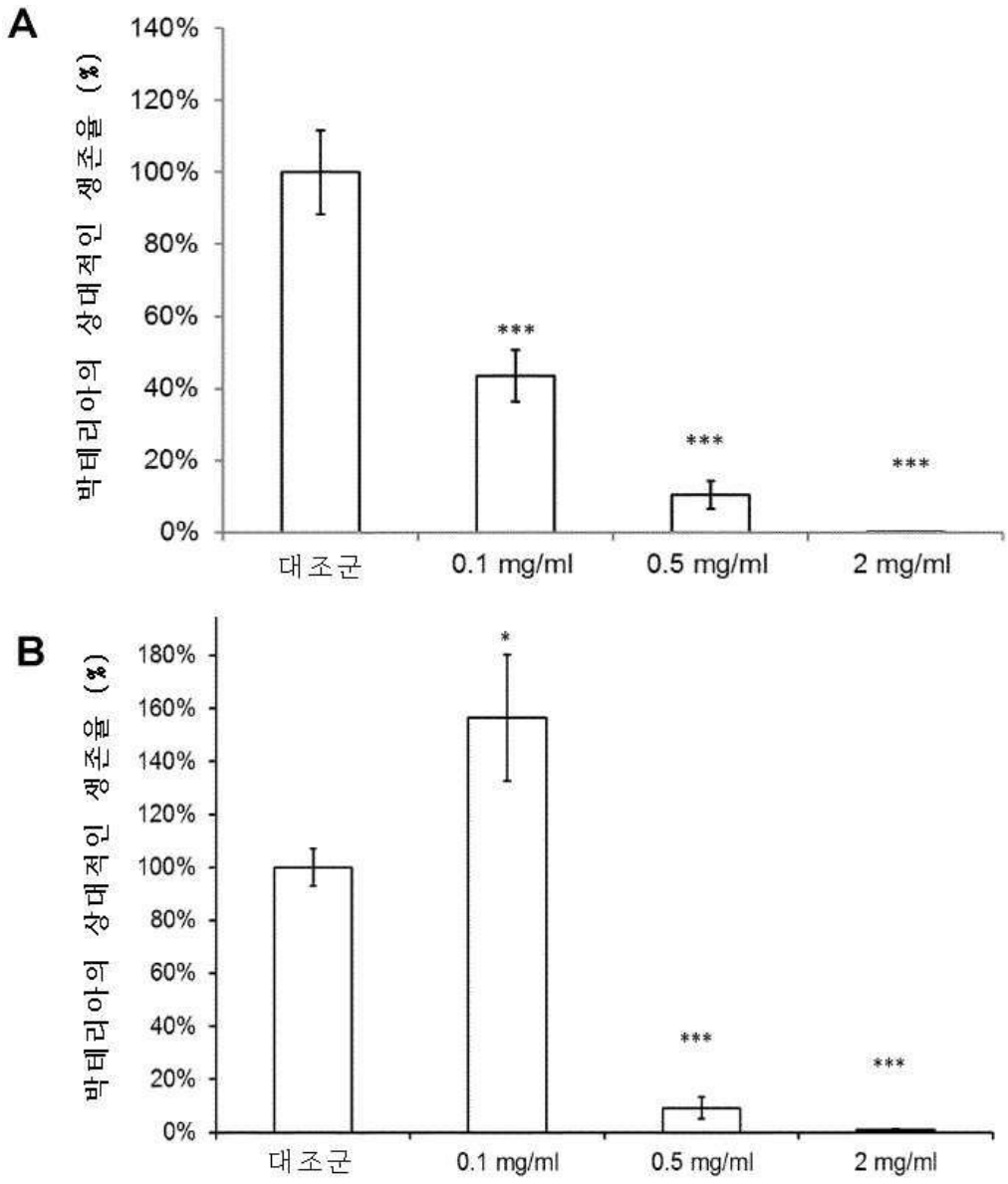
도면3



도면4


A
박테리아의 상대적인 생존율 (%)
120%
100%
80%
60%
40%
20%
0%
***
대조군
0.1 mg/ml
0.5 mg/ml
2 mg/ml
B
박테리아의 상대적인 생존율 (%)
120%
100%
80%
60%
40%
20%
0%
***
***
대조군
0.1 mg/ml
0.5 mg/ml
2 mg/ml

도면5



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Pharmasurgics in Sweden AB

<120> New Synthetic peptides

<130> P9859PC00

<150> EP11152213

<151> 2010-01-26

<160> 96

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(18)

<223> a fragment of human lactoferrin corresponding to amino acids
13-30

<400> 1

Gln Pro Glu Ala Thr Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys
1 5 10 15

Val Arg

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be Cys, Leu, Trp, Lys, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa can be Cys, Phe, Lys, Trp, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be Leu, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be Leu, Lys, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa can be Asn, Ser, Ala, Leu, Trp, Lys, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa can be Met, Trp, Ser

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa can be Arg, Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa can be Val, Ala, His, Leu, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> Xaa can be Arg, Lys, Trp

<400> 2

Xaa Xaa Xaa Trp Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa

1 5 10

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be Trp, Lys, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa can be Cys, Lys, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be Leu, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be Leu, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa can be Trp, Lys

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa can be Met, Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa can be Arg, Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa can be Val, Ala, Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> Xaa can be Arg, Leu

<400> 3

Xaa Xaa Xaa Trp Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa

1 5 10

<210> 4

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be Gln, Arg, Asn

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa can be Ser, Arg, Lys

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be Glu, Arg, Leu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be Ala, Arg, Phe

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be Thr, Lys, Arg, His, Gln, Glu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa can be Lys, Thr, Ser

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa can be Arg, Phe, Leu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa can be Phe, Lys, Ala

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa can be Leu, Arg, Ala

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> Xaa can be Asn, Gln

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> Xaa can be Leu, Arg, Ala

<400> 4

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Trp Xaa Arg Xaa Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Xaa

<210> 5

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be Gln, Arg, Asn

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be Glu, Arg, Leu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be Ala, Arg, Phe

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be Thr, Lys, Arg, Gln, Glu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa can be Lys, Thr, Ser

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa can be Arg, Phe, Leu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa can be Phe, Lys, Ala

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa can be Leu, Arg, Ala

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> Xaa can be Leu, Arg, Ala

<400> 5

Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Trp Xaa Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Xaa

<210> 6

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 6

Ser Gln Pro Glu Ala Thr Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg

1 5 10 15

Lys Val Arg

<210> 7

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 7

Asn Gln Pro Thr Ala Thr Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg

1 5 10 15

Lys Val Arg

<210> 8

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 8

Thr Gln Pro Asp Ala Thr Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg

1 5 10 15

Lys Val Arg

<210> 9

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 9

Gln Pro Glu Ala Thr Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 10

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 10

Gln Thr Glu Ala Asp Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 11

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 11

Gln Asn Glu Ala Asp Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 12

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 12

Gln Ser Glu Ala Glu Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 13

Pro Glu Ala Thr Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val

1 5 10 15

Arg

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 14

Asn Glu Ala Asp Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val

1 5 10 15

Arg

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 15

Ser Glu Ala Glu Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val

1 5 10 15

Arg

<210> 16

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 16

Gln Ser Leu Ala Thr Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 17

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 17

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

1 5 10 15

Val Arg

<210> 18

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 18

Gln Ser Glu Ala Thr Lys Cys Phe Gln Trp Leu Arg Asn Met Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 19

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 19

Gln Ser Leu Ala Thr Lys Leu Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 20

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 20

Gln Ser Glu Ala Thr Lys Leu Phe Gln Trp Gln Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 21

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 21

Gln Ser Leu Ala Glu Lys Leu Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 22

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 22

Gln Pro Glu Ala Thr Lys Cys Phe Pro Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 23

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 23

Gln Ser Glu Ala Thr Lys Arg Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu

<210> 24

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 24

Gln Ser Leu Ala Glu Lys Leu Phe Gln Trp Leu Arg Asn Arg Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 25

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 25

Gln Ser Leu Ala Thr Lys Leu Phe Gln Trp Arg Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 26

Phe Gln Trp Lys Arg Ala Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 27

<211> 12

<

212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 27

Cys Phe Gln Trp Lys Arg Ala Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 28

Phe Gln Trp Gln Arg Arg Ile Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 29

Phe Gln Trp Arg Arg Ala Ile Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 30

Trp Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 31

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 31

Trp Phe Gln Trp Lys Arg Arg Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 32

Phe Trp Trp Gln Arg Lys Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 33

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 34

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Ile Arg Lys Ile Arg

1 5 10

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 35

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Leu Arg Lys Leu Arg

1 5 10

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 36

Phe Gln Trp Gln Arg Asn Ile Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 37

Phe Gln Trp Gln Arg Pro Ile Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 38

Phe Gln Trp Gln Pro Arg Ile Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 39

Phe Gln Trp Arg Pro Gly Ile Arg Lys Leu Arg

1 5 10

<210> 40

<211

> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 40

Phe Gln Trp Lys Pro Ala Ile Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 41

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 41

Cys Leu Asn Phe Lys Arg Gly Val Arg Lys Ile Arg

1 5 10

<210> 42

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 42

Cys Phe Gln Trp Gln Arg Lys Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 43

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 43

Cys Phe Gln Trp Lys Arg Ala Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 44

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 44

Cys Phe Lys Trp Lys Arg Lys Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 45

<211> 12

<212> PRT

<213

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 45

Cys Phe Gln Trp Gln Lys Arg Met Lys Arg Val Lys

1 5 10

<210> 46

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 46

Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 47

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 47

Glu Ala Thr Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val Arg

1 5 10 15

<210> 48

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 48

Gln Arg Glu Ala Arg Lys Arg Phe Gln Trp Leu Arg Asn Met Thr Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 49

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 49

Gln Glu Ser Ala Arg Lys Gln Phe Arg Trp Leu Arg Asn Leu Thr Lys

1 5 10 15

Val Leu

<210> 50

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 50

Gln Arg Glu Ala Arg Lys Phe Arg Gln Trp Leu Arg Asn Met Thr Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 51

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 51

Gln Ser Glu Tyr Thr Lys Arg Tyr Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu

<210> 52

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 52

Gln Lys Arg Ala Thr Lys Arg Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu

<210> 53

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 53

Gln Ser Glu Arg Lys Lys Arg Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu

<210> 54

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 54

Gln Ser Arg Ala Thr Lys Arg Phe Gln Trp His Arg Asn Ala Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu

<210> 55

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 55

Gln Ser Arg Ala Thr Lys Arg Phe Gln Trp Leu Arg Asn His Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu

<210> 56

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 56

Gln Ser Leu Ala Arg Thr Phe Lys Gln Trp Ala Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu

<210> 57

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 57

Gln Ser Ala Ala Arg Thr Phe Lys Gln Trp Ala Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Thr Leu

<210> 58

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 58

Gln Ser Glu Ala Thr Lys Arg Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu Lys Arg

20

<210> 59

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 59

Gln Ser Glu Ala Thr Lys Arg Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu Trp Trp

20

<210> 60

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 60

Gln Ser Glu Ala Thr Lys Arg Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu Gly Pro

20

<210> 61

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 61

Val Ser Gln Ser Glu Ala Thr Lys Arg Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu

1 5 10 15

Arg Lys Val Leu

20

<210> 62

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 62

Lys Arg Gln Ser Leu Ala Arg Thr Phe Lys Gln Trp Ala Arg Asn Leu

1 5 10 15

Arg Lys Val Leu

20

<210> 63

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 63

Leu Val Lys Arg Leu Asn Arg Leu Trp Gln Phe Arg Lys Thr Ala Glu

1 5 10 15

Ser Gln

<210> 64

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 64

Gln Ser Glu Ala Thr Lys Arg Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Leu

<210> 65

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 65

Gln Ser Leu Ala His Ser Leu Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 66

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 66

Arg Ser Leu Ala Gln Lys Leu Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 67

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 67

Gln Ser Leu Ala Arg Lys Leu Phe Gln Trp Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Ala

<210> 68

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 68

Gln Ser Leu Ala Glu Lys Leu Phe Trp Gln Leu Arg Asn Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 69

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 69

Asn Ser Leu Phe Glu Lys Leu Ala Gln Trp Leu Arg Gln Leu Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 70

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 70

Gly Arg Arg Arg Arg Ser Val Gln Trp Cys Ala

1 5 10

<210> 71

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 71

Gln Ser Glu Ala Thr Lys Cys Phe Leu Trp Arg Arg Asn Met Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 72

<211> 18

<

212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 72

Gln Ser Ala Lys Thr Ala Cys Phe Leu Trp Arg Arg Asn Met Arg Lys

1 5 10 15

Val Arg

<210> 73

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 73

Cys Phe Leu Trp Arg Arg Asn Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 74

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 74

Cys Phe Leu Trp Arg Arg Leu Met Arg Lys Leu Arg

1 5 10

<210> 75

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 75

Cys Arg Leu Trp Arg Arg Asn Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 76

Cys Trp Leu Trp Arg Arg Ala Met Arg Lys Val Trp

1 5 10

<210> 77

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 77

Leu Arg Leu Trp Arg Arg Leu Met Arg Lys Val Trp

1 5 10

<210> 78

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 78

Arg Arg Leu Trp Arg Arg Trp Met Arg Lys Val Leu

1 5 10

<210> 79

<211> 12

<212> PRT

<213

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 79

Cys Arg Leu Trp Arg Arg Arg Met Arg Lys Val Trp

1 5 10

<210> 80

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 80

Leu Arg Thr Trp Arg Arg Leu Thr Arg Lys Val Trp

1 5 10

<210> 81

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 81

Leu Arg Leu Trp Arg Arg Ser Met Arg Lys Val Trp

1 5 10

<210> 82

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 82

Cys Phe Leu Trp Arg Arg Ser Met Arg Arg Leu Arg

1 5 10

<210> 83

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 83

Cys Phe Leu Trp Arg Arg Leu Met Arg Lys Val

1 5 10

<210> 84

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 84

Arg Leu Trp Arg Arg Leu Met Arg Lys Val Arg

1 5 10

<210> 85

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 85

Arg Trp Cys Lys Leu Trp Arg Arg Leu Met Arg Lys Val Arg Arg Leu

1 5 10 15

<210> 86

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 86

Arg Trp Cys Phe Leu Trp Arg Arg Leu Met Arg Lys His Arg Arg Leu

1 5 10 15

<210> 87

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 87

Trp Cys Lys Leu Trp Arg Arg Leu Met Arg Lys Val Arg Arg

1 5 10

<210> 88

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 88

Thr Lys Cys Phe Leu Trp Arg Arg Asn Met Arg Lys Val Arg Gly

1 5 10 15

<210> 89

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 89

Trp Phe Lys Cys Phe Gln Trp Gln Arg Asn Met Arg Lys Val Arg

1 5 10 15

<210> 90

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 90

Lys Lys Leu Trp Arg Arg Trp Trp Arg Lys Val Leu

1 5 10

<210> 91

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<

220><223> Synthetic peptide

<400> 91

Val Trp Ile Val Lys Lys Gln Val Lys Arg Ile Lys

1 5 10

<210> 92

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 92

Leu Val Trp Ile Lys Arg His Ile Lys Lys Phe Lys

1 5 10

<210> 93

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 93

Trp Arg Arg Trp Leu Arg Lys Ser Val Lys Arg Leu

1 5 10

<210> 94

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 94

Trp Cys Arg Trp Leu Arg Lys Met Val Lys Ala Leu

1 5 10

<210> 95

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 95

Trp Arg Arg Trp Leu Arg Lys Met Val Lys Arg Leu

1 5 10

<210> 96

<211> 11

<212> PRT

<213

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 96

Gly Arg Arg Arg Arg Ser Val Gln Trp Cys Ala

1 5 10